

## Biofumigan untuk Pengendalian Patogen Tular Tanah Penyebab Penyakit Tanaman yang Ramah Lingkungan

TITIEK YULIANTI<sup>1)</sup> dan SUPRIADI<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat

*Indonesian Tobacco and Fiber Crops Research Institute*

Jl. Raya Karangploso, Kotak Pos 169, Malang-Jawa Timur

<sup>2)</sup>Balai Penelitian Tanaman Obat dan Atsiri

*Indonesian Medicinal and Aromatic Crops Research Institute*

Jl. Tentara Pelajar No. 3 Bogor 16111

### ABSTRAK

Metil bromida adalah pestisida berspektrum luas untuk mengendalikan serangga, nematoda, dan patogen, baik dalam tanah maupun di gudang. Senyawa ini sudah dilarang penggunaannya di dunia berdasarkan kesepakatan Montreal Protocol tahun 2000, bahkan harus dimusnahkan di seluruh dunia pada tahun 2015. Di beberapa negara maju sudah gencar dilakukan penelitian untuk mencari senyawa biofumigan sebagai alternatif pengganti metil bromida. Tulisan ini menguraikan salah satu sumber biofumigan yang cukup prospektif dan cukup banyak diteliti, yaitu, glukosinolat (GSL), termasuk beberapa aspek berkaitan dengan biosintesis dan hidrolisis senyawa tersebut dan produk yang dihasilkan, sumber tanaman penghasil GSL, pengaruh biofumigan terhadap patogen tular tanah dan mikroorganisme lainnya, serta prospek dan kendala pemanfaatan biofumigan di Indonesia. GSL berasal dari tanaman famili kubis-kubisan (Brassicaceae). Ada sekitar 350 genera dan 2500 spesies famili Brassicaceae yang diketahui mengandung senyawa GSL. GSL merupakan senyawa yang mengandung nitrogen dan belerang hasil metabolit sekunder tanaman. GSL akan dihidrolisis apabila terjadi kontak dengan enzim mirosinase, biasanya melalui pelukaan jaringan tanaman. Hasil hidrolisis adalah beberapa senyawa, baik yang bersifat volatil maupun tidak, misalnya isotiosianat (ITS), ion tiosianat (SCN<sup>-</sup>), nitril, epitionitril, indolil alkohol, amin, sianid organik dan oksazolidinethion. Senyawa yang dihasilkan dari proses hidrolisis tergantung pada suhu, pH, dan jenis tanah. Meskipun sudah banyak bukti bahwa senyawa ITS mampu mengendalikan patogen-patogen tular tanah, namun untuk penerapannya di Indonesia masih perlu penelitian supaya diperoleh hasil yang efektif, seperti eksplorasi jenis-jenis Brassicaceae lokal sebagai sumber biofumigan, teknik aplikasi di lapangan (pola tanam, rotasi, tumpangsari, tanaman penutup tanah), dan

faktor-faktor abiotik yang berpengaruh terhadap biosintesis maupun hidrolisis GSL di dalam tanah.

Kata kunci: Brassicaceae, biofumigan, hidrolisis, sumber tanaman, prospek pengembangan di Indonesia

### ABSTRACT

#### *Biofumigant as an environmentally friendly method to control soilborne plant pathogens*

Methyl bromide (MBr) is a broad spectrum pesticide used to control insects, nematodes, and pathogens both in soils and storages. Under the Montreal Protocol 2000, MBr has been banned exempted for critical use and it is scheduled to be eliminated completely as of 2015. Several developed countries are intensively seeking for biofumigants as an alternative substances to substitute MBr. This paper discusses glucosinolate (GSL), one of the most prospective biofumigant, including its biosynthesis, hydrolysis process and their products, effect on soilborne pathogen and other soil microorganisms, as well as its prospect and constrains of the development of biofumigant in agricultural system in Indonesia. There are about 350 genus and 2500 spesies of Brassicaceae plants known to contain GSLs. The GSLs are secondary metabolites that contain sulfur, nitrogen and a group of glucose. The GSL is only hydrolysed when it is contacted with myrosinase enzym in the presence of water, commonly ocured when plant tissue is damaged. Various hydrolysis products of volatile and non volatile compounds are known such as isothiocyanates (ITCs), ion thiocyanates (SCN<sup>-</sup>), nitrile, epithionitrile, indolyl alcohol, amine, organic cyanide and oxazolidinethion. Type of hydrolysed products depends on soil temperature, pH, and soil types. Ample evidences support the use of ITCs to control soilborne pathogens and yet to obtain effective control in a large scale application, especially

in Indonesia, needs more comprehensive studies, such as exploration of biofumigant sources from indigenous or local species of Brassicaceae, application methods (cropping system, rotation, intercropping, or cover crop) and other abiotic factors affecting the hydrolysis process of GSL in soil.

Keyword: Brassicaceae, biofumigant, hydrolysis, plant source, prospect, Indonesia.

## PENDAHULUAN

Metil bromida ( $\text{CH}_3\text{Br}$ ) adalah senyawa kimia sintetik berupa gas (fumigan) yang tidak berwarna, tidak berbau, tidak mudah terbakar dalam udara, dan banyak digunakan sebagai pestisida berspektrum luas untuk mengendalikan serangga, nematoda, dan patogen yang ada di dalam tanah dan di gudang. Penggunaan metil bromida di dunia mencapai 76 ribu ton; paling banyak digunakan di Amerika (43%), Eropa (24%), Asia (24%), serta Amerika Selatan dan Afrika (9%) (Manuwoto, 2000). Sebelum dimulainya program pengurangan penggunaannya di Amerika Serikat tahun 1999, metil bromida sangat dominan digunakan dalam bidang pertanian; tercatat dari sekitar 30 ribu ton fumigan, 75% di antaranya digunakan untuk fumigasi lahan pertanian, 11% untuk fumigasi produk hasil panen dalam gudang penyimpanan dan keperluan impor-ekspor, 6% untuk industri pengolahan pangan, museum, alat angkut, dan gudang, serta sisanya 8% untuk menghasilkan bahan kimia lain (Agriculture Research Service, 2002). Di Indonesia, penggunaan metil bromida selama tahun 1993-1997 rata-rata mencapai 250 ton per tahun, terutama untuk komoditas beras, dan kopi (10-20 ton/tahun) dan kayu/furniture (7-16 ton/tahun) (Manuwoto, 2000).

Metil bromida termasuk salah satu senyawa perusak ozon (ozon depleting substances), di samping kloro fluoro karbon (CFC), karbon tetra klorida, metil klorofom, hidrokloro fluoro karbon, hidrobrom fluoro karbon, yang sudah dilarang penggunaannya di dunia berdasarkan kesepakatan Montreal Protocol tahun 2000, dan metil bromida harus dimusnahkan di seluruh dunia pada tahun 2015 (Sarma dan Bankozeba,

2000). Di Indonesia, pemerintah melalui peraturan Menteri Perdagangan No. 24/M-Dag/PER/6/2006 memutuskan bahwa mulai tanggal 1 Januari 2008, penggunaan metil bromida dilarang, kecuali untuk tujuan karantina dan pra pengapalan. Dampak dari pelarangan metil bromida dirasakan sangat berat, khususnya dalam bidang pertanian karena sampai sekarang belum ada satupun senyawa yang dapat menandingi kemanjuran metil bromida untuk mengendalikan OPT dalam tanah dan gudang-gudang penyimpanan. Oleh karena itu, di negara-negara maju seperti Amerika Serikat, Jepang, Australia, dan negara-negara di Eropa, sudah gencar melakukan penelitian untuk mencari alternatif pengganti metil bromida. Salah satu sumber penghasil senyawa fumigan yang banyak diteliti adalah biofumigan.

Tulisan ini akan membahas senyawa biofumigan, khususnya biosintesis dan hidrolisis senyawa biofumigan dan turunannya, sumber tanaman penghasil biofumigan, pengaruh biofumigan terhadap patogen tular tanah dan mikroorganisme lainnya, serta prospek dan kendala pemanfaatan biofumigan di Indonesia.

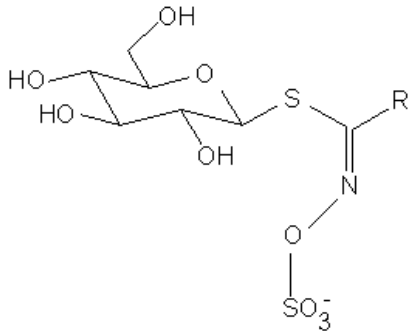
## BIOFUMIGAN

Biofumigan adalah senyawa yang mudah menguap (volatile) yang berasal dari alam dan bersifat biosida terhadap serangga dan patogen tanaman (Kirkegaard dan Sarwar, 1998). Mathiessen (2001) menyebut biofumigan sebagai '*gentle fumigant*' karena efeknya yang selektif hanya pada patogen tertentu saja. Sebetulnya banyak ragam jenis senyawa biofumigan. Satu di antaranya adalah minyak atsiri (essential oils) yang dapat diekstraksi dari daun, bunga, biji, atau kulit dari berbagai jenis tanaman yang tumbuh baik di daerah tropik maupun subtropik. Sayangnya, potensi minyak atsiri masih belum banyak digali untuk digunakan sebagai biofumigan. Senyawa biofumigan lain yang telah banyak diteliti bahkan dimanfaatkan sebagai biofumigan adalah glukosinolat (GSL) yang berasal dari famili kubis-kubisan (Brassicaceae). Ada sekitar 350 genera dan 2500 spesies famili Brassicaceae yang diketahui mengandung

senyawa GSL (Rosa *et al.*, 1997). Kelompok tanaman lainnya yang juga mengandung senyawa GSL adalah Capparaceae, Moringaceae, Resedaceae, dan Tovariaceae (Fenwick *et al.*, 1983). Kandungan GSL pada Brassicaceae ternyata paling tinggi dibandingkan dengan pada tanaman lainnya (Rosa dan Rodriguez, 1999).

## BIOSINTESIS SENYAWA GLUKOSINOLAT

Glukosinolat (GSL) merupakan senyawa yang mengandung nitrogen dan belerang hasil metabolit sekunder tanaman (Gambar 1) (Harborne *et al.*, 1999). Kandungan belerang dan nitrogen tersebut berasal dari asam amino yang mengandung sulfat dan moiety tioglukosa (Halkier dan Du, 1997).



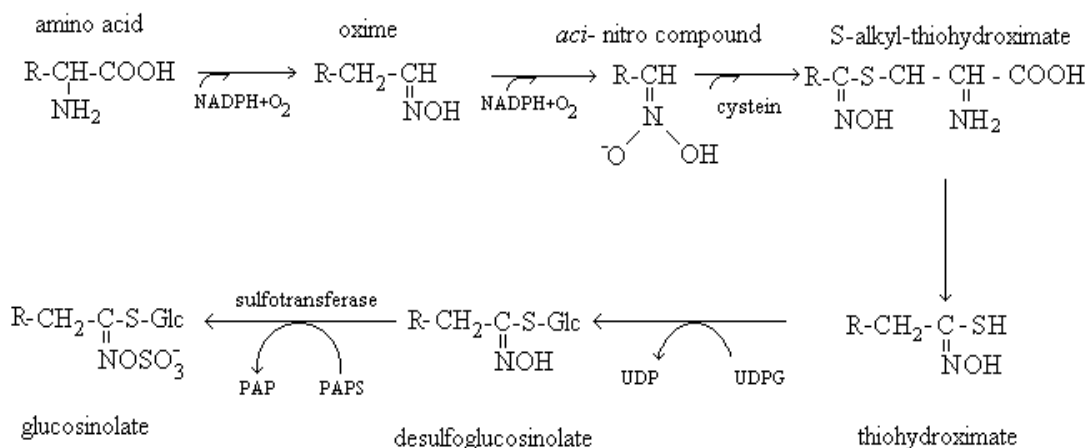
Gambar 1. Struktur umum glukosinolat (R merupakan rantai samping yang bervariasi). Sumber Bones dan Rossiter (1996)

Menurut Fahey *et al.* (2001) ada tiga tahap biosintesis GSL (Gambar 2). Pertama, asam-asam amino suatu protein mengalami pemanjangan

dengan bantuan enzim glyoxylate amino-transferase membentuk asam 2-oxo- sesuai dengan sumber asam aminonya (Bones dan Rossiter, 1996). Tahap kedua glukon terinsersi sehingga rantai samping termodifikasi. Rantai alifatik (misalnya alkil, alkenil, hidroksialkenil, w-metiltoalkil) berasal dari metionin, rantai heterosiklik (misalnya indolil) berasal dari fenilalanin, dan rantai aromatik (misalnya bensil) berasal dari triptofan (Bones dan Rossiter, 1996).

Sampai saat ini lebih dari 120 macam GSL (baik dari kelompok alifatik aromatik, maupun indolil telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi (Fahey *et al.*, 2001), namun hanya 30-40 jenis GSL dari kelompok Brassicaceae.

GSL terdapat pada seluruh bagian tanaman, mulai dari akar, batang, daun, bunga, sampai biji. Dalam satu tanaman biasanya mengandung lebih dari satu macam GSL. Kandungan GSL dalam tanaman tergantung pada jenis jaringan, umur, kesehatan serta tingkat nutrisi tanaman. Sedangkan produksi GSL pada suatu tanaman dipengaruhi oleh teknik budidaya, iklim, dan tanah tempat tumbuh (Fenwick *et al.*, 1983) serta umur tanaman. Misalnya, pupuk yang mengandung belerang akan meningkatkan kandungan GSL, tetapi pupuk nitrat akan menurunkannya (Josefsson, 1970). Hasil penelitian Kirkegaard *et al.* (1996) menunjukkan bahwa jaringan tanaman yang diberikan pada saat masih berbunga daya hambatnya terhadap pertumbuhan cendawan *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *R. solani*, *Fusarium*



Gambar 2. Biosintesis glukosinolat (Diadaptasi dari Glendening dan Poulton, 1988; Halkier dan Du, 1997)

*graminearum*, *Pythium irregulare*, dan *Bipolaris sorokiniana* lebih tinggi dibandingkan jaringan yang berasal dari tanaman yang sudah tua.

Sebenarnya GSL bukanlah senyawa yang toksik terhadap mikroorganismenya, tetapi setelah melalui proses hidrolisis maka GSL akan membentuk senyawa-senyawa yang berperan dalam berbagai fungsi fisiologis, misalnya rasa yang menyengat pada mustard; bau spesifik sayuran golongan kubis/sawi; atau sebagai sistem pertahanan tanaman terhadap serangan hama dan patogen (Bones dan Rossiter, 1996).

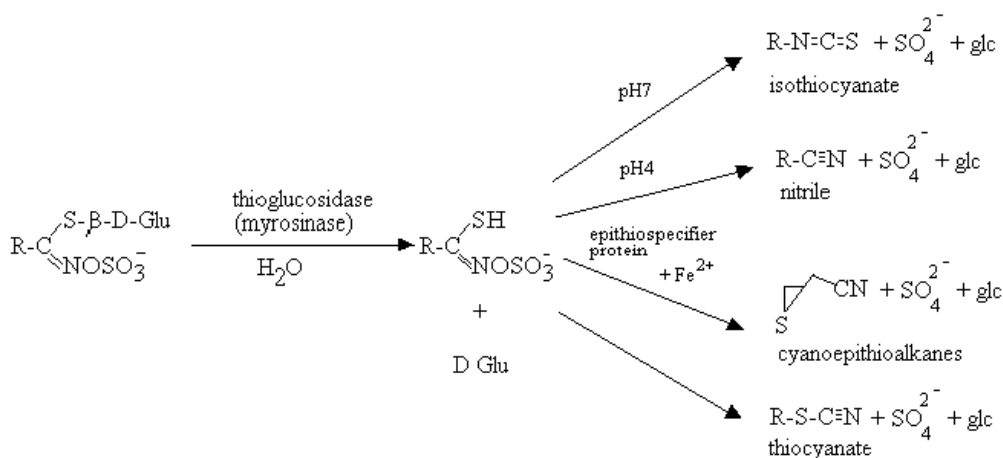
### PROSES HIDROLISIS SENYAWA BIOFUMIGAN

Proses hidrolisis GSL terjadi jika senyawa ini kontak dengan enzim mirosinase dan air tersedia (Rosa *et al.*, 1997). Enzim mirosinase ( $\beta$ -thioglucoside glucohydrolase) tidak hanya dihasilkan oleh tanaman yang menghasilkan GSL, tapi juga dihasilkan oleh jamur (*Aspergillus niger*, *A. sydowi* dan *A. niger*) bakteri (*Enterobacter cloacae* dan *Paraclostridium aerogenoides*) (Fenwick *et al.*, 1983), serangga (*Brevicoryne brassicae* dan *Lipaphis erisimi*) (MacGibbon dan Allison, 1971), bahkan kelompok hewan besar seperti mamalia (Goodman *et al.*, 1959).

Di dalam tanaman penghasil GSL, enzim mirosinase dihasilkan oleh sel-sel mirosin yang letaknya terpisah dari vakuola yang

mengandung GSL (Bones dan Iversen, 1985). Hidrolisis GSL akan dimulai apabila terjadi kontak antara GSL dengan mirosinase, biasanya melalui pelukaan jaringan tanaman robek (Bones dan Rossiter, 1996). Hasil hidrolisis senyawa GSL adalah senyawa-senyawa, baik yang bersifat volatile (mudah menguap) maupun tidak, misalnya isotiosianat (ITS), ion tiosianat ( $\text{SCN}^-$ ), nitril, epitionitril (Gambar 3) (Rosa *et al.*, 1997), indolil alkohol, amin, sianid organik dan oksazolidinon. Sedangkan menurut Rask *et al.* (2000), hanya kelompok alifatik dan aromatik yang menghasilkan ITS sedangkan kelompok indolil tidak. Senyawa-senyawa yang dihasilkan tersebut tergantung suhu, pH, dan kadar air tanah. Hidrolisis GSL yang terjadi pada tanah masam (pH rendah) cenderung menghasilkan nitril (Rosa *et al.*, 1997).

Smolinska *et al.* (1997) melaporkan bahwa bungkil canola yang diperlakukan berbeda akan menghasilkan senyawa hidrolisis yang berbeda pula. Hidrolisis GSL dari bungkil yang dipanaskan dengan otoklaf menghasilkan nitril, sementara yang tidak diotoklaf menghasilkan lebih banyak ITS. Di antara semua senyawa yang dihasilkan, ITS merupakan senyawa yang paling toksik sehingga berperan sebagai biofumigan. Dilaporkan bahwa ITS sangat beracun bagi patogen-patogen tular tanah seperti jamur *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Fusarium*, *Bipolaris* (Sarwar *et al.*, 1998), *Rhizoctonia solani*



Gambar 3. Hidrolisis senyawa glucosalicilat menjadi beberapa senyawa turunannya (Diadaptasi dari Rosa *et al.*, 1997)

(Sarwar *et al.*, 1998; Charron dan Sams, 1999; Manici *et al.*, 2000), dan *Pythium* (Sarwar *et al.*, 1998; Charron dan Sams, 1999) bahkan terhadap bakteri *Ralstonia solanacearum* (Arthy *et al.*, 2005; Kirkegaard, 2007) serta nematoda *Pratylenchus* (Mazzola *et al.*, 2007) dan *Meloidogyne* (Kirkegaard, 2007).

Derivat-derivat ITS tidak hanya berfungsi sebagai biofumigan, tetapi juga berkhasiat sebagai obat. Misalnya, ITS dari tanaman kubis-kubisan seperti brokoli dan selada mengandung senyawa antikarsinogen yang cukup ampuh (Zhang dan Thalalay, 1994; Verhoeven *et al.*, 1997), allyl ITS untuk mengobati kanker prostat (Xiao *et al.*, 2003) dan phenetyl ITS untuk menghambat pertumbuhan kanker indung telur (Satyan *et al.*, 2006). Di samping itu, senyawa-senyawa turunan ITS juga bersifat antibakteri, seperti benzyl ITS digunakan untuk pengobatan gangguan infeksi bakteri pada saluran kencing dan sistem pernafasan (Mennicke *et al.*, 1988) dan allyl ITS untuk mencegah kontaminasi *Escherichia coli* dan bakteri aerob mesofilik pada daging cincang sehingga lebih tahan lama (Chacon *et al.*, 2006). Tepung mustard (10-20%) juga pernah digunakan untuk membunuh bakteri-bakteri kontaminan makanan (*Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, dan *Salmonella enterica* Serovar *Typhimurium*) (Rhee *et al.*, 2003).

#### FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI HIDROLISIS SENYAWA BIOFUMIGAN

Hidrolisis GSL yang menghasilkan ITS terjadi pada saat jaringan tanaman yang berasal dari pembenaman sisa tanaman Brassicaceae. Namun, tingginya kandungan GSL dalam jaringan tanaman belum menjamin tingginya kadar ITS yang dihasilkan selama proses hidrolisis dalam tanah. Ada faktor-faktor lain yang mempunyai peran cukup penting agar proses hidrolisis GSL optimum, misalnya ketersediaan air (Matthiessen, 2002) dan kecepatan rusaknya jaringan tanaman (Kirkegaard *et al.*, 2001). Brown dan Morra (2005)

menyatakan bahwa tingkat kelarutan ITS dalam air berpengaruh terhadap tingkat toksisitasnya (meskipun tidak mutlak). Tsao *et al.* (2000) juga melaporkan bahwa senyawa ITS yang terbentuk cenderung lebih stabil pada air yang berada pada permukaan tanah agak dalam.

Suhu tanah dan penutupan juga berpengaruh terhadap stabilitas senyawa ITS. Gamliel dan Stapelton (1993) melaporkan bahwa tanah yang dicampur dengan sisa-sisa tanaman kubis 2:100 (2%) kemudian dipanaskan akan menghasilkan senyawa-senyawa turunan ITS yang lebih efektif dibandingkan dengan tanah dan campuran sisa-sisa kubis itu tidak dipanaskan. Selanjutnya, penurunan propagul *Pythium ultimum* dan *S. rolfsii* masing-masing mencapai 75% dan 93%, tetapi tanpa pemanasan penurunannya hanya sekitar 15% dan 12%. Di samping itu viabilitas cendawan *R. solani*, *Verticillium dahliae*, dan *Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi* menurun secara drastis pada lahan yang diberi sisa tanaman brokoli segar dosis 3,4-4,0 kg/m<sup>2</sup> kemudian ditutup dengan terpal plastik.

#### TANAMAN PENGHASIL BIOFUMIGAN

Sampai saat ini tanaman penghasil GSL yang paling banyak digunakan adalah tanaman yang berasal dari famili Brassicaceae. Di Amerika Serikat, Eropa dan Australia para pemulia tanaman sengaja menciptakan varietas baru yang memiliki kandungan GSL yang tinggi dan sudah dikomersialkan sebagai *cover crop* atau pupuk hijau. Misalnya BQ mulch<sup>TM</sup> merupakan campuran dari spesies *Brassica napus* dan *B. rapa* produksi Australia, Caliente 61 dan Caliente 99 (*B. nigra*) produksi Italia, Humus (Rapeseed), Ida Gold (*Sinapsis alba*) dan Pasific Gold (*B. juncea*) produksi Amerika Serikat.

Selain tanaman tersebut di atas, beberapa spesies sayuran banyak digunakan sebagai sumber biofumigan (Tabel 1) karena produk ITS yang dihasilkan (Tabel 2).

Di beberapa negara maju tanaman-tanaman tersebut digunakan sebagai tanaman rotasi dan sisa tanamannya digunakan sebagai pupuk hijau.

Tabel 1. Daftar tanaman famili Brassicaceae yang digunakan sebagai biofumigan

No	Nama	Patogen yang dikendalikan	Sumber
1.	<i>Brassica nigra</i> dari berbagai tipe/varietas (kelompok mustard)	<i>Ralstonia solanacearum</i> <i>Globodera rostochiensis</i> , <i>Meloidogyne chitwoodii</i> <i>Fusarium oxysporum</i>	Kirkegaard (2007) Smolinska <i>et al.</i> (2003) Yulianti <i>et al.</i> (2007)
2.	<i>Raphanus sativus</i>	<i>Pratylenchus penetrans</i> , <i>Globodera rostochiensis</i> , <i>Meloidogyne chitwoodii</i>	Kirkegaard (2007)
3.	<i>B. juncea</i>	<i>Ralstonia solanacearum</i> , <i>Pratylenchus</i> spp. <i>Fusarium oxysporum</i>	Kirkegaard (2007) Taylor (2005) Mazolla <i>et al.</i> (2007) Smolinska <i>et al.</i> (2003) Harvey <i>et al.</i> (2002)
4.	<i>B. oleracea</i>	<i>Sclerotium rolfsii</i> <i>Verticillium dahliae</i> <i>Pseudomonas marginalis</i>	Subbarao <i>et al.</i> (1999) Charron dan Sam (2002)
5.	<i>Sinapsis alba</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	Smolinska <i>et al.</i> (2003)
6.	<i>B. carinata</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	Smolinska <i>et al.</i> (2003)
7.	<i>Brassica</i> spp.	<i>Pratylenchus neglectus</i>	Potter (1998)

Tabel 2. Contoh beberapa jenis tanaman penghasil senyawa isotiosianat

No.	Asal tanaman	Jenis ITS	Sumber
1.	Famili Capparales	Methyl	Sarwar <i>et al.</i> (1998)
2.	<i>Brassica</i> spp. (terutama akar)	Phenyl ethyl	Sarwar <i>et al.</i> (1998)
3.	<i>B. carinata</i> ,	Propenyl (Ally)	Smolinska <i>et al.</i> (2003)
4.	<i>B. juncea</i>	Propenyl (Ally)	Sarwar <i>et al.</i> (1998) Smolinska <i>et al.</i> (2003) Sarwar <i>et al.</i> (1998) Harvey <i>et al.</i> (2002)
5.	<i>B. nigra</i>	2-Propenyl (Allyl)	Smolinska <i>et al.</i> (2003) Yulianti <i>et al.</i> (2007)
6.	<i>B. rapa</i>	3-butenyl 4-pentenyl 2-phenylethyl	Miyasawa <i>et al.</i> (2004)
7.	<i>B. napus</i>	3-Butenyl 4-Pentenyl	Sarwar <i>et al.</i> (1998)
8.	<i>B. campestris</i>	3-Butenyl 4-Pentenyl	Sarwar <i>et al.</i> (1998)
9.	<i>Diplotaxis tenuifolia</i>	3-Butenyl 4-Methyl thiobutyl	Yulianti <i>et al.</i> (2007)
10.	<i>Sinapsis</i> spp.	Benzyl	Sarwar <i>et al.</i> (1998)
11.	<i>Lepidium sativum</i>	Benzyl	Ishimoto <i>et al.</i> (2004)

Jadi selain berperan sebagai sumber biofumigan bagi hama, patogen tanah, dan gulma (Rosa dan Rodriguez, 1999), tanaman ini juga digunakan untuk menambah kandungan bahan organik di dalam tanah. Pada saat sisa-sisa tanaman dihancurkan kemudian ditanam, terjadilah proses hidrolisis GSL dan terbentuklah senyawa-senyawa yang beracun. Senyawa inilah yang diharapkan berfungsi sebagai biofumigan untuk mengendalikan populasi patogen tanah. Sementara itu dekomposisi bahan organiknya

akan memperbaiki kesuburan tanah, memperbaiki infiltrasi tanah (McGuire, 2003); menyediakan Nitrogen bagi tanaman berikutnya (Thorup-Kristensen *et al.*, 2003); melestarikan kualitas dan kesehatan tanah serta mendukung produktivitas tanah tersebut (Magdoff dan Weil, 2004) serta menahan air, khususnya pada tanah-tanah berpasir (Stevenson, 1994).

Ketika tanaman Brassicaceae digunakan sebagai tanaman rotasi, beberapa patogen yang bertahan hidup di dalam tanah diharapkan

sudah mulai tertekan. Pada saat tanaman tumbuh dan berkembang, GSL dan enzim myrosinase yang diproduksi sebagian ada yang keluar jaringan bersama eksudat akar merembes ke dalam tanah (Yamane *et al.*, 1992; Borek *et al.*, 1996; Kirkegaard *et al.*, 2001).

Selain daun dan akar, bungkil biji tanaman Brassicaceae juga digunakan sebagai sumber biofumigan. Kandungan GSL paling tinggi ada pada biji, sekitar 5% (Sang *et al.*, 1984). Canola (*B. napus*) merupakan salah satu spesies Brassicaceae yang dimanfaatkan bijinya sebagai sumber minyak nabati. Ampas (bungkil) bijinya masih mengandung GSL cukup tinggi dan merupakan sampah industri yang perlu ditangani. Brown dan Morra (2005) serta koleganya merupakan peneliti yang banyak mempelajari dan menganjurkan penggunaan bungkil biji Brassicaceae sebagai sumber biofumigan.

#### PENGARUH SENYAWA BIOFUMIGAN TERHADAP PATOGEN TULAR TANAH DAN MIKROORGANISME LAIN

Meskipun Mathiessen (2001) menyatakan bahwa biofumigan bersifat 'gentle fumigant' karena efeknya yang selektif hanya pada patogen tertentu saja, senyawa beracun yang dihasilkan

selama proses dekomposisi sisa tanaman Brassicaceae juga akan berpengaruh terhadap mikroorganisme tanah dengan respon yang berbeda. Tingkat penekanan pertumbuhan mikroorganisme dipengaruhi oleh kadar dan jenis ITS yang dihasilkan. Jenis ITS yang dihasilkan tergantung dari jenis GSL yang terhidrolisis. Setiap jenis ITS memiliki tingkat toksisitas yang berbeda terhadap mikroorganisme yang berbeda. Tabel di bawah ini merupakan contoh gambaran ITS yang berhasil diidentifikasi ketika tanaman *Brassica* efektif digunakan mengendalikan patogen penyebab penyakit tertentu (Tabel 3 dan 4). Smith dan Kirkegaard (2002) menguji ketahanan beberapa mikroorganisme terhadap 2-phenyl ethyl ITS dan menyimpulkan bahwa kelompok bakteri lebih toleran dibandingkan kelompok eukariotik. Di antara kelompok eukariotik ternyata *Trichoderma* paling toleran terhadap senyawa ITS dibandingkan *Phytophthora*, *Sclerotium*, *Pythium*, *Rhizoctonia solani*, *Aphanomyces*, *Geomanomyces*, dan *Thielaviopsis*. Bakteri gram positif juga lebih sensitif terhadap ITS dibandingkan gram negatif (Brown dan Morra, 2005).

Tabel 3. Pengaruh senyawa-senyawa turunan isotiosianat (ITS) terhadap jamur

Jamur	Konsentrasi		Kriteria evaluasi
	$\mu\text{g mL}^{-1}$	[M]	
<b>Methyl ITS</b>			
<i>Aspergillus niger</i>	110	$15 \times 10^{-4}$	Pertumbuhan terhambat 100% >14 hr
<i>Monilia sitophila</i>	<7	$<10 \times 10^{-5}$	Pertumbuhan terhambat 100%
<i>Penicillium glaucum</i>	2	$27 \times 10^{-6}$	Dosis minimum untuk menghambat pertumbuhan
<i>Penicillium cyclopium</i>	110	$15 \times 10^{-4}$	Pertumbuhan terhambat 100% >14 hr
<i>Rhizopus oryzae</i>	28	$38 \times 10^{-5}$	Pertumbuhan terhambat 100% >14 hr
<b>Ethyl ITS</b>			
<i>Aspergillus niger</i>	122	$14 \times 10^{-4}$	Pertumbuhan terhambat 100% sampai 4 hr
<i>Colletotrichum circinans</i>	40	$46 \times 10^{-5}$	Tidak ada efek
<i>Penicillium cyclopium</i>	>261	$>30 \times 10^{-4}$	Pertumbuhan terhambat 100% 14 hr
<i>Rhizopus oryzae</i>	261	$30 \times 10^{-4}$	Pertumbuhan terhambat 100% >14 hr
<b>Allyl ITS</b>			
<i>Aspergillus alliaceus</i>	5	$51 \times 10^{-6}$	Pertumbuhan terhambat 100%
<i>Aspergillus niger</i>	65	$66 \times 10^{-5}$	Pertumbuhan terhambat 100% sampai 4 hr
<i>Botrytis allii</i>	40	$40 \times 10^{-5}$	Pertumbuhan terhambat 100%

Tabel 3 lanjutan ...

Jamur	Konsentrasi		Kriteria evaluasi
	$\mu\text{g mL}^{-1}$	[M]	
<i>Fusarium sp.</i>	>99	$>10 \times 10^{-4}$	Pertumbuhan terhambat 100%
<i>Fusarium oxysporum</i>	0.022	$22 \times 10^{-8}$	Pertumbuhan terhambat 100%
<i>Fusarium solani</i>	0.034	$34 \times 10^{-8}$	Pertumbuhan terhambat 100%
<i>Monilia laxa</i>	300	$30 \times 10^{-4}$	Dosis minimum untuk menghambat perkecambahan
<i>Monilia sitophila</i>	<10	$<10 \times 10^{-5}$	Pertumbuhan terhambat 100%
<i>Mucor piriformis</i>	150	$15 \times 10^{-4}$	Dosis minimum untuk menghambat perkecambahan
<i>Penicillium chrysogenum</i>	0.062	$63 \times 10^{-8}$	Pertumbuhan terhambat 100%
<i>Penicillium cyclopium</i>	151	$15 \times 10^{-4}$	Pertumbuhan terhambat 100% >14 hr
<i>Penicillium expansum</i>	600	$61 \times 10^{-4}$	Dosis minimum untuk menghambat perkecambahan
<i>Penicillium glaucum</i>	9	$91 \times 10^{-6}$	Dosis minimum untuk menghambat pertumbuhan
<i>Rhizopus oryzae</i>	74	$75 \times 10^{-5}$	Pertumbuhan terhambat 100% sampai 6 hr
<i>Rhizopus stolonifer</i>	600	$61 \times 10^{-4}$	Dosis minimum untuk menghambat perkecambahan
<b>5-Methylthiopentyl ITS</b>			
<i>Penicillium glaucum</i>	31	$18 \times 10^{-5}$	Dosis minimum untuk menghambat pertumbuhan
<i>Aspergillus niger</i>	66	$38 \times 10^{-5}$	Pertumbuhan terhambat 100% >14 hr
<i>Penicillium cyclopium</i>	66	$38 \times 10^{-5}$	Pertumbuhan terhambat 100% >14 hr
<b>4-Methylsulfinyl-3-butenyl ITS</b>			
<i>Botrytis cinerea</i>	230	$13 \times 10^{-4}$	Dosis minimum untuk menghambat perkecambahan
<i>Monilia laxa</i>	20	$11 \times 10^{-5}$	Dosis minimum untuk menghambat perkecambahan
<i>Monilia piriformis</i>	460	$26 \times 10^{-4}$	Dosis minimum untuk menghambat perkecambahan
<i>Penicillium expansum</i>	930	$53 \times 10^{-4}$	Dosis minimum untuk menghambat perkecambahan
<i>Rhizopus stolonifer</i>	290	$17 \times 10^{-4}$	Dosis minimum untuk menghambat perkecambahan
<b>Benzyl TS</b>			
<i>Aspergillus niger</i>	57	$38 \times 10^{-5}$	Pertumbuhan terhambat 100% >14 hr
<i>Cytospora sp.</i>	<75	$<50 \times 10^{-5}$	Pertumbuhan terhambat 100%
<i>Fusarium sp.</i>	<1.5	$<10 \times 10^{-6}$	Pertumbuhan terhambat 100%
<i>Monilia sitophila</i>	<1.5	$<10 \times 10^{-6}$	Pertumbuhan terhambat 100%
<i>Penicillium cyclopium</i>	57	$38 \times 10^{-5}$	Pertumbuhan terhambat 100% >14 hr
<i>Penicillium glaucum</i>	2	$13 \times 10^{-6}$	Dosis minimum untuk menghambat pertumbuhan
<i>Phytophthora palmivora</i>	1490	$10 \times 10^{-3}$	Lethal
<i>Rhizopus oryzae</i>	194	$13 \times 10^{-4}$	Pertumbuhan terhambat 100% sampai 6 hr
<b>Phenylethyl ITS</b>			
<i>Aspergillus alliaceus</i>	20	$12 \times 10^{-5}$	Pertumbuhan terhambat 100%
<i>Aspergillus niger</i>	12	$75 \times 10^{-6}$	Pertumbuhan terhambat 100% >14 hr
<i>Fusarium sp.</i>	20	$12 \times 10^{-5}$	Pertumbuhan terhambat 100%
<i>Penicillium cyclopium</i>	12	$76 \times 10^{-6}$	Pertumbuhan terhambat 100% sampai 6 hr
<i>Penicillium glaucum</i>	5	$31 \times 10^{-6}$	Dosis minimum untuk menghambat pertumbuhan
<i>Rhizopus oryzae</i>	>122	$>75 \times 10^{-5}$	Pertumbuhan terhambat 50% sampai 6 hr
<b>4-Hydroxybenzyl ITC</b>			
<i>Botrytis cinerea</i>	450	$27 \times 10^{-4}$	Dosis minimum untuk menghambat perkecambahan
<i>Monilia laxa</i>	90	$55 \times 10^{-5}$	Dosis minimum untuk menghambat perkecambahan
<i>Monilia piriformis</i>	220	$13 \times 10^{-4}$	Dosis minimum untuk menghambat perkecambahan
<i>Penicillium expansum</i>	90	$55 \times 10^{-5}$	Dosis minimum untuk menghambat perkecambahan
<i>Penicillium glaucum</i>	2000	$12 \times 10^{-3}$	Dosis minimum untuk menghambat pertumbuhan
<i>Rhizopus stolonifer</i>	1800	$11 \times 10^{-3}$	Dosis minimum untuk menghambat perkecambahan

Sumber : Diadaptasi dari Brown dan Morra, 2005



Tabel 4. Pengaruh senyawa-senyawa turunan isotiosianat terhadap bakteri

Bakteri	Konsentrasi		Kriteria evaluasi
	$\mu\text{g mL}^{-1}$	[M]	
<b>Methyl ITC</b>			
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	$15 \times 10^{-5}$	Dosis minimum untuk menghambat pertumbuhan
<b>Allyl ITC</b>			
<i>Bacillus subtilis</i>	0.11	$11 \times 10^{-7}$	Pertumbuhan terhambat 100%
<i>Bacillus cereus</i>	0.09	$91 \times 10^{-8}$	Pertumbuhan terhambat 100%
<i>Escherichia coli</i>	36	$36 \times 10^{-5}$	Pertumbuhan terlambat 36 jam
<i>Escherichia coli</i>	0.034	$34 \times 10^{-8}$	Pertumbuhan terhambat 100%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27	$27 \times 10^{-5}$	Pertumbuhan terlambat 45 jam
<i>Pseudomonas fragi</i>	16	$16 \times 10^{-5}$	Pertumbuhan terlambat 40 jam
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.11	$11 \times 10^{-7}$	Pertumbuhan terhambat 100%
<b>5-Methylthiopentyl ITC</b>			
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	$29 \times 10^{-6}$	Dosis minimum untuk menghambat pertumbuhan
<b>Benzyl ITC</b>			
<i>Escherichia coli</i>	3	$21 \times 10^{-6}$	Dosis minimum untuk menghambat pertumbuhan
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	$13 \times 10^{-6}$	Dosis minimum untuk menghambat pertumbuhan
<b>Phenylethyl ITC</b>			
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	$25 \times 10^{-6}$	Dosis minimum untuk menghambat pertumbuhan

Sumber : Diadaptasi dari Brown dan Morra, 2005

## FAKTOR YANG MEMPENGARUHI CARA KERJA BIOFUMIGAN DALAM MENEKAN PATOGEN

Meskipun banyak bukti menunjukkan bahwa ITS merupakan senyawa yang mempunyai efek bakteriostatik-bakterisidal maupun fungistatik-fungisidal (Tabel 3 dan 4), namun faktor lain juga ikut berperan dalam pengendalian patogen-patogen penyebab penyakit tanaman di lapang.

### Tingkat Konsentrasi dan Jenis ITS

Untuk mencapai tahap bakterisidal ataupun fungisidal, diperlukan konsentrasi ITS yang cukup tinggi. Selain itu jenis tanaman yang dicobakan sebaiknya disesuaikan dengan patogen yang akan dikendalikan sebab masing-masing patogen mempunyai tingkat sensitivitas yang berbeda (Tabel 3 dan 4).

### Aktivitas Mikroorganisme Lain

Seperti yang dinyatakan di atas, konsentrasi ITS di dalam tanah harus tinggi agar bersifat

biosida. Pada konsentrasi rendah ITS mungkin hanya bersifat fungistatik atau bakteriostatik atau melemahkan kondisi patogen. Di saat konsentrasi ITS di dalam tanah sangat rendah atau tidak bisa dideteksi lagi, sisa-sisa tanaman menyediakan nutrisi bagi mikroorganisme dekomposer yang juga bisa berperan sebagai antagonis (Yulianti, 2004). Smolinska (2000) melaporkan bahwa populasi bakteri dan jamur dalam tanah meningkat setelah diberi sisa tanaman kubis dan mampu menurunkan jumlah inokulum *Sclerotium cepivorum* dan *Fusarium oxysporum*. Selain itu ada jenis mikroorganisme tertentu yang hidup di perakaran yang menghasilkan enzim myrosinase sehingga membantu meningkatkan produksi ITS. Ishimoto, *et al.* (2004) melaporkan bahwa produksi benzyl ITS pada tanaman *Lepidium sativum* yang banyak mengandung GSL (glucotropaeolin) meningkat karena adanya strain *Fusarium* Ls-F-in-4-1 yang hidup pada daerah perakaran. Aktivitas tersebut membantu meningkatkan ketahanan kecambah *L. sativum* terhadap infeksi *Pythium ultimum*. Strain *Fusarium* ini non patogenik dan selain mampu

menginduksi myrosinase tanaman juga menghasilkan enzim myrosinase.

## PROSPEK PENGEMBANGAN GSL SEBAGAI BIOFUMIGAN DI INDONESIA DAN KENDALANYA

### Prospek Biofumigan di Indonesia

Penggunaan tanaman Brassicaceae sebagai pengganti biofumigan di negara maju sudah cukup banyak dan sudah mulai diperkenalkan di beberapa negara berkembang. Di Filipina ada beberapa tanaman Brassicaceae yang berpotensi menjadi tanaman rotasi untuk mengendalikan *R. solanacearum* dan *Meloidogyne* spp. pada tanaman solanaceae (Kirkegaard, 2007). Serangan bakteri *R. solanacearum* pada tanaman tomat turun dari 80% ke 15% ketika tanahnya diberi sisa tanaman mustard, bahkan produksi tomat meningkat sepuluh kali lipat (2.5 sampai 20 t/ha). Penggunaannya sudah mulai diadopsi oleh petani di Mindanao dan Banquet melalui serangkaian sekolah lapang yang diadakan oleh ACIAR. Pengenalan tersebut meluas melalui jaringan petani, trainer, peneliti di Asia Pasifik juga Nepal, Cina, dan Taiwan yang bekerja sama dengan FAO (Kirkegaard, 2007).

Di Indonesia penggunaan biofumigan masih belum dikenal, namun merupakan salah satu alternatif pengendalian yang sangat prospektif. Semakin berkurangnya subsidi pemerintah untuk pestisida maka harga pestisida semakin mahal sehingga semakin sulit dijangkau petani. Penggunaan pestisida alam yang murah dan tersedia di sekitar lingkungan pertanian merupakan salah satu alternatif yang perlu ditawarkan. Salah satunya adalah dengan memanfaatkan tanaman Brassicaceae.

Kepemilikan lahan yang sempit membuat usahatani di Indonesia kebanyakan dengan sistem tumpangsari atau tumpang gilir dengan tanaman yang ekonomis. Salah satu peluang untuk memanfaatkan tanaman Brassicaceae sebagai sumber biofumigan adalah melalui pola tanam, baik ditanam sebagai tanaman rotasi sebelum penanaman tanaman utama atau sebagai tanaman tumpangsari. Rotasi atau tumpangsari

dengan tanaman yang menghasilkan biofumigan selain meningkatkan nilai tambah usaha tani sekaligus sebagai salah satu usaha pengendalian yang murah dan ramah lingkungan. Di Hawaii, misalnya, menanam dan mengkomposkan tanaman *Crotalaria juncea* selama 90 hari sebagai tanaman penutup tanah dan pencegah erosi, diikuti dengan tanaman jenis Brassicaceae (jenis *Raphanus sativa*) selama 70 hari sebagai tanaman penghasil senyawa biofumigan, sebelum tanaman utama (jahe) terbukti dapat memperbaiki sifat kimia dan fisik tanah, serta mampu mereduksi serangan OPT tanah seperti *Meloidogyne incognita* dan *Ralstonia solanacearum* (Johnson dan Shafer, 2003). Namun demikian, penggunaan *R. sativa* tidak boleh terlalu sering karena tanaman ini juga merupakan inang dari *M. incognita*. Dengan demikian, perlu dicari jenis tanaman Brassicaceae lainnya yang bukan merupakan tanaman inang dari OPT.

Indonesia merupakan negara tropik dengan keanekaragaman hayati yang cukup tinggi dan banyak yang belum dieksplorasi. Tidak tertutup kemungkinan mengeksplorasi jenis-jenis Brassicaceae liar yang mengandung GSL tinggi sebagai tanaman penutup tanah (*cover crops*) atau sumber pupuk hijau, sekaligus sebagai biofumigan. Di samping memperhatikan ragam jenis senyawa biofumigan yang dihasilkan tanaman, perlu juga mempertimbangkan adaptasi dari tanaman biofumigan pada berbagai lahan di Indonesia yang bermasalah dengan patogen tular tanah. Tanaman Brassicaceae kemungkinan akan beradaptasi secara baik pada kondisi iklim di dataran tinggi, padahal masalah patogen tular tanah di Indonesia tersebar luas baik pada dataran tinggi maupun dataran rendah. Untuk pengendalian patogen tular tanah di dataran tinggi, kemungkinan jenis-jenis Brassicaceae dari luar negeri yang sudah diketahui mengandung GSL dan ITS dapat diuji adaptasikan pada kondisi iklim di dataran tinggi. Sedangkan untuk dataran rendah, perlu diinventarisasi jenis-jenis Brassicaceae "lokal" yang adaptif dataran rendah. Kalau dimungkinkan maka perlu dilakukan persilangan antara Brassicaceae penghasil GSL dan ITS tinggi

adaptif dataran tinggi dengan jenis lokal adaptif dataran rendah. Informasi bahwa jenis-jenis Brassicaceae juga merupakan sumber senyawa anti karsinogen dan anti bakteri (Zhang dan Thalalay, 1994; Verhoeven *et al.*, 1997; Rhee *et al.*, 2003), perlu dievaluasi secara detail sehingga tanaman ini, walaupun dijadikan sebagai tanaman rotasi atau tumpang sari ternyata juga dapat memberikan manfaat tambahan bagi petani sebagai sumber tanaman obat.

### Kendala dan Cara Mengatasinya

Walaupun hasil-hasil penelitian di luar negeri tentang senyawa biofumigan telah banyak diketahui, khususnya senyawa GSL/ITS dari tanaman Brassicaceae, tetapi penerapannya di Indonesia masih ada kendala terutama karena penggunaan biofumigan asal tanaman masih belum dikenal dan kondisi abiotik dan biotiknya beragam. Beberapa aspek biotik dan abiotik yang akan mempengaruhi efektivitas biofumigan perlu dipelajari secara seksama.

Di samping harus mempertimbangkan masalah efektivitas jenis tanaman biofumigan, perlu juga dipikirkan masalah ekonomi dan sosial petani. Introduksi suatu tanaman baru pada sistem pertanaman yang sudah ada tidak selamanya akan berjalan lancar karena petani sebagai pemilik lahan juga harus mempertimbangkan faktor-faktor lain seperti keinginan konsumen, peluang keuntungan, dan ketersediaan teknologi (bibit dan cara budidaya) dalam menentukan jenis tanaman yang akan ditanam. Penanaman tanaman Brassicaceae sebagai penghasil senyawa biofumigan masih belum dikenal oleh petani Indonesia.

Beberapa faktor abiotik yang berpengaruh terhadap biosintesis maupun hidrolisis GSL dan ITS di dalam tanah, maka kondisi minimal perlu diperhatikan supaya proses biosintesis dan hidrolisis pada lahan pertanaman dapat berlangsung. Efek fungisidal atau bakterisidal biasanya baru terjadi jika konsentrasi ITS di dalam tanah cukup tinggi dan mampu bertahan lama di dalam tanah. Kemampuan ITS membunuh patogen biasanya lebih rendah di dalam tanah dibandingkan dengan di

laboratorium atau di udara (Brown dan Morra, 2005). Sampai saat ini yang menjadi persoalan dalam penggunaan biofumigan adalah efisiensi pelepasan GSL dari jaringan tanaman serta persistensi ITS relatif singkat. Yulianti (2005) mengukur efisiensi pelepasan Allyl ITS dari jaringan tanaman *B. nigra* dan 3 butenyl, serta 4-methyl thiobutyl ITS dari jaringan *D. tenuifolia* yang ditanam ke dalam tanah pasir menunjukkan bahwa efisiensi pelepasan senyawa-senyawa tersebut berkisar antara 1,3-1,8 % untuk Allyl ITS; 2,7-4,4.% untuk butenyl ITS dan 0,6-0,8% untuk methyl thiobutyl ITS dengan konsentrasi maksimum terukur pada hari ke3-5. Gimsing dan Kirkegaard (2006) menyatakan bahwa ITS masih bisa dideteksi 8-12 hari setelah perlakuan dengan efisiensi pelepasan 26-56%. Hal ini menunjukkan bahwa GSL yang ada di dalam jaringan tanaman masih belum terhidrolisis, mungkin disebabkan oleh jaringan tanaman yang ditanam masih utuh atau kadar air di dalam tanah kurang optimum untuk proses hidrolisa maupun untuk stabilitas ITS di dalam tanah (Mathiessen, 2002).

Beberapa usaha untuk meningkatkan konsentrasi senyawa GSL di dalam tanah supaya dapat bekerja secara efektif sebagai biofumigan adalah dengan cara sbb:

1. Mempercepat kerusakan jaringan dengan mencacah sisa tanaman sebelum ditanam agar GSL lebih cepat terlepas dan terhidrolisa.
2. Meningkatkan kelembaban tanah sehingga proses hidrolisa lebih cepat dan ITS bertahan lebih lama karena hasil penelitian Tsao *et al* (2000) menunjukkan bahwa senyawa ITS lebih stabil pada permukaan tanah yang agak lembab. Iklim Indonesia yang basah memberikan peluang yang baik untuk aplikasi biofumigan.
3. Menutup dengan plastik (untuk komoditi bernilai ekonomis tinggi) setelah aplikasi atau setelah penanaman sisa-sisa tanaman.
4. Meskipun biofumigan bersifat broadspektrum, namun masing-masing patogen mempunyai sensitivitas yang berbeda. Penyakit tular tanah di Indonesia cukup banyak ragamnya sehingga perlu eksplorasi jenis dan dosis

Brassicaceae yang tepat untuk masing-masing jenis patogen.

### KESIMPULAN

1. Penggunaan tanaman Brassicaceae sebagai pengganti biofumigan di Indonesia sudah saatnya diperkenalkan dan dimulai sebagai respon dan tindak lanjut Montreal Protocol 2000 dan SK Menteri Perdagangan No. 24/M-Dag/PER/6/2006.
2. Meskipun sudah banyak bukti bahwa ITS yang berasal dari produk hidrolisa GSL yang terkandung dalam tanaman Brassicaceae mampu mengendalikan patogen-patogen tular tanah, masih perlu dieksplorasi dan diteliti potensi Brassicaceae yang ada di Indonesia dalam mengendalikan patogen penyakit tanaman.
3. Potensi Brassicaceae sebagai biofumigan cukup prospektif, namun masih ada beberapa kendala yang perlu diantisipasi agar pemanfaatannya efektif.

### DAFTAR PUSTAKA

- Agriculture Research Service. 2002. The Status of MeBr Alternatives. <http://www.ars.usda.gov/is/np/mba/jul02/status.htm> (Diakses 5 April 2008).
- Angus, J. F., P.A. Gardner, J.A. Kirkegaard, and J.M. Desmarchelier. 1994. Biofumigation: Isothiocyanates released from *Brassica* roots inhibit growth of the take-all fungus. *Plant and Soil* 162:107-112.
- Arthy, J.R., E.B. Akiew, J.A. Kirkegaard, and P.R. Trevorrow. 2005. Using *Brassica* spp. As biofumigants to reduce the population of *Ralstonia solanacearum* in Allen, C., Prior, P., Hayward, A.C. (eds). *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum species complex*. APS Press. St Paul Minnesota, USA. p.159-166.
- Bones, A.M. and J.T. Rossiter. 1996. The myrosinase-glucosinolate system, its organisation and biochemistry. *Physiologia plantarum* 97: 194-208.
- Bones, A.M. and T.H. Iversen. 1985. Myrosinase cells and Myrosinase. *Israel Journal of Botany* 34: 351-376.
- Borek, V., M.J. Morra, and J.P. McCaffery. 1996. Myrosinase activity in soil extracts. *Soil Science Society of America Journal* 60: 1792-1797.
- Brown, J. and M.J. Morra. 2005. Glucosinolate-containing seed meal as a soil amendment to control plant pest. Subcontract report. National Renewable Energy Laboratory. University of Idaho, Moscow, Idaho. 95 pp.
- Chacon, P. A., R.A. Buffo, and R.A. Holley. 2006. Inhibitory effects of microencapsulated allyl isothiocyanate (AIT) against *Escherichia coli* O157:H7 in refrigerated, nitrogen packed, finely chopped beef. *International Journal of Food Microbiology*. 107: 231-237
- Charron, C. S., and C.E. Sams. 1999. Inhibition of *Pythium ultimum* and *Rhizoctonia solani* by shredded leaves of *Brassica* species. *Journal of American Society of Horticultural Science* 124: 462-467.
- Charron and Sam, 2002. Impact of glucosinolate content in Broccoli (*Brassica oleraceae*) on growth of *Pseudomonas marginalis* a causal agent of bacterial soft rot. *Plant Disease* 86: 629-632
- Fahey J.W., A.T. Zalcmann, and P. Talalay. 2001. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry* 56: 5-51.
- Fenwick, G. R., R.K. Heaney, and W.J. Mullin. 1983. Glucosinolates and their breakdown products in food and plants. *Food Science and Nutrition* 18:123-201.
- Gamliel, A. and J.J. Stapelton. 1993. Characterisation of antifungal volatile compounds evolved from solarised soil amended with cabbage residues. *Phytopathology* 83: 899-905.
- Gimsing, A.L. and Kirkegaard, J.A. 2006. Glucosinolate and isothiocyanate concentration in soil following incorporation of *Brassica* biofumigants. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 2255-2264.

- Glendening, T.M. and J.E. Poulton. 1988. Glucosinolate Biosynthesis: Sulfation of Desulfobenzylglucosinolate by Cell-Free Extracts of Cress (*Lepidium sativum* L.) Seedlings. *Plant Physiology* 86: 319-321.
- Goodman, I., J.R. Fouts, E. Bresnick, R. Menegas, and G.H. Hitchings. 1959. A mammalian thioglucoside. *Science* 130: 450-451.
- Halkier, B.A. and L.C. Du. 1997. The biosynthesis of glucosinolates. *Trends Plant Science* 2: 425-431.
- Harborne, J.B., H. Baxter, and G.P. Moss. 1999. *Pythochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds from Plants*. 2<sup>nd</sup> Edition: Taylor and Francis Ltd. London.
- Harvey, S.G., H.N. Hannahan, and C.E. Sams. 2002. Indian mustard and allyl isothiocyanate inhibit *Sclerotium rolfsii*. *Journal of American Society of Horticultural Science* 127:27-31.
- Ishimoto, H., Y. Fukushi and S. Tahara. 2004. Non-pathogenic *Fusarium* strains protect the seedlings of *Lepidium sativum* from *Pythium ultimum*. *Soil Biology and Biochemistry* 36: 409-414.
- Johnson, H. and B. Shafer. 2003. Case study: prevention of soil borne pests in organic edible ginger. *Sustainable Agriculture Research and Education, Hawaii*. 4 pp.
- Josefsson, E. 1970. Pattern, Content, and Biosynthesis of Glucosinolates in some cultivated Cruciferae. Svalof. Swedish Seed Association, Sweden.
- Kirkegaard, J.A. 2007. Evaluating biofumigation for soil-borne disease management in tropical vegetable production. ACIAR Final Report. 15 pp.
- Kirkegaard, J.A., P.T. Wong, and J.M. Desmarchelier. 1996. *In vitro* Suppression of fungal root pathogens of cereals by *Brassica* tissues. *Plant Pathology* 45: 593-603.
- Kirkegaard J. and M. Sarwar. 1998. Biofumigation potential of brassicas. *Plant and Soil* 201: 71-89.
- Kirkegaard, J.A., B.J. Smith, and M.J. Morra. 2001. Biofumigation: Soil-Borne Pest and Disease Suppression by Brassica roots. In *Proceedings of the 6<sup>th</sup> Symposium of the International Society of Root Research* November 11-15, 2001; Nagoya, Japan. Japanese Society for Root Research (JSRR), Nagoya, Japan. p. 416-417.
- MacGibbon, D.B. and R.M. Allison. 1971. An electrophoretic separation cabbage aphid and plant glucosinolates. *New Zealand Journal of Science* 14: 134-140.
- Magdoff, F. and R.R. Weil. 2004. *Soil Organic Matter in Sustainable Agriculture* CRC Press. 416 pp.
- Manici, L.M., L. Lazzeri, G. Baruzzi, O. Leoni, S. Galletti, and S. Palmieri. 2000. Suppressive activity of some glucosinolates and their enzyme-derived product toward plant pathogenic fungi. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 45: 2768-2773.
- Manuwoto, S. 2000. Pengelolaan agribisnis dalam kaitannya dengan penggunaan metil bromida menghadapi liberalisasi perdagangan dan isu lingkungan. Makalah disampaikan pada Lokakarya Teknologi Alternatif Metil Bromida, Bogor 25-27 April 2000. Kerjasama Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian IPB, Badan Urusan Logistik, dan United Nations Industrial Development Organization (UNIDO). 8 hlm.
- Mathiessen, J. 2001. A complex mode of action for biofumigation? *Cereal Biofumigation update* (12): 1pp.
- Matthiessen J. N and J.A. Kirkegaard. 2006. Biofumigation and enhanced biodegradation: opportunity and challenge in soil-borne pest and disease management. *Critical Reviews in Plant Science* 25, 235 – 265.
- Matthiessen, J. 2002. Plant maceration and moisture hold the key to biofumigation success. *CSIRO-bulletin: Biofumigation update: Horticulture* 15:1-2.
- Mazzola, M., J. Brown, A.D. Izzo, and M.F. Cohen. 2007. Mechanism of action and efficacy of seed meal-induced pathogen suppression differ in a brassicaceae species and time-dependent manner. *Phytopathology* 97: 454-460.

- McGuire, A. M. 2003. Mustard Green Manures Replace Fumigant and Improve Infiltration in Potato Cropping System. Crop Management doi:10.1094/CM-2003-0822-01-RS.
- Mennicke, W.H., K. Gorler, G. Krumbiegel, D. Lorenz, and N. Rittmann . 1988. Studies on the metabolism and excretion of benzyl isothiocyanate in man. *Xenobiotica* 18:441-447.
- Miyazawa, M., Nishiguchi, T., and Yamafuji, T. 2004. Volatile components of the leaves of *Brassica rapa* L. var. *perviridis* Bailey. *Flavour and Fragrance Journal* 20: 158-160.
- Morra, M.J. and J.A. Kirkegaard. 2002. Isothiocyanate release from soil incorporated Brassica tissues. *Soil Biology & Biochemistry* 34: 1683-1690.
- Potter, M.J., K. Davies, and A.J. Rathjen. 1998. Suppressive Impact of Glucosinolates in Brassica Vegetative Tissues on Root Lesion Nematode *Pratylenchus neglectus*. *Journal of Chemical Ecology* 24: 1561-1573.
- Rask L, E. Andreasson, and B. Ekbom. 2000. Myrosinase: gene family evolution and herbivore defense in Brassicaceae. *Plant Molecular Biology* 42: 93-113.
- Rhee, M, S-Y Lee, R.H. Dougherty, and D-H Kang. 2003. Antimicrobial Effects of Mustard Flour and Acetic Acid against *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *Applied and Environmental Microbiology* 69:2959-2963.
- Rosa, E.A.S. and P.M.F. Rodriguez. 1999. Towards more sustainable agriculture system: The effect of glucosinolates on the control of soilborne diseases. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 74: 667-674
- Rosa, E.A.S., R.K. Heaney, G.R. Fenwick, and C.A.M. Portas. 1997. Glucosinolates in crop plants. *Horticultural Reviews* 19: 99-215.
- Sang, J.P., I.R. Minchinton, P.K. Johnstone, and R.J.W. Truscott. 1984. Glucosinolate profile in the seed, root, and leaf tissue of cabbage, mustard, rapeseed, radish, and swede. *Canadian Journal of Plant Science* 64: 77-93
- Sarma, K.M. and G.M. Bankobeza (coord). 2000. Montreal Protocol that Deplete the Ozone layer. United Nations Environment Programme. UNON Press. Nairobi, Kenya. 47 pp.
- Sarwar, M., J.A. Kirkegaard, P.T.W. Wong, and J.M. Desmarchelier. 1998. Biofumigation potential of brassicas. III. *In vitro* toxicity of isothiocyanates to soil-borne fungal pathogens. *Plant and soil* 201: 103-112.
- Satyan, K.S., N. Swamy, D.S. Dizon, R. Singh, C.O. Granai, and L. Brad. 2006. Phenethyl ITS inhibits growth of ovarian cancer cells by inducing apoptosis: Role of caspase and MAPK activation. *Gynecologic Oncology* 103: 261-270.
- Smith, B. J. and J.A. Kirkegaard. 2002. *In vitro* inhibition of soil microorganisms by 2-phenylethyl isothiocyanate. *Plant pathology* 51: 585-593.
- Smolinska, U., M.J. Morra, G.R. Knudsen, and P.D. Brown. 1997. Toxicity of glucosinolate degradation products from *Brassica napus* seed meal toward *Aphanomyces eusteiches* f. sp. *pisi*. *Phytopathology* 87: 77-82.
- Smolińska, U. 2000. Survival of *Sclerotium cepivorum* Sclerotia and *Fusarium oxysporum* Chlamydospores in Soil Amended with Cruciferous Residues. *Journal of Phytopathology* 148: 343-349
- Smolinska, U., M.J. Morr, G.R. Knudsen, and R.L. James. 2003. Isothiocyanates produced by Brassicaceae species as inhibitors of *Fusarium oxysporum*. *Plant Disease* 87: 407-412.
- Stevenson, F. J. 1994. *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*. 2<sup>nd</sup> Edition. John Wiley and Sons. 496 pp.
- Subbarao, K.V. and J.C. Hubbard, 1999. Evaluation of broccoli residue incorporation into field soil for Verticillium wilt control in cauliflower. *Plant Disease* 83: 124-129.
- Taylor, R. 2005. Mustard cuts the bacterial wilt. Partners in Research for Development.

- <http://www.aciar.gov.au/system/files/node/630/Partners+Dec+05+Mustard+control+for+bacterial+wilt.pdf>.
- Thorup-Kristensen, K., L.S. Jensen, and J. Magid. 2003. catch crops and green manures as biological tools in nitrogen management in temperate zones. *Advance Agronomy* 79: 227-300.
- Tsao, R., Q. Yu, J. Potter, and M. Chiba. 2000. Factors affecting the dissolution and degradation of oriental mustard-derived sinigrin and allyl isothiocyanate in aqueous media. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 48: 1898-1902
- Verhoeven, D.T., H. Verhagen, R.A. Goldbohm, and G. Van Poppel. 1997. A Review of mechanisms underlying anticarcinogenicity by brassica vegetables. *Chemical Biology Interaction* 103:79-126.
- Xiao, D., S.K. Srivastava, K.L. Lew, Z. Yan, P. Hershberger, C.S. Johnson, D.L. Trump, and S.V. Singh. 2003. Allyl isothiocyanate, a constituent of cruciferous vegetables, inhibits proliferation of human prostate cancer cells by causing G[2]/M arrest and inducing apoptosis. *Carcinogenesis* 24: 891-897.
- Yamane, A., J. Fujikura, H. Ogawa, and J. Mizutani. 1992. Isothiocyanates as Allelopathic Compounds from *Rorippa indica* Hiern. (Cruciferae) Roots. *Journal of Chemical Ecology* 18: 1941-1954.
- Yulianti, T. 2004. The Behaviour of *Rhizoctonia solani* AG2-1 (ZG5) in soil amended with Brassicaceae Green Manures. PhD Thesis. The University of Western Australia. 163 pp.
- Yulianti, T. 2005. Persistensi isotiosianat, bahan aktif pestisida nabati dari tanaman Brassicaceae, dalam tanah. Prosiding Seminar Nasional Pestisida Nabati III. Hlm. 204-211.
- Yulianti, T., K. Sivasithamparam, and D. Turner. 2007. Saprophytic and pathogenic behaviour of *Rhizoctonia solani* AG2-1 (ZG5) in a soil amended with *Diplotaxis tenuifolia* or *Brassica nigra* manures and incubated at different temperatures and soil water content. *Plant and Soil* 294: 277-289.
- Zhang, Y., and P. Talalay. 1994. Anticarcinogenic activities of organic isothiocyanates: chemistry and mechanisms. *Cancer Research* 54 : 1976-1981.