

## Uji Ekstrak Metanol Biji Kembang Telang (*Clitoria ternatea L.*) dalam Menghambat Pertumbuhan Koloni serta Produksi dan Perkecambahan Konidia Jamur *Fusarium oxysporum f. sp. cepae*

Tarkus Suganda<sup>1\*</sup>, Rumaisha Thifaaliyah Kaltsum<sup>2</sup>, Lindung Tri Puspasari<sup>1</sup> dan Endah Yulia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

<sup>2</sup>Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

Kampus Jatinangor, Jl. Raya Bandung-Sumedang KM 21, Jatinangor 45363

\*Alamat korespondensi: tarkus.suganda@unpad.ac.id

INFO ARTIKEL	ABSTRACT/ABSTRAK
Diterima: 11-03-2024	
Direvisi: 29-04-2024	<b>Test of methanolic seed extract of butterfly pea (<i>Clitoria ternatea L.</i>) in inhibiting colony growth, conidial production, and conidial germination of <i>Fusarium oxysporum f. sp. cepae</i></b>
Dipublikasi: 30-04-2024	
Keywords: Antifungal, Basal rot, Botanical fungicide, In-vitro study	<p><i>Fusarium oxysporum f. sp. cepae</i> (FOC) is the causative agent of fusarium basal rot disease in shallots, and it is one of the pathogens that is difficult to control. Using synthetic pesticides for control is not recommended because it poses harmful risks to the ecosystem. One of the more environmentally friendly alternatives for pathogen control is the use of botanical pesticide. Butterfly peas have the potential to be used as a botanical pesticide, specifically its seeds. This study aimed to examine the ability of methanolic seed extract of butterfly peas to inhibit colony growth, conidial production, and conidial germination of FOC. This research was conducted at the Phytopathology Laboratory and Pesticide and Environmental Toxicology Laboratory, Department of Plant Pests and Diseases, Faculty of Agriculture, Universitas Padjadjaran from April to September 2023. The experiments were carried out using an experimental method and assigned in a Completely Randomized Design consisting of 8 treatments replicated 4 times of 6 extract concentrations (0.1; 1; 2; 3; 4; 5%), prochloraz + propiconazole 0,2% fungicide as comparison and control (PDA only). The test for inhibition of colony growth was carried out using poison food method, whereas the test for inhibition of conidial production was carried out by counting conidial density, and test for conidial germination was carried out by counting the germinated conidia on the agar-conidia mixture. The results showed that the methanol extract of butterfly pea seed was able to inhibit FOC colony growth and conidial germination but was not able to inhibit the conidial production of the pathogen. The highest inhibition of conidial germination occurred at a concentration of 3-5%, with an inhibition percentage of 18.5-25.4%, while the highest inhibition of conidial germination occurred at a concentration of 5% with an inhibition percentage of 18.1%.</p>
Kata Kunci: Antijamur, Busuk umbi, Fungisida nabati, Uji <i>in-vitro</i>	<p><i>Fusarium oxysporum f. sp. cepae</i> (FOC) adalah patogen penyebab penyakit moler pada bawang merah, dan termasuk salah satu patogen yang sulit untuk dikendalikan. Pengendalian menggunakan pestisida sintetik tidak dianjurkan karena dapat membahayakan ekosistem. Salah satu alternatif yang lebih ramah lingkungan untuk pengendalian adalah dengan menggunakan pestisida nabati. Tanaman kembang telang berpotensi untuk digunakan sebagai bahan pestisida nabati, terutama bagian bijinya. Penelitian ini bertujuan untuk menguji kemampuan ekstrak metanol biji kembang telang dalam menghambat</p>

pertumbuhan koloni, produksi konidia, serta perkembahan konidia FOC. Percobaan dilakukan di Laboratorium Fitopatologi dan Laboratorium Pestisida dan Toksikologi Lingkungan Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran pada bulan April sampai dengan September 2023. Percobaan dilakukan dengan metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 8 perlakuan dengan 4 ulangan yang terdiri atas medium PDA ditambah 6 konsentrasi ekstrak (0,1; 1; 2; 3; 4; 5%), fungisida prokloraz + propikonazol 0,2% sebagai pembanding, dan perlakuan kontrol (hanya PDA). Pengujian terhadap penghambatan pertumbuhan koloni dilakukan menggunakan metode makanan beracun (*poison food*), sementara pengujian terhadap penghambatan produksi konidia dilakukan dengan menghitung kerapatan konidia setelah aplikasi ekstrak, dan pengujian terhadap penghambatan perkembahan dilakukan dengan menghitung jumlah konidia yang berkecambah pada campuran agar-konidia yang telah diaplikasikan ekstrak. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak metanol biji kembang telang mampu menghambat pertumbuhan koloni dan perkembahan konidia FOC, namun tidak mampu menghambat produksi konidiannya. Penghambatan tertinggi terhadap pertumbuhan koloni ditunjukkan oleh konsentrasi 3-5% dengan persentase penghambatan 18,5-25,4%, sementara penghambatan tertinggi terhadap perkembahan konidia ditunjukkan oleh konsentrasi 5%, dengan persentase penghambatan 18,1%.

## PENDAHULUAN

*Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* (FOC) adalah patogen penyebab penyakit moler pada bawang merah. Penyakit moler merupakan salah satu penyakit penting pada bawang merah karena dapat menyebabkan kehilangan hasil hingga 50% pada varietas yang rentan (Hadiwyono *et al.*, 2020). Gejala penyakit moler ditunjukkan dengan melengkarnya daun, klorosis yang kemudian diikuti oleh nekrosis pada daun, nekrosis pada cakram (pangkal batang), serta busuk pada bagian umbi (Sintayehu *et al.*, 2011; Fadhilah dkk., 2014). Penyakit moler termasuk salah satu penyakit terbawa tanah (*soil-borne disease*), sehingga patogennya cukup sulit untuk dikendalikan. Jamur *F. oxysporum* f. sp. *cepae* mampu bertahan dalam waktu yang cukup lama di dalam tanah tanpa tanaman inang dalam bentuk struktur pertahanan yaitu klamidospora. Untuk mengendalikan patogen tular tanah, pestisida sintetik perlu diaplikasikan secara berkala sepanjang musim tanam (Panth *et al.*, 2020). Hal ini tidak hanya menyebabkan dampak negatif terhadap lingkungan, tetapi juga bisa membahayakan kesehatan organisme di sekitarnya. Jika penggunaannya tidak dilakukan dengan bijak, pestisida dapat menyebabkan pencemaran lingkungan, gangguan kesehatan pada manusia, resistensi hama dan patogen, ledakan hama sekunder, menurunnya tingkat serangan predator dan

parasitoid, serta kematian organisme non-target (Amilia dkk., 2016; Kampfraath *et al.*, 2017; Musa *et al.*, 2019; Sánchez-Bayo, 2021; González-Oviedo *et al.*, 2022). Oleh karena itu, dibutuhkan alternatif pengendalian untuk mengendalikan FOC secara efektif, namun tidak berbahaya bagi lingkungan. Salah satu alternatif pengendalian yang dapat digunakan adalah pestisida nabati.

Pestisida nabati merupakan pestisida yang metabolit sekundernya diekstraksi dari tumbuhan (Laxmishree & Nandita, 2017). Jika dibandingkan dengan pestisida sintetik, pestisida nabati lebih aman bagi organisme dan lingkungan karena mudah terurai di alam sehingga jumlah residunya tidak signifikan (Gunasekara, 2005; Guleria & Tiku, 2009). Salah satu tumbuhan yang mengandung metabolit sekunder yang berpotensi untuk dijadikan bahan baku pestisida nabati adalah kembang telang. Tanaman kembang telang telah banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional bagi manusia karena menunjukkan aktivitas antipenyakit, seperti antidiabetes, antiastma, antioksidan, dan anti-inflamasi (Taur & Patil, 2011; Swathi *et al.*, 2021; Indriyati & Dewi, 2022; Purwanto *et al.*, 2022; Widowati *et al.*, 2023). Tidak hanya terhadap manusia, biji, daun, dan bunga kembang telang juga telah dilaporkan memiliki kemampuan antijamur terhadap patogen tanaman, sehingga berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku pestisida nabati. Potensi ini dapat dibuktikan dari

penelitian Naz *et al.* (2014) yang hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak metanol biji kembang telang pada konsentrasi 0,9 mg/ml menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* dan *Alternaria solani* dengan zona penghambatan sebesar 1,3 dan 1 cm. Hasil penelitian Kamilla *et al.* (2009) juga menunjukkan bahwa ekstrak metanol biji kembang telang pada konsentrasi minimum 0,8 mg/ml mampu menghambat pertumbuhan *Rhizopus* dan *Penicillium* spp., serta mampu membunuh keduanya pada konsentrasi minimum 1,6 mg/ml. Kelemu *et al.* (2004) juga melaporkan bahwa ekstrak kasar biji kembang telang pada konsentrasi 10% mampu menghambat pertumbuhan *Rhizoctonia solani*. Suganda dkk. (2019) juga melaporkan bahwa ekstrak metanol daun dan bunga kembang telang pada konsentrasi 2,4% dan 1,8% mampu menghambat pertumbuhan jamur FOC hingga 47,1% dan 35,1%.

Selain karena kandungan senyawa anti-jamurnya, kembang telang berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai pestisida nabati karena memiliki karakteristik yang baik untuk dijadikan sumber bahan baku pestisida nabati. Kembang telang relatif murah dan mudah untuk ditanam serta tahan terhadap cekaman abiotik (Conway & Doughton, 2005; Morris, 2009; Weerasinghe *et al.*, 2022). Kembang telang juga dapat menghasilkan biji yang banyak, yaitu mencapai 3400 biji per tanaman (Morris, 2009), sementara Conway & Doughton (2005) juga menyebutkan bahwa kembang telang dapat menghasilkan biji hingga 200-500 kg/ha, sehingga bahannya mudah untuk diperoleh (Campbell *et al.*, 2020).

Pengaruh ekstrak metanol daun dan bunga kembang telang terhadap pertumbuhan jamur FOC telah diuji oleh Suganda dkk. (2019), namun pengaruh ekstrak metanol biji kembang telang belum pernah diuji sebelumnya. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menguji kemampuan ekstrak metanol biji kembang telang dalam menghambat pertumbuhan koloni serta produksi dan perkembahan konidia jamur FOC.

## BAHAN DAN METODE

Pengujian dilakukan dari bulan April hingga bulan September 2023 di Laboratorium Fitopatologi dan Laboratorium Pestisida dan Toksikologi Lingkungan, Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran. Pengujian dilakukan menggunakan

metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas 6 konsentrasi ekstrak metanol biji kembang telang (0,1; 1; 2; 3; 4; 5%), perlakuan kontrol tanpa ekstrak, dan perlakuan pembanding menggunakan fungisida prokloraz + propikonazol 0,2% yang diulang sebanyak 4 kali. Pemilihan konsentrasi didasarkan kepada konsentrasi 5% sebagai konsentrasi tertinggi untuk pengujian efek fungisidal dari suatu ekstrak tanaman (Hernández-Ceja *et al.*, 2021).

### Pembuatan Ekstrak Metanol Biji Kembang Telang

Biji kembang telang diperoleh dari lahan petani di Tanjungsari, Kabupaten Sumedang, Jawa Barat. Ekstrak dibuat menggunakan metode maserasi (Kamilla *et al.*, 2009). Pertama-tama, biji dicuci hingga bersih, kemudian dikeringangkan selama kurang lebih lima hingga tujuh hari. Setelah kering, biji dihaluskan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk halus. Serbuk halus kemudian dimerasasi (direndam) dalam pelarut metanol dengan perbandingan bobot bahan dan pelarut 1:10 (w/v). Rendaman dibiarkan selama 72 jam di dalam wadah tertutup dan diaduk setiap hari. Air rendaman kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman no. 42 untuk memperoleh filtrat. Filtrat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 55-60 °C dan tekanan 580-600 mmHg. Ekstrak lalu disimpan di dalam kulkas dengan suhu ±5 °C agar kualitasnya tetap terjaga.

### Uji Daya Hambat Ekstrak Metanol Biji Kembang Telang terhadap Pertumbuhan Koloni secara *In-vitro*

Uji penghambatan pertumbuhan koloni jamur FOC dilakukan berdasarkan metode umpan beracun (*poison food*) pada media *potato dextrose agar* (PDA) (Ramaiah & Garampalli, 2015). Metode ini dilakukan dengan menumbuhkan jamur FOC pada media PDA yang telah dicampur ekstrak metanol biji kembang telang pada konsentrasi yang telah ditentukan. Sebelum digunakan, ekstrak metanol biji kembang telang dipanaskan terlebih dahulu pada suhu 50 °C selama 15 menit untuk menghindari adanya kontaminan. Setelah dipanaskan, ekstrak ditimbang sesuai konsentrasi perlakuan, kemudian secara perlahan ditambahkan PDA cair dengan suhu ±70 °C. Pencampuran dilakukan dengan memutarkan Erlenmeyer yang berisi PDA dan ekstrak hingga keduanya tercampur rata. Setelah rata, sekitar 10 ml campuran dituangkan ke cawan Petri dan didiamkan hingga memadat. Setelah memadat, dari biakan murni, jamur FOC diambil menggunakan pelubang

gabus dengan (ukuran diameter 0,5 cm). Plug jamur diletakkan di tengah media PDA yang telah tercampur dengan ekstrak, kemudian cawan Petri ditutup rapat menggunakan *plastic wrap*. Inkubasi dilakukan pada suhu ruang.

Pertumbuhan koloni diamati dengan mengukur diameter koloni menggunakan penggaris. Ukuran diameter koloni didapatkan dari nilai rata-rata diameter koloni terpanjang dan terpendek. Pengamatan dilakukan 24 jam sekali hingga seluruh permukaan cawan Petri yang berisi jamur pada perlakuan kontrol terisi penuh. Persentase penghambatan dihitung menggunakan rumus berikut (Suganda dkk., 2019):

$$I = \left( \frac{dk - dp}{dk} \right) \times 100\%$$

Keterangan:

I = Persentase penghambatan (%)

dk = Diameter koloni jamur pada perlakuan kontrol (cm)

dp = Diameter koloni jamur pada perlakuan ekstrak dan pembanding (cm)

Setelah persentase penghambatan dihitung, tiap konsentrasi ekstrak dikelompokkan menurut aktivitas antijamurnya berdasarkan klasifikasi Mori *et al.* (1997). Mori *et al.* (1997) mengkategorikan aktivitas antijamur ekstrak tumbuhan menjadi 5 kategori, yaitu sangat kuat (76-100%), kuat (51-75%), moderat (26-50%), lemah (1-25%), dan tidak aktif (0%).

#### **Uji Daya Hambat Ekstrak Metanol Biji Kembang Telang terhadap Perkecambahan Konidia**

Uji penghambatan produksi konidia dilakukan dengan menghitung kerapatan konidia jamur setelah perlakuan (Suganda dkk., 2020). Sebanyak 10 potong isolat jamur pada media PDA yang berasal dari pengujian pertumbuhan koloni diambil menggunakan pelubang gabus (ukuran diameter 0,5 cm), kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 10 ml akuades steril. Tabung reaksi lalu divortex selama 3 menit untuk melepaskan konidia. Sebanyak 100 $\mu$ l suspensi diteteskan menggunakan mikropipet pada *slide* hemositometer untuk diamati kerapatan konidianya menggunakan mikroskop (Rosanti dkk., 2014). Kerapatan konidia dihitung menggunakan rumus berikut (Provost and Wallert Research, 2015):

$$C = XFp \times 10^4$$

Keterangan:

C = Kerapatan konidia (konidia/ml)

X = Rata-rata konidia dari kotak sampel yang diamati

Fp = Faktor pengenceran

Penghitungan persentase penghambatan produksi konidia dihitung menggunakan rumus berikut (Suganda dkk., 2019):

$$Pp = \frac{\sum Kk - \sum Kp}{\sum Kk} \times 100\%$$

Keterangan:

Pp = Persentase produksi konidia (%)

$\sum Kk$  = Jumlah konidia pada perlakuan kontrol

$\sum Kp$  = Jumlah konidia pada perlakuan ekstrak dan pembanding

#### **Uji Daya Hambat Ekstrak Metanol Biji Kembang Telang terhadap Perkecambahan Konidia**

Uji penghambatan perkecambahan konidia dilakukan berdasarkan metode yang dilakukan oleh Yulia *et al.* (2006). Suspensi konidia dibuat dengan menambahkan 10 ml akuades steril ke dalam cawan Petri berisi jamur FOC, kemudian konidia dilepaskan dengan menggosokkan ose ke koloni jamur. Pengenceran suspensi konidia dilakukan dengan menambahkan akuades steril sehingga didapat suspensi dengan kerapatan konidia  $1 \times 10^5$  konidia/ml. Suspensi ini kemudian diencerkan (perbandingan 1:1) dengan 3% WA pada suhu 45 °C. Sebanyak 10 ml hasil campuran dituangkan ke dalam cawan Petri. Setelah itu, agar-konidia dipotong menggunakan pelubang gabus (ukuran diameter 0,5 cm), lalu ditempatkan pada gelas objek steril. Selanjutnya, sebanyak 10 $\mu$ l ekstrak diaplikasikan pada permukaan agar-konidia. Pada kontrol, akuades steril digunakan sebagai pengganti ekstrak. Gelas objek lalu disimpan pada boks plastik yang telah dilap dengan alkohol dan diberi tisu lembab untuk diinkubasi. Inkubasi dilakukan selama 8 jam pada suhu ruang (25-27°C) (Pamekas dkk., 2020).

Pengamatan perkecambahan konidia dilakukan setelah inkubasi dengan menghitung jumlah konidia yang berkecambah. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop pada perbesaran 400x. Jika panjang tabung kecambah sama dengan panjang konidiannya, maka konidia dianggap telah berkecambah (Bani *et al.*, 2018). Persentase

perkecambahan konidia dihitung menggunakan rumus berikut (Suganda *et al.*, 2019):

$$Pk = \frac{\sum Bk - \sum Bp}{\sum Bk} \times 100\%$$

Pk = Persentase perkecambahan konidia (%)

$\sum Bk$  = Jumlah konidia berkecambah pada perlakuan kontrol

$\sum Bp$  = Jumlah konidia berkecambah pada perlakuan ekstrak dan pembanding

### Analisis Data

Data hasil pengujian dianalisis menggunakan program SPSS versi 25.0. Analisis ragam (ANOVA) dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh dari perlakuan yang diuji. Jika terdapat pengaruh, selanjutnya dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (Uji DMRT) pada taraf nyata 5%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengaruh Ekstrak Metanol Biji Kembang Telang terhadap Penghambatan Pertumbuhan Koloni Jamur *F. oxysporum* f. sp. *cepae*

Hasil pengujian menunjukkan bahwa terdapat efek fungistatik dari ekstrak metanol biji kembang telang terhadap pertumbuhan koloni jamur FOC (Tabel 1). Penghambatan yang lebih tinggi ditunjukkan oleh ekstrak konsentrasi 3-5%, dan secara statistik tidak ada perbedaan yang nyata antara ketiga konsentrasi tersebut. Penghambatan terendah terdapat pada perlakuan ekstrak konsentrasi 1% dan 2%, dan secara statistik juga tidak ada perbedaan yang nyata antara kedua konsentrasi tersebut. Tidak adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan ini diduga disebabkan karena peningkatan konsentrasi yang tidak terlalu besar, yakni hanya 1%, sehingga pengaruh penghambatannya tidak berbeda.

Adanya efek fungistatik ini diduga dapat terjadi karena kandungan senyawa antijamur yang terdapat di dalam biji kembang telang. Biji kembang telang diketahui mengandung flavonoid, alkaloid, terpenoid, tanin, juga protein finotin yang telah terbukti memiliki kemampuan antijamur (Kelemu *et al.*, 2004; Kamilla *et al.*, 2009; Manjula *et al.*, 2013; Ajesh & Sreejith, 2014). Senyawa-senyawa ini diketahui mampu menghambat pertumbuhan miselium jamur serta produksi dan perkecambahan konidia melalui beberapa mekanisme (Singh *et al.*, 2007; Ilboudo *et al.*, 2016; Zhu *et al.*, 2019). Flavonoid mampu menyebabkan penghambatan sintesis RNA

dan protein, pembentukan dinding sel serta pembelahan sel, juga mampu mengganggu kerja membran plasma dan mitokondria (Aboody & Mickymaray, 2020). Alkaloid mampu menyebabkan kerusakan membran sel sehingga menyebabkan kebocoran asam nukleat dan protein, mengganggu proses proliferasi sehingga menyebabkan apoptosis sel, merusak membran mitokondria sehingga mengganggu fungsi normal mitokondria, serta meningkatkan *reactive oxygen species* (ROS) yang mampu merusak sel serta organel di dalamnya (Zhao *et al.*, 2019). Tanin dapat merusak dinding sel dan membran plasma, menyebabkan kebocoran isi intraseluler (Zhu *et al.*, 2019). Terpenoid mampu merusak mitokondria sehingga meningkatkan ROS juga mampu merusak siklus krebs dan rantai transpor elektron sehingga menurunkan tingkat ATP (Haque *et al.*, 2016).

Tabel 1. Pengaruh ekstrak metanol biji kembang telang terhadap penghambatan pertumbuhan koloni jamur *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* pada 11 HSP

Perlakuan	Rata-rata diameter koloni (cm)	Penghambatan (%)	Aktivitas antijamur (Mori <i>et al.</i> , 1997)
Kontrol	9,0 d	-	-
0,1%	9,0 d	Tm	Tidak aktif
1%	7,8 bc	13,2	Lemah
2%	8,5 cd	5,1	Lemah
3%	7,3 b	18,5	Lemah
4%	6,7 b	25,4	Lemah
5%	7,0 b	21,8	Lemah
Fungisida sintetik	0,5 a	94,4	Sangat kuat

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%. \*Tm = Tidak menghambat. \*- = Tidak dihitung.

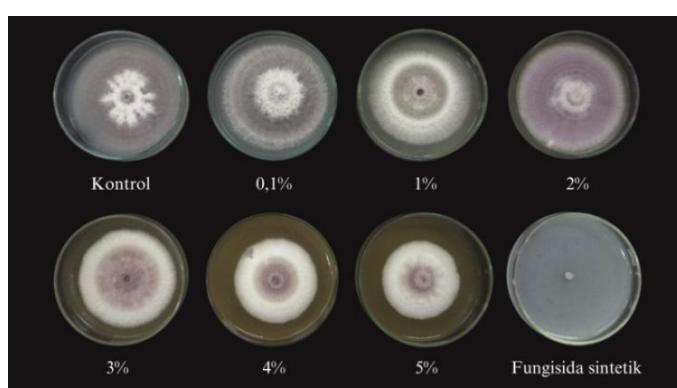
Meskipun terdapat pengaruh penghambatan pertumbuhan koloni, berdasarkan kategori Mori *et al.* (1997), tingkat aktivitas antijamur ekstrak metanol biji kembang telang tergolong lemah. Lemahnya aktivitas antijamur ini diduga disebabkan karena rendahnya kandungan senyawa antijamur yang terdapat di dalam biji kembang telang. Dalam pengujian ini, kandungan senyawa-senyawa tersebut tidak diuji, begitu pula pada kepustakaan yang disebutkan sebelumnya. Biji kembang telang yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari tanaman

yang ditanam secara sengaja dan dirawat, sehingga kandungan metabolit sekunder yang bersifat antijamur diduga rendah. Tanaman yang tumbuh di bawah cekaman lingkungan telah terbukti memiliki kandungan metabolit sekunder yang lebih tinggi. Hasil penelitian Nakabayashi *et al.* (2014) dan Turtola *et al.* (2003) menunjukkan bahwa cekaman oksidatif yang disebabkan oleh kekeringan mampu meningkatkan sintesis flavonoid dan terpenoid pada tanaman. Cekaman panas dan dingin juga mampu meningkatkan jumlah terpenoid pada tanaman tomat (Hanson & Sharkey, 2001; Copolovici *et al.*, 2012). Hal serupa juga dilaporkan oleh Ramani dan Jayabaskaran (2008) yang hasil penelitiannya menunjukkan bahwa iradiasi sinar UV-B mampu meningkatkan kandungan alkaloid *Catharanthus roseus*. Peningkatan metabolit sekunder ini merupakan respon tanaman sebagai bentuk perlindungan terhadap cekaman lingkungan (Ramakrishna & Ravishankar, 2011).

Pada perlakuan konsentrasi 0,1%, ekstrak metanol biji kembang telang justru meningkatkan pertumbuhan koloni FOC. Hal ini diduga disebabkan oleh kandungan karbohidrat dalam biji kembang telang yang mampu menstimulasi pertumbuhan jamur. Biji kembang telang telah dilaporkan mengandung karbohidrat sebesar 36,7% dan gula

sebesar 4,9% (Turnos, 2021). Berdasarkan penelitian Ren *et al.* (2023), keberadaan gula mampu meningkatkan perkembangbiakan *F. oxysporum* f. sp. *niveum* secara cepat.

Pada perlakuan fungisida sintetik, tidak terlihat adanya pertumbuhan koloni jamur FOC. Fungisida sintetik yang digunakan dalam penelitian ini memiliki bahan aktif prokloraz dan propikonazol yang bekerja dengan cara mengganggu CYP51, yaitu enzim yang penting untuk proses biosintesis ergosterol pada jamur (Lamb *et al.*, 1999; Zhang *et al.*, 2021). Ergosterol merupakan senyawa organik yang berperan penting dalam mengatur permeabilitas dan fluiditas membran sel jamur (Rodrigues, 2018). Jika dibandingkan dengan pestisida nabati, pestisida sintetik memiliki kualitas dan komposisi kandungan bahan aktif yang lebih konsisten, karena dalam produksinya, terdapat protokol dan standar mutu yang harus dipenuhi, sehingga pengaruhnya terhadap patogen juga lebih konsisten (Miresmailli & Isman, 2014). Sementara itu, kualitas dan komposisi bahan aktif pada pestisida nabati bervariasi, tergantung pada kualitas juga komposisi bahan aktif yang terkandung dalam tanaman yang digunakan sebagai bahan baku. Variabilitas ini bisa disebabkan karena faktor abiotik maupun biotik (Gouvea *et al.*, 2012).



Gambar 1. Pertumbuhan koloni jamur *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* 11 hari setelah perlakuan pada berbagai konsentrasi ekstrak metanol biji kembang telang.

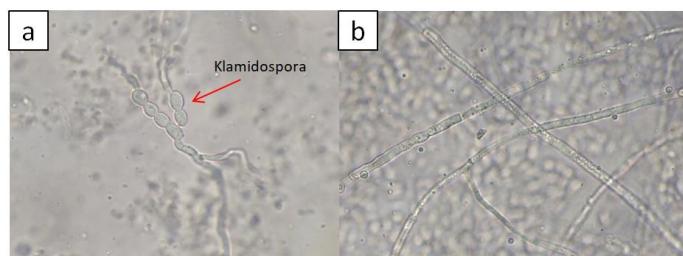
Pengamatan koloni jamur secara makroskopis menunjukkan adanya efek dari ekstrak metanol biji kembang telang terhadap morfologi koloni (Gambar 1). Koloni jamur FOC pada perlakuan kontrol memiliki tekstur seperti kapas, dan pertumbuhan miselium lebih mengarah ke samping sehingga menghasilkan permukaan koloni yang rata. Hal yang sama juga terlihat pada koloni jamur yang diberi perlakuan konsentrasi 0,1%, 1%, dan 2%, sementara pada perlakuan konsentrasi 3-5% menunjukkan

karakteristik koloni yang berbeda, yaitu memiliki tekstur kapas yang tampak padat karena pertumbuhan miseliumnya lebih mengarah ke atas, sehingga menghasilkan permukaan koloni yang lebih tebal. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Alotibi *et al.* (2020) dan Kursa *et al.* (2022) yang menunjukkan bahwa pemberian ekstrak tanaman mampu menghambat pertumbuhan miselium *F. oxysporum* dan *Fusarium* spp. secara horizontal, namun miselium tetap tumbuh ke arah vertikal,

sehingga koloni terlihat lebih padat. Penebalan koloni ini kemungkinan disebabkan karena jamur FOC tidak dapat tumbuh ke arah samping karena adanya penghambatan oleh senyawa antijamur pada ekstrak metanol biji kembang telang yang terdapat pada PDA, sehingga pertumbuhannya cenderung mengarah ke atas.

Pengamatan secara mikroskopis menunjukkan adanya pertahanan dari jamur FOC akibat efek perlakuan ekstrak metanol biji kembang telang. Pada hifa jamur yang diberi perlakuan ekstrak metanol biji kembang telang, terbentuk klamidospora (Gambar 2a) yang jumlahnya semakin banyak seiring dengan

peningkatan konsentrasi ekstrak, sementara pada perlakuan kontrol tidak ditemukan klamidospora. Klamidospora merupakan salah satu spora aseksual jamur FOC yang dibentuk sebagai strategi untuk bertahan hidup saat menghadapi kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan. Jika kondisi lingkungan sudah mendukung, barulah klamidospora akan berperan sebagai inokula utama untuk menyerang tanaman (Hou *et al.*, 2020). Terbentuknya klamidospora ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol biji kembang telang telah membentuk kondisi yang kurang menguntungkan bagi pertumbuhan dan perkembangan FOC.



Gambar 2. Kondisi hifa jamur *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* pada perlakuan ekstrak metanol biji kembang telang dan kontrol. (a) Klamidospora (a1) pada hifa perlakuan ekstrak metanol biji kembang telang menunjukkan terbentuknya klamidospora (sel yang membengkak dan membulat, sebagai struktur pertahanan diri), (b) Hifa pada perlakuan kontrol (Perbesaran 400x).

#### Pengaruh Ekstrak Metanol Biji Kembang Telang terhadap Penghambatan Produksi Konidia Jamur *F. oxysporum* f. sp. *cepae*

Hasil pengujian menunjukkan bahwa aplikasi ekstrak metanol biji kembang telang pada berbagai konsentrasi tidak mampu menurunkan produksi konidia jamur FOC (Tabel 2). Pada konsentrasi 0,1%, memang terdapat penurunan jumlah konidia dibandingkan dengan kontrol, namun secara statistik, tidak terdapat perbedaan hasil yang nyata antara keduanya. Pemberian ekstrak metanol biji kembang telang justru meningkatkan jumlah konidia jamur FOC. Peningkatan jumlah konidia ini diduga disebabkan adanya kandungan senyawa di dalam biji kembang telang yang mampu menstimulasi produksi konidia. Eugenol dan Isoeugenol, yang merupakan salah satu turunan dari fenol, yaitu salah satu senyawa yang terdapat pada biji kembang telang, telah dilaporkan mampu meningkatkan produksi konidia pada *Fusarium verticillioides* (Achimón *et al.*, 2021) juga pada *Botrytis cinerea* (Rosero-Hernández *et al.*, 2019).

Tabel 2. Jumlah konidia dan penghambatan produksi konidia jamur *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* pada perlakuan ekstrak metanol biji kembang telang

Perlakuan	Jumlah konidia (konidia/ml)	Penghambatan (%)
Kontrol	$13,9 \times 10^5$ b	-
0,1%	$8,7 \times 10^5$ b	37,41
1%	$24,4 \times 10^5$ c	Tm
2%	$31,9 \times 10^5$ d	Tm
3%	$27,1 \times 10^5$ cd	Tm
4%	$29,6 \times 10^5$ cd	Tm
5%	$29,5 \times 10^5$ cd	Tm
Fungisida sintetik	0,0 a	100

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%. \*Tm = Tidak menghambat. \* = Tidak dihitung.

Selain adanya kandungan senyawa yang menstimulasi terbentuknya konidia, dugaan lain yang dapat menjelaskan peningkatan jumlah konidia pada konsentrasi ekstrak 1% sampai dengan 5% adalah bahwa produksi konidia meningkat seiring dengan terhambatnya pertumbuhan miselium jamur (Ajmal *et al.*, 2022). Oleh karena itu, pada perlakuan

ekstrak yang menunjukkan efek penghambatan pertumbuhan koloni (1% sampai dengan 5%) jumlah konidianya lebih banyak dibandingkan jamur pada perlakuan kontrol dan perlakuan konsentrasi 0,1% yang pertumbuhan koloninya tidak terhambat. Hal ini juga sesuai dengan pernyataan Dahlberg & Etten (1982), bahwa kondisi yang mendukung miselium untuk tumbuh dengan cepat akan menghambat sporulasi, dan pembentukan spora terjadi ketika laju pertumbuhan miselium berkurang. Produksi konidia dapat distimulasi oleh berbagai faktor, baik faktor endogen maupun lingkungan. Faktor lingkungan yang mampu menstimulasi produksi konidia antara lain kurangnya nutrisi, cekaman osmotik, cekaman oksidatif, jumlah karbon dan nitrogen, pH, cahaya, dan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh organisme lain (Ajmal *et al.*, 2022). Metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak metanol biji kembang telang diduga mampu menyebabkan

penghambatan pertumbuhan miselium jamur FOC, sehingga menstimulasi produksi konidianya. Dugaan lain, jumlah kandungan senyawa antijamur pada biji kembang telang rendah, sehingga meskipun mampu menghambat pertumbuhan koloni jamur, jumlah kandungan senyawa antijamurnya tidak cukup untuk menghambat produksi konidia.

#### Pengaruh Ekstrak Metanol Biji Kembang Telang terhadap Perkecambahan Konidia Jamur *F. oxysporum* f. sp. *cepae*

Pengamatan efek ekstrak metanol biji kembang telang terhadap perkecambahan konidia jamur FOC dilakukan setelah inkubasi menggunakan mikroskop pada perbesaran 400x. Konidia dianggap telah berkecambah apabila panjang tabung kecambahnya sama dengan panjang konidianya (Bani *et al.*, 2018) (Gambar 3).



Gambar 3. Konidia jamur *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*. (a) Konidia berkecambah, (b) Konidia tidak berkecambah (Perbesaran 400x).

Pada konsentrasi tertentu, aplikasi ekstrak metanol biji kembang telang dapat menghambat perkecambahan konidia jamur FOC (Tabel 3). Ekstrak pada konsentrasi 5% secara signifikan dapat menghambat perkecambahan konidia jamur FOC. Konsentrasi ekstrak 0,1% mampu menghambat perkecambahan konidia, namun hasilnya tidak berbeda nyata dengan kontrol, sementara ekstrak pada konsentrasi 1% sampai dengan 4% tidak menunjukkan adanya penghambatan terhadap perkecambahan konidia FOC.

Penghambatan ini diduga dapat terjadi karena senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam biji kembang telang mampu mengganggu proses perkecambahan konidia. Perkecambahan konidia membutuhkan konsumsi energi yang tinggi, sehingga dalam prosesnya, ketersediaan ATP sangat dibutuhkan (Wang *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2021). Beberapa senyawa yang ada di dalam biji kembang telang, seperti flavonoid, terpenoid, dan alkaloid, mampu merusak rantai transpor elektron juga

mengganggu fungsi normal mitokondria sehingga dapat menurunkan tingkat ATP dan menghambat perkecambahan konidianya (Haque *et al.*, 2016; Zhao *et al.*, 2019). Selain mampu mengganggu proses terbentuknya ATP, alkaloid juga mampu menghambat proses sintesis protein (Zhao *et al.*, 2019; Nair & van Staden, 2020) yang merupakan suatu proses penting pada tahap awal perkecambahan konidia jamur (van Leeuwen *et al.*, 2013). Berbeda dengan hasil pengujian penghambatan produksi konidia, ekstrak metanol biji kembang telang dapat menghambat perkecambahan konidia jamur FOC. Ekstrak metanol biji kembang telang tidak dapat menghambat produksi konidia jamur FOC, tetapi dapat menghambat perkecambahannya pada konsentrasi yang tertinggi. Hal ini menunjukkan bahwa, meskipun ekstrak metanol biji kembang telang tidak dapat menghambat produksi konidia dan justru meningkatkannya, konidia yang terbentuk dapat terhambat perkecambahannya pada konsentrasi ekstrak 5%.

Tabel 3. Jumlah Perkecambahan Konidia dan Persentase Penghambatan Perkecambahan Konidia jamur *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*

Perlakuan	Jumlah konidia yang berkecambah	Penghambatan (%)
Kontrol	265,5 c	-
0,1%	264,9 c	0,2
1%	285,2 c	Tm
2%	325,2 d	Tm
3%	278,8 c	Tm
4%	279,2 c	Tm
5%	217,5 b	18,1
Fungisida sintetik	171,2 a	35,5

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%. \*Tm = Tidak menghambat. \*- = Tidak dihitung.

Umumnya, semakin tinggi jumlah metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu ekstrak, maka semakin kuat pula efek antimikroanya. Hal ini sesuai dengan penelitian El-Maati *et al.* (2016) yang menunjukkan bahwa efek antimikroba suatu ekstrak dipengaruhi oleh kuantitas metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Pada prinsipnya, semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan, maka semakin baik juga efeknya terhadap penghambatan pertumbuhan jamur. Namun, pada penelitian ini, ekstrak metanol biji kembang telang memberikan efek yang berbeda-beda terhadap perkecambahan konidia FOC pada beberapa konsentrasi yang diuji. Hal ini sesuai dengan penelitian Daniel *et al.* (2015) yang hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak bawang putih memberikan efek yang berbeda-beda pada setiap konsentrasi yang diuji.

Fenomena adanya perangsangan pertumbuhan koloni jamur oleh pengaplikasian konsentrasi yang lebih tinggi ekstrak tanaman (kurva bifasik) telah banyak dilaporkan (Kursa *et al.*, 2022; Lira-De leon *et al.*, 2014; Malkowski *et al.*, 2020; Vargaz-Hernandez *et al.*, 2017). Fenomena ini dikenal dengan sebutan "Hormesis", yaitu pada konsentrasi yang lebih tinggi dari ekstrak tanaman justru merangsang pertumbuhan koloni (Garzon & Flores, 2013). Penyebabnya dapat bermacam-macam, meliputi faktor biotik (Vargaz-Hernandez *et al.*, 2017) dan abiotik (Malkowski *et al.*, 2020). Hal ini menunjukkan bahwa penentuan konsentrasi yang tepat dalam penggunaan ekstrak tanaman membutuhkan kajian yang mendalam.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

- Ekstrak metanol biji kembang telang dapat menghambat pertumbuhan koloni dan perkecambahan konidia jamur FOC, namun tidak dapat menghambat produksi konidiannya.
- Konsentrasi ekstrak metanol biji kembang telang 5% kurang menghambat pertumbuhan koloni, tidak menghambat produksi konidia, tetapi menghambat perkecambahan konidia sebesar 18,1%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Achimón, F, VD Brito, RP Pizzolitto, AR Sanchez, EA Gómez, and JA Zygallo. 2021. Chemical composition and antifungal properties of commercial essential oils against the maize phytopathogenic fungus *Fusarium verticillioides*. Revista Argentina de Microbiología. 53(4): 292–303.
- Ajesh, K, and K Sreejith. 2014. A novel antifungal protein with lysozyme-like activity from seeds of *Clitoria ternatea*. Applied Biochemistry and Biotechnology. 173(3): 682–693.
- Ajmal, M, A Hussain, A Ali, H Chen, and H Lin. 2022. Strategies for controlling the sporulation in *Fusarium* spp. Journal of Fungi. 9(1):10. DOI: 10.3390/jof9010010.
- Al-Aboody, MS, and S Mickymaray. 2020. Antifungal efficacy and mechanisms of flavonoids. Antibiotics. 9(2):45. DOI: 10.3390/antibiotics9020045.
- Alotibi, FO, EH Ashour, and G Al-Basher. 2020. Evaluation of the antifungal activity of *Rumex vesicarius* L. and *Ziziphus spina-christi* (L) Desf. aqueous extracts and assessment of the morphological changes induced to certain myco-phytopathogens. Saudi Journal of Biological Sciences. 27(10): 2818–2828.
- Amilia, E, B Joy, dan S Sunardi. 2016. Residu pestisida pada tanaman hortikultura (studi kasus di Desa Cihanjuang Rahayu Kecamatan Parongpong Kabupaten Bandung Barat). Jurnal Agrikultura. 27(1): 23–29.
- Bani, M, A Cimmino, A Evidente, D Rubiales, and N Rispail. 2018. Pisatin involvement in the variation of inhibition of *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* spore germination by root exudates

- of *Pisum* spp. germplasm. Plant Pathology. 67(5): 1046–1054.
- Campbell, S, BJ Pearson, and SC Marble. 2020. Substrate type and temperature on germination parameters of butterfly pea. HortTechnology. 30(3): 398–403.
- Conway, M, and J Doughton. 2005. Introduction. In Pp. 6-7. The Butterfly Pea Book: A Guide to Establishing and Managing Butterfly Pea Pastures in Central Queensland (R Collins, T Grundy, Eds.). Department of Primary Industries and Fisheries. Brisbane.
- Copolovici, L, A Kännaste, L Pazouki, and Ü Niinemets. 2012. Emissions of green leaf volatiles and terpenoids from *Solanum lycopersicum* are quantitatively related to the severity of cold and heat shock treatments. Journal of Plant Physiology. 169(7): 664–672.
- Dahlberg, KR, and JL V Etten. 1982. Physiology and biochemistry of fungal sporulation. Annual Review of Phytopathology. 20(1): 281–301.
- Daniel, CK, CL Lennox, and FA Vries, 2014. In-vitro effects of garlic extracts on pathogenic fungi *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* and *Neofabrea alba*. South African Journal of Science. 111(7-8): 1–8.
- El-Maati, MFA, SA Mahgoub, SM Labib, AMA Al-Gaby, and MF Ramadan, 2016. Phenolic extracts of clove (*Syzygium aromaticum*) with novel antioxidant and antibacterial activities. European Journal of Integrative Medicine. 8(4): 494–504.
- Fadhilah, S, S Wiyono, dan M Surahman. 2014. Pengembangan teknik deteksi Fusarium patogen pada umbi benih bawang merah (*Allium ascalonicum*) di laboratorium. Jurnal Hortikultura. 24: 171–178.
- Garzon, CD, and FJ Flores. 2013. Hormesis: Biphasic Dose-Responses to Fungicides in Plant Pathogens and Their Potential Threat to Agriculture. Pp 311-327 Chapter 12 in Fungicides – Showcases of Integrated Plant Disease Management from Around the World. IntechOpen. London.
- González-Oviedo, NA, LG Iglesias-Andreu, FR Flores-de la Rosa, A Rivera-Fernández, and M Luna-Rodríguez. 2022. Genetic analysis of the fungicide resistance in *Fusarium oxysporum* associated to *Vanilla planifolia*. Revista Mexicana de Fitopatología. 40(3): 330–348.
- Gouvea, DR, L Gobbo-Neto, and NP Lopes. 2012. The influence of biotic and abiotic factors on the production of secondary metabolites in medicinal plants. In Pp. 419–452. Plant Bioactives and Drug Discovery: Principles, Practice, and Perspectives (Cechinel-Filho, V, Ed.). John Wiley & Sons, Inc. New York.
- Guleria, S, and AK Tiku. 2009. Botanicals in pest management: Current status and future perspectives. Integrated Pest Management: Innovation-Development Process. 1: 317–329.
- Gunasekara, AS. 2005. Environmental Fate of Pyrethrins. Environmental Monitoring Branch, Department of Pesticide Regulation, California – Sacramento. 17 p.
- Hadiwiyono, K Sari, and SH Poromarto. 2020. Yield losses caused by basal plate rot (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*) in some shallot varieties. Caraka Tani: Journal of Sustainable Agriculture. 35(2): 250–257.
- Hanson, DT, and TD Sharkey. 2001. Effect of growth conditions on isoprene emission and other thermotolerance-enhancing compounds. Plant, Cell and Environment. 24(9): 929–936.
- Haque, E, S Irfan, M Kamil, S Sheikh, A Hasan, A Ahmad, V Lakshmi, A Nazir, and SS Mir. 2016. Terpenoids with antifungal activity trigger mitochondrial dysfunction in *Saccharomyces cerevisiae*. Microbiology. 85: 436–443.
- Hernández-Ceja A, PD Loeza-Lara, FJ Espinosa-García, YM García-Rodríguez, JR Medina-Medrano, GF Gutiérrez-Hernández, and LF Ceja-Torres. 2021. In vitro antifungal activity of plant extracts on pathogenic fungi of blueberry (*Vaccinium* sp.). Plants (Basel). 10(5):852. DOI: 10.3390/plants10050852.
- Hou, YH, LH Hsu, HF Wang, YH Lai, and YL Chen. 2020. Calcineurin regulates conidiation, chlamydospore formation and virulence in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Frontiers in Microbiology. 11: 539702. DOI: 10.3389/fmicb.2020.539702.
- Ilboudo, O, S Bonzi, I Tapsoba, I Somda, and YL Bonzi-Coulibaly. 2016. In vitro antifungal activity of flavonoid diglycosides of *Mentha piperita* and their oxime derivatives against two cereals fungi. Comptes Rendus Chimie. 19(7): 857–862.
- Indriyati, YF, dan DN Dewi. 2022. Kajian sistematis: potensi bunga telang (*Clitoria ternatea*) sebagai antidiabetes. Generics: Journal of Research in Pharmacy. 2(1): 1–8.
- Kamilla, L, SM Mnsor, S Ramanathan, and S Sasidharan. 2009. Antimicrobial activity of

- Clitoria ternatea* (L.) extracts. *Pharmacologyonline*. 1: 731–738.
- Kampfraath, AA, D Giesen, CAM van Gestel, and C Le Lann. 2017. Pesticide stress on plants negatively affects parasitoid fitness through a bypass of their phytophage hosts. *Ecotoxicology* (London, England). 26(3): 383–395.
- Kelemu, S, C Cardona, and G Segura. 2004. Antimicrobial and insecticidal protein isolated from seeds of *Clitoria ternatea*, a tropical forage legume. *Plant Physiology and Biochemistry*. 42(11): 867–873.
- Kursa, W, A Jamiołkowska, J Wyrostek, and R Kowalski. 2022. Antifungal effect of plant extracts on the growth of the cereal pathogen *Fusarium* spp.—an in vitro study. *Agronomy*. 12(12):3204. DOI: 10.3390/agronomy12123204.
- Lamb, D, D Kelly, and S Kelly. 1999. Molecular aspects of azole antifungal action and resistance. *Drug Resistance Updates*. 2(6): 390–402.
- Laxmishree, C, and S Nandita. 2017. Botanical pesticides, a major alternative to chemical pesticides: A review. *International Journal of Life Sciences*. 5(4): 722–729.
- Lira-De Leon, KI; MV Ramirez-Marez, V Sabchez-Lopez, M Ramirez-Lope, R Sales-Coronado, NF Santos-Sanchez, R Valedez-Blanco, and B Hernandez-Carlos. 2014. Effect of crude plant extracts from some Oaxacan flora on two deleterious fungal phytopathogens and extract compatibility with a biofertilizer strain. *Frontiers in Microbiology*. 5:5383. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00383.
- Malkowski, E, K Sitko, M Szopinski, Z Gieron, M Pgrzeba, HM Kalaji, and P Zieleznik-Rusinowska. 2020. Hormesis in plants: the role of oxidative stress, auxins and photosynthesis in corn treated with Cd or Pb. *International Journal of Molecular Sciences*. 21:2099. DOI: 10.3390/ijms21062099.
- Manjula, P, CH Mohan, D Sreekanth, B Keerthi, and BP Devi. 2013. Phytochemical analysis of *Clitoria Ternatea* Linn., a valuable medicinal plant. *Journal of Indian Botanical Society*. 92(3): 173–178.
- Miresmailli, S, and MB Isman. 2014. Botanical insecticides inspired by plant–herbivore chemical interactions. *Trends in plant science*. 19(1): 29–35.
- Mori, M, M Aoyama, S Doi, A Kanetoshi, and T Hayashi. 1997. Antifungal activity of bark extracts of deciduous trees. *European Journal of Wood and Wood Products*. 55(204): 130–132.
- Morris, JB. 2009. Characterization of butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.) accessions for morphology, phenology, reproduction and potential nutraceutical, pharmaceutical trait utilization. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 56(3): 421–427.
- Musa, M, NR Buwono, MN Iman, SW Ayuning, and ED Lusiana. 2019. Pesticides in Kalisat River: water and sediment assessment. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*. 12(5): 1806–1813.
- Nair, JJ, and J van Staden. 2020. Insight to the antifungal properties of *Amaryllidaceae* constituents. *Phytomedicine*. 15:73:152753. DOI: 10.1016/j.phymed.2018.11.013.
- Nakabayashi, R, K Yonekura-Sakakibara, K Urano, M Suzuki, Y Yamada, T Nishizawa, F Matsuda, M Kojima, H Sakakibara, K Shinozaki, A Michael, T Tohge, M Yamazaki, and K Saito. 2014. Enhancement of oxidative and drought tolerance in *Arabidopsis* by overaccumulation of antioxidant flavonoids. *The Plant journal: for cell and molecular biology*. 77(3): 367–379.
- Naz, S, S Qamar, N Batool, and N Munir. 2014. Antifungal activity of *Clitoria ternatea* L. extracts against different fungal species. *Journal of Mycophytopathological Society of Pakistan*. 11(2): 91–94.
- Pamekas, T, UKJ Suharjo, dan FA Andriyani. 2020. Respon pertumbuhan cendawan patogenik *Fusarium oxysporum* terhadap metabolit sekunder cendawan antagonis *Trichoderma* sp. *PENDIPA Journal of Science Education*. 4(3): 75–81.
- Panth, M, SC Hassler, and F Baysal-Gurel. 2020. Methods for management of soilborne diseases in crop production. *Agriculture*. 10(1):16. DOI: 10.3390/agriculture10010016.
- [Provost and Wallert Research]. 1998. Hemocytometer cell counting protocol. Investigating the Biochemistry & Cellular Physiology of NHE1. Available online at <https://home.sandiego.edu/Protocol.pdf>. accessed on March 1<sup>st</sup> 2023.
- Purwanto, UMS, K Aprilia, and Sulistiyan. 2022. Antioxidant activity of telang (*Clitoria ternatea* L.) extract in inhibiting lipid

- peroxidation. Current Biochemistry. 9(1): 26–37.
- Ramaiah, AK, and RKH Garampalli. 2015. In vitro antifungal activity of some plant extracts against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Asian Journal of Plant Science and Research. 5(1): 22–27.
- Ramakrishna, A, and GA Ravishankar. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. Plant signaling & behavior. 6(11): 1720–1731.
- Ramani, S, and C Jayabaskaran. 2008. Enhanced catharanthine and vindoline production in suspension cultures of *Catharanthus roseus* by ultraviolet-B light. Journal of Molecular Signaling. 3(1): 1–6.
- Ren, G, G Wang, D Guo, C Lu, and Y Ma. 2023. Changes of microbiome in response to sugars in a wilt pathogen-infested soil. Soil Ecology Letters. 5(1): 46–65.
- Rodrigues, ML. 2018. The multifunctional fungal ergosterol. mBio. 9(5):e01755-18. DOI: 10.1128/mBio.01755-18.
- Rosanti, KT, IR Sastrahidayat, dan AL Abadi, 2014. Pengaruh jenis air terhadap perkembahan spora jamur *Colletotrichum capsici* pada cabai dan *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* pada tomat. Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan. 2(3): 109–120.
- Rosero-Hernández, ED, J Moraga, IG Collado, and F Echeverri. 2019. Natural compounds that modulate the development of the fungus *Botrytis cinerea*. Plants. 8(5):111. DOI: 10.3390/plants8050111.
- Sánchez-Bayo, F. 2021. Indirect effect of pesticides on insects and other arthropods. Toxics. 9(8):177. DOI: 10.3390/toxics9080177.
- Singh, AK, MB Pandey, and UP Singh. 2007. Antifungal activity of an alkaloid allosecurinine against some fungi. Mycobiology. 35(2): 62–64.
- Sintayehu, A, PK Sakhuja, C Fininsa, and S Ahmed. 2011. Management of fusarium basal rot (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*) on shallot through fungicidal bulb treatment. Crop Protection. 30(5): 560–565.
- Suganda, T, INC Simarmata, Y Supriyadi, dan E Yulia. 2019. Uji in-vitro kemampuan ekstrak metanol bunga dan daun tanaman kembang telang (*Clitoria ternatea* L.) dalam menghambat pertumbuhan jamur *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*. Jurnal Agrikultura. 30(3): 109–116.
- Suganda, T, P Komalasari, E Yulia, dan WD Natawigena. 2020. Uji in vitro keefektifan ekstrak air daun dan bunga kembang telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap jamur *Alternaria solani* penyebab penyakit bercak coklat pada tanaman tomat. Jurnal Agrikultura. 31(2): 88–96.
- Swathi, KP, S Jayaram, D Sugumar, and E Rymbai. 2021. Evaluation of anti-inflammatory and anti-arthritis property of ethanolic extract of *Clitoria ternatea*. Chinese Herbal Medicine. 13(2): 243–249.
- Taur, DJ, and RY Patil. 2011. Evaluation of antiasthmatic activity of *Clitoria ternatea* L. roots. Journal of ethnopharmacology. 136(2): 374–376.
- Turtola, S, AM Manninen, R Rikala, and P Kainulainen. 2003. Drought stress alters the concentration of wood terpenoids in Scots pine and Norway spruce seedlings. Journal of Chemical Ecology. 29: 1981–1995.
- Van Leeuwen, MR, P Krijgsheld, R Bleichrodt, H Menke, H Stam, J Stark, HAB Wösten, and J Dijksterhuis. 2013. Germination of conidia of *Aspergillus niger* is accompanied by major changes in RNA profiles. Studies in Mycology. 74(1): 59–70.
- Vargas-Hernandez M, I Macias-Bobadilla, RG Guevara-Gonzalez, Sdj Romero-Gomez, E Rico-Garcia, RV Ocampo-Velazquez, LdL Alvarez-Arquieta, and I Torres-Pacheco. 2017. Plant Hormesis Management with Biostimulants of Biotic Origin in Agriculture. Frontiers in Plant Science. 8:1762. DOI: 10.3389/fpls.2017.01762.
- Wang, J, H Mei, C Zheng, H Qian, C Cui, Y Fu, J Su, Z Liu, Z Yu, and J He. 2013. The metabolic regulation of sporulation and parasporal crystal formation in *Bacillus thuringiensis* revealed by transcriptomics and proteomics. Molecular & Cellular Proteomics. 12(5): 1363–1376.
- Weerasinghe, T, D Perera, N De Silva, D Poogoda, and H Swarnathilaka. 2022. Butterfly pea: An emerging plant with applications in food and medicine. The Pharma Innovation. 11(6): 625–637.
- Widowati, W, L Darsono, J Lucianus, E Setiabudi, SS Obeng, S Stefani, W Wahyudianingsih, KR Tandibua, R Gunawan, CR Wijayanti, A

- Novianto, HSW Kusuma, and R Rizal. 2023. Butterfly pea flower (*Clitoria ternatea* L.) extract displayed antidiabetic effect through antioxidant, anti-inflammatory, lower hepatic GSK-3 $\beta$ , and pancreatic glycogen on diabetes mellitus and dyslipidemia rat. Journal of King Saud University-Science. 35(4):102579. DOI: 10.1016/j.jksus.2023.102579.
- Yulia, E, WA Shipton, and RJ Coventry. 2006. Activity of some plant oils and extracts against *Colletotrichum gloeosporioides*. Plant Pathology Journal. 5(2): 253–257.
- Zhang, Y, B Zhang, C Luo, Y Fu, and F Zhu. 2021. Fungicidal actions and resistance mechanisms of prochloraz to *Penicillium digitatum*. Plant Disease. 105(2): 408–415.
- Zhao, ZM, XF Shang, RK Lawoe, YQ Liu, R Zhou, Y Sun, YF Yan, JC Li, GZ Yang, and CJ Yang. 2019. Anti-phytopathogenic activity and the possible mechanisms of action of isoquinoline alkaloid sanguinarine. Pesticide Biochemistry and Physiology. 159: 51–58.
- Zhu, C, M Lei, M Andargie, J Zeng, and J Li. 2019. Antifungal activity and mechanism of action of tannic acid against *Penicillium digitatum*. Physiological and Molecular Plant Pathology. 107: 46–50.