



CENDAWAN ENDOFIT DAUN ASAL ZINGIBERACEAE POTENSIAL UNTUK MENEKAN *Proxipyricalaria zingiberis* PENYEBAB PENYAKIT BERCAK DAUN PADA TANAMAN JAHE

@Hak cipta milik IPB University

MARLINA PUSPITA SARI



PROGRAM STUDI FITOPATOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PERNYATAAN MENGENAI DISERTASI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa disertasi dengan judul “Cendawan Endofit Daun asal Zingiberaceae Potensial untuk Menekan *Proxipyricalaria zingiberis* Penyebab Penyakit Bercak Daun pada Tanaman Jahe” adalah karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir disertasi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari hasil penelitian saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Juli 2026

Marlina Puspita Sari
A3602231002



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.





RINGKASAN

MARLINA PUSPITA SARI. Cendawan Endofit Daun asal Zingiberaceae Potensial untuk Menekan *Proxipyricularia zingiberis* Penyebab Penyakit Bercak Daun pada Tanaman Jahe. Dibimbing oleh SURYO WIYONO, GIYANTO, AWANG MAHARIJAYA, DONO WAHYUNO

Penyakit bercak daun yang disebabkan oleh *Proxipyricularia zingiberis* merupakan salah satu kendala pada budidaya jahe karena dapat menurunkan produktivitas tanaman sebesar 13%–66%. Penelitian ini mengeksplorasi cendawan endofit daun asal Zingiberaceae, mengkaji potensinya sebagai agen pengendali hayati penyakit bercak daun pada jahe, serta pengaruh kolonisasi cendawan endofit terhadap perubahan metabolit tanaman. Penelitian disusun dalam tiga studi utama yang mencakup aspek ekologi komunitas cendawan endofit, potensi biokontrol, dan respons metabolom tanaman.

Studi pertama berfokus pada eksplorasi dan karakterisasi komunitas cendawan endofit daun dari sembilan spesies Zingiberaceae. Analisis dilakukan untuk mengevaluasi tingkat kolonisasi, struktur komunitas, dan pola keanekaragaman cendawan endofit pada berbagai inang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat kolonisasi dipengaruhi oleh kekerabatan taksonomi tanaman inang, namun pola keanekaragaman spesies cendawan endofit tidak sepenuhnya mencerminkan kekerabatan taksonomi tanaman inang. Komunitas cendawan endofit didominasi oleh genus *Colletotrichum*, diikuti oleh *Phyllosticta* dan *Diaporthe*. Hasil ini menunjukkan bahwa Zingiberaceae merupakan sumber keanekaragaman cendawan endofit yang berpotensi dimanfaatkan dalam pengendalian hayati.

Studi kedua mengevaluasi kemampuan cendawan endofit daun dalam menekan pertumbuhan *P. zingiberis*. Sebanyak 27 isolat menunjukkan kategori aman hayati berdasarkan uji hemolisis dan fitopatogenisitas. Pada pengujian *in vitro*, isolat terpilih mampu menghambat pertumbuhan patogen melalui mekanisme kompetisi dan antibiosis. Beberapa isolat juga terdeteksi menghasilkan IAA dan enzim hidrolitik pada medium buatan yang mengindikasikan potensi tambahan dalam memacu pertumbuhan tanaman dan mendegradasi dinding sel patogen. Pengujian *in planta* menunjukkan bahwa aplikasi cendawan endofit terpilih secara signifikan menurunkan keparahan penyakit bercak daun. Isolat *Colletotrichum gigasporum* (E2) merupakan isolat yang paling efektif dalam menekan penyakit bercak daun serta menghasilkan bobot basah rimpang tertinggi.

Studi ketiga mengkaji pengaruh kolonisasi cendawan endofit dan inokulasi *P. zingiberis* terhadap perubahan profil metabolit daun jahe. Delapan isolat cendawan endofit berhasil mengkolonisasi daun jahe pada 5 hari setelah inokulasi (HSI). Analisis metabolomik dilakukan menggunakan pendekatan *untargeted* berbasis LC-MS/HRMS pada dua titik waktu pengambilan sampel, yaitu 5 HSI setelah aplikasi endofit dan 5 HSI setelah inokulasi patogen. Sebanyak 41 senyawa berhasil dianalisis secara putatif. Analisis multivariat dengan *Principal Component Analysis* (PCA) dan *Partial Least Squares Discriminant Analysis* (PLS-DA) menunjukkan bahwa inokulasi cendawan endofit maupun infeksi patogen *P. zingiberis* memengaruhi profil metabolit daun dengan pola respons yang spesifik pada masing-masing isolat. Perubahan metabolik tersebut ditandai oleh akumulasi



beberapa metabolit yang diduga terkait dengan respons pertahanan tanaman, terutama asam pipecolat dan asam jasmonat. Kedua senyawa tersebut menunjukkan korelasi negatif yang kuat dengan nilai AUDPC serta korelasi positif dengan bobot rimpang, mengindikasikan bahwa peningkatan metabolit pertahanan pada tanaman yang diinokulasi endofit mungkin berkaitan dengan penurunan keparahan penyakit sekaligus perbaikan kondisi fisiologis tanaman yang mendukung pertumbuhan rimpang. Meskipun demikian, hubungan ini bersifat korelatif, sehingga konfirmasi melalui pendekatan *targeted metabolomics* dan analisis fungsional masih diperlukan untuk memastikan hubungan kausal antara perubahan metabolit dan penekanan penyakit bercak daun. Terlepas dari keterbatasan tersebut, penelitian ini secara keseluruhan menunjukkan bahwa cendawan endofit daun asal Zingiberaceae memiliki potensi sebagai agens pengendali hayati yang efektif terhadap penyakit bercak daun pada jahe.

Kata kunci: AUDPC, bobot rimpang, pengendalian hayati, produktivitas jahe, profil metabolit

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



SUMMARY

MARLINA PUSPITA SARI. Leaf Endophytic Fungi from Zingiberaceae as Potential Agents for Suppressing *Proxipyricularia zingiberis*, the Causal Agent of Leaf Spot Disease in Ginger. Supervised by SURYO WIYONO, GIYANTO, AWANG MAHARIJAYA, DONO WAHYUNO.

Leaf spot disease caused by *Proxipyricularia zingiberis* is one of the major constraints in ginger cultivation, reducing crop productivity by 13%–66%. This study explored foliar endophytic fungi associated with Zingiberaceae, evaluated their potential as biological control agents against ginger leaf spot disease, and investigated the effects of endophytic fungal colonization on changes in plant metabolite profiles. The research comprised three major studies addressing the ecology of endophytic fungal communities, their biocontrol potential, and the metabolomic responses of ginger plants.

The first study focused on the exploration and characterization of foliar endophytic fungal communities from nine Zingiberaceae species. Analyses were conducted to evaluate colonization rates, community structure, and diversity patterns of endophytic fungi across different host plants. The results showed that colonization rates were influenced by the taxonomic relatedness of the host plants, whereas the diversity patterns of endophytic fungal species did not fully reflect host taxonomic relationships. The endophytic fungal community was dominated by the genus *Colletotrichum*, followed by *Phyllosticta* and *Diaporthe*. These findings demonstrate that Zingiberaceae represent a valuable reservoir of endophytic fungal diversity with considerable potential for biological control applications.

The second study evaluated the ability of foliar endophytic fungi to suppress the growth of *P. zingiberis*. Twenty-seven isolates were classified as biologically safe based on hemolysis and phytopathogenicity assays. Under *in vitro* conditions, selected isolates inhibited pathogen growth through competition and antibiosis. Several isolates also produced indole-3-acetic acid (IAA) and hydrolytic enzymes in artificial medium, indicating additional potential to promote plant growth and degrade pathogen cell walls. *In planta* experiments demonstrated that application of selected endophytic fungi significantly reduced the severity of leaf spot disease. *Colletotrichum gigasporum* (E2) was the most effective isolate, providing the greatest suppression of leaf spot disease while producing the highest fresh rhizome weight.

The third study investigated the effects of endophytic fungal colonization and *P. zingiberis* inoculation on changes in the metabolite profiles of ginger leaves. Eight endophytic fungal isolates successfully colonized ginger leaves within 5 days after inoculation (DAI). Untargeted metabolomic analysis was performed using LC–MS/HRMS at two sampling points: 5 DAI following endophyte application and 5 DAI following pathogen inoculation. A total of 41 compounds were putatively annotated. Multivariate analyses using Principal Component Analysis (PCA) and Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLS-DA) revealed that both endophytic fungal inoculation and *P. zingiberis* infection altered leaf metabolite profiles, with isolate-specific response patterns. These metabolic changes were characterized by the accumulation of several metabolites associated with plant defense responses, particularly pipelicolic acid and jasmonic acid. Both compounds



showed strong negative correlations with the area under the disease progress curve (AUDPC) and positive correlations with rhizome weight, suggesting that enhanced accumulation of defense-related metabolites in endophyte-inoculated plants may be associated with reduced disease severity and improved physiological conditions that support rhizome development. However, these relationships remain correlative, and confirmation through targeted metabolomics and functional analyses is still required to establish causal links between metabolite changes and suppression of leaf spot disease. Despite these limitations, the findings of this study collectively demonstrate that foliar endophytic fungi associated with Zingiberaceae possess considerable potential as effective biological control agents against leaf spot disease in ginger.

Keywords: AUDPC, biological control, ginger productivity, metabolite profile

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2026
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.





CENDAWAN ENDOFIT DAUN ASAL ZINGIBERACEAE POTENSIAL UNTUK MENEKAN *Proxipyricularia zingiberis* PENYEBAB PENYAKIT BERCAK DAUN PADA TANAMAN JAHE

@Hak cipta milik IPB University

MARLINA PUSPITA SARI

Disertasi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Doktor
pada Program Studi Fitopatologi

**PROGRAM STUDI FITOPATOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Penguji Luar Komisi Pembimbing pada Ujian Tertutup Disertasi:

1. Dr. Hagia Sophia Khairani, S.P., M.Si.
2. Dr. Ir. Maya Melati, M.S., M.Sc.

Promotor Luar Komisi Pembimbing pada Sidang Promosi Terbuka Disertasi:

1. Dr. Hagia Sophia Khairani, S.P., M.Si.
2. Puji Lestari, S.P., M.Si., Ph



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

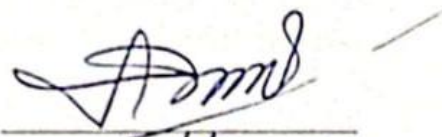
Judul disertasi : Cendawan Endofit Daun asal Zingiberaceae Potensial untuk Menekan *Proxipyricalaria zingiberis* Penyebab Penyakit Bercak Daun pada Tanaman Jahe

Nama : Marlina Puspita Sari

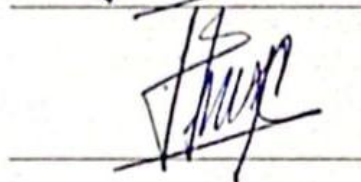
NIM : A3602231002

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. Ir. Suryo Wiyono, M.Sc.Agr.



Pembimbing 2:
Dr. Ir. Giyanto, M.Si.



Pembimbing 3:
Prof. Dr. Awang Maharijaya, S.P., M.Si.



Pembimbing 4:
Dr. Ir. Dono Wahyuno

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Prof. Dr. Ir. Abdjad Asih Nawangsih, M.Si.
NIP. 196506211989102001



Dekan Fakultas Pertanian:
Prof. Dr. Ir. Suryo Wiyono, M.Sc. Agr.
NIP. 196902121992031003



Tanggal Ujian Tertutup : 2 Juli 2026

Tanggal Lulus: 04 AUG 2026



PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat, karunia, dan penyertaan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi yang berjudul “*Cendawan Endofit Daun asal Zingiberaceae Potensial untuk Menekan Proxipyricalaria zingiberis Penyebab Penyakit Bercak Daun pada Tanaman Jahe*” dengan baik. Disertasi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Doktor pada Program Studi Fitopatologi, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Penelitian dan penulisan disertasi ini tidak terlepas dari bantuan, dukungan, arahan, dan doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Suryo Wiyono, M.Sc.Agr. selaku ketua komisi pembimbing yang telah memberikan arahan, bimbingan, motivasi, dan masukan yang sangat berharga selama proses penelitian dan penyusunan disertasi ini.
2. Dr. Ir. Giyanto, Prof. Dr. Awang Maharijaya, M.Sc., dan Dr. Ir. Dono Wahyuno selaku anggota komisi pembimbing atas saran, motivasi, perhatian, dan dukungan selama pelaksanaan penelitian hingga penyelesaian naskah disertasi.
3. Moderator seminar dan para penguji luar komisi pembimbing atas kritik, masukan, dan saran yang konstruktif.
4. Seluruh dosen dan staf Program Studi Fitopatologi, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor atas ilmu, bantuan, dan pengalaman yang telah diberikan selama masa studi.
5. Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP), Kementerian Keuangan Republik Indonesia, atas kesempatan dan dukungan pendanaan melalui skema Beasiswa *Targeted* ASN/TNI/POLRI Tahun 2023 yang memungkinkan penulis untuk melanjutkan dan menyelesaikan studi doctoral ini.
6. Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) serta seluruh rekan kerja dan peneliti yang telah memberikan dukungan fasilitas, bantuan teknis, dan semangat selama penelitian berlangsung.
7. Fakultas Pertanian IPB dan seluruh pihak yang telah membantu penyediaan fasilitas penelitian, laboratorium, serta rumah kaca untuk mendukung pelaksanaan penelitian.
8. Bapak dan Ibu peneliti senior serta rekan sejawat di Laboratorium “Hamid” yang telah banyak memberikan saran, masukan, menjadi rekan diskusi, serta membantu penyediaan bahan maupun alat yang digunakan dalam penelitian ini.
9. Rekan-rekan mahasiswa Pascasarjana yang telah memberikan dukungan, bantuan, dan kebersamaan selama menempuh studi doctoral.
10. Bapak Sumarjana dan Ibu Winarni, kedua orang tua tercinta, atas doa yang tidak pernah putus, dukungan, kasih sayang, dan semangat yang rasanya tidak akan pernah cukup dibalas hanya dengan ucapan terima kasih.
11. Suami tercinta Dhian Argo Wibowo, yang telah menemani perjalanan akademik penulis sejak masa sarjana, magister, hingga doktor. Terima kasih

atas izin, doa, kesabaran, dukungan, serta waktu yang harus banyak direlakan selama penulis menempuh pendidikan doktoral.

12. Untuk putri tercinta Embun Rinjani Wibowo dan putra tersayang Bhumi Semeru Wibowo, terima kasih atas cinta, pengertian, dan semangat yang selalu menjadi sumber kekuatan bagi penulis. Semoga perjalanan ini dapat menjadi teladan bahwa belajar, berjuang, dan berani bermimpi merupakan bagian penting dalam meraih cita-cita.

Penulis menyadari bahwa disertasi ini masih memiliki berbagai keterbatasan dan kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi penyempurnaan karya ini pada masa mendatang. Penulis berharap disertasi ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang fitopatologi, mikrobiologi, serta pemanfaatan cendawan endofit dalam pengelolaan penyakit tanaman.

Bogor, Juli 2026

Marlina Puspita Sari



DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	ix
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
1.5 Ruang Lingkup	3
1.6 Kebaruan (<i>novelty</i>)	4
1.7 Hipotesis	5
II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Syarat Hidup dan Budidaya Tanaman Jahe	6
2.2 Penyakit Bercak Daun Jahe	6
2.3 Pengendalian Penyakit Bercak Daun Jahe	8
2.4 Karakteristik Cendawan Endofit	9
2.5 Mekanisme Cendawan Endofit sebagai Agens Pengendali Hayati	10
2.6 Sistem Ketahanan pada Tanaman	12
2.7 Metabolit Tanaman dan Pendekatan Metabolomik dalam Studi Interaksi Tanaman–Mikroba	14
III KEANEKARAGAMAN CENDAWAN ENDOFIT DAUN DARI BERBAGAI TANAMAN FAMILI ZINGIBERACEAE	16
3.1 Abstrak	16
3.2 Pendahuluan	16
3.3 Waktu dan Lokasi Penelitian	17
3.4 Bahan dan Metode Penelitian	18
3.5 Hasil dan Pembahasan	20
3.6 Simpulan	32
IV CENDAWAN ENDOFIT POTENSIAL ASAL ZINGIBERACEAE UNTUK PENGENDALIAN BERCAK DAUN <i>Proxiyricularia zingiberis</i> PADA JAHE	34
4.1 Abstrak	34
4.2 Pendahuluan	34
4.3 Waktu dan Lokasi Penelitian	35
4.4 Bahan dan Metode Penelitian	35
4.5 Hasil dan Pembahasan	41
4.6 Simpulan	57
V DETEKSI KOLONISASI CENDAWAN ENDOFIT DAN PROFILING METABOLIT DAUN JAHE	58
5.1 Abstrak	58
5.2 Pendahuluan	58
5.3 Waktu dan Lokasi Penelitian	60



5.4	Bahan dan Metode Penelitian	60
5.5	Hasil dan Pembahasan	62
5.6	Simpulan	72

VI	PEMBAHASAN UMUM	74
----	-----------------	----

VII	SIMPULAN DAN SARAN UMUM	78
-----	-------------------------	----

7.1	Simpulan Umum	78
-----	---------------	----

7.2	Saran Umum	78
-----	------------	----

	DAFTAR PUSTAKA	79
--	----------------	----

	LAMPIRAN	93
--	----------	----

	RIWAYAT HIDUP	100
--	---------------	-----

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



DAFTAR TABEL

3.1	Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini	21
3.2	Matriks jarak taksonomi antar tanaman inang famili Zingiberaceae berdasarkan klasifikasi taksonomi	22
3.3	Indeks keanekaragaman cendawan endofit pada berbagai tanaman dalam famili Zingiberaceae	23
4.1	Kandidat isolat cendawan endofit sebagai agen biokontrol terbaik berdasarkan hasil uji <i>in vitro</i>	47
4.2	Kesesuaian terbaik hasil BLAST pada NCBI GenBank untuk cendawan endofit daun berdasarkan sekuen parsial ITS, TEF1- α , ACT, dan TUB	50
4.3	Pengaruh aplikasi cendawan endofit terpilih terhadap pertumbuhan tanaman	54
5.1	Metabolit penting yang terkait dengan pertahanan tanaman dan produktivitas pada daun jahe sebelum dan setelah inokulasi patogen (VIP > 1,5 dan $ \log_2FC \geq 1$)	69

DAFTAR GAMBAR

1.1	Kerangka penelitian	4
2.1	Gejala bercak <i>Proxipyricularia zingiberis</i> pada nodul rimpang (Kotani dan Kurata 1992)	7
2.2	Gejala penyakit bercak daun <i>Proxipyricularia zingiberis</i> pada jahe a)gejala banyak muncul pada daun yang sudah membuka sempurna b)gejala khas berbentuk berlian dikelilingi halo berwarna kuning (dokumentasi pribadi)	8
2.3	Mekanisme cendawan endofit dalam meningkatkan ketahanan tanaman terhadap cendawan patogen (Akram <i>et al.</i> 2023)	10
3.1	Performa tanaman inang Zingiberaceae yang digunakan dalam penelitian ini. (A) <i>Alpinia malaccensis</i> : (1) habitus tanaman, (2) buah, (3) daun; (B) <i>A. galanga</i> : (1) habitus tanaman, (2) daun; (C) <i>Etlingera elatior</i> : (1) habitus tanaman, (2) daun, (3) bunga dan tunas; (D) <i>Zingiber zerumbet</i> ; (E) <i>Z. officinale</i> var. <i>officinale</i> ; (F) <i>Z. officinale</i> var. <i>amarum</i> ; (G) <i>Z. officinale</i> var. <i>rubrum</i> ; (H) <i>Curcuma longa</i> ; (I) <i>C. xanthorrhiza</i> .	21
3.2	Tingkat kolonisasi cendawan endofit pada berbagai spesies tanaman inang. Titik berwarna menunjukkan ulangan individu, sedangkan titik hitam menunjukkan nilai rata-rata $\pm$ standar deviasi. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata antar inang berdasarkan uji ANOVA satu arah yang dilanjutkan dengan uji Tukey HSD ($P < 0,001$)	22
3.3	Heatmap korelasi antara genus cendawan endofit dengan tanaman inangnya. Intensitas warna mewakili frekuensi isolasi (%) dari setiap genus endofit. Pengelompokan baris dan kolom (jarak Euclidean) berdasarkan kemiripan dalam kelimpahan di seluruh inang.	24
3.4	Variasi morfologi koloni isolat <i>Colletotrichum</i> endofit asal Zingiberaceae pada 7 HSI di medium PDA 20%	25

- 3.5 Pohon filogenetik dari isolat *Colletotrichum* berdasarkan sekuens ITS dengan metode *neighbour-joining* (1.000 ulangan *bootstrap*). *Phyllosticta capitalensis* sebagai outgroup. Nilai *bootstrap* >70% ditampilkan pada cabang pohon. 26
- 3.6 Heatmap spesies *Colletotrichum* pada berbagai inang Zingiberaceae. Intensitas warna menunjukkan frekuensi isolasi cendawan endofit; baris dan kolom dikelompokkan berdasarkan jarak Euclidean. 27
- 3.7 Variasi morfologi koloni isolat *Phyllosticta* endofit asal Zingiberaceae pada 7 HSI di medium PDA 20% 28
- 3.8 Pohon filogenetik dari isolat *Phyllosticta* berdasarkan sekuens ITS dengan metode *neighbour-joining* (1.000 ulangan *bootstrap*). *Neofusicoccum mediterraneum* dan *Diplodia seriata* sebagai outgroup. Nilai *bootstrap* >70% ditampilkan pada cabang pohon. 29
- 3.9 Heatmap spesies *Phyllosticta* pada berbagai inang Zingiberaceae. Intensitas warna menunjukkan frekuensi isolasi cendawan endofit; baris dan kolom dikelompokkan berdasarkan jarak Euclidean. 30
- 3.10 Variasi morfologi koloni isolat *Diaporthe* endofit asal Zingiberaceae pada 7 HSI di medium PDA 20% 31
- 3.11 Pohon filogenetik *neighbour-joining* dari isolat *Diaporthe* berdasarkan sekuens ITS (1.000 ulangan *bootstrap*), dengan *Neofusicoccum mediterraneum* sebagai outgroup; nilai *bootstrap* >70% ditampilkan 31
- 3.12 Heatmap spesies *Diaporthe* pada berbagai inang Zingiberaceae. Intensitas warna menunjukkan frekuensi isolasi cendawan. Baris dan kolom dikelompokkan berdasarkan jarak Euclidean 32
- 4.1 Distribusi isolat cendawan endofit berdasarkan uji hemolisis dan fitopatogenisitas: (A) persentase; (B) distribusi per tanaman inang. 41
- 4.2 Hasil uji aktivitas hemolisis dan fitopatogenisitas isolat cendawan endofit. (A) Reaksi hemolisis pada medium agar darah yang ditunjukkan oleh zona bening di sekitar koloni (anak panah); (B) uji fitopatogenisitas pada kecambah dengan respons negatif (–) dan positif (+); (C) gejala pada daun akibat inokulasi isolat cendawan endofit yang menunjukkan respons negatif (–) dan positif (+). 42
- 4.3 Tipe interaksi antara cendawan endofit dan patogen pada uji kultur ganda dan persentase distribusi masing-masing tipe interaksi 43
- 4.4 Persentase penghambatan pertumbuhan koloni *Proxipyricularia zingiberis* oleh cendawan endofit pada berbagai tipe interaksi 43
- 4.5 Kemampuan cendawan endofit asal Zingiberaceae dalam menghasilkan senyawa volatil. (A) Persentase penghambatan pertumbuhan koloni *P. zingiberis*; (B) visualisasi hasil uji senyawa volatil pada beberapa isolat cendawan endofit 44
- 4.6 Kemampuan cendawan endofit asal Zingiberaceae dalam menghasilkan enzim kitinase dan glukonase. (A) Indeks aktivitas kitinolitik dan glukonolitik pada seluruh isolat yang diuji; (B) visualisasi aktivitas kitinase yang ditunjukkan oleh pembentukan zona bening di sekitar koloni pada medium uji; (C) visualisasi aktivitas glukonase yang ditunjukkan oleh pembentukan zona bening pada medium spesifik. 45
- 4.7 Produksi asam indol-3-asetat (IAA) oleh cendawan endofit. (A) Konsentrasi IAA pada berbagai isolat; (B) larutan standar IAA; (C)

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

- perubahan warna eksudat cendawan setelah penambahan reagen sebagai indikator sintesis IAA. 46
- 4.8 Morfologi koloni dan karakteristik konidia cendawan endofit terpilih. (A, C, E, G, I, K, M, dan O) morfologi koloni masing-masing isolat 7 hari setelah inkubasi (HSI) pada medium PDA ; (B, D, F, H, J, L, N, dan P) konidia yang dihasilkan oleh isolat yang bersesuaian (ditampilkan di sebelah kiri). Skala = 10 μ m. 49
- 4.9 Pohon filogenetik *Colletotrichum* berbasis dua lokus. Pohon dikonstruksi dengan metode *neighbour-joining* menggunakan 1.000 ulangan *bootstrap*. Nilai *bootstrap* ditampilkan pada simpul dendrogram, sedangkan nilai <70% tidak ditampilkan. 51
- 4.10 Pohon filogenetik *Phyllosticta* berbasis dua lokus. Pohon dikonstruksi dengan metode *neighbour-joining* menggunakan 1.000 ulangan *bootstrap*. Nilai *bootstrap* ditampilkan pada simpul dendrogram, sedangkan nilai <70% tidak ditampilkan. 51
- 4.11 Pohon filogenetik *Fusarium* berbasis dua lokus. Pohon dikonstruksi dengan metode *neighbour-joining* menggunakan 1.000 ulangan *bootstrap*. Nilai *bootstrap* ditampilkan pada simpul dendrogram, sedangkan nilai <70% tidak ditampilkan. 52
- 4.12 Pohon filogenetik *Diaporthe* berbasis dua lokus. Pohon dikonstruksi dengan metode *neighbour-joining* menggunakan 1.000 ulangan *bootstrap*. Nilai *bootstrap* ditampilkan pada simpul dendrogram, sedangkan nilai <70% tidak ditampilkan. 52
- 4.13 Konfirmasi *Proxiopyricularia zingiberis* sebagai penyebab bercak daun (A) Morfologi koloni *P. zingiberis* Pyr-J2 pada medium PDA setelah 7 hari inkubasi; (B) konidia; (C) perkecambahan konidia (Cd) dan pembentukan apresorium (Ap); (D) gejala penyakit; serta (E) pohon filogenetik isolat yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan kombinasi sekuens gen ITS dan ACT. Pohon filogenetik dikonstruksi menggunakan metode *neighbour-joining* dengan 1.000 ulangan *bootstrap*. Skala batang = 10 μ m. 53
- 4.14 Performa pertumbuhan tanaman jahe dan rimpang pada berbagai perlakuan endofit. 55
- 4.15 Pengaruh aplikasi cendawan endofit terhadap (A) periode inkubasi, (B) AUDPC, dan (C) bobot rimpang. Nilai yang disajikan merupakan rata-rata dari tiga ulangan, dan batang galat menunjukkan simpangan baku (SD). Batang yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey HSD ($p < 0,05$). K+ = kontrol yang diinokulasi patogen (*P. zingiberis*), K- = kontrol tanpa inokulasi; E1 = *C. plurivorum*, E2 = *C. gigasporum*, E3 = *P. capitalensis*, E4 = *P. capitalensis*, E5 = *C. karsti*, E6 = *F. keratoplasticum*, E7 = *P. paracapitalensis*, dan E8 = *D. ueckeri*. 56
- 5.1 Tingkat kolonisasi cendawan endofit pada 2, 5, dan 10 hari setelah inokulasi (hsi). Huruf yang sama pada setiap kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada tingkat kepercayaan 95% berdasarkan uji Tukey's HSD. Data ditransformasi menggunakan transformasi *arcsine square root* untuk memenuhi asumsi kenormalan. 62

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

5.2 Perkecambahan konidia dan pembedakan apresorium cendawan endofit yang diaplikasikan ke permukaan daun (2HSI). Skala batang = 50µm.	63
5.3 <i>Overlay</i> kromatogram <i>Base Peak Intensity</i> (BPI) dari profil metabolit tanaman berdasarkan analisis LC-MS/HRMS pada berbagai perlakuan aplikasi cendawan endofit. Variasi pola dan intensitas puncak mengindikasikan adanya perubahan komposisi dan kelimpahan relatif metabolit antar perlakuan.	64
5.4 Heatmap profil metabolit daun jahe pada berbagai perlakuan cendawan endofit sebelum (-) dan setelah (+) inokulasi <i>Proxipyricalaria zingiberis</i> . Intensitas warna menunjukkan tingkat kelimpahan relatif metabolit, dengan warna merah menunjukkan akumulasi lebih tinggi dan warna biru menunjukkan akumulasi lebih rendah.	66
5.5 PCA dan PLS-DA profil metabolit pada daun jahe yang diberi perlakuan cendawan endofit daun sebelum dan setelah inokulasi patogen. (a–b) Plot skor PCA yang menunjukkan pengelompokan perlakuan secara tidak terawasi (<i>unsupervised</i>) sebelum dan setelah inokulasi <i>P. zingiberis</i> . (c–d) Plot skor PLS-DA yang menunjukkan pemisahan perlakuan secara terawasi (<i>supervised</i>).	67
5.6 Plot skor VIP yang diturunkan dari model PLS-DA (a) sebelum inokulasi patogen (b) setelah inokulasi patogen. Metabolit dengan nilai VIP > 1,5 dianggap berkontribusi signifikan terhadap pemisahan kelompok. 2,3 DHPS = 2,3-dihidroksipropil stearat; DHM-PrDHC = 2',6'-dihidroksi-4'-metoksi-3'; AMD-AdaOH = 3-amino-5,7-dimetiladamantan-1-ol; OPDA = 12-okso fitodienoat.	68
5.7 Heatmap korelasi Pearson yang menunjukkan hubungan antara metabolit terpilih (VIP > 1,5; log2FC > 1), AUDPC, dan hasil rimpang. Warna pada setiap sel merepresentasikan koefisien korelasi Pearson, sedangkan nilai numerik hanya ditampilkan untuk korelasi yang signifikan secara statistik (p < 0,05).	70
6.1 Prediksi mekanisme peningkatan ketahanan tanaman jahe terhadap penyakit bercak daun oleh cendawan endofit	76

DAFTAR LAMPIRAN

1 Kesesuaian spesies terdekat berdasarkan sekuens ITS rDNA dan frekuensi isolasi cendawan endofit daun yang diisolasi dari inang Zingiberaceae	94
2 Komposisi metabolit daun jahe pada berbagai perlakuan cendawan endofit sebelum dan setelah inokulasi patogen	97



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) merupakan komoditas penting dengan nilai ekonomi tinggi, baik sebagai bahan obat tradisional maupun fitofarmaka, serta memiliki prospek luas di pasar domestik dan internasional (Heidari *et al.* 2026; Mulyani *et al.* 2026). Indonesia sebagai salah satu produsen utama jahe dunia memiliki potensi besar dalam pengembangan komoditas ini (FAO 2026). Namun demikian, produksi dan produktivitas jahe di Indonesia masih cenderung berfluktuasi, yang dipengaruhi oleh faktor biotik maupun abiotik, termasuk infeksi penyakit tanaman (BPS-Kementerian Pertanian 2025). Selain faktor lingkungan dan budidaya, sistem penanaman berulang (*continuous cropping*) pada jahe juga dilaporkan meningkatkan akumulasi berbagai organisme patogen, seperti cendawan, nematoda, dan bakteri, yang berdampak terhadap penurunan kesehatan dan produktivitas tanaman (Ruchi dan Dohroo 2005; Wahyuno *et al.* 2020, 2023; Zhang *et al.* 2020; Wang *et al.* 2021; Liang *et al.* 2022).

Penyakit bercak daun banyak ditemukan pada berbagai varietas jahe, khususnya jahe merah dan jahe putih besar. Penyakit ini tidak secara langsung menyebabkan kematian tanaman, tetapi dapat menurunkan luas daun sehat dan kapasitas fotosintesis sehingga berdampak pada penurunan produktivitas serta ketahanan tanaman terhadap cekaman lingkungan. Kehilangan hasil akibat penyakit bercak daun dilaporkan berkisar antara 13–66%, tergantung tingkat keparahan penyakit, yang meningkat pada kondisi kelembapan dan suhu tinggi (Merga 2021). Tanaman berumur muda (<5 bulan) diketahui lebih rentan terhadap infeksi penyakit bercak daun (Siswanto *et al.* 2008). Berbagai cendawan telah dilaporkan sebagai penyebab penyakit bercak daun pada jahe di Indonesia, antara lain *Phakopsora elestariae*, *Phyllosticta* sp., *Proxiyricularia zingiberis*, dan *Phoma* spp. (Kobayashi 1993; Rachmat 1993; Wahyuno *et al.* 2020, 2023). Di antara patogen tersebut, *Proxiyricularia zingiberis* (sinonim: *Pyricularia zingiberi*) merupakan salah satu penyebab utama yang menimbulkan gejala khas berupa bercak berbentuk belah ketupat sehingga mudah dikenali di lapangan. Penyakit ini tidak hanya ditemukan di Indonesia, tetapi juga telah dilaporkan di beberapa negara lain seperti Jepang (Kotani dan Kurata 1992), Malaysia (Abed-Ashtiani *et al.* 2016), dan Vietnam (Nguyen *et al.* 2022). Hingga saat ini, belum tersedia varietas jahe yang sepenuhnya tahan terhadap penyakit bercak daun, meskipun beberapa varietas dilaporkan memiliki tingkat ketahanan moderat (Bermawie dan Purwiyanti 2011).

Selain penting dari sisi kerugian ekonomi, *P. zingiberis* juga menarik dikaji dari perspektif fitopatologi karena berkerabat dekat dengan kompleks *Pyricularia/Magnaporthe*. Kelompok cendawan ini dikenal memiliki mekanisme infeksi yang sangat efisien melalui pembentukan apresorium sebagai struktur penetrasi khusus (Wilson dan Talbot 2009; Dean *et al.* 2012). Selain itu, kelompok ini memproduksi berbagai molekul efektor yang berperan penting dalam kolonisasi jaringan dan supresi sistem pertahanan tanaman (Valent dan Khang 2010; Yan dan Talbot 2016). Perubahan faktor virulensi, adaptasi genetik, dan spesialisasi inang dilaporkan berkontribusi pada kemampuan patogen bertahan di berbagai kondisi lingkungan serta membentuk *lineage* yang berbeda (Gladieux *et al.* 2018). Meskipun informasi mengenai dinamika evolusi dan spesialisasi inang pada *P.*

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

zingiberis masih terbatas, pemahaman terhadap karakteristik patogen ini menjadi penting sebagai dasar pengembangan strategi pengendalian yang efektif.

Pengendalian penyakit bercak daun pada jahe hingga saat ini masih banyak mengandalkan fungisida kimia. Meskipun efektif dalam menekan perkembangan penyakit, penggunaan fungisida secara berulang berpotensi mendorong berkembangnya resistensi patogen serta menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan dan keseimbangan agroekosistem (Wang *et al.* 2025a). Di sisi lain, efektivitas pengendalian di tingkat petani sering kali belum optimal akibat keterbatasan akses terhadap sarana produksi, biaya pengendalian, maupun ketepatan aplikasi. Kondisi tersebut menunjukkan perlunya strategi pengendalian alternatif yang efektif, ramah lingkungan, dan dapat diterapkan secara luas pada berbagai sistem budidaya jahe. Oleh karena itu, pengembangan pendekatan pengendalian hayati berbasis mikroorganisme, seperti cendawan endofit, menjadi sangat relevan.

Cendawan endofit merupakan kelompok mikroorganisme yang hidup dan mengkolonisasi jaringan tanaman tanpa menyebabkan gejala penyakit (Arnold 2007). Keberadaan cendawan endofit diketahui berperan dalam meningkatkan ketahanan tanaman terhadap cekaman biotik maupun abiotik melalui berbagai mekanisme, termasuk produksi metabolit bioaktif, kompetisi ruang dan nutrisi, serta induksi ketahanan sistemik pada tanaman (Rodriguez *et al.* 2009; Mousa dan Raizada 2013; Adeleke *et al.* 2022). Berbagai mekanisme tersebut menunjukkan bahwa cendawan endofit berpotensi besar untuk dikembangkan sebagai agens pengendali hayati yang ramah lingkungan.

Pemanfaatan cendawan endofit sebagai strategi pengendalian penyakit bercak daun pada jahe masih belum banyak dilaporkan. Penelitian yang ada umumnya menggunakan isolat endofit dari berbagai sumber tanaman tanpa mempertimbangkan kesesuaian ekologis dengan tanaman target, sehingga potensi penggunaan endofit yang bersumber dari famili yang sama dengan tanaman inang, seperti Zingiberaceae, belum banyak dikaji secara sistematis. Hingga saat ini, belum ada penelitian yang secara terintegrasi mengkaji potensi biokontrol cendawan endofit daun asal Zingiberaceae sekaligus perannya dalam modulasi profil metabolit daun jahe sebagai respons terhadap kolonisasi endofit dan infeksi *P. zingiberis*. Kesenjangan pengetahuan ini menjadi dasar bagi penelitian yang dilakukan dalam disertasi ini.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh (1) informasi mengenai keragaman, komposisi, dan karakteristik komunitas cendawan endofit daun pada berbagai spesies dalam famili Zingiberaceae, (2) isolat cendawan endofit yang berpotensi sebagai agens biokontrol terhadap *P. zingiberis* berdasarkan pengujian *in vitro* dan *in planta*, serta (3) informasi mengenai perubahan profil metabolit daun jahe yang berkaitan dengan respons terhadap kolonisasi cendawan endofit dan infeksi *P. zingiberis*.

1.2 Rumusan Masalah

Pengendalian penyakit bercak daun pada jahe saat ini masih banyak mengandalkan fungisida kimia yang berpotensi memicu resistensi patogen dan berdampak negatif terhadap lingkungan, sementara efektivitasnya di tingkat petani sering tidak optimal akibat keterbatasan akses terhadap sarana pengendalian. Kondisi tersebut menunjukkan perlunya pengembangan strategi pengendalian

alternatif yang efektif, ramah lingkungan, dan dapat diterapkan pada berbagai skala budidaya.

Cendawan endofit berpotensi sebagai agens pengendali hayati, namun pemanfaatannya secara spesifik untuk mengendalikan penyakit bercak daun pada jahe belum pernah dilaporkan. Selain itu, pendekatan berbasis kesesuaian ekologis, seperti penggunaan cendawan endofit yang berasal dari tanaman dalam famili *Zingiberaceae*, serta keterkaitannya dengan respons tanaman berupa perubahan profil metabolit, belum banyak dikaji secara komprehensif.

Berdasarkan hal tersebut, permasalahan penelitian ini dirumuskan dalam pertanyaan sebagai berikut:

1. Bagaimana keanekaragaman cendawan endofit daun asal tanaman *Zingiberaceae*?
2. Cendawan endofit manakah yang berpotensi menekan penyakit bercak daun jahe dan bagaimana mekanismenya?
3. Bagaimana pengaruh kolonisasi cendawan endofit pada tanaman jahe terhadap profil metabolit daun jahe?

1.3 Tujuan

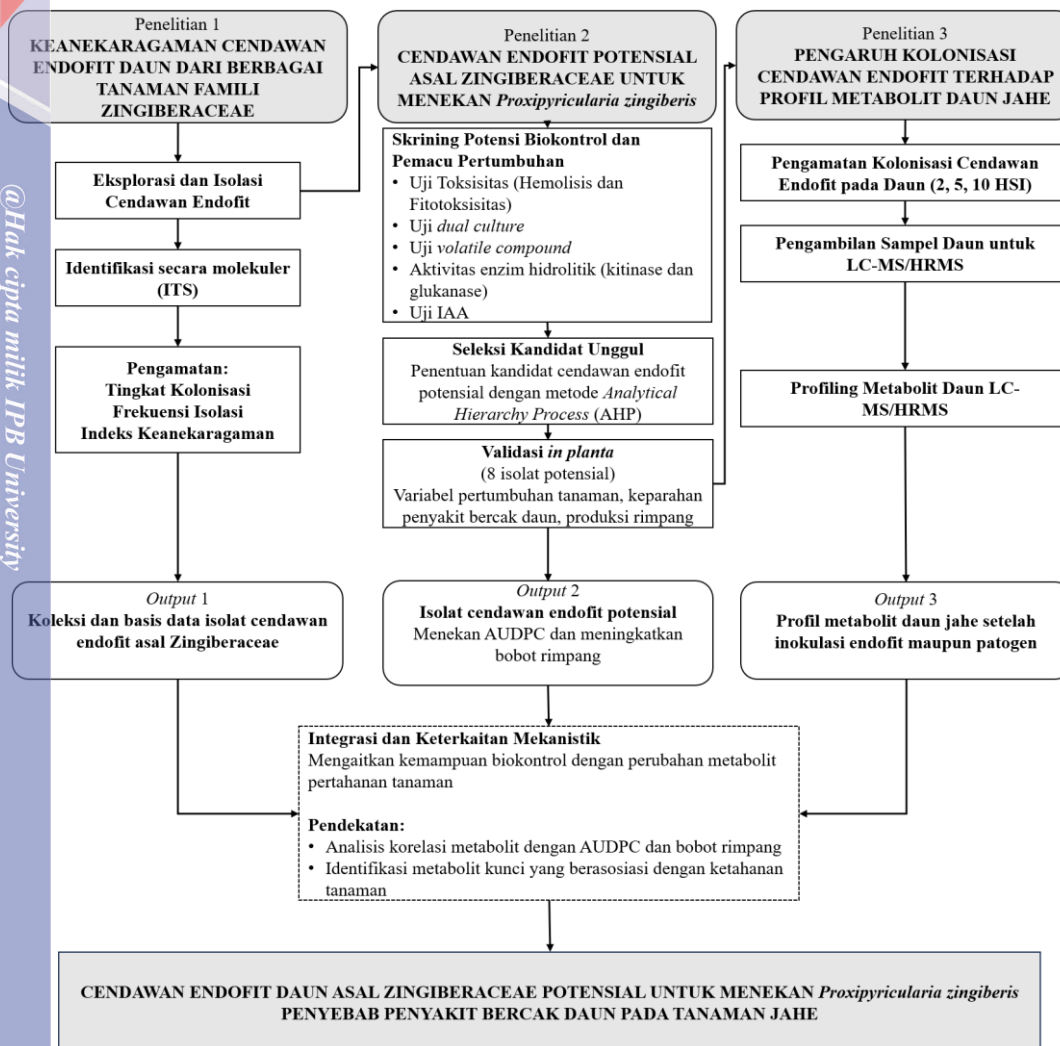
Secara umum, penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan dasar ilmiah bagi pengembangan cendawan endofit daun asal *Zingiberaceae* sebagai agens pengendali hayati penyakit bercak daun jahe yang disebabkan oleh *P. zingiberis*. Secara khusus, penelitian ini bertujuan untuk memperoleh (1) informasi mengenai keragaman, komposisi, dan karakteristik komunitas cendawan endofit daun pada berbagai spesies dalam famili *Zingiberaceae*, (2) isolat cendawan endofit yang berpotensi sebagai agens biokontrol terhadap *P. zingiberis* berdasarkan pengujian *in vitro* dan *in planta*, serta (3) informasi mengenai perubahan profil metabolit daun jahe yang berkaitan dengan respons terhadap kolonisasi cendawan endofit dan infeksi *P. zingiberis*.

1.4 Manfaat

Hasil penelitian ini bisa menjadi komponen dalam strategi pengendalian bercak daun pada jahe serta menambah informasi spesifik mengenai mekanisme cendawan endofit dalam meningkatkan ketahanan tanaman serta pengaruhnya pada profil metabolit tanaman.

1.5 Ruang Lingkup

Ruang lingkup penelitian ini mencakup eksplorasi, isolasi, dan identifikasi molekuler cendawan endofit daun dari berbagai spesies *Zingiberaceae* untuk menganalisis keanekaragaman dan komposisinya. Selanjutnya dilakukan pengujian kemampuan antagonistik isolat terhadap *P. zingiberis* secara *in vitro*. Evaluasi efektivitas secara *in planta* dilakukan pada isolat terpilih berdasarkan hasil skrining *in vitro*. Analisis metabolit berbasis LC-MS/HRMS dilakukan secara *untargeted* pada lima perlakuan terpilih yang mewakili perbedaan respons ketahanan dan keragaman genus cendawan endofit, pada dua titik waktu pengambilan sampel yaitu setelah inokulasi cendawan endofit dan setelah inokulasi patogen, untuk mengkaji perubahan profil metabolit daun jahe yang berkaitan dengan respons ketahanan tanaman. Penelitian ini dilakukan dalam kondisi terkontrol di rumah kaca.



Gambar 1.1 Kerangka penelitian “Cendawan Endofit Daun asal Zingiberaceae Potensial untuk Menekan *Proxipyricularia zingiberis* Penyebab Penyakit Bercak Daun pada Tanaman Jahe

1.6 Kebaruan (*novelty*)

Penelitian ini memberikan kontribusi baru berupa (1) diperolehnya koleksi isolat dan basis data mengenai keanekaragaman cendawan endofit daun pada berbagai spesies famili Zingiberaceae, termasuk pola distribusinya yang berkaitan dengan kekerabatan tanaman inang; (2) beberapa spesies cendawan endofit yang berhasil diisolasi merupakan laporan pertama keberadaannya sebagai endofit pada tanaman famili Zingiberaceae; (3) diperolehnya bukti molekuler yang mendukung penggunaan nama *Proxipyricularia zingiberis* sebagai nomenklatur terkini bagi patogen penyebab bercak daun jahe yang sebelumnya dilaporkan sebagai *Pyricularia zingiberi* di Indonesia; (4) diperoleh isolat cendawan endofit potensial yang mampu menekan penyakit bercak daun pada jahe yang disebabkan oleh *P. zingiberis*, sehingga kehilangan hasil akibat penyakit dapat dikurangi; (5) diketahuinya proses dan kemampuan kolonisasi cendawan endofit pada tanaman jahe (*Zingiber officinale*) secara lebih mendetail melalui integrasi teknik pewarnaan jaringan dan reisolasi; (6) penelitian ini merupakan kajian pertama yang

mengintegrasikan respons fenotipik dan metabolomik tanaman jahe terhadap inokulasi cendawan endofit dan patogen untuk mengungkap mekanisme biokimia yang berasosiasi dengan induksi ketahanan tanaman.

1.7 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah: 1) cendawan endofit daun yang diisolasi dari tanaman famili Zingiberaceae memiliki keanekaragaman spesies dan pola kolonisasi yang dipengaruhi oleh kekerabatan taksonomi tanaman inang, 2) terdapat cendawan endofit yang berpotensi meningkatkan ketahanan tanaman jahe terhadap penyakit bercak daun *P. zingiberis*, 3) cendawan endofit menekan perkembangan penyakit bercak daun yang disebabkan oleh *P. zingiberis* melalui lebih dari satu mekanisme; dan 4) kolonisasi cendawan endofit pada tanaman jahe berkaitan dengan perubahan profil metabolit daun yang mencerminkan aktivasi respons pertahanan tanaman.

@Hak cipta milik IPB University

IPB University





II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Syarat Hidup dan Budidaya Tanaman Jahe

Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) merupakan tanaman herba perenial dari famili Zingiberaceae yang banyak dibudidayakan di wilayah tropis karena nilai ekonominya yang tinggi, terutama dari kandungan minyak atsiri dan oleoresin pada rimpangnya (Dauda dan Abiodun 2017). Di Indonesia, jahe termasuk komoditas penting dengan tiga tipe utama yang umum dibudidayakan, yaitu jahe putih besar, jahe putih kecil, dan jahe merah, yang memiliki perbedaan karakter morfologi dan kandungan senyawa aktif (Bermawie dan Purwiyanti 2011).

Produktivitas dan kualitas jahe sangat dipengaruhi oleh interaksi antara faktor genotip, sistem budidaya, dan kondisi lingkungan. Tanaman ini umumnya dibudidayakan pada ketinggian 300–900 mdpl dengan curah hujan 2.500–4.000 mm per tahun, suhu optimal 25–30°C, serta intensitas cahaya sedang hingga tinggi (Azizah *et al.* 2019; Soni *et al.* 2022; Shende *et al.* 2025). Selain itu, jahe tumbuh optimal pada tanah yang gembur, kaya bahan organik, memiliki drainase baik, serta pH mendekati netral hingga sedikit basa (6,8–7,4) (Olunuga *et al.* 2022).

Kondisi lingkungan tersebut tidak hanya memengaruhi pertumbuhan tanaman, tetapi juga berperan penting dalam perkembangan penyakit. Kelembapan tinggi dan suhu hangat, yang umum dijumpai pada sistem budidaya jahe di daerah tropis, merupakan kondisi yang mendukung perkembangan patogen penyebab penyakit bercak daun. Oleh karena itu, interaksi antara faktor lingkungan, tanaman inang, dan mikroorganisme, termasuk cendawan endofit, menjadi aspek penting yang perlu dipahami dalam sistem budidaya jahe.

2.2 Penyakit Bercak Daun Jahe

Penyakit bercak daun merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman jahe yang dapat menyebabkan penurunan fotosintesis, kualitas, dan hasil rimpang. Perkembangan penyakit dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suhu, kelembapan, dan curah hujan, serta umur tanaman dan kerentanan varietas atau jenis jahe yang dibudidayakan. Selain itu, spesies cendawan patogen yang dominan dapat berbeda antar wilayah dan kondisi agroekologi (Sasikumar dan Nagewar 2002; Yu *et al.* 2023). Tanaman jahe berumur kurang dari lima bulan dilaporkan lebih rentan terhadap penyakit bercak daun dibandingkan tanaman yang lebih tua (Siswanto *et al.* 2008). Di Indonesia beberapa cendawan dilaporkan sebagai penyebab penyakit bercak daun, di antaranya *Phakopsora eleetariae* (Rachmat 1993), *Phyllosticta zingiberi* (Hartati *et al.* 2011), *Pyricularia zingiberi* (current name: *Proxipyricularia zingiberis*) (Wahyuno *et al.* 2020), dan *Phoma* spp. (*Epicoccum*) (Wahyuno *et al.* 2023). Di negara lain, keragaman patogen penyebab bercak daun jahe juga terus dilaporkan, termasuk *Epicoccum sorghinum* sebagai penyebab bercak daun jahe di China (Yu *et al.* 2023). Perkembangan pendekatan identifikasi berbasis morfologi dan molekuler menunjukkan bahwa kompleks penyakit bercak daun pada jahe memiliki keanekaragaman patogen yang tinggi dan dinamika taksonomi yang terus berkembang.

Proxipyricularia zingiberis merupakan salah satu cendawan patogen yang dominan menginfeksi tanaman jahe di lapangan. Patogen ini pertama kali dilaporkan menyerang tanaman jahe dan myoga (*Zingiber myoga*) di Jepang pada

tahun 1988 (Kotani dan Kurata 1992). Gejala awal penyakit muncul berupa bercak kecil berwarna cokelat muda pada nodus rimpang yang berada dekat permukaan tanah. Bercak tersebut memiliki struktur menyerupai sklerotium kecil dengan diameter sekitar 10–20 mm dan pada kondisi lanjut dapat saling menyatu membentuk lesi yang lebih besar (Gambar 2.1). Kejadian penyakit ini pada pertanaman jahe dilaporkan berkisar antara 10–30%. Selain menyerang rimpang, patogen ini juga menyebabkan gejala bercak pada daun. Hasil uji patogenisitas menunjukkan bahwa isolat *P. zingiberis* mampu menginfeksi baik daun maupun rimpang jahe (Kotani dan Kurata 1992). Setelah laporan awal di Jepang, patogen ini juga dilaporkan menyerang tanaman jahe di India (Ruchi Sood dan Dohroo 2005), Malaysia (Abed-Ashtiani *et al.* 2016), dan Vietnam (Nguyen *et al.* 2022), menunjukkan bahwa penyakit ini memiliki distribusi geografis yang cukup luas pada daerah sentra budidaya jahe.



Gambar 2.1 Gejala bercak *Proxipyricularia zingiberis* pada nodus rimpang (Kotani dan Kurata 1992)

Di Indonesia, gejala bercak berbentuk belah ketupat telah banyak ditemukan pada pertanaman jahe sejak tahun 2007. Survei di Bengkulu, Jawa Tengah, dan Jawa Timur menunjukkan bahwa gejala bercak daun berbentuk belah ketupat yang diduga disebabkan oleh *Pyricularia* sp. banyak ditemukan di lapangan dengan kejadian penyakit berkisar antara 1,2% hingga 92% (Siswanto *et al.* 2008). Patogen penyebab penyakit tersebut kemudian diidentifikasi sebagai *Pyricularia zingiberis* (Wahyuno *et al.* 2020), yang dalam penelitian ini diperbaharui nomenklaturnya menjadi *Proxipyricularia zingiberis*. Gejala berupa bercak nekrosis berbentuk belah ketupat umumnya muncul pada daun bagian bawah yang telah membuka sempurna pada fase produktif tanaman. Penyakit ini ditularkan melalui udara dengan penyebaran konidia dan inokulum dapat bertahan pada sisa-sisa tanaman terinfeksi ketika tanaman inang tidak tersedia. Perkembangan penyakit sangat dipengaruhi oleh kelembapan relatif tinggi dan suhu yang mendukung perkecambahan serta penyebaran patogen.



Gambar 2.2 Gejala penyakit bercak daun *Proxipyricalaria zingiberis* pada jahe
a) gejala banyak muncul pada daun yang sudah membuka sempurna
b) gejala khas berbentuk berlian dikelilingi halo berwarna kuning (dokumentasi pribadi)

P. zingiberis menghasilkan konidia hialin berbentuk seperti lemon dengan dua sekat (2-septa). Konidia berukuran panjang 17,5–21,3 μm dan lebar 5,0–8,8 μm , dengan sel apikal berukuran 5,0–8,6 μm dan sel basal 5,0–7,5 μm . Pada bagian ujung basal terdapat hilum yang tampak menebal sebagai ciri khas konidia. Konidia umumnya mampu berkecambah dalam waktu kurang dari 24 jam. Selain itu, pembentukan kecambah dan apresorium dilaporkan berlangsung optimal pada suhu 28–31 $^{\circ}\text{C}$, menunjukkan bahwa suhu berperan penting dalam proses infeksi dan perkembangan penyakit (Wahyuno *et al.* 2020). Karakter morfologi yang serupa juga dilaporkan pada isolat asal Malaysia, yang menunjukkan konidia piriform hingga obklavat, hialin, dan bersepta dua dengan kemampuan membentuk apresorium pada kondisi lembap (Abed-Ashtiani *et al.* 2016). Kesamaan karakter antar isolat dari berbagai negara menunjukkan bahwa *P. zingiberis* memiliki karakter morfologi yang relatif mirip meskipun berasal dari lingkungan geografis yang berbeda.

2.3 Pengendalian Penyakit Bercak Daun Jahe

Di Jepang, *P. zingiberis* bertahan selama musim dingin dengan membentuk struktur menyerupai sklerotium pada sisa-sisa tanaman jahe dan myoga yang terinfeksi. Struktur dorman tersebut dikendalikan melalui fumigasi tanah menggunakan metil bromida yang umum diaplikasikan sebelum musim tanam jahe (Kotani 1994). Namun, penggunaan metil bromida saat ini telah dilarang di berbagai negara karena berdampak negatif terhadap lingkungan dan kesehatan manusia. Di Indonesia, beberapa teknologi pengendalian penyakit bercak daun jahe telah dilaporkan, meskipun efektivitasnya di lapangan masih perlu diuji lebih lanjut. Sari *et al.* (2022a) melaporkan bahwa minyak cengkeh mampu menghambat pertumbuhan *P. zingiberis* secara *in vitro*, namun efektivitasnya relatif rendah ketika diaplikasikan secara *in planta* dalam kombinasi dengan pemupukan silika.

Pemanfaatan agens pengendali hayati sebagai alternatif pengendalian penyakit tanaman yang lebih ramah lingkungan mulai banyak dikembangkan, termasuk melalui eksplorasi cendawan endofit. Berbagai studi menunjukkan bahwa cendawan endofit mampu menekan perkembangan patogen melalui mekanisme kompetisi ruang dan nutrisi, antibiosis, produksi metabolit antimikroba, maupun

induksi ketahanan tanaman inang. Pada kelompok Zingiberaceae, beberapa cendawan endofit dilaporkan memiliki aktivitas antagonistik terhadap patogen penyebab bercak daun. Cendawan endofit *Aspergillus terreus* yang diisolasi dari jahe diketahui mampu menekan perkembangan penyakit bercak daun jahe yang disebabkan oleh *Colletotrichum gloeosporioides* (Gupta *et al.* 2022). Kajian mengenai pemanfaatan cendawan endofit daun sebagai agens pengendali hayati penyakit bercak daun *P. zingiberis* belum pernah dilaporkan.

2.4 Karakteristik Cendawan Endofit

Cendawan endofit merupakan kelompok mikroorganisme yang hidup dan berkolonisasi di dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan gejala penyakit yang nyata pada inangnya (White *et al.* 2019). Mikroorganisme ini ditemukan hampir pada seluruh kelompok tumbuhan dan diketahui membentuk hubungan simbiotik yang kompleks dengan tanaman inang. Dalam beberapa dekade terakhir, cendawan endofit mendapat perhatian besar karena perannya dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman, penyerapan hara, toleransi terhadap cekaman abiotik, serta ketahanan terhadap serangan patogen dan herbivora (Card *et al.* 2016; Khare *et al.* 2018). Kemampuan cendawan endofit untuk masuk, beradaptasi, dan bertahan di dalam jaringan tanaman menunjukkan bahwa mikroorganisme ini merupakan komponen penting dalam sistem mikrobioma tanaman yang berkontribusi terhadap kesehatan dan stabilitas fisiologis tanaman inang.

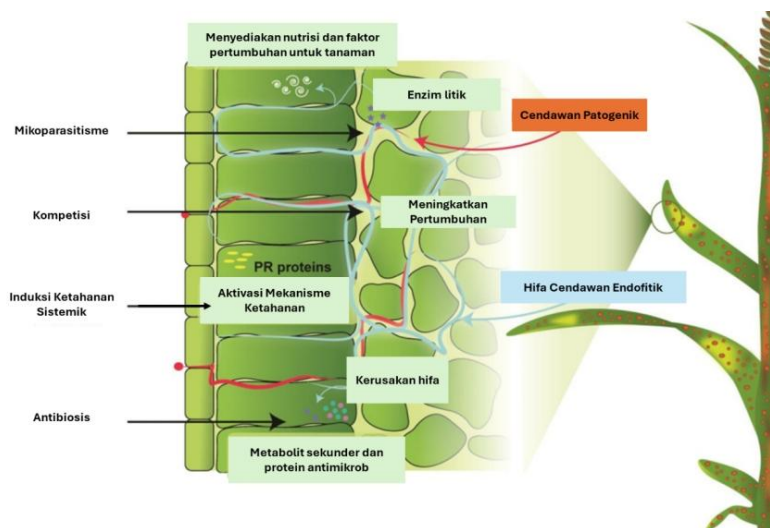
Interaksi antara cendawan endofit dan tanaman inang bersifat dinamis serta dipengaruhi oleh keseimbangan antara sistem pertahanan tanaman dan kemampuan adaptasi mikroorganisme. Tanaman mengenali keberadaan mikroba melalui persepsi molekul terkait mikroba atau patogen (*microbe/pathogen-associated molecular patterns*; MAMPs/PAMPs) oleh reseptor pengenalan pola (*pattern recognition receptors*; PRRs), yang kemudian memicu respons imun bawaan sebagai mekanisme pertahanan awal (Plett dan Martin 2018). Namun demikian, cendawan endofit tertentu mampu memodulasi respons imun tanaman melalui sekresi efektor, enzim, maupun metabolit tertentu sehingga kolonisasi dapat berlangsung tanpa memicu gejala penyakit (Yan *et al.* 2015). Hubungan tersebut dapat berubah bergantung pada kondisi lingkungan, status fisiologis tanaman, serta perubahan keseimbangan interaksi antara inang dan mikroorganisme. Dalam kondisi tertentu, beberapa cendawan endofit bahkan dapat beralih menjadi patogen oportunistik ketika tanaman mengalami stres atau ketidakseimbangan fisiologis.

Selain berperan dalam interaksi ekologis dengan tanaman inang, cendawan endofit juga diketahui menghasilkan berbagai metabolit sekunder bioaktif, seperti alkaloid, terpenoid, flavonoid, peptida, dan senyawa fenolik yang berpotensi sebagai antimikroba, antioksidan, maupun penginduksi ketahanan tanaman (Kusari *et al.* 2012). Produksi metabolit sekunder tersebut menunjukkan bahwa cendawan endofit memiliki potensi besar sebagai sumber senyawa bioaktif dan agens pengendali hayati berkelanjutan. Perkembangan pendekatan *multi-omics*, seperti metabolomik, transkriptomik, dan genomik, menunjukkan bahwa interaksi antara tanaman, endofit, dan patogen melibatkan regulasi molekuler yang kompleks, termasuk perubahan metabolik tanaman inang selama proses kolonisasi dan infeksi (Chen *et al.* 2022; Zhao *et al.* 2024). Namun demikian, mekanisme molekuler yang mendasari produksi metabolit sekunder dan peran spesifiknya dalam interaksi tiga

arah antara tanaman inang, cendawan endofit, dan patogen masih belum sepenuhnya dipahami.

2.5 Mekanisme Cendawan Endofit sebagai Agens Pengendali Hayati

Cendawan endofit merupakan kelompok mikroorganisme yang mampu mengkolonisasi jaringan tanaman tanpa menimbulkan gejala penyakit serta membentuk hubungan yang bersifat netral hingga menguntungkan bagi tanaman inang. Kemampuan cendawan endofit untuk bertahan dan berkembang di dalam jaringan tanaman memungkinkan mikroorganisme ini berperan penting dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman, toleransi terhadap cekaman abiotik, dan ketahanan terhadap berbagai patogen (Rodriguez *et al.* 2009; Card *et al.* 2016; Akram *et al.* 2023). Sebagai agens pengendali hayati, cendawan endofit dapat menekan perkembangan patogen melalui mekanisme langsung (*direct mechanisms*) maupun mekanisme tidak langsung (*indirect mechanisms*).



Gambar 2.3 Mekanisme cendawan endofit dalam meningkatkan ketahanan tanaman terhadap cendawan patogen (Akram *et al.* 2023)

2.5.1 Mekanisme Langsung (*Direct Mechanism*)

Mekanisme langsung terjadi ketika cendawan endofit berinteraksi secara langsung dengan patogen sehingga menghambat pertumbuhan, perkembangan, atau kemampuan infeksi. Salah satu mekanisme yang paling umum adalah kompetisi ruang dan nutrisi. Karena telah lebih dahulu mengkolonisasi jaringan tanaman, cendawan endofit dapat menempati *niche* ekologis yang sama dengan patogen sehingga mengurangi ruang kolonisasi dan ketersediaan sumber daya yang diperlukan untuk pertumbuhan patogen. Kompetisi ini terutama terjadi terhadap sumber karbon, nitrogen, dan unsur mikro penting seperti besi yang diperlukan selama proses infeksi (Rodriguez *et al.* 2009; Card *et al.* 2016).

Selain kompetisi, banyak cendawan endofit menghasilkan berbagai metabolit antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan patogen. Senyawa tersebut dapat berupa metabolit primer maupun sekunder, termasuk alkaloid, terpenoid, poliketida, peptida antimikroba, serta berbagai senyawa bioaktif lainnya. Produksi metabolit antimikroba ini merupakan salah satu mekanisme utama yang mendasari

aktivitas antagonistik cendawan endofit terhadap berbagai patogen tanaman (Mousa dan Raizada 2013; Adeleke *et al.* 2022).

Mekanisme langsung lainnya adalah mikoparasitisme, yaitu kemampuan cendawan endofit untuk menyerang cendawan patogen secara langsung. Dalam proses ini, hifa endofit dapat melakukan kontak dengan hifa patogen, membelit (*coiling*), menembus dinding sel, dan selanjutnya memanfaatkan isi sel patogen sebagai sumber nutrisi. Aktivitas tersebut umumnya didukung oleh produksi enzim hidrolitik seperti kitinase, β -1,3-glukanase, protease, dan selulase yang mampu mendegradasi komponen dinding sel pathogen (Akram *et al.* 2023).

Selain itu, beberapa cendawan endofit juga menghasilkan *volatile organic compounds* (VOCs) yang dapat menghambat pertumbuhan dan sporulasi patogen tanpa memerlukan kontak langsung. Senyawa volatil tersebut dapat berdifusi melalui ruang antar jaringan maupun atmosfer di sekitar tanaman sehingga memperluas efek penghambatan terhadap patogen (Mousa dan Raizada 2013).

2.5.2 Mekanisme Tidak Langsung (*Indirect Mechanisms*)

Selain berinteraksi langsung dengan patogen, cendawan endofit juga mampu meningkatkan ketahanan tanaman melalui mekanisme tidak langsung dengan memodulasi sistem imun tanaman. Mekanisme ini umumnya melibatkan aktivasi *induced systemic resistance* (ISR), yaitu suatu kondisi ketika tanaman menunjukkan peningkatan kapasitas pertahanan setelah berasosiasi dengan mikroorganisme menguntungkan (Pieterse *et al.* 2014).

Aktivasi ISR diawali oleh pengenalan molekul yang berasal dari cendawan endofit oleh sistem persepsi tanaman. Interaksi tersebut mengaktifkan berbagai jalur sinyal pertahanan, terutama yang dimediasi oleh asam jasmonat (JA) dan etilen (ET), sehingga tanaman menjadi lebih siap dalam menghadapi infeksi patogen berikutnya. Berbeda dengan respons pertahanan yang diaktifkan secara penuh setelah infeksi, ISR umumnya meningkatkan kesiagaan sistem imun tanaman tanpa menimbulkan biaya fisiologis yang tinggi (Pieterse *et al.* 2014; Mauch-Mani *et al.* 2017).

Salah satu konsep penting yang berkaitan dengan ISR adalah *defense priming*. *Defense priming* merupakan kondisi ketika tanaman berada pada status kesiagaan fisiologis sehingga mampu memberikan respons yang lebih cepat dan lebih kuat setelah terpapar patogen. Tanaman yang telah mengalami priming umumnya tidak menunjukkan aktivasi penuh gen pertahanan sebelum infeksi terjadi, namun memiliki kapasitas untuk mengaktifkan respons imun secara lebih efisien ketika patogen menyerang (Conrath 2011; Mauch-Mani *et al.* 2017). Oleh karena itu, tanaman yang telah dikolonisasi oleh cendawan endofit sering kali menunjukkan tingkat keparahan penyakit yang lebih rendah dibandingkan tanaman yang tidak mengalami kolonisasi.

Aktivasi ISR dan *defense priming* juga dapat memicu *reprogramming* metabolik pada tanaman. Proses ini ditandai dengan perubahan jalur metabolisme primer maupun sekunder yang berhubungan dengan pertahanan tanaman. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa kolonisasi mikroorganisme menguntungkan dapat meningkatkan akumulasi metabolit yang berperan dalam respons imun tanaman, termasuk senyawa fenolik, flavonoid, asam amino tertentu, serta molekul sinyal pertahanan seperti JA dan asam pipikolat (Pip) (Balmer *et al.* 2015).

Pip saat ini diketahui sebagai salah satu regulator utama *systemic acquired resistance* (SAR) dan *defense priming* pada tanaman. Molekul ini berperan dalam memperkuat serta memperluas sinyal pertahanan dari lokasi infeksi menuju jaringan lain sehingga meningkatkan kapasitas tanaman dalam merespons serangan patogen berikutnya (Návarová *et al.* 2013). Sementara itu, JA merupakan hormon pertahanan yang berperan penting dalam respons terhadap patogen nekrotrof dan hemibiotrof serta terlibat dalam regulasi berbagai gen yang berkaitan dengan ketahanan tanaman (Glazebrook 2005; Wasternack dan Song 2017).

Kemampuan cendawan endofit dalam mengombinasikan mekanisme langsung dan tidak langsung menjadikannya sebagai agens pengendali hayati yang sangat potensial. Selain menghambat patogen secara langsung melalui kompetisi, antibiosis, mikoparasitisme, dan produksi senyawa volatil, cendawan endofit juga mampu meningkatkan kapasitas pertahanan tanaman melalui ISR, *defense priming*, dan perubahan profil metabolit. Oleh karena itu, pemahaman terhadap respons metabolik tanaman setelah kolonisasi endofit menjadi penting untuk menjelaskan mekanisme biologis yang mendasari peningkatan ketahanan tanaman terhadap penyakit.

2.6 Sistem Ketahanan pada Tanaman

Tanaman memiliki sistem imun yang kompleks untuk mengenali dan merespons keberadaan mikroorganisme patogen. Sistem ini terdiri atas beberapa lapisan pertahanan yang bekerja secara berurutan, mulai dari pengenalan molekul konservatif patogen hingga aktivasi respons pertahanan lokal maupun sistemik. Secara umum, sistem imun tanaman dibedakan menjadi (*PAMP*)-*triggered immunity* (PTI), *effector-triggered immunity* (ETI), SAR, dan ISR (Jones dan Dangl 2006; Boller dan Felix 2009).

2.6.1 (*PAMP*)-*triggered immunity* (PTI) dan *effector-triggered immunity* (ETI)

Pertahanan pertama tanaman diawali oleh pengenalan PAMPs, yaitu molekul konservatif yang dimiliki oleh kelompok mikroorganisme tertentu. PAMP pada cendawan yang umum dikenali oleh tanaman antara lain kitin, β -glukan, dan berbagai komponen dinding sel lainnya. Molekul-molekul tersebut dikenali oleh *pattern recognition receptors* (PRRs) yang terdapat pada permukaan sel tanaman sehingga mengaktifkan respons pertahanan yang dikenal sebagai PTI (Roussin-Léveillé *et al.* 2024; Couto dan Zipfel 2016).

Aktivasi PTI memicu berbagai respons pertahanan, seperti produksi *reactive oxygen species* (ROS), deposisi kalosa, aktivasi *mitogen-activated protein kinase* (MAPK), serta ekspresi berbagai gen pertahanan yang berfungsi membatasi perkembangan patogen. Namun demikian, banyak patogen mampu menghasilkan protein efektor yang berfungsi menekan PTI sehingga kolonisasi dan infeksi dapat berlangsung lebih efektif (Jones dan Dangl 2006).

Sebagai respons terhadap strategi tersebut, tanaman mengembangkan lapisan pertahanan kedua berupa ETI. ETI terjadi ketika efektor patogen dikenali oleh protein ketahanan intraseluler tanaman yang dikenal sebagai *nucleotide-binding leucine-rich repeat proteins* (NLRs). Aktivasi ETI menghasilkan respons pertahanan yang umumnya lebih cepat dan lebih kuat dibandingkan PTI,

sehingga mampu membatasi perkembangan patogen secara lebih efektif (Jones dan Dangl 2006; Kourelis 2018).

Tanaman memiliki dua jalur utama dalam merespons serangan patogen, yaitu SAR dan ISR. SAR umumnya diinduksi oleh infeksi patogen dan ditandai dengan peningkatan kadar asam salisilat (SA) serta aktivasi gen terkait patogenesis (PR), seperti PR1, PR2, dan PR5. Respons ini bersifat sistemik dan melibatkan transmisi sinyal ke jaringan tanaman yang tidak terinfeksi (Fu dan Dong 2013).

Sebaliknya, ISR diinduksi oleh mikroorganisme menguntungkan, termasuk cendawan endofit, dan umumnya dimediasi melalui jalur sinyal yang bergantung pada JA dan ET (Manners *et al.* 1998). Berbeda dengan SAR, ISR tidak selalu disertai dengan akumulasi protein PR, melainkan meningkatkan kesiapan sistem pertahanan tanaman melalui mekanisme *priming*, sehingga tanaman mampu merespons infeksi patogen secara lebih cepat dan efektif (Pieterse *et al.* 1996; Yu *et al.* 2022). Meskipun demikian, beberapa studi menunjukkan adanya interaksi antara jalur SA dan JA/ET dalam respons ISR (De Meyer *et al.* 1999).

Baik SAR maupun ISR berkontribusi terhadap peningkatan ketahanan tanaman melalui aktivasi gen pertahanan, akumulasi ROS, dan deposisi kalosa. Dalam konteks interaksi dengan cendawan endofit, ISR menjadi mekanisme utama yang memungkinkan tanaman meningkatkan ketahanan tanpa menimbulkan tekanan fisiologis yang berlebihan. Pemahaman mengenai jalur ketahanan ini penting untuk mengungkap peran cendawan endofit dalam memodulasi respons pertahanan tanaman, termasuk keterkaitannya dengan perubahan profil metabolit sebagai bagian dari mekanisme ketahanan terhadap patogen.

2.6.2 Peran Reseptor *Leucine-Rich Repeat* (LRR) dan *Nucleotide-Binding Leucine-Rich Repeat Protein* (NLR) dalam Sistem Ketahanan Tanaman

Pengenalan mikroorganisme oleh tanaman sangat bergantung pada keberadaan protein reseptor yang mampu mendeteksi molekul asing. Salah satu kelompok reseptor yang berperan penting adalah protein yang mengandung domain LRR. Protein ini banyak ditemukan pada reseptor permukaan sel dan berfungsi dalam pengenalan PAMP sehingga menginisiasi aktivasi PTI (Jones dan Dangl 2006).

Selain reseptor permukaan, tanaman juga memiliki protein ketahanan intraseluler yang termasuk dalam kelompok NLRs. Protein NLR berfungsi sebagai sensor terhadap efektor patogen yang telah memasuki sel tanaman. Aktivasi NLR akan memicu ETI yang ditandai dengan peningkatan ekspresi gen pertahanan, akumulasi metabolit antimikroba, dan penguatan respons imun baik pada tingkat lokal maupun sistemik (Kourelis dan van der Hoorn 2018).

Keberadaan gen yang mengkode protein LRR dan NLR telah dilaporkan pada berbagai spesies tanaman, termasuk tanaman jahe. Kehadiran kelompok gen tersebut menunjukkan bahwa tanaman jahe memiliki perangkat molekuler yang memungkinkan terjadinya pengenalan patogen dan aktivasi respons pertahanan yang kompleks terhadap serangan mikroorganisme patogen. Meskipun penelitian ini tidak mengkaji ekspresi gen LRR dan NLR secara langsung, keberadaan perangkat molekuler tersebut pada jahe memberikan

konteks penting untuk memahami kapasitas tanaman dalam merespons kolonisasi endofit dan infeksi patogen.

2.7 Metabolit Tanaman dan Pendekatan Metabolomik dalam Studi Interaksi Tanaman–Mikroba

Metabolit merupakan produk akhir dari berbagai proses fisiologis dan biokimia yang berlangsung di dalam sel. Berbeda dengan transkrip dan protein yang mencerminkan potensi respons biologis suatu organisme, metabolit menggambarkan kondisi fisiologis aktual yang terjadi pada saat tertentu sehingga sering dianggap sebagai representasi fenotipe akhir dari ekspresi gen dan aktivitas protein. Oleh karena itu, perubahan profil metabolit dapat digunakan untuk mengevaluasi respons tanaman terhadap berbagai faktor lingkungan, termasuk interaksi dengan mikroorganisme (Fiehn 2002; Obata dan Fernie 2012)

Dalam sistem pertahanan tanaman, aktivasi jalur ketahanan seperti PTI, ETI, SAR, maupun ISR umumnya disertai oleh perubahan metabolisme yang kompleks. Aktivasi sistem imun menyebabkan terjadinya *metabolic reprogramming*, yaitu penyesuaian berbagai jalur metabolisme primer dan sekunder yang bertujuan mendukung kebutuhan energi, sintesis molekul sinyal, serta produksi senyawa pertahanan yang diperlukan untuk membatasi perkembangan patogen (Pieterse *et al.* 2014; Balmer *et al.* 2015).

Perubahan metabolik tersebut dapat melibatkan akumulasi berbagai senyawa yang berfungsi dalam pertahanan tanaman, termasuk fenilpropanoid, flavonoid, terpenoid, alkaloid, asam amino, asam organik, serta berbagai molekul sinyal pertahanan. Beberapa metabolit diketahui berperan langsung sebagai senyawa antimikroba, sedangkan metabolit lainnya berfungsi sebagai regulator jalur sinyal pertahanan atau sebagai prekursor biosintesis senyawa pertahanan lainnya (Wink 2010).

Dalam interaksi tanaman–mikroba, termasuk dengan cendawan endofit, perubahan profil metabolit sering kali menjadi salah satu indikator utama terjadinya modulasi sistem imun tanaman. Kolonisasi oleh mikroorganisme menguntungkan dapat menginduksi kondisi defense priming yang mempersiapkan tanaman untuk merespons serangan patogen secara lebih cepat dan lebih efektif. Kondisi tersebut umumnya diikuti oleh perubahan kadar berbagai metabolit yang terlibat dalam regulasi ketahanan tanaman, termasuk JA, SA, Pip, fenolik, flavonoid, dan berbagai senyawa pertahanan lainnya (Conrath 2011; Mauch-Mani *et al.* 2017).

Pendekatan metabolomik digunakan untuk mengkaji perubahan tersebut secara komprehensif melalui analisis profil metabolit dalam suatu sistem biologis. Metabolomik didefinisikan sebagai analisis menyeluruh terhadap metabolit bermassa molekul rendah yang terdapat dalam suatu organisme atau sistem biologis tertentu (Fiehn 2002). Pendekatan ini dapat dilakukan secara targeted maupun untargeted. Metabolomik targeted difokuskan pada kelompok metabolit tertentu yang telah diketahui sebelumnya, sedangkan metabolomik *untargeted* bertujuan memperoleh gambaran global perubahan metabolit tanpa asumsi awal mengenai senyawa yang terlibat (Wishart 2008).

Perkembangan teknologi analitik, terutama kombinasi kromatografi cair dan spektrometri massa (*liquid chromatography–mass spectrometry*; LC-MS), telah meningkatkan kemampuan deteksi metabolit dengan sensitivitas dan cakupan senyawa yang tinggi. Teknologi ini memungkinkan identifikasi berbagai kelompok

metabolit secara simultan, termasuk senyawa yang terdapat dalam konsentrasi rendah dan berperan penting dalam respons pertahanan tanaman (Dettmer *et al.* 2007; Allwood *et al.* 2008).

Dalam bidang fitopatologi dan interaksi tanaman–mikroba, metabolomik telah banyak digunakan untuk mengungkap mekanisme ketahanan tanaman terhadap patogen maupun respons tanaman terhadap mikroorganisme menguntungkan. Pendekatan ini memungkinkan identifikasi metabolit yang berkaitan dengan aktivasi jalur pertahanan tertentu, penemuan biomarker ketahanan, serta pemahaman yang lebih mendalam mengenai mekanisme biologis yang mendasari hubungan antara tanaman dan mikroorganisme (Jansen *et al.* 2009; Balmer *et al.* 2015).

Meskipun demikian, sebagian besar penelitian mengenai cendawan endofit masih berfokus pada aspek isolasi, identifikasi, dan pengujian antagonisme terhadap patogen, sedangkan kajian mengenai perubahan metabolit tanaman yang terjadi sebagai respons terhadap kolonisasi endofit masih relatif terbatas. Integrasi antara studi keanekaragaman cendawan endofit, pengujian ketahanan tanaman, dan analisis metabolomik berpotensi memberikan pemahaman yang lebih komprehensif mengenai mekanisme biologis yang mendasari peningkatan ketahanan tanaman terhadap penyakit.

Dengan demikian, pendekatan metabolomik menjadi sangat penting untuk mengungkap hubungan antara kolonisasi cendawan endofit, aktivasi sistem ketahanan tanaman, dan perubahan profil metabolit yang berasosiasi dengan penekanan perkembangan patogen. Informasi tersebut tidak hanya memperluas pemahaman mengenai mekanisme ketahanan tanaman yang dimediasi oleh cendawan endofit, tetapi juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi metabolit kunci yang berpotensi menjadi biomarker ketahanan terhadap penyakit.



III KEANEKARAGAMAN CENDAWAN ENDOFIT DAUN DARI BERBAGAI TANAMAN FAMILI ZINGIBERACEAE

@rak cipta nita ipb university

3.1 Abstrak

Daun merupakan organ tanaman yang terpapar langsung terhadap lingkungan dan menjadi habitat bagi komunitas cendawan endofit yang berperan penting dalam ketahanan dan adaptasi tanaman, namun masih kurang terdokumentasi pada famili Zingiberaceae. Penelitian ini mengkaji pola kolonisasi dan keanekaragaman cendawan endofit daun yang dapat dikultur pada sembilan spesies inang yang mewakili empat genus Zingiberaceae. Cendawan endofit diisolasi menggunakan metode sterilisasi permukaan terstandar. Tingkat kolonisasi, frekuensi isolasi, dan indeks keanekaragaman cendawan endofit dihitung. Identifikasi molekuler dilakukan melalui sekuensing Sanger pada wilayah *internal transcribed spacer* (ITS). Kekerabatan taksonomi inang direpresentasikan dalam bentuk matriks jarak taksonomi kategorikal berdasarkan hierarki klasifikasi nomenklatur dan digunakan untuk mengevaluasi hubungannya dengan pola kolonisasi serta komunitas cendawan menggunakan uji Mantel. Tingkat kolonisasi berbeda nyata antarspesies inang dan berkorelasi positif dengan jarak taksonomi inang. Temuan ini menunjukkan bahwa inang yang berkerabat dekat cenderung memiliki tingkat kolonisasi endofit yang serupa. Sebaliknya, indeks keanekaragaman cendawan dan pola distribusi pada tingkat spesies tidak menunjukkan hubungan yang signifikan dengan taksonomi inang. Komunitas endofit secara konsisten didominasi oleh *Colletotrichum*, diikuti oleh *Phyllosticta* dan *Diaporthe*. Namun, pada tingkat spesies tidak ditemukan pola pengelompokan yang jelas berdasarkan inang. Hasil ini menunjukkan bahwa kekerabatan taksonomi inang memengaruhi tingkat kolonisasi, tetapi tidak menentukan pola distribusi cendawan endofit daun pada tingkat spesies dalam famili Zingiberaceae. Penelitian ini memberikan wawasan baru mengenai asosiasi inang–endofit pada endofit yang dapat dikultur dan menjadi dasar bagi studi ekologi dan fungsional selanjutnya pada sistem tanaman tropis.

Kata kunci: kultur, indeks keanekaragaman, frekuensi isolasi, ITS

3.2 Pendahuluan

Famili Zingiberaceae, yang merupakan famili terbesar dalam ordo Zingiberales, mencakup lebih dari 53 genus dan lebih dari 1.300 spesies (Wable *et al.* 2025). Zingiberaceae dikenal memiliki signifikansi ekologis dan keanekaragaman yang tinggi serta banyak ditemukan di hutan tropis, khususnya di Asia Tenggara. Genus seperti *Zingiber*, *Curcuma*, dan *Alpinia* dimanfaatkan sebagai bahan pangan, obat tradisional, serta bahan baku kosmetik dan farmasi (Saensouk dan Saensouk 2021), sehingga memiliki nilai ekonomi dan etnobotani yang tinggi. Tanaman ini dapat tumbuh mulai dari dataran rendah hingga ketinggian lebih dari 2.000 meter, terutama di wilayah dengan curah hujan tinggi. Indonesia, sebagai negara dengan keanekaragaman hayati yang tinggi, memiliki beragam spesies Zingiberaceae yang ditemukan baik di lahan budidaya maupun habitat alami (Saensouk *et al.* 2022).

Daun merupakan organ tanaman yang paling terpapar, karena secara terus-menerus berinteraksi dengan faktor lingkungan seperti fluktuasi suhu, kelembapan, curah hujan, partikel udara, serta berbagai patogen. Paparan yang tinggi ini menjadikan daun sangat rentan terhadap cekaman abiotik dan biotik, sehingga menekankan pentingnya sistem pertahanan daun serta hubungan simbiotik dengan mikroorganisme. Cendawan endofit daun adalah mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan daun tanpa menyebabkan gejala penyakit, dan semakin diakui berperan penting dalam meningkatkan ketahanan serta respons adaptif tanaman (González-Teuber *et al.* 2020; Suryanarayanan *et al.* 2022). Cendawan ini dapat membantu tanaman bertahan terhadap kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan melalui peningkatan metabolisme, ketahanan terhadap penyakit, serta mendukung pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Wen *et al.* 2022). Selain itu, cendawan endofit daun juga merupakan sumber senyawa bioaktif yang bernilai tinggi, seperti regulator pertumbuhan, antibiotik, dan senyawa antikanker (Tripathi *et al.* 2022), serta memiliki potensi sebagai agens pengendali hayati terhadap penyakit dan hama tanaman (Manganyi dan Ateba 2020).

Penelitian sebelumnya telah melaporkan keanekaragaman yang tinggi serta potensi bioteknologi dari cendawan endofit pada Zingiberaceae. Sebagai contoh, hingga 30 spesies cendawan endofit telah diisolasi dari berbagai organ *Zingiber officinale* var. *amarum*, dengan beberapa isolat menunjukkan aktivitas antagonis terhadap *Fusarium oxysporum* (Ginting *et al.* 2013). Demikian pula, endofit seperti *Trichoderma atroviride* dan *Curvularia lunata* telah diidentifikasi pada rimpang *Elettaria* spp. (Munir *et al.* 2019). Mikroorganisme ini mendukung tanaman inang melalui produksi fitohormon, peningkatan penyerapan nutrisi, serta peningkatan toleransi terhadap cekaman (Rosli *et al.* 2024), sehingga berpotensi besar dalam pengembangan pertanian berkelanjutan dan peningkatan produktivitas tanaman.

Meskipun demikian, sebagian besar penelitian masih berfokus pada endofit akar dan rimpang pada spesies Zingiberaceae yang telah banyak dikenal, sementara keanekaragaman dan peran ekologis cendawan endofit daun masih belum banyak dikaji—terutama di wilayah dengan keanekaragaman hayati tinggi seperti Indonesia. Kajian yang secara khusus menargetkan cendawan endofit daun yang dapat dikultur dari Zingiberaceae di Indonesia sangat penting untuk meningkatkan pemahaman mengenai komunitas mikroba ini, signifikansi ekologisnya, serta potensi aplikasinya.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pola kolonisasi dan keanekaragaman cendawan endofit daun yang dapat dikultur dari beberapa spesies Zingiberaceae di Indonesia melalui identifikasi molekuler menggunakan wilayah *internal transcribed spacer* (ITS). Hasil penelitian ini dapat memberikan wawasan baru mengenai peran ekologis serta pola asosiasi cendawan endofit pada tanaman Zingiberaceae.

3.3 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli-Desember 2024. Pengujian laboratorium dilakukan di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN). Lokasi pengambilan sampel daun dilakukan di Kota Bogor, Jawa Barat.

3.4 Bahan dan Metode Penelitian

3.4.1 Pengambilan sampel daun

Sampel daun diambil pada bulan Juli 2024 dari dua kecamatan di Bogor, Jawa Barat, Indonesia, yaitu Kecamatan Bogor Barat dan Tanah Sareal. Lokasi penelitian berada pada ketinggian 200–250 m di atas permukaan laut, dengan suhu rata-rata harian berkisar antara 21–30 °C dan curah hujan bulanan sekitar 100–150 mm selama periode pengambilan sampel, yang merepresentasikan kondisi dataran rendah tropis yang sesuai untuk Zingiberaceae. Untuk verifikasi identitas tanaman, satu individu tanaman utuh dari setiap populasi (meliputi daun, batang, akar, rimpang, dan bunga) dikoleksi, dibersihkan, dan dibawa ke laboratorium untuk dikeringkan serta dipreparasi sebagai spesimen herbarium. Identifikasi awal spesies tanaman dilakukan berdasarkan karakter morfologi (Poulsen 2006; Lamb *et al.* 2013). Untuk memastikan identitas spesies, spesimen tanaman representatif diserahkan ke Herbarium Bogoriense, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Indonesia, untuk verifikasi tingkat spesies melalui perbandingan morfologi dengan koleksi herbarium yang tersedia.

Daun sehat, khususnya daun ke-3 hingga ke-5 dari pucuk, dikoleksi dari tanaman dengan pertumbuhan paling vigor pada setiap populasi. Untuk setiap spesies inang, tiga individu tanaman diambil sebagai ulangan biologis, mencakup total sembilan spesies. Sampel daun dimasukkan ke dalam kantong plastik steril, dibawa menggunakan kotak pendingin, dan disimpan pada suhu 10 °C hingga diproses. Isolasi cendawan dilakukan dalam waktu maksimal 24 jam setelah pengambilan sampel untuk menjaga viabilitas dan meminimalkan kontaminasi.

3.4.2 Isolasi Cendawan Endofit

Cendawan endofit kemudian diisolasi dari daun berbagai spesies Zingiberaceae yang tidak menunjukkan gejala penyakit. Untuk setiap spesies inang, tiga individu tanaman sehat digunakan sebagai sampel. Dari setiap individu, sebanyak 70 fragmen daun ($\pm 5 \times 5$ mm) diambil, sehingga total diperoleh 210 fragmen daun per spesies inang.

Isolasi cendawan endofit dilakukan mengikuti metode Yeh dan Kirschner (2019), dengan modifikasi pada konsentrasi sodium hipoklorit (NaOCl) dan durasi perendaman (Sari *et al.* 2025). Sampel daun terlebih dahulu dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran permukaan. Sterilisasi permukaan dilakukan secara bertahap dengan merendam segmen daun dalam etanol 70% selama 1 menit, NaOCl 5% selama 1 menit, dan kembali dalam etanol 70% selama 30 detik. Selanjutnya, sampel dibilas sebanyak tiga kali menggunakan air suling steril untuk menghilangkan sisa bahan sterilisasi. Daun yang telah disterilisasi kemudian dipotong menjadi segmen berukuran 5×5 mm dan dikeringkan di atas kertas saring steril dalam kondisi aseptik. Untuk memastikan efektivitas sterilisasi permukaan, air bilasan terakhir serta permukaan daun yang telah disterilisasi diinokulasikan pada medium *potato dextrose agar* (PDA) 20% guna mendeteksi kemungkinan adanya kontaminasi mikroba (Szucs *et al.* 2018).

Segmen daun kemudian ditanam pada medium PDA 20% yang ditambahkan kloramfenikol 0,25% untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Cawan petri diinkubasi pada suhu ruang (25 ± 1 °C) selama 14 hari. Koloni

cendawan yang tumbuh selanjutnya dimurnikan pada medium PDA untuk karakterisasi morfologi, identifikasi, dan pengujian lanjutan. Seluruh isolat cendawan yang diperoleh dari masing-masing spesies tanaman dikelompokkan ke dalam morfotipe berdasarkan karakter makroskopis, dan satu isolat representatif dari setiap morfotipe dipilih untuk identifikasi molekuler.

3.4.3 Identifikasi Molekuler Cendawan Endofit

3.4.3.1 Isolasi DNA Cendawan Endofit

DNA dari isolat cendawan endofit diekstraksi dari kultur berumur 7 hari yang ditumbuhkan pada medium PDA menggunakan metode CTAB (Doyle 1991). Pelet DNA dicuci menggunakan etanol 70%, dikeringanginkan, kemudian disuspensikan kembali dalam air bebas nuklease dan disimpan pada suhu -20°C hingga digunakan lebih lanjut.

3.4.3.2 Amplifikasi DNA dengan Teknik PCR

Primer ITS4 dan ITS5 yang menargetkan sekuens ITS1–5.8S–ITS2 digunakan untuk amplifikasi produk PCR. Campuran reaksi PCR (20 μl) terdiri atas 10 μl 2 $\times$ MyTaq HS Red Mix (Bioline), masing-masing primer *forward* dan *reverse* pada konsentrasi akhir 0,4 μM , 1 μl DNA template, dan air bebas nuklease hingga volume akhir 20 μl . Sebagai kontrol negatif, DNA template diganti dengan air bebas nuklease.

Amplifikasi PCR dilakukan menggunakan mesin PCR (Labcycler, SensQuest) dengan tahapan sebagai berikut: denaturasi awal pada 94°C selama 4 menit; 30 siklus yang terdiri atas denaturasi pada 94°C selama 30 detik, annealing pada 55°C selama 30 detik, dan ekstensi pada 72°C selama 1 menit; serta ekstensi akhir pada 72°C selama 4 menit (McBreen *et al.* 2003).

Produk PCR dianalisis menggunakan gel agarosa 1,5% yang diwarnai dengan RedSafe™ nucleic acid stain (Intron Biotechnology), kemudian dielektroforesis pada tegangan 100 volt selama 30 menit. Visualisasi dan dokumentasi dilakukan menggunakan Geldoc Fire Reader V4 (Uvitec Cambridge).

3.4.3.3 Sekuensing dan Analisis Hasil Sekuensing

Konfirmasi produk PCR dilakukan melalui sekuensing di laboratorium komersial, *First BASE Laboratories Sdn. Bhd.* (Malaysia). Hasil sekuens kemudian didaftarkan ke GenBank. Analisis awal hasil sekuensing dilakukan menggunakan program BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Identifikasi isolat dilakukan hingga tingkat spesies, genus, atau takson yang lebih tinggi, bergantung pada tingkat kemiripan sekuens barcode yang digunakan serta verifikasi berdasarkan karakter morfologi. Nama ilmiah yang diperoleh dari GenBank selanjutnya diperbarui mengacu pada Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org>). Untuk mendukung identifikasi, pohon filogenetik metode *neighbour-joining* dibangun menggunakan perangkat lunak MEGA XII dengan 1.000 ulangan *bootstrap* dan nilai ambang (*cut-off*) *bootstrap* sebesar 70%.

3.4.4 Analisis Data

Tingkat kolonisasi (CR) dihitung sebagai persentase segmen daun yang terkolonisasi oleh cendawan menggunakan rumus $CR = (N_c / N_t) \times 100$, di mana N_c adalah jumlah segmen daun yang berhasil diisolasi cendawan dan N_t adalah jumlah total segmen daun yang digunakan (Sun *et al.* 2012). Frekuensi isolasi (*isolation frequency*, IF) untuk setiap takson cendawan dihitung dengan rumus $IF = (N_i / N_t) \times 100$, di mana N_i adalah jumlah segmen yang terkolonisasi oleh takson tertentu dan N_t adalah jumlah total segmen daun yang diamati.

Untuk mengevaluasi keanekaragaman cendawan endofit pada sembilan spesies inang Zingiberaceae, digunakan empat indeks ekologi, yaitu indeks keanekaragaman Shannon–Wiener (H'), indeks Simpson (D), pemerataan Pielou (E), dan indeks kekayaan Margalef (d) (Baczkowski *et al.* 1997). Uji asumsi normalitas (Shapiro–Wilk) dan homogenitas varians (Levene) dilakukan sebelum analisis ANOVA satu arah terhadap tingkat kolonisasi dan indeks keanekaragaman. Jika diperlukan, data ditransformasi menggunakan logaritma atau akar kuadrat untuk memenuhi asumsi ANOVA. Apabila terdapat perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$), uji lanjut Tukey HSD digunakan untuk perbandingan antar perlakuan.

Frekuensi isolasi dihitung untuk setiap tanaman inang pada tingkat genus dan spesies, kemudian divisualisasikan dalam bentuk heatmap menggunakan paket *heatmap* pada perangkat lunak Rstudio. Analisis kluster hirarkis dilakukan untuk mengeksplorasi kesamaan komposisi komunitas cendawan menggunakan jarak Euclidean.

Untuk mengevaluasi hubungan antara kekerabatan taksonomi inang dan berbagai aspek komunitas cendawan endofit, dilakukan uji Mantel menggunakan korelasi peringkat Spearman. Kekerabatan taksonomi inang direpresentasikan dalam bentuk matriks jarak taksonomi kategorikal berdasarkan tingkat hierarki taksonomi antar tanaman inang (Warwick dan Clarke 1995). Jarak taksonomi ditentukan menggunakan skala ordinal, yaitu varietas yang sama diberi nilai 0, varietas berbeda dalam satu spesies = 1, spesies berbeda dalam satu genus = 2, dan genus berbeda = 3. Matriks ini digunakan sebagai proksi kesamaan inang karena tidak tersedia data filogenetik molekuler.

Uji Mantel dilakukan secara terpisah menggunakan paket *vegan* pada R untuk menguji hubungan antara matriks jarak taksonomi inang dengan matriks jarak yang diperoleh dari: (i) tingkat kolonisasi, (ii) indeks keanekaragaman (Shannon, Simpson, pemerataan Pielou, dan kekayaan Margalef), (iii) frekuensi isolasi tingkat genus, dan (iv) frekuensi isolasi tingkat spesies. Matriks jarak untuk tingkat kolonisasi, indeks keanekaragaman, dan frekuensi isolasi dihitung menggunakan dissimilaritas Bray–Curtis. Signifikansi statistik ditentukan berdasarkan 999 permutasi.

3.5 Hasil dan Pembahasan

3.5.1 Identifikasi Inang dan Kerangka Taksonomi

Tanaman inang diidentifikasi berdasarkan karakter morfologi dengan verifikasi ahli taksonomi di Badan Riset dan Inovasi Nasional (Nomor identifikasi: B-2529/II.6.2/IR.01.02/6/2025). Nomenklatur botani mengikuti konsensus taksonomi terkini dan sitasi penulis lengkap untuk seluruh spesies

inang (Tabel 3.1). Dokumentasi spesimen herbarium yang telah terverifikasi disajikan pada Gambar 3.1.

Sebanyak sembilan spesies tanaman yang digunakan dalam penelitian ini tergolong ke dalam empat genus, yaitu *Alpinia*, *Curcuma*, *Etlingera*, dan *Zingiber*. Klasifikasi taksonomi tersebut digunakan sebagai dasar dalam penyusunan matriks jarak taksonomi yang diturunkan dari hierarki klasifikasi tanaman inang (Warwick dan Clarke 1995). Matriks ini selanjutnya digunakan untuk menganalisis tingkat kekerabatan antar tanaman inang (Tabel 3.2).



Gambar 3.1 Performa tanaman inang Zingiberaceae yang digunakan dalam penelitian ini. (A) *Alpinia malaccensis*: (1) habitus tanaman, (2) buah, (3) daun; (B) *A. galanga*: (1) habitus tanaman, (2) daun; (C) *Etlingera elatior*: (1) habitus tanaman, (2) daun, (3) bunga dan tunas; (D) *Zingiber zerumbet*; (E) *Z. officinale* var. *officinale*; (F) *Z. officinale* var. *amarum*; (G) *Z. officinale* var. *rubrum*; (H) *Curcuma longa*; (I) *C. xanthorrhiza*.

Tabel 3.1 Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini

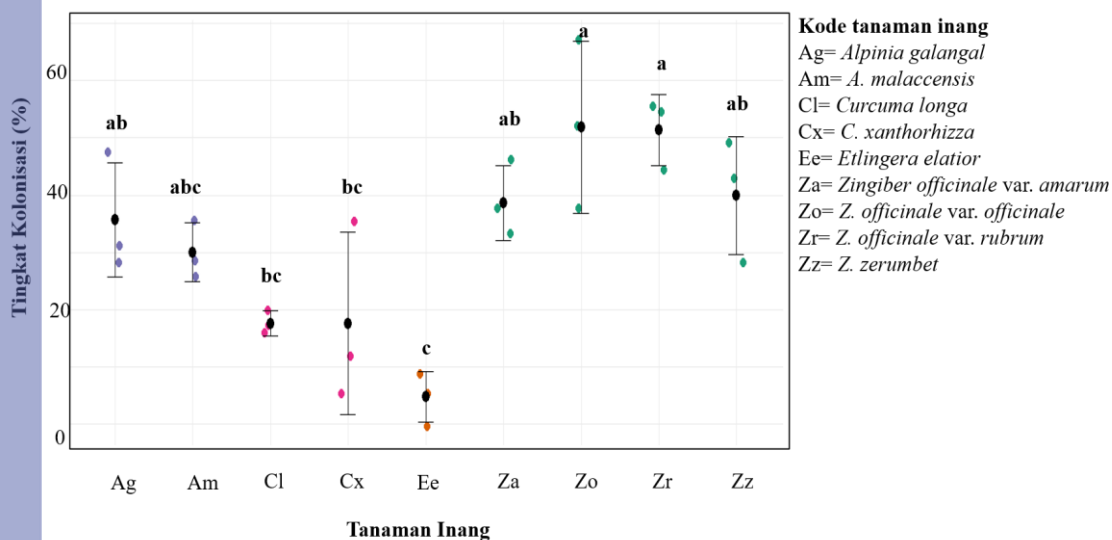
No	Spesies	Kode	Nama Lokal
1	<i>Alpinia galanga</i> (L.) Willd.	Ag	Lengkuas
2	<i>Alpinia malaccensis</i> (Burm.f.) Roscoe	Am	Lengkuas malaka
3	<i>Curcuma longa</i> L.	Cl	Kunyit
4	<i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.	Cx	Temulawak
5	<i>Etlingera elatior</i> (Jack) R.M.Sm.	Ee	Kecombrang
6	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe var. <i>rubrum</i>	Zr	Jahe merah
7	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe var. <i>officinale</i>	Zo	Jahe putih besar
8	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe var. <i>amarum</i>	Za	Jahe putih kecil
9	<i>Zingiber zerumbet</i> (L.) Roscoe ex Sm.	Zz	Lempuyang

Tabel 3.2 Matriks jarak taksonomi antar tanaman inang famili Zingiberaceae berdasarkan klasifikasi taksonomi

Kode	Ag	Am	Cl	Cx	Ee	Zr	Zo	Za	Zz
Ag	0	2	3	3	3	3	3	3	3
Am	2	0	3	3	3	3	3	3	3
Cl	3	3	0	2	3	3	3	3	3
Cx	3	3	2	0	3	3	3	3	3
Ee	3	3	3	3	0	3	3	3	3
Zr	3	3	3	3	3	0	3	3	3
Zo	3	3	3	3	3	1	0	1	2
Za	3	3	3	3	3	1	1	0	2
Zz	3	3	3	3	3	2	2	2	0

3.5.2 Tingkat Kolonisasi dan Keanekaragaman Cendawan Endofit

Tingkat kolonisasi berbeda nyata antar spesies inang (ANOVA satu arah, $P < 0,001$; Gambar 3.2). Nilai rata-rata tingkat kolonisasi tertinggi ditemukan pada *Zingiber officinale* var. *officinale* (>50%), sedangkan *Etlingera elatior* menunjukkan nilai rata-rata terendah (<10%). Rata-rata tingkat kolonisasi pada seluruh spesies Zingiberaceae adalah sebesar 31,96%. Spesies dalam genus yang sama cenderung menunjukkan tingkat kolonisasi yang relatif serupa, sedangkan variasi yang lebih besar terlihat antar genus yang berbeda, seperti antara *Zingiber* dan *Etlingera*.



Gambar 3.2 Tingkat kolonisasi cendawan endofit pada berbagai spesies tanaman inang. Titik berwarna menunjukkan ulangan individu, sedangkan titik hitam menunjukkan nilai rata-rata ± standar deviasi. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata antar inang berdasarkan uji ANOVA satu arah yang dilanjutkan dengan uji Tukey HSD ($P < 0,001$).

Indeks keanekaragaman cendawan endofit pada Zingiberaceae ditampilkan dalam Tabel 3.3. Indeks Shannon dan Evenness menunjukkan variasi sedang di antara spesies inang, namun tidak berbeda signifikan (ANOVA satu arah, $P > 0,05$). Demikian pula, indeks Simpson mengindikasikan tidak adanya genus yang mendominasi komunitas cendawan pada seluruh inang. Sebaliknya, kekayaan spesies yang diestimasi dengan indeks Margalef berbeda signifikan antar inang ($P < 0,05$), dengan nilai tertinggi pada *A. malaccensis* (2,42), sedangkan *E. elatior* (0,94) dan *C. xanthorrhiza* (0,89) menunjukkan nilai lebih rendah.

Untuk mengevaluasi hubungan antara variasi kolonisasi dan kedekatan taksonomi inang, uji Mantel dilakukan menggunakan matriks jarak taksonomi dan matriks jarak tingkat kolonisasi. Hasilnya menunjukkan korelasi positif yang kuat dan signifikan (Mantel Spearman's $\rho = 0,62$, $P = 0,001$), yang mengindikasikan bahwa semakin jauh kekerabatan inang, semakin besar perbedaan tingkat kolonisasi. Sebaliknya, tidak ditemukan korelasi signifikan antara jarak taksonomi inang dan seluruh indeks keanekaragaman (Shannon, Simpson, Evenness, dan Margalef), yang menunjukkan bahwa struktur keanekaragaman cendawan tidak mengikuti pola kekerabatan inang.

Tabel 3.3 Indeks keanekaragaman cendawan endofit pada berbagai tanaman dalam famili Zingiberaceae

No	Tanaman Inang	Shannon	Simpson	Evenness	Margalef
1	<i>Alpinia galanga</i>	0,77	0,63	0,47	1,22 ^{ab}
2	<i>Alpinia malaccensis</i>	1,11	0,83	0,55	2,42 ^a
3	<i>Curcuma longa</i>	1,01	0,76	0,61	1,53 ^{ab}
4	<i>Curcuma xanthorrhiza</i>	0,57	0,49	0,39	0,90 ^b
5	<i>Etlingera elatior</i>	0,22	0,55	0,16	0,95 ^b
6	<i>Zingiber officinale</i> var. <i>amarum</i>	0,49	0,46	0,29	1,27 ^b
7	<i>Zingiber officinale</i> var. <i>officinale</i>	0,76	0,73	0,49	1,04 ^{ab}
8	<i>Zingiber officinale</i> var. <i>rubrum</i>	0,95	0,67	0,63	1,03 ^{ab}
9	<i>Zingiber zerumbet</i>	0,64	0,67	0,40	1,11 ^{ab}

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey HSD pada taraf $\alpha=5\%$.

Dalam penelitian ini, kekerabatan inang didefinisikan berdasarkan jarak taksonomi menggunakan nomenklatur hierarkis, bukan pohon filogenetik, sehingga interpretasi hubungan evolusioner masih terbatas. Meskipun demikian, hasil ini sejalan dengan laporan sebelumnya bahwa identitas inang dapat memengaruhi komunitas endofit pada tingkat tertentu, sementara komposisi tingkat spesies lebih dipengaruhi oleh faktor ekologi lokal (Arnold *et al.* 2000; Rodriguez *et al.* 2009).

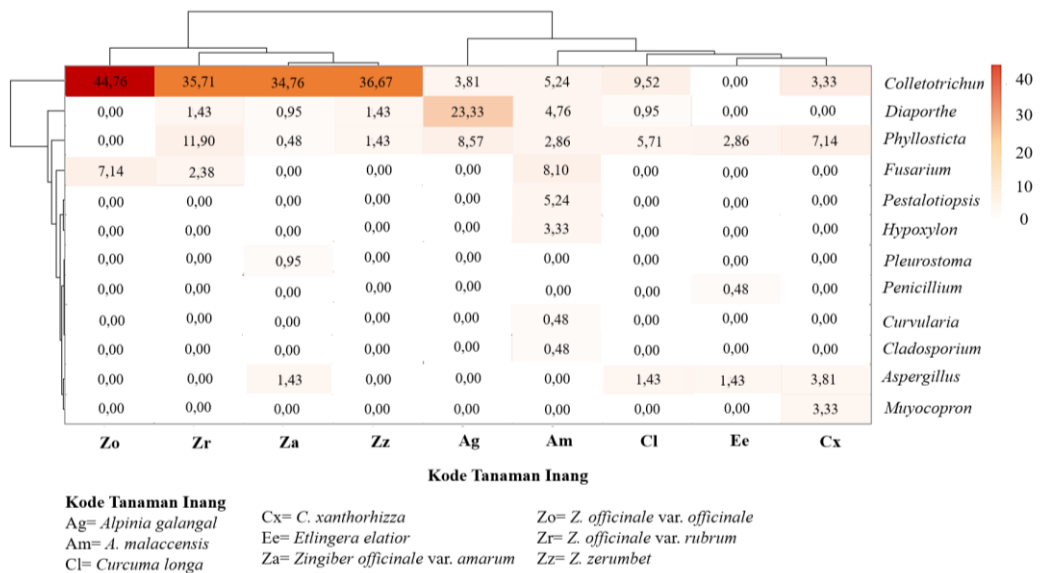
Seluruh sampel dikumpulkan dari lingkungan yang relatif seragam sehingga variasi lingkungan minimal, dan pola yang diamati lebih

mencerminkan pengaruh faktor inang. Meskipun sifat daun tidak diukur secara langsung, studi sebelumnya menunjukkan bahwa karakteristik seperti struktur daun, kandungan nutrisi, umur jaringan, dan metabolit sekunder berperan penting dalam membentuk komunitas cendawan endofit (Saunders dan Kohn 2009; González-Teuber *et al.* 2020; Liao *et al.* 2025).

Pada *A. malaccensis*, tingkat kolonisasi cendawan endofit sedang tetapi kekayaan spesies tinggi, menandakan bahwa banyak spesies hadir tanpa dominasi yang kuat. Sebaliknya, pada *Z. officinale* var. *officinale* menunjukkan tingkat kolonisasi tinggi tetapi keanekaragaman lebih rendah, yang mengindikasikan dominasi oleh beberapa taksa. Secara keseluruhan, hasil ini menegaskan bahwa tingkat kolonisasi tidak selalu linear dengan tingkat keanekaragaman, dan komunitas cendawan endofit daun dibentuk oleh interaksi kompleks antara karakteristik inang dan kondisi iklim sekitar tanaman.

3.5.3 Komposisi Cendawan Endofit pada Tingkat Genus

Komposisi cendawan endofit pada Zingiberaceae menunjukkan variasi baik pada tingkat genus (Gambar 3.3) maupun spesies. *Colletotrichum* merupakan genus yang paling dominan dan ditemukan pada hampir seluruh inang, terutama pada genus *Zingiber*. Analisis heatmap menunjukkan pengelompokan yang jelas pada inang, didominasi oleh *Colletotrichum* dengan frekuensi isolasinya yang tinggi. *Phyllosticta* juga umum ditemukan, meskipun dengan frekuensi lebih rendah, sedangkan *Diaporthe* terdeteksi pada beberapa inang namun dalam jumlah terbatas. Genus lain seperti *Fusarium*, *Pestalotiopsis*, *Hypoxylon*, *Pleurostoma*, *Penicillium*, *Curvularia*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, dan *Muyocopron* muncul dengan frekuensi rendah dan terbatas pada sedikit inang, mengindikasikan distribusi yang lebih spesifik atau lokal.



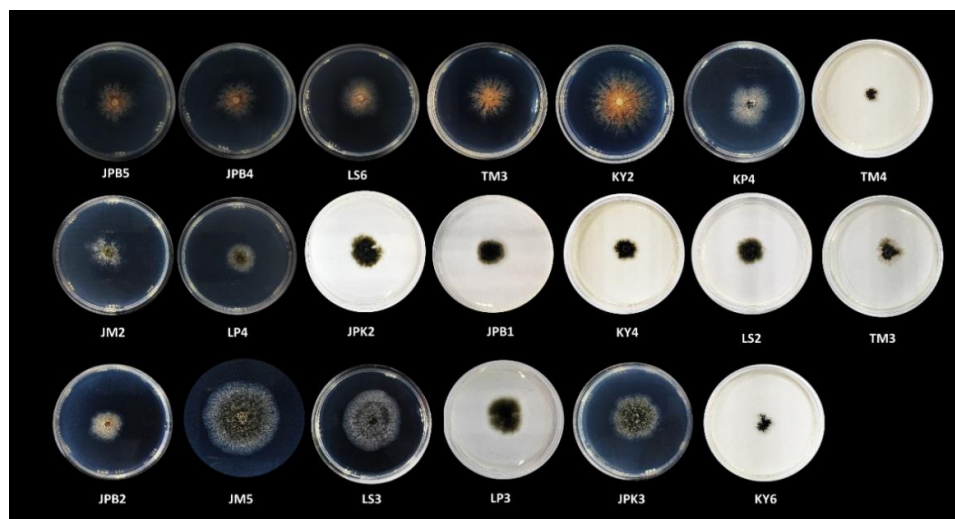
Gambar 3.3 Heatmap korelasi antara genus cendawan endofit dengan tanaman inangnya. Intensitas warna mewakili frekuensi isolasi (%) dari setiap genus endofit. Pengelompokan baris dan kolom (jarak Euclidean) berdasarkan kemiripan dalam kelimpahan di seluruh inang.

Uji mantel menunjukkan korelasi positif yang kuat antara jarak taksonomi inang dan komposisi cendawan pada tingkat genus ($\rho = 0,79$; $P = 0,002$), yang mengindikasikan bahwa inang berkerabat dekat cenderung memiliki komunitas yang lebih mirip. Namun, hubungan ini tidak signifikan pada tingkat spesies ($\rho = 0,156$; $P = 0,2495$), menunjukkan bahwa distribusi spesies cendawan tidak terstruktur oleh kekerabatan taksonomi inang.

3.5.4 Keanekaragaman dan Distribusi *Colletotrichum* Endofit

Identifikasi spesies cendawan pada bagian penelitian ini masih bersifat sementara karena hanya didasarkan pada penanda molekuler ITS. Oleh karena itu, hasil identifikasi pada tahap ini digunakan terutama untuk menggambarkan pola komunitas dan keanekaragaman cendawan endofit pada berbagai spesies dalam famili Zingiberaceae, bukan untuk penetapan identitas spesies secara definitif. Untuk spesies-spesies tertentu yang memerlukan resolusi taksonomi lebih tinggi, diperlukan analisis multilokus menggunakan penanda gen tambahan agar identifikasi dapat dilakukan dengan tingkat kepercayaan yang lebih tinggi.

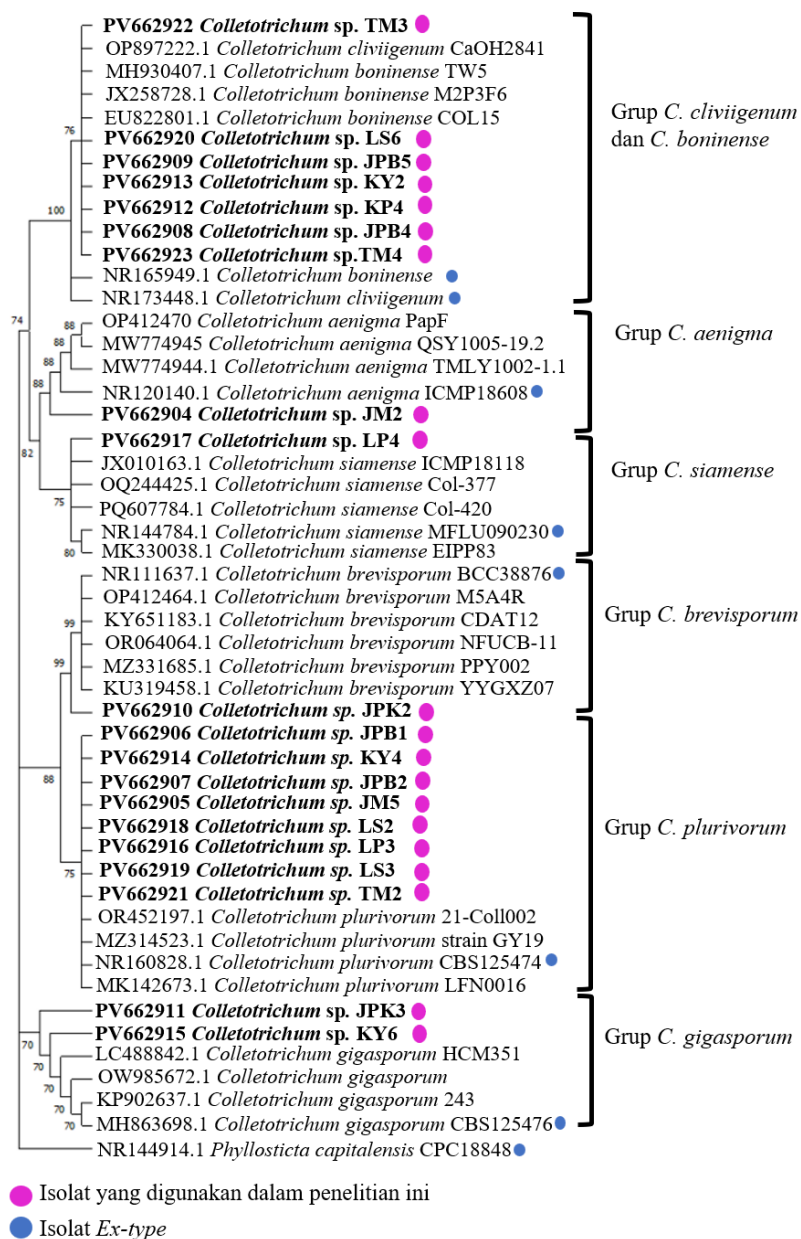
Sebanyak 20 isolat endofit *Colletotrichum* diperoleh dari berbagai spesies Zingiberaceae, dengan variasi makromorfologi yang jelas, terutama pada warna dan tekstur koloni (Gambar 3.4). Analisis sekuens ITS menunjukkan bahwa isolat-isolat tersebut memiliki kemiripan tertinggi dengan anggota kompleks spesies yang mencakup *C. plurivorum*, *C. brevisporum*, *C. gigasporum*, *C. aenigma*, *C. siamense*, *C. cliviigenum*, dan *C. boninense*. Analisis filogenetik berdasarkan ITS (Gambar 3.5) mengelompokkan isolat ke dalam enam klad utama yang konsisten dengan pengelompokan spesies-spesies tersebut, dengan nilai *bootstrap* sedang hingga kuat (70–94%). Enam isolat berada dalam kelompok *C. cliviigenum*–*C. boninense* (*bootstrap* 74–90%), namun tidak dapat dipisahkan secara jelas berdasarkan marker ITS.



Gambar 3.4 Variasi morfologi koloni isolat *Colletotrichum* endofit asal Zingiberaceae pada umur 7 hari di medium PDA 20%

Colletotrichum terdeteksi pada 8 dari 9 spesies inang, kecuali *E. elatior*. Analisis heatmap (Gambar 3.6) menunjukkan bahwa isolat yang mirip dengan

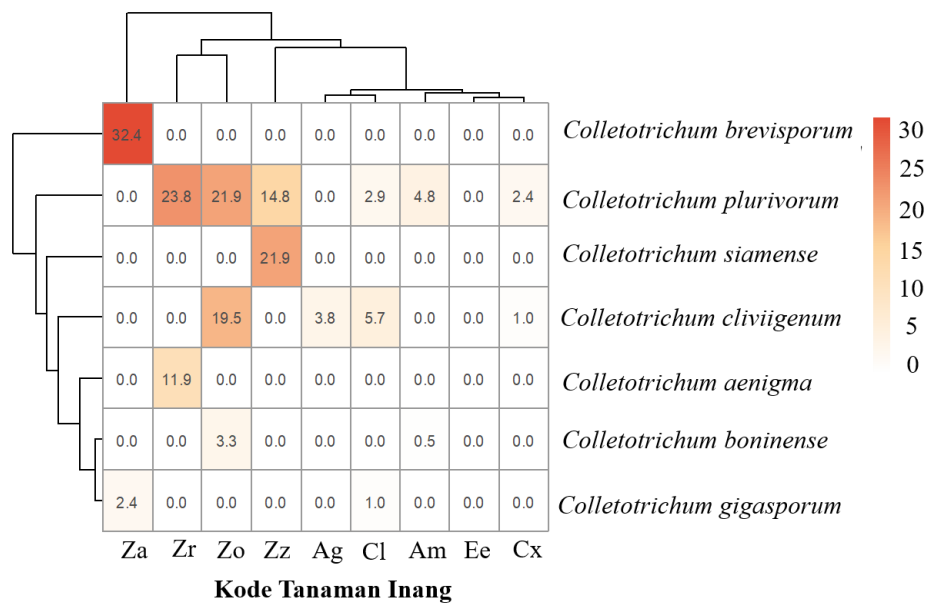
C. plurivorum paling dominan ditemukan dengan frekuensi isolasi rata-rata 7,84% dan distribusi luas antar inang. Namun pola distribusi spesies *Colletotrichum* tidak menunjukkan keterkaitan dengan hubungan taksonomi inang, sejalan dengan hasil uji Mantel yang tidak signifikan pada tingkat spesies. Hal ini menunjukkan bahwa identitas inang berperan dalam menentukan keberadaan genus, namun keberhasilan kolonisasi pada tingkat spesies lebih dipengaruhi oleh faktor lain ataupun bersifat acak.



Gambar 3.5 Pohon filogenetik dari isolat *Colletotrichum* berdasarkan sekuens ITS dengan metode *neighbour-joining* (1.000 ulangan *bootstrap*). *Phyllosticta capitalensis* sebagai *outgroup*. Nilai *bootstrap* >70% ditampilkan pada cabang pohon.

Dominansi *Colletotrichum* sebagai genus utama juga tercermin dari frekuensi isolasi yang tinggi pada beberapa inang, seperti *Z. officinale* var.

rubrum dan *C. longa*, menunjukkan bahwa genus ini merupakan komponen inti (*core taxa*) dari komunitas cendawan endofit daun pada Zingiberaceae. Secara ekologis, pola ini kemungkinan mencerminkan strategi hidup oportunistik *Colletotrichum*, yang mampu bertransisi antara fase endofitik, epifitik, dan patogen tergantung kondisi lingkungan (Jayawardena *et al.* 2021). Temuan ini konsisten dengan laporan sebelumnya yang menunjukkan bahwa *Colletotrichum* merupakan endofit umum pada tanaman tropis (Mejía *et al.* 2014; Pillai 2015; Newfeld *et al.* 2025).



Ag = *Alpinia galangal*

Cx = *C. xanthorrhiza*

Zo = *Z. officinale* var. *officinale*

Am = *A. malaccensis*

Ee = *Etlingera elatior*

Zr = *Z. officinale* var. *rubrum*

Cl = *Curcuma longa*

Za = *Zingiber officinale* var. *amarum*

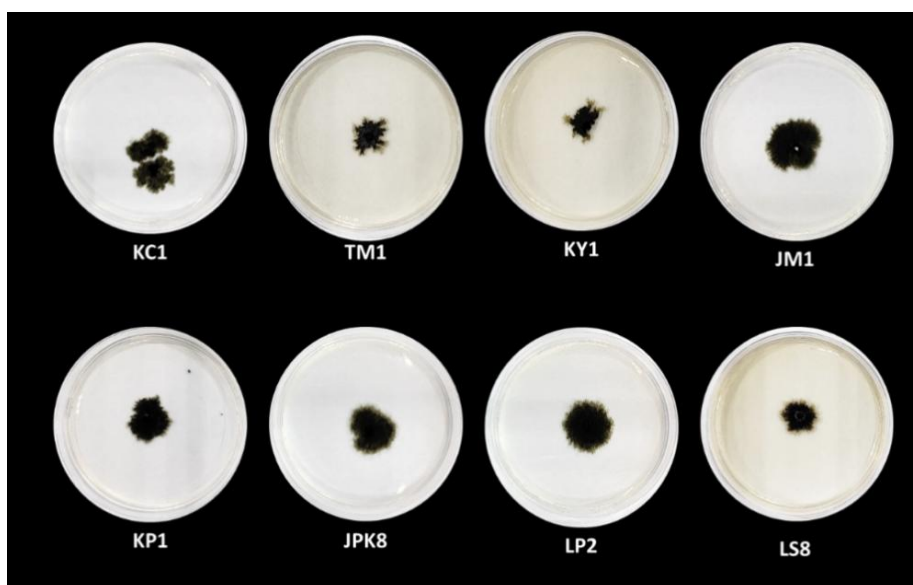
Zz = *Z. zerumbet*

Gambar 3.6 Heatmap spesies *Colletotrichum* pada berbagai inang Zingiberaceae. Intensitas warna menunjukkan frekuensi isolasi cendawan endofit; baris dan kolom dikelompokkan berdasarkan jarak Euclidean.

3.5.5 Keanekaragaman dan Distribusi Endofit *Phyllosticta*

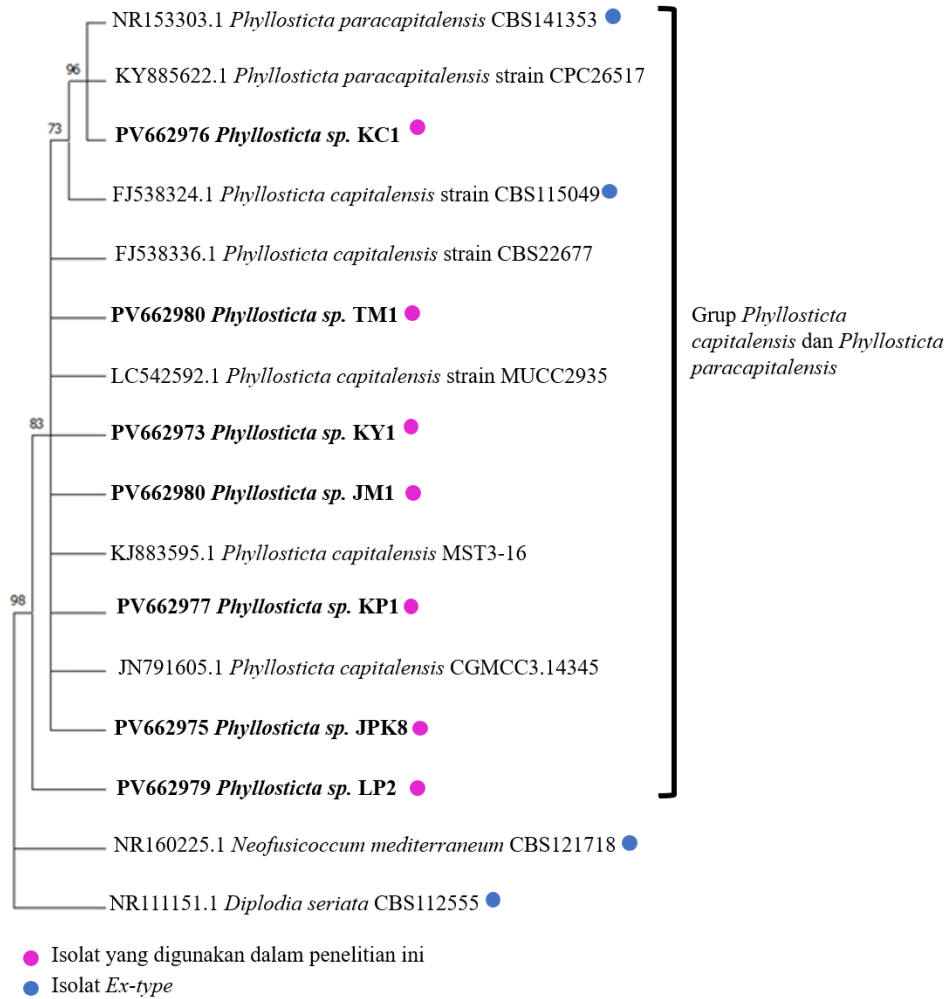
Sebanyak delapan isolat *Phyllosticta* berhasil diperoleh dari beberapa tanaman dalam famili Zingiberaceae. Secara makromorfologi, seluruh isolat menunjukkan karakter koloni yang relatif seragam, yaitu miselium berwarna hitam pekat dengan tekstur padat, tepi koloni tidak beraturan, dan laju pertumbuhan yang lambat (Gambar 3.7). Analisis sekuens ITS menggunakan BLAST menunjukkan bahwa enam isolat, yaitu JM1, KY1, KP1, JPK8, LP2, dan TM1, memiliki kemiripan tinggi (98,92-100%) dengan *Phyllosticta capitalensis* strain CBS 128856 (OL957169.1). Sementara itu, isolat KC1 yang berasal dari *Etlingera elatior* menunjukkan kemiripan tertinggi (99,83%) dengan *P. paracapitalensis* strain CBS 141353 (NR153303.1). Pohon filogenetik berdasarkan ITS (Gambar 3.8), menempatkan KC1 dalam sub-klad *P. paracapitalensis*, sedangkan isolat lainnya tergabung dalam klad *P. capitalensis*.

Phyllosticta ditemukan tersebar pada delapan dari sembilan spesies inang, kecuali *Z. officinale* var. *officinale*. Analisis heatmap (Gambar 3.9) menunjukkan bahwa *E. elatior* memiliki komposisi *Phyllosticta* yang berbeda dibandingkan inang lain, terutama karena keberadaan *P. paracapitalensis*. Meskipun terdeteksi pada beberapa inang, *Phyllosticta* umumnya memiliki frekuensi isolasi rendah, yang menunjukkan kemampuannya untuk berkolonisasi pada berbagai inang tanpa menjadi dominan. *P. capitalensis* dikenal sebagai spesies kosmopolitan yang umum ditemukan sebagai endofit pada berbagai tanaman (Wikee *et al.* 2013a). Kisaran inang yang luas ini kemungkinan didukung oleh sifat fisiologis seperti produksi melanin, yang meningkatkan ketahanan dan persistensi dalam jaringan tanaman (Suryanarayanan *et al.* 2004). Dalam konteks ini, keberhasilan kolonisasi pada berbagai inang Zingiberaceae lebih mencerminkan fleksibilitas ekologis dibandingkan adaptasi spesifik terhadap lingkungan eksternal.



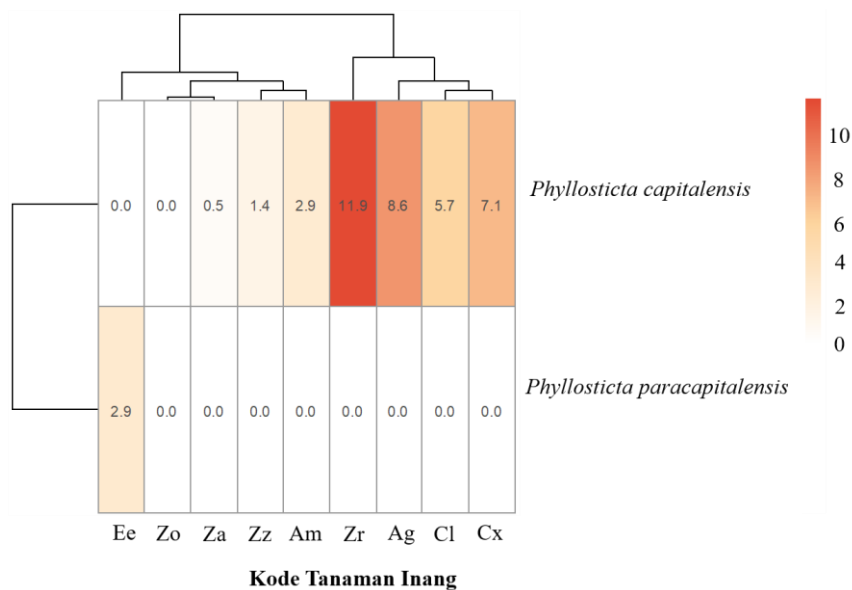
Gambar 3.7 Variasi morfologi koloni isolat *Phyllosticta* endofit asal Zingiberaceae pada umur 7 hari di medium PDA 20%

Isolat asal *E. elatior* memiliki kemiripan dengan *P. paracapitalensis*. Penempatan filogenetik berbasis ITS mengonfirmasi kedekatannya dengan *P. capitalensis*, sejalan dengan studi sebelumnya (Guarnaccia *et al.* 2017). Walaupun karakterisasi morfologi rinci tidak dilakukan pada penelitian ini, spesies ini telah dibedakan dari *P. capitalensis* berdasarkan karakter mikroskopisnya, meliputi panjang leher askomata dan ukuran askospora (Wikee *et al.* 2013b). Seperti *Colletotrichum*, distribusi spesies *Phyllosticta* juga bersifat acak, tidak mengikuti pola kekerabatan taksonomi inang.



Gambar 3.8 Pohon filogenetik dari isolat *Phyllosticta* berdasarkan sekuens ITS dengan metode *neighbour-joining* (1.000 ulangan *bootstrap*). *Neofusicoccum mediterraneum* dan *Diplodia seriata* sebagai *outgroup*. Nilai *bootstrap* >70% ditampilkan pada cabang pohon.

Isolat asal *E. elatior* memiliki kemiripan dengan *P. paracapitalensis*. Penempatan filogenetik berbasis ITS mengonfirmasi kedekatannya dengan *P. capitalensis*, sejalan dengan studi sebelumnya (Guarnaccia *et al.* 2017). Walaupun karakterisasi morfologi rinci tidak dilakukan pada penelitian ini, spesies ini telah dibedakan dari *P. capitalensis* berdasarkan karakter mikroskopisnya, meliputi panjang leher askomata dan ukuran askospora (Wikee *et al.* 2013b). Seperti *Colletotrichum*, distribusi spesies *Phyllosticta* juga bersifat acak, tidak mengikuti pola kekerabatan taksonomi inang.



Ag = *Alpinia galangal* Cx = *C. xanthorrhiza* Zo = *Z. officinale* var. *officinale*
 Am = *A. malaccensis* Ee = *Etlingera elatior* Zr = *Z. officinale* var. *rubrum*
 Cl = *Curcuma longa* Za = *Zingiber officinale* var. *amarum* Zz = *Z. zerumbet*

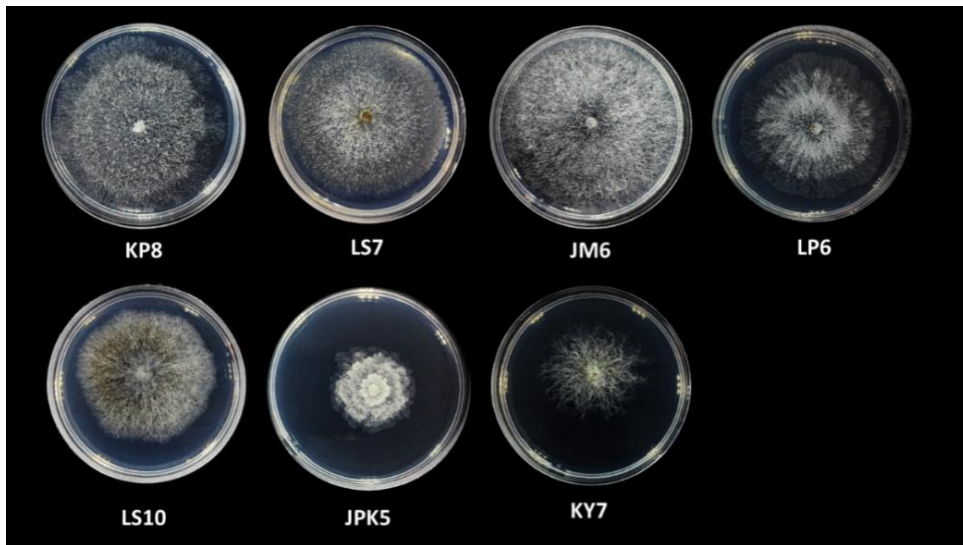
Gambar 3.9 Heatmap spesies *Phyllosticta* pada berbagai inang Zingiberaceae. Intensitas warna menunjukkan frekuensi isolasi cendawan endofit; baris dan kolom dikelompokkan berdasarkan jarak Euclidean.

3.5.6 Keanekaragaman dan Distribusi Endofit *Diaporthe*

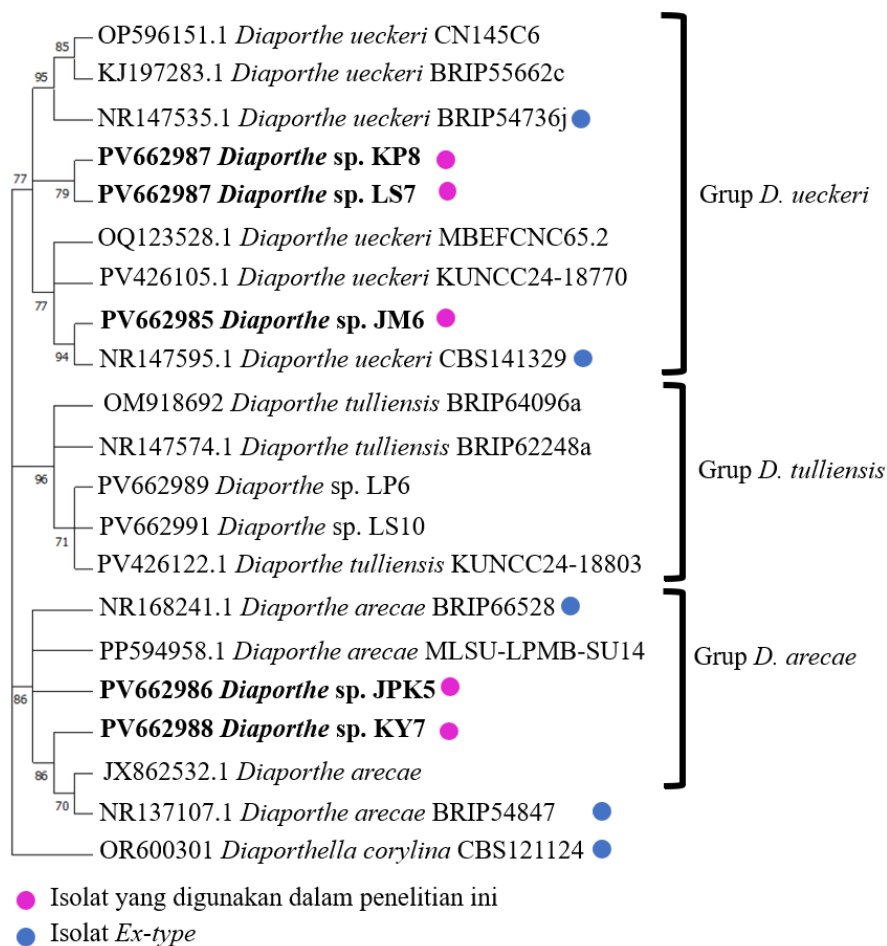
Genus *Diaporthe* menunjukkan keanekaragaman taksonomi yang tinggi. Secara makromorfologi, isolat-isolatnya memiliki karakter koloni yang relatif serupa, yaitu berwarna putih, tipis, dan tumbuh cepat pada medium PDA, dengan beberapa koloni menunjukkan pola menyerupai bunga (Gambar 3.10).

Tujuh isolat yang diperoleh terbagi dalam tiga spesies berbeda berdasarkan analisis BLAST berbasis sekuens ITS, dengan *query cover* 98–100% dan kemiripan sekuens 95,48–100%, yaitu *D. ueckeri*, *D. tulliensis*, dan *D. arecae*. Pohon filogenetik mengelompokkan isolat-isolat ini ke dalam tiga klad utama (Gambar 3.11). Klad *D. ueckeri* mencakup sebagian besar isolat, dengan beberapa isolat berkelompok dekat dengan strain referensi termasuk ex-tipe BRIP 54736 (*bootstrap* 78–93%). Isolat lainnya membentuk kelompok *D. arecae* (*bootstrap* 70–85%) dan *D. tulliensis* (*bootstrap* 96%), yang konsisten dengan hasil BLAST.

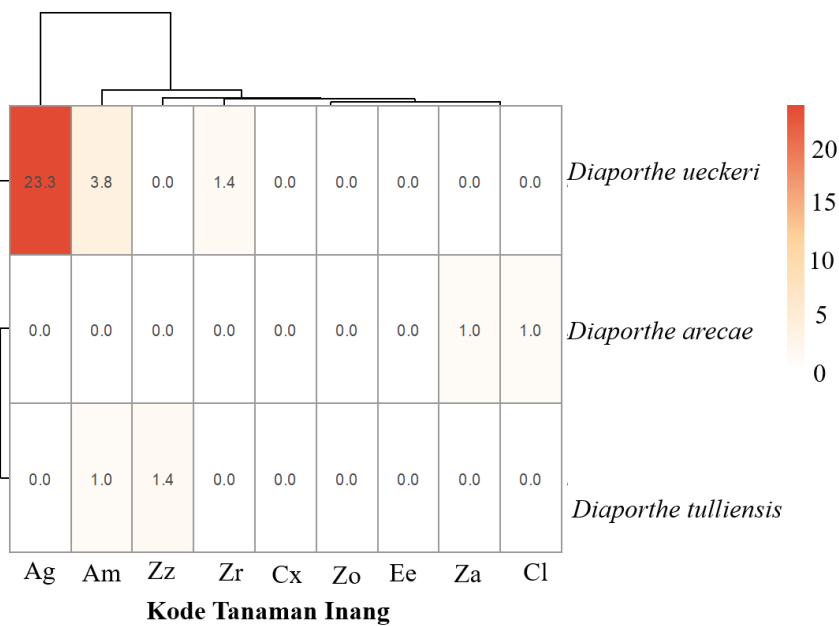
Endofit *Diaporthe* berhasil diisolasi dari enam spesies inang Zingiberaceae (Gambar 3.12). *D. ueckeri* merupakan spesies yang paling dominan, sedangkan *D. tulliensis* dan *D. arecae* memiliki kelimpahan rendah. Secara umum, *Diaporthe* terdeteksi pada berbagai inang tetapi dengan frekuensi isolasi yang relatif rendah, menunjukkan strategi hidup yang tersebar luas namun tidak dominan. Sejalan dengan genus lain, distribusi spesies *Diaporthe* tidak menunjukkan keterkaitan dengan kekerabatan taksonomi inang.



Gambar 3.10 Variasi morfologi koloni isolat *Diaporthe* endofit asal Zingiberaceae pada 7 HSI di medium PDA 20%



Gambar 3.11 Pohon filogenetik *neighbour-joining* dari isolat *Diaporthe* berdasarkan sekuens ITS (1.000 ulangan *bootstrap*), dengan *Neofusicoccum mediterraneum* sebagai outgroup; nilai *bootstrap* >70% ditampilkan



Ag = *Alpinia galangal* Cx = *C. xanthorrhizza* Zo = *Z. officinale* var. *officinale*
 Am = *A. malaccensis* Ee = *Etlingera elatior* Zr = *Z. officinale* var. *rubrum*
 Cl = *Curcuma longa* Za = *Z. officinale* var. *amarum* Zz = *Z. zerumbet*

Gambar 3.12 Heatmap spesies *Diaporthe* pada berbagai inang Zingiberaceae. Intensitas warna menunjukkan frekuensi isolasi cendawan. Baris dan kolom dikelompokkan berdasarkan jarak Euclidean

Ketiga spesies yang teridentifikasi telah dilaporkan sebelumnya pada berbagai tanaman. *D. ueckeri* diketahui sebagai endofit pada *Anacardium occidentale* dan *Brosimum gaudichaudii* (Ferro *et al.* 2024), namun belum dilaporkan pada Zingiberaceae. Sementara itu, laporan *D. tulliensis* dan *D. arecae* sebagai endofit daun pada Zingiberaceae masih terbatas. Meskipun genus ini sering dikenal sebagai patogen tanaman (Shabong dan Kayang 2023; Serrato-Diaz *et al.* 2023; da Silva *et al.* 2024; Iriarte *et al.* 2025), isolasi berulang dari jaringan tanpa gejala dalam penelitian ini menunjukkan bahwa spesies *Diaporthe* memiliki plastisitas ekologi dan dapat berperan sebagai endofit pada kondisi tertentu.

Beberapa kelompok cendawan, seperti *Fusarium*, *Pestalotiopsis*, *Hypoxylon*, *Pleurostoma*, *Penicillium*, *Curvularia*, *Cladosporium*, *Muyocopron*, dan *Aspergillus*, terdeteksi dengan frekuensi isolasi yang sangat rendah dan hanya ditemukan pada satu atau beberapa spesies inang saja (Lampiran 1). Pola ini kemungkinan mencerminkan kemampuan kolonisasi yang terbatas atau kolonisasi sporadis yang tidak spesifik terhadap inang.

3.6 Simpulan

Daun Zingiberaceae merupakan habitat bagi berbagai spesies cendawan endofit. Tingkat kolonisasi dan keanekaragaman cendawan endofit pada tanaman Zingiberaceae berbeda antar spesies inang. Tingkat kolonisasi yang tinggi tidak selalu diikuti oleh keanekaragaman yang tinggi, menunjukkan bahwa keduanya dipengaruhi oleh faktor yang berbeda. Meskipun kekerabatan taksonomi inang

berkorelasi signifikan dengan tingkat kolonisasi, faktor tersebut tidak memengaruhi keanekaragaman cendawan endofit maupun pola distribusinya pada tingkat spesies.

Colletotrichum, *Phyllosticta*, dan *Diaporthe* merupakan genus dominan dengan pola distribusi yang berbeda pada jaringan daun Zingiberaceae. *Colletotrichum* menunjukkan kisaran inang yang luas, sedangkan *Phyllosticta* dan *Diaporthe* memiliki distribusi yang lebih terbatas.





IV CENDAWAN ENDOFIT POTENSIAL ASAL ZINGIBERACEAE UNTUK PENGENDALIAN BERCAK DAUN *Proxipyricularia zingiberis* PADA JAHE

4.1 Abstrak

Penyakit bercak daun yang disebabkan oleh *Proxipyricularia zingiberis* dapat menurunkan produktivitas tanaman jahe. Penelitian ini bertujuan untuk menyeleksi cendawan endofit asal Zingiberaceae yang berpotensi sebagai agens pengendali hayati melalui pengujian *in vitro* dan *in planta*. Tahapan penelitian meliputi uji keamanan hayati, uji antagonisme, deteksi enzim hidrolitik, serta produksi IAA. Seleksi isolat potensial dilakukan menggunakan metode *Analytical Hierarchy Process* (AHP), dilanjutkan dengan identifikasi morfologi dan molekuler multilokus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebagian besar isolat tergolong aman dan nonpatogenik. Isolat terpilih mampu menghambat pertumbuhan patogen dengan variasi mekanisme, terutama melalui kompetisi dan antibiosis. Delapan isolat terpilih yang diidentifikasi sebagai *Colletotrichum*, *Phyllosticta*, *Fusarium*, dan *Diaporthe* diuji lebih lanjut secara *in planta*. Aplikasi cendawan endofit secara signifikan menurunkan keparahan penyakit bercak daun jahe (nilai AUDPC). Selain itu, beberapa isolat juga meningkatkan bobot rimpang, meskipun tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan vegetatif. Isolat *C. gigasporum* (E2) memberikan efek terbaik pada tanaman. Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa cendawan endofit asal Zingiberaceae memiliki potensi sebagai agens pengendali hayati yang efektif dan berkelanjutan dalam pengendalian penyakit bercak daun pada jahe.

Kata kunci: AHP, AUDPC, bobot rimpang, pengendali hayati

4.2 Pendahuluan

Hasil penelitian pada Bab III menunjukkan bahwa tanaman anggota famili Zingiberaceae merupakan sumber cendawan endofit yang beranekaragam. Isolasi dari berbagai spesies inang menghasilkan sejumlah cendawan endofit dengan tingkat kolonisasi, komposisi komunitas, dan tingkat keanekaragaman yang berbeda. Isolat yang diperoleh didominasi oleh genus *Colletotrichum*, *Phyllosticta*, dan *Diaporthe*, yang diketahui memiliki berbagai peran ekologis dalam interaksinya dengan tanaman. Keragaman cendawan endofit tersebut menunjukkan potensi Zingiberaceae sebagai sumber kandidat agens pengendali hayati yang dapat dimanfaatkan untuk mendukung kesehatan dan produktivitas tanaman.

Salah satu kendala utama dalam budidaya jahe adalah penyakit bercak daun yang disebabkan oleh *Proxipyricularia zingiberis*. Penyakit ini banyak ditemukan pada sentra produksi jahe di Indonesia dan dapat berkembang secara intensif pada kondisi lingkungan yang lembap serta bersuhu tinggi (Wahyuno *et al.* 2020). Infeksi patogen menyebabkan terbentuknya bercak nekrosis pada daun yang mengurangi luas area fotosintesis dan berpotensi menurunkan pertumbuhan serta hasil tanaman. Hingga saat ini, pengendalian penyakit masih didominasi oleh penggunaan fungisida kimia, terutama pada sistem budidaya intensif. Beberapa alternatif pengendalian, seperti aplikasi minyak cengkeh dan silika, telah dilaporkan

mampu menekan perkembangan penyakit, tetapi efektivitasnya di lapangan belum menunjukkan hasil yang konsisten (Sari *et al.* 2022a). Selain itu, kemampuan patogen untuk menyebar melalui angin dan bertahan pada sisa-sisa tanaman terinfeksi menyebabkan pengendalian secara tunggal sering kali kurang efektif (Kotani dan Kurata 1992). Kondisi tersebut menunjukkan perlunya strategi pengendalian yang efektif, berkelanjutan, dan dapat diintegrasikan dengan metode pengendalian lainnya.

Cendawan endofit merupakan salah satu kelompok mikroorganisme yang berpotensi dikembangkan sebagai agens pengendali hayati. Kemampuan cendawan endofit dalam menekan perkembangan patogen telah dilaporkan melalui berbagai mekanisme, antara lain kompetisi ruang dan nutrisi, produksi metabolit antagonistik, mikoparasitisme, serta induksi ketahanan tanaman (Hardoim *et al.* 2015; Akram *et al.* 2023). Selain itu, cendawan endofit yang berasal dari tanaman berkerabat diduga memiliki kemampuan adaptasi dan kolonisasi yang lebih baik karena telah berasosiasi dengan lingkungan serta jaringan tanaman yang serupa. Oleh karena itu, cendawan endofit yang diperoleh dari berbagai spesies Zingiberaceae berpotensi dimanfaatkan sebagai kandidat agens pengendali hayati untuk penyakit bercak daun pada jahe.

Meskipun potensi cendawan endofit sebagai agens pengendali hayati telah banyak dilaporkan pada berbagai sistem tanaman, informasi mengenai pemanfaatan cendawan endofit asal Zingiberaceae untuk mengendalikan *P. zingiberis* masih sangat terbatas. Berdasarkan hasil eksplorasi dan karakterisasi cendawan endofit pada Bab III, isolat-isolat terpilih perlu dievaluasi lebih lanjut untuk mengetahui kemampuannya dalam menekan perkembangan penyakit bercak daun jahe. Penelitian ini bertujuan melakukan skrining cendawan endofit asal Zingiberaceae sebagai kandidat agens pengendali hayati terhadap *P. zingiberis* melalui pengujian secara *in vitro* dan *in planta*.

4.3 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni 2024-Desember 2025. Pengujian laboratorium dilakukan di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) sedangkan pengujian secara *in planta* dilakukan di rumah kaca Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, IPB.

4.4 Bahan dan Metode Penelitian

4.4.1 Uji Hemolisis pada Medium Agar Darah

Pengujian hemolisis dilakukan untuk menentukan potensi cendawan sebagai patogen pada manusia atau hewan (Amaria *et al.* 2024). Cendawan endofit yang diperoleh, ditumbuhkan pada medium agar darah yang mengandung 5% (v/v) darah kambing/domba segar dan diinkubasi selama 48-72 jam pada suhu ruangan. Zona bening atau perubahan warna di sekitar koloni cendawan menunjukkan positif hemolisis. Zona berwarna gelap atau kehijauan di sekitar koloni cendawan menunjukkan lisis parsial (reaksi hemolisis α), sedangkan zona bening menunjukkan lisis sempurna (reaksi hemolisis β). Jika tidak ada perubahan warna di sekitar koloni cendawan berarti hemolisis negatif atau reaksi hemolisis γ . Isolat yang tidak mengakibatkan reaksi hemolisis digunakan untuk uji selanjutnya.

4.4.2 Uji Fitopatogenisitas Cendawan Endofit

Uji fitopatogenisitas cendawan endofit dilakukan dengan tujuan untuk melihat sifat patogenisitas cendawan endofit pada tanaman. Benih yang digunakan adalah benih sawi putih (*Chinese Cabbage*) yang dikenal dan dapat digunakan sebagai tanaman model untuk uji fitopatogenisitas karena kepekaannya dan respons cepat terhadap pengenalan mikroba (Harsonowati *et al.* 2020). Isolat cendawan ditumbuhkan pada medium *corn meal agar* (CMA) yang diperkaya dengan nutrisi anorganik (1 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1.5 g KH_2PO_4 , 1 g NaNO_3 , 18 g agar, dan 1,000 mL air distilasi) pada cawan petri dan diinkubasi selama 5 hari pada suhu 23°C. Benih sawi putih disterilisasi permukaan dengan 70% ethanol selama 1 menit dan 1% NaOCl selama 5 menit. Benih dibilas tiga kali dengan air steril lalu dikeringanginkan dan dilanjutkan dengan menanamkan benih pada medium yang telah diinokulasikan endofit. Benih yang ditanam pada medium yang tidak diinokulasi endofit dijadikan sebagai kontrol. Parameter pengamatan meliputi persentase pertumbuhan dan gejala nekrosis pada kecambah.

Uji fitopatogenisitas juga dilakukan pada daun jahe dengan metode *Detached Leaf Assay* menurut Macan *et al.* (2022). Daun muda yang sudah sepenuhnya berkembang dari tanaman jahe berumur 10 minggu dikumpulkan untuk uji patogenisitas. Bagian permukaan epidermis abaksial daun dilukai sedikit dengan jarum preparat steril. Isolat endofit yang sudah diinkubasi selama 10 hari pada medium PDA digunakan sebagai sumber inokulum. Metode inokulasi dilakukan dengan menempelkan potongan agar dan miselium dengan diameter 5 mm pada bagian permukaan daun yang sudah dilukai. Perlakuan kontrol disiapkan, terdiri dari daun yang hanya diinokulasi dengan air steril. Daun-daun tersebut ditempatkan di atas kisi-kisi dalam kotak plastik dengan kapas yang lembab. Inkubasi dilakukan pada suhu 25°C. Pengamatan gejala nekrosis pada daun dilakukan pada hari ke-3 setelah inokulasi. Isolat cendawan endofit yang tidak menimbulkan gejala nekrosis, baik pada pengujian menggunakan benih sawi putih maupun daun jahe akan digunakan pada pengujian selanjutnya.

4.4.3 Uji *Dual Culture* Cendawan Endofit dengan *P. zingiberis*

Uji *dual culture* dilakukan dalam cawan petri berisi medium PDA untuk melihat kemampuan antibiosis maupun kompetisi cendawan endofit terhadap *P. zingiberis* (Li *et al.* 2007). Inokulum cendawan endofit dan *P. zingiberis* ditanam berdampingan pada medium dalam cawan petri, masing-masing petri berisi 1 isolat endofit dan 1 isolat *P. zingiberis*. Dilakukan penanaman isolat patogen pada cawan petri terpisah sebagai kontrol. Biakan selanjutnya diinkubasi selama 1 minggu dalam suhu ruangan. Pengamatan dilakukan 7 hari setelah inkubasi dengan mengukur pertumbuhan koloni dan mengamati kemunculan zona bening yang menunjukkan aktivitas antibiosis.

Interaksi antara cendawan endofit dan *P. zingiberis* diamati berdasarkan metode Wheeler dan Hocking (1993), yang mengelompokkan interaksi menjadi enam tipe. Tipe A ditandai dengan pertumbuhan koloni yang saling bercampur tanpa adanya indikasi interaksi. Tipe B menunjukkan adanya penghambatan ketika kedua koloni bersentuhan atau memiliki jarak sangat dekat (<2 mm). Tipe

C terjadi ketika penghambatan muncul setelah kontak, ditandai dengan penurunan laju pertumbuhan yang signifikan pada salah satu cendawan, sementara cendawan penghambat dapat mengalami penurunan laju pertumbuhan atau tetap tidak berubah. Tipe D ditunjukkan oleh adanya penghambatan pada jarak lebih dari 2 mm tanpa kontak langsung. Tipe E terjadi ketika cendawan penghambat tetap tumbuh menembus koloni cendawan yang dihambat setelah kontak, namun dengan laju pertumbuhan yang lebih lambat. Sementara itu, tipe F merupakan bentuk penghambatan di mana cendawan penghambat mampu tumbuh melalui atau di atas koloni cendawan lain, baik dengan atau tanpa kontak awal, tanpa mengalami penurunan laju pertumbuhan.

Mekanisme antibiosis terhadap *P. zingiberis* diidentifikasi berdasarkan terbentuknya zona bening di antara miselium cendawan endofit dan patogen. Sebaliknya, apabila cendawan endofit menunjukkan pertumbuhan yang lebih dominan pada medium PDA tanpa pembentukan zona bening, maka mekanisme penghambatan dikategorikan sebagai kompetisi.

4.4.4 Uji Senyawa Volatil

Uji senyawa volatil dilakukan dengan menggunakan cawan petri bersekat satu (Maknunah dan Sinaga 2018). Isolat cendawan endofit dikulturkan pada medium PDA pada satu sisi, kemudian disisi lainnya dikulturkan isolat cendawan *P. zingiberis*. Cawan petri diinkubasi selama 7 hari pada suhu 25±2°C. Persentase penghambatan dihitung menggunakan rumus:

$$PI (\%) = \frac{(R1 - R2)}{R1} \times 100\%$$

dengan, PI = Persentase penghambatan (%), R1 = diameter *P. zingiberis* pada perlakuan kontrol, R2 = diameter *P. zingiberis* pada perlakuan cendawan endofit.

4.4.5 Deteksi Aktivitas Enzim Hidrolitik

Enzim kitinase dan glukonase yang dihasilkan oleh isolat cendawan endofit dideteksi menggunakan medium padat. Keberadaan enzim kitinase pada isolat cendawan ditentukan dalam medium kitin. Untuk membuat medium agar kitin sebanyak 1000 mL diperlukan campuran dari 15 mL kitin koloid, 1 g K₂HPO₄; 0,1 g MgSO₄·7H₂O; 1 g NaCl; 7 g (NH₄)₂SO₄; 2 g ekstrak ragi; 1 g tripton; dan 20 g agar. Keberadaan enzim glukonase pada isolat cendawan diidentifikasi dalam medium glukon (1000 mL), yang terdiri dari 10 mL β-glukan; 1,5 g KH₂PO₄; 0,65 g Na₂HPO₄; 2,5 g NaCl; 0,5 g (NH₄)₂SO₄; 0,12 g MgSO₄·7H₂O; 0,05 g CaCl₂; 1,25 pepton; 0,5 g ekstrak ragi; dan 20 g agar (Amaria *et al.* 2024).

Pengujian aktivitas enzim hidrolitik dilakukan dengan menanam isolat cendawan endofit berumur 3-5 hari pada medium agar koloidal kitin maupun medium glukon. Masing-masing isolat diulang sebanyak 3 kali, inkubasi dilakukan pada suhu ruang dan dilakukan pengamatan setiap hari. Cendawan endofit memiliki aktivitas hidrolitik apabila menghasilkan zona bening pada tepi koloni. Indeks kitinolitik dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\Delta Y = \frac{y_2}{y_1}$$

dimana:

ΔY = indeks kitinolitik/glukanolitik

y_2 = lebar zona bening dan koloni

y_1 = lebar koloni

4.4.6 Uji Kemampuan Menghasilkan IAA

Produksi *indole-3-acetic acid* (IAA) oleh isolat cendawan endofit dianalisis mengacu pada Parlindo *et al.* (2023a) dengan modifikasi pada lama waktu inkubasi. Isolat dikulturkan dalam 5 mL *potato dextrose broth* (PDB) yang diperkaya L-triptofan (2 mg/mL), kemudian diinkubasi pada shaker 150 rpm selama 5 hari. Kultur disaring menggunakan kasa steril dan disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 5 menit.

Sebanyak 1 mL supernatan dicampur dengan 1 mL reagen Salkowski (FeCl_3 0,5 M dalam HClO_4 35%) dan diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap pada suhu ruang. Perubahan warna menjadi merah muda menunjukkan produksi IAA. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 530 nm, dan konsentrasi IAA ditentukan berdasarkan kurva standar.

4.4.7 Pemilihan Kandidat Cendawan Endofit Potensial dengan Metode AHP

Metode AHP dilakukan untuk memilih isolat cendawan yang paling potensial untuk mengendalikan *P. zingiberis*. Metode AHP merupakan pengambilan keputusan yang dapat memberikan urutan peringkat terbaik. Kriteria dan subkriteria disusun berdasarkan bobot tertinggi yang digunakan sebagai pertimbangan dalam pengambilan keputusan (Saaty 2008). Dalam penelitian ini, penentuan kandidat isolat cendawan yang potensial berdasarkan kemampuan antibiosis, sintesis senyawa volatile, aktivitas enzim hidrolitik, dan produksi IAA. Delapan isolat peringkat teratas diuji lebih lanjut secara *in planta*.

4.4.8 Identifikasi molekuler cendawan endofit terpilih

DNA cendawan endofit diekstraksi menggunakan metode CTAB mengikuti Doyle (1991). Wilayah ITS (ITS1–5.8S–ITS2) diamplifikasi menggunakan primer ITS4 dan ITS5 (Fujita *et al.* 2001). Untuk meningkatkan resolusi taksonomi pada tingkat genus, lokus tambahan turut diamplifikasi, yaitu *tefl-α* (Carbone dan Kohn 1999) untuk *Fusarium*, *Phyllosticta*, dan *Diaporthe*, serta β -tubulin (Glass dan Donaldson 1995) untuk *Colletotrichum*.

Setiap reaksi PCR dilakukan dalam volume total 20 μL yang terdiri atas 10 μL 2 $\times$ MyTaq HS Red Mix (Bioline), 0,4 μM masing-masing primer, dan 1 μL DNA genom sebagai templat. Kondisi amplifikasi mengikuti protokol yang telah dipublikasikan untuk masing-masing lokus. Produk PCR dipisahkan pada gel agarosa 1,5% yang diwarnai dengan RedSafe™ (Intron Biotechnology), kemudian dielektroforesis pada tegangan 100 V selama 30 menit, dan divisualisasi menggunakan GelDoc Fire Reader V4 (Uvitec). Produk amplifikasi selanjutnya dimurnikan dan disekuensing secara komersial (First Base).

Kemiripan sekuens dianalisis menggunakan BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>). Penetapan taksonomi dilakukan berdasarkan

identitas sekuens, karakter morfologi, serta nomenklatur terkini yang mengacu pada *Index Fungorum* (<http://www.indexfungorum.org>). Hubungan filogenetik dianalisis menggunakan MEGA11 berdasarkan data multilokus yang dikonsatenasi.

4.4.9 Uji Kemampuan Cendawan Endofit dalam Menekan Perkembangan Penyakit Bercak Daun Jahe secara *In Planta*

4.4.9.1 Persiapan Patogen dan Uji Patogenisitas

Isolat *P. zingiberis* (Pyr-J2) yang telah dikarakterisasi sebelumnya (Wahyuno *et al.* 2020) digunakan sebagai patogen. Isolat tersebut dikulturkan pada medium PDA yang diperkaya dengan potongan daun jahe steril dan diinkubasi pada kondisi fotoperiode 12 jam pada suhu 25 °C selama 14 hari untuk menginduksi sporulasi. Konidia dipanen menggunakan akuades steril dan disaring melalui kain kasa steril. Konsentrasi konidia disesuaikan menjadi 1×10^5 konidia mL⁻¹ menggunakan hemositometer, dan viabilitasnya dikonfirmasi melalui uji perkecambahan pada medium agar air. Perkecambahan konidia diamati setelah 24 jam inkubasi dalam kondisi gelap.

Uji patogenisitas dilakukan melalui inokulasi buatan pada tanaman dan metode *detached leaf*. Untuk inokulasi pada tanaman, tanaman jahe berumur dua bulan disemprot dengan suspensi konidia yang ditambahkan 0,01% Tween 20 sebagai agen perata. Tanaman yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi dalam kondisi gelap pada suhu sekitar 25 ± 2 °C dengan kelembapan udara 75–80% selama 72 jam. Sementara itu, uji *detached leaf* dilakukan dengan meneteskan suspensi konidia pada permukaan bawah daun jahe, kemudian diinkubasi dalam kotak lembap yang dilengkapi kapas basah. Munculnya gejala diamati setiap hari, kemudian dilakukan reisolasi dari daun yang bergejala bercak. Konfirmasi molekuler dilakukan dengan teknik PCR menggunakan wilayah ITS (Fujita *et al.* 2001) dan gen *tef1-α* (Carbone dan Kohn 1999).

4.4.9.2 Bahan Tanaman dan Persiapan Inokulum

Uji *in planta* dilakukan di rumah kaca. Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini berupa rimpang jahe putih besar (*Z. officinale* Roscoe var. *officinale*). Rimpang diberi perlakuan air panas pada suhu 52 °C selama 20 menit (Parlindo *et al.* 2023b) untuk mengurangi keberadaan mikroorganisme potensial, baik patogenik maupun nonpatogenik. Rimpang yang telah diperlakukan kemudian dikecambahkan pada medium cocopeat steril selama empat minggu. Tunas yang muncul dipindahkan ke medium tumbuh steril yang terdiri atas tanah, kompos, dan arang sekam padi (1:1:1, v/v/v). Tanaman berusia 1 bulan yang menunjukkan pertumbuhan sehat dan mencapai tinggi lebih dari 20 cm dipilih untuk percobaan selanjutnya.

Isolat cendawan endofit dan *P. zingiberis* dikulturkan pada medium PDA 20% dan diinkubasi di bawah pencahayaan (± 400 lux) selama 10 hari untuk menginduksi pembentukan konidia. Endofit yang termasuk dalam genus *Diaporthe* dan *Phyllosticta* memerlukan waktu inkubasi lebih lama, yaitu berkisar antara 14 hari hingga satu bulan, untuk menghasilkan konidia.

4.4.9.3 Aplikasi Cendawan Endofit Pada Bibit Jahe

Percobaan disusun menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dengan 10 perlakuan dan 3 blok (ulangan). Setiap perlakuan terdiri atas 5 tanaman pada setiap blok. Perlakuan meliputi kontrol tanpa inokulasi patogen (K-), kontrol dengan inokulasi patogen (K+), serta delapan perlakuan di mana tanaman diinokulasi terlebih dahulu dengan masing-masing isolat endofit (E1–E8) dan kemudian diinokulasi dengan patogen *P. zingiberis*.

Cendawan endofit diaplikasikan sebagai semprotan daun dengan konsentrasi 1×10^4 konidia mL^{-1} pada empat minggu setelah pindah tanam (Tran *et al.* 2019) Setelah 30 hari, tanaman diinokulasi dengan *P. zingiberis* pada konsentrasi 1×10^5 konidia mL^{-1} (Wahyuno *et al.* 2020). Tanaman dipelihara di bawah kondisi rumah kaca terkontrol pada suhu 25–28 °C dan kelembapan relatif 75–85% selama percobaan berlangsung.

4.4.9.4 Pengamatan

Keparahan penyakit diamati setiap dua minggu selama periode 14 minggu menggunakan skala berdasarkan persentase luas daun yang mengalami nekrosis (Sari *et al.* 2022b). Indeks keparahan penyakit (*Disease Severity Index*/DSI) dihitung menggunakan rumus McKinney (McKinney 1923) :

$$DSI (\%) = \frac{\sum(n_i \times v_i)}{N \times V} \times 100$$

Keterangan:

n_i adalah jumlah daun pada setiap kelas keparahan,

v_i adalah skor keparahan yang bersesuaian,

N adalah jumlah total daun yang diamati, dan

V adalah skor keparahan maksimum.

Akumulasi keparahan penyakit seiring waktu dihitung sebagai luas di bawah kurva perkembangan penyakit (*Area Under the Disease Progress Curve*/AUDPC) mengikuti metode Campbell dan Madden (Campbell dan Madden 1990):

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} \left(\frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i)$$

Keterangan:

y_i adalah keparahan penyakit pada pengamatan ke- i ,

t_i adalah waktu pada pengamatan ke- i , dan

n adalah jumlah total pengamatan.

Pada saat panen, bobot segar dan bobot kering rimpang per tanaman diukur sebagai indikator produktivitas tanaman.

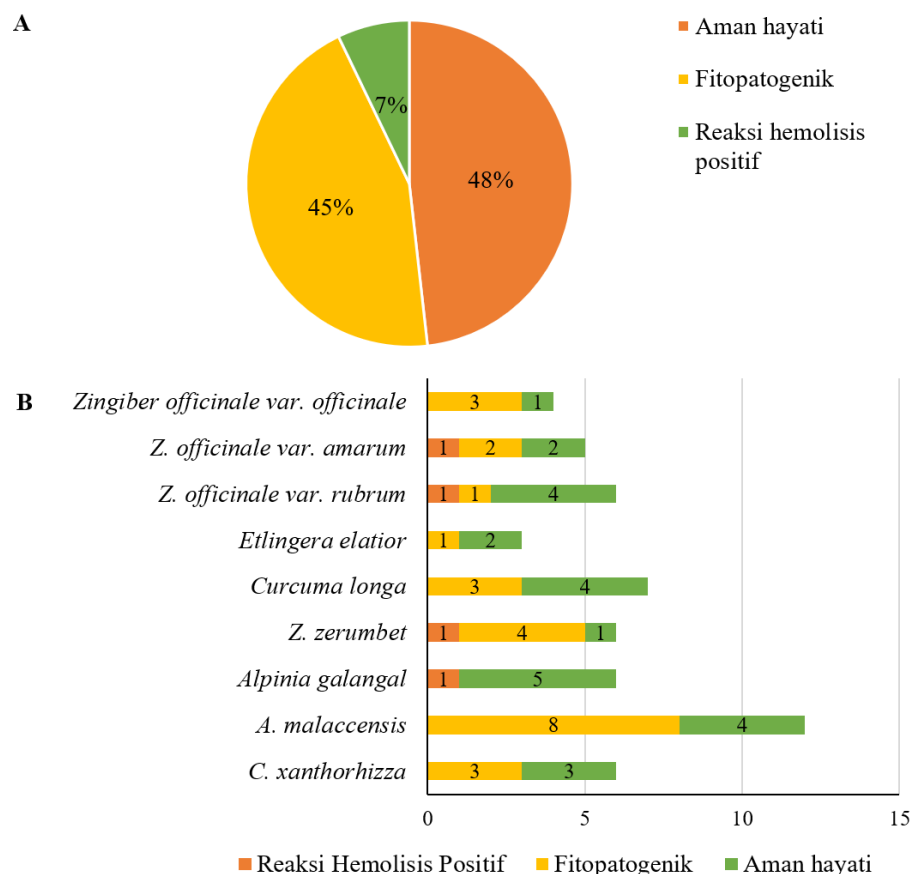
4.4.10 Analisis data

Data pengamatan dalam uji *in planta* dianalisis menggunakan ANOVA satu arah, dilanjutkan dengan uji Tukey HSD pada taraf signifikansi $p < 0,05$.

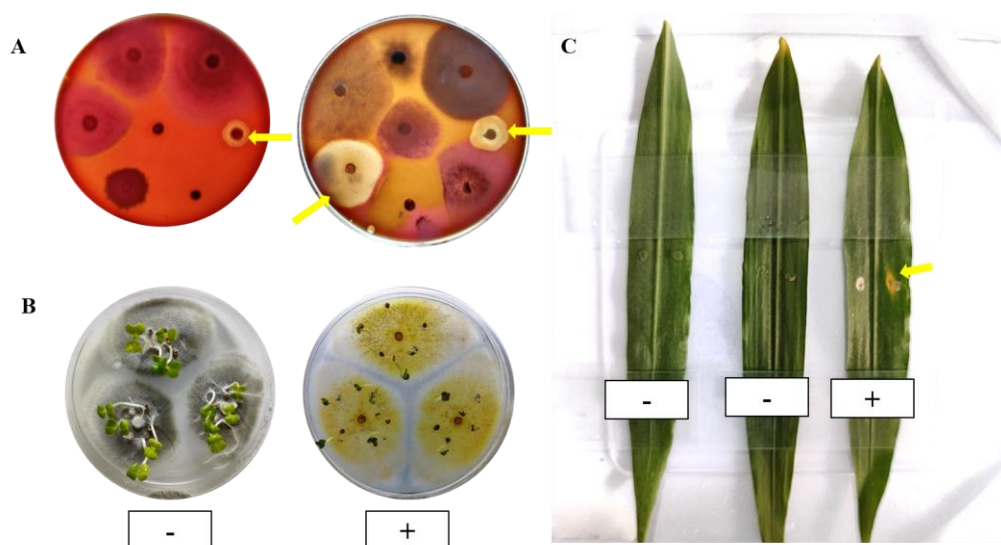
4.5 Hasil dan Pembahasan

4.5.1 Keamanan Hayati Cendawan Endofit asal Zingiberaceae

Berdasarkan uji hemolisis dan fitopatogenisitas, isolat cendawan endofit didominasi oleh kategori aman hayati sebesar 48%, diikuti isolat fitopatogenik sebesar 45%, sedangkan reaksi hemolisis positif hanya ditemukan sebesar 7% (Gambar 4.1A). Distribusi isolat pada masing-masing tanaman inang menunjukkan variasi antarspesies, di mana isolat aman hayati ditemukan pada seluruh tanaman dengan jumlah tertinggi pada lengkuas malaka, kunyit, dan jahe merah (masing-masing 4 isolat). Isolat fitopatogenik juga terdistribusi pada semua inang dan paling banyak ditemukan pada lengkuas malaka (8 isolat), diikuti lempuyang (4 isolat), serta temulawak dan kunyit (masing-masing 3 isolat)(Gambar 4.1B). Sementara itu, isolat dengan reaksi hemolisis positif hanya ditemukan dalam jumlah terbatas pada beberapa inang, yaitu jahe putih besar, jahe putih kecil, jahe merah, dan lempuyang (masing-masing 1 isolat), serta tidak terdeteksi pada tanaman lainnya (Gambar 4.2).



Gambar 4.1 Distribusi isolat cendawan endofit berdasarkan uji hemolisis dan fitopatogenisitas: (A) persentase; (B) distribusi per tanaman inang.



Gambar 4.2 Hasil uji aktivitas hemolisis dan fitopatogenisitas isolat cendawan endofit. (A) Reaksi hemolisis pada medium agar darah yang ditunjukkan oleh zona bening di sekitar koloni (anak panah); (B) uji fitopatogenisitas pada kecambah dengan respons negatif (–) dan positif (+); (C) gejala pada daun akibat inokulasi isolat cendawan endofit yang menunjukkan respons negatif (–) dan positif (+).

Dominasi isolat aman hayati dalam penelitian ini menunjukkan bahwa sebagian besar cendawan endofit yang berasosiasi dengan tanaman Zingiberaceae memiliki sifat non-patogenik dan berpotensi untuk dimanfaatkan lebih lanjut. Temuan ini sejalan dengan laporan bahwa cendawan endofit umumnya hidup secara laten di dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan gejala penyakit, serta dapat memberikan manfaat bagi inang melalui produksi metabolit sekunder atau peningkatan ketahanan terhadap stres (Rodriguez *et al.* 2009; Liao *et al.* 2025).

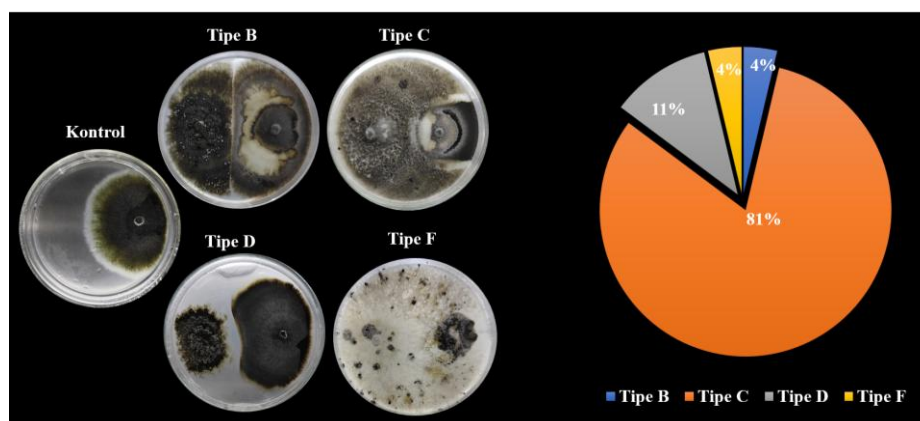
Namun demikian, tingginya proporsi isolat fitopatogenik menunjukkan bahwa sebagian cendawan endofit memiliki potensi sebagai patogen laten. Hal ini konsisten dengan berbagai studi yang melaporkan bahwa cendawan endofit, khususnya dari genus *Colletotrichum*, *Phyllosticta*, dan *Diaporthe*, dapat berperan sebagai endofit sekaligus patogen oportunistik tergantung pada kondisi lingkungan dan fisiologi inang (Photita *et al.* 2004; Udayanga *et al.* 2011; Wikee *et al.* 2013a). Keberadaan isolat dengan dua potensi ini menegaskan bahwa interaksi cendawan endofit–tanaman bersifat dinamis dan tidak selalu bersifat mutualistik. Namun demikian, isolat yang digunakan untuk uji lanjut telah melalui dua tahap skrining fitopatogenisitas, termasuk pengujian pada tanaman jahe. Oleh karena itu, isolat-isolat tersebut memiliki risiko fitopatogenisitas yang rendah berdasarkan kondisi pengujian yang dilakukan. Pengujian pada kisaran inang yang lebih luas masih diperlukan sebelum aplikasi pada skala yang lebih luas.

Rendahnya persentase isolat dengan aktivitas hemolisis mengindikasikan bahwa hanya sebagian kecil cendawan endofit yang memiliki potensi toksigenik terhadap sel mamalia. Hasil ini mendukung temuan sebelumnya yang

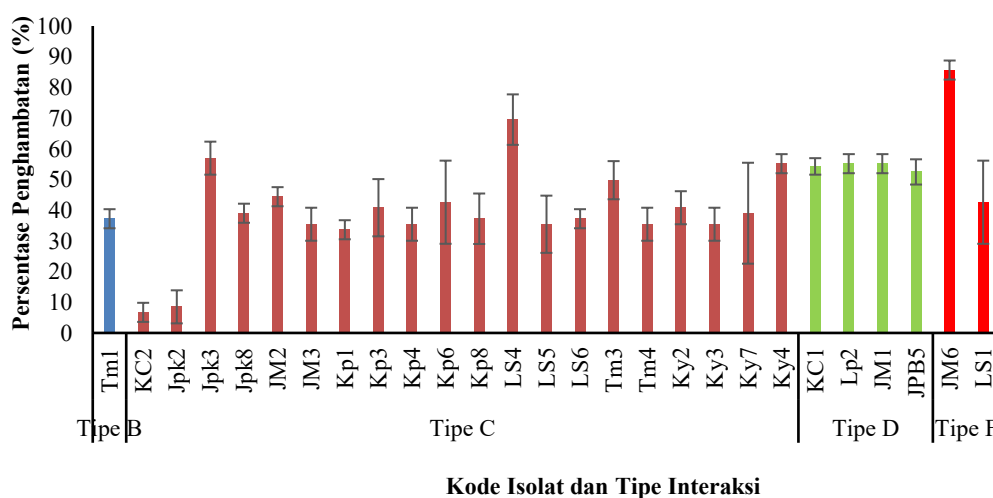
menunjukkan bahwa sebagian besar cendawan endofit relatif aman dan hanya sedikit yang menghasilkan senyawa toksik yang berbahaya bagi organisme non-target (Aktas dan Yigit 2015).

4.5.2 Tipe Interaksi, Kemampuan Antibiosis, dan Kompetisi Cendawan Endofit asal Zingiberaceae

Hasil uji interaksi antara cendawan endofit dan patogen menunjukkan adanya beberapa tipe interaksi, yaitu tipe B, C, D, dan F (Gambar 4.3). Berdasarkan distribusinya, tipe interaksi C merupakan yang paling dominan dengan persentase sebesar 81%, diikuti oleh tipe D sebesar 11%, serta tipe B dan F masing-masing sebesar 4%. Dominasi tipe C menunjukkan bahwa sebagian besar isolat cendawan endofit memiliki kemampuan kompetisi ruang dan nutrisi yang tinggi terhadap patogen, yang ditandai dengan pertumbuhan koloni yang saling mendekat tanpa adanya zona bening yang jelas. Sebaliknya, tipe D yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di antara kedua koloni menunjukkan adanya aktivitas antibiosis melalui produksi senyawa penghambat.



Gambar 4.3 Tipe interaksi antara cendawan endofit dan patogen pada uji kultur ganda dan persentase distribusi masing-masing tipe interaksi



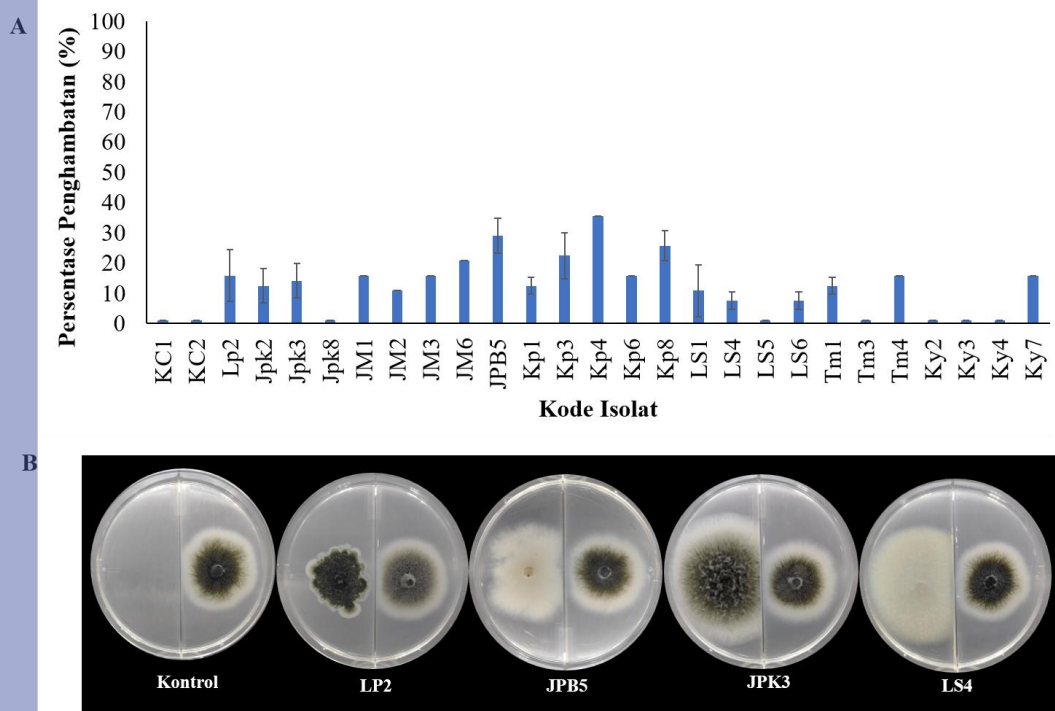
Gambar 4.4 Persentase penghambatan pertumbuhan koloni *Proxipyricalaria zingiberis* oleh cendawan endofit pada berbagai tipe interaksi

Hasil uji antagonisme menunjukkan bahwa seluruh isolat cendawan endofit memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan patogen dengan tingkat penghambatan yang bervariasi (Gambar 4.4). Persentase penghambatan tertinggi ditunjukkan oleh isolat JM6 ($\pm 85\%$) yang termasuk dalam tipe interaksi D, diikuti oleh isolat LS4 ($\pm 70\%$) pada tipe C. Sebagian besar isolat lainnya, khususnya yang tergolong dalam tipe C, menunjukkan tingkat penghambatan sedang, berkisar antara 30–60%.

4.5.3 Kemampuan Cendawan Endofit Menghasilkan Senyawa Organik Volatil

Hasil uji produksi senyawa volatil menunjukkan bahwa seluruh isolat cendawan endofit memiliki kemampuan penghambatan terhadap pertumbuhan koloni *P. zingiberis* yang relatif rendah (Gambar 4.5A). Persentase penghambatan yang dihasilkan umumnya berada pada kisaran rendah hingga sedang ($<40\%$), dengan sebagian besar isolat menunjukkan nilai di bawah 30%. Tidak terdapat isolat yang menunjukkan penghambatan tinggi atau berbeda nyata dibandingkan kontrol.

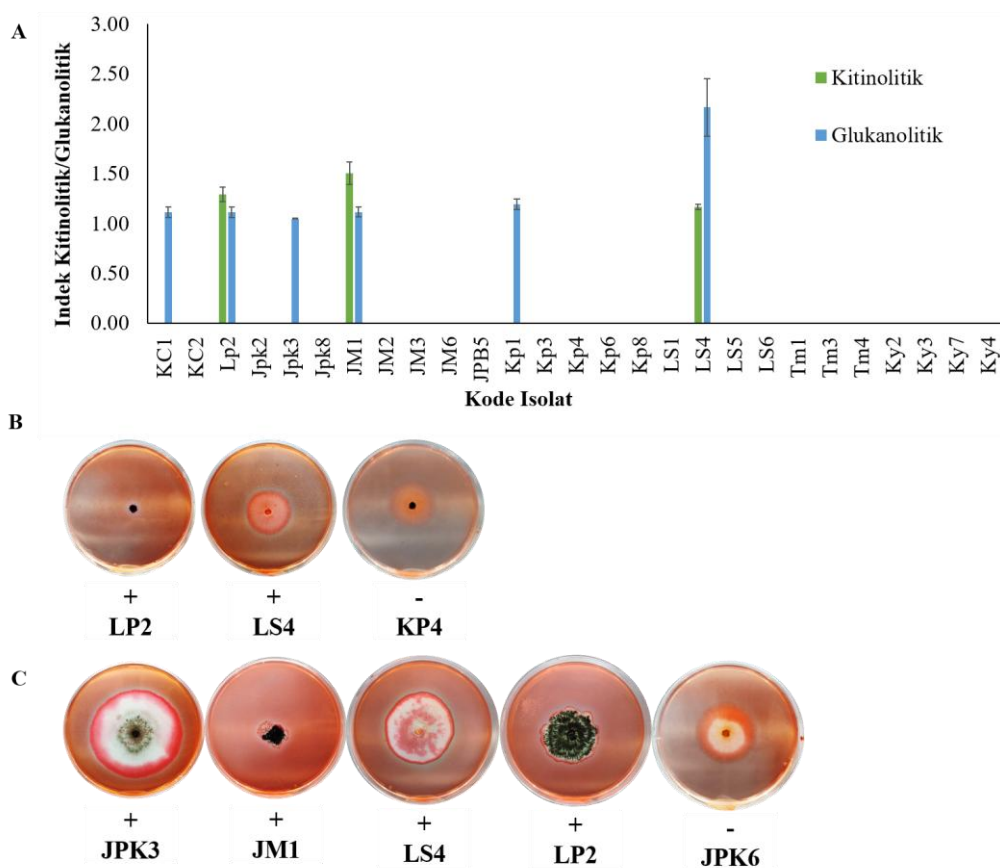
Visualisasi hasil uji juga menunjukkan bahwa pertumbuhan koloni patogen pada perlakuan isolat endofit tidak berbeda signifikan dibandingkan kontrol (Gambar 4.5B), yang mengindikasikan tidak adanya efek penghambatan yang kuat melalui senyawa volatil. Hal ini menunjukkan bahwa interaksi tidak melibatkan produksi senyawa volatil yang efektif dalam menghambat pertumbuhan patogen.



Gambar 4.5 Kemampuan cendawan endofit asal Zingiberaceae dalam menghasilkan senyawa volatil. (A) Persentase penghambatan pertumbuhan koloni *Proxipyricalaria zingiberis*; (B) visualisasi hasil uji senyawa volatil pada beberapa isolat cendawan endofit

4.5.4 Aktivitas Enzim Hidrolitik yang Dihasilkan oleh Cendawan Endofit asal Zingiberaceae

Aktivitas enzim hidrolitik yang dihasilkan oleh cendawan endofit asal Zingiberaceae menunjukkan variasi yang cukup jelas antar isolat, baik untuk enzim kitinase maupun glukukanase (Gambar 4.6A). Secara umum, hanya sebagian isolat yang mampu menghasilkan kedua enzim tersebut dengan indeks aktivitas yang terukur. Aktivitas kitinase terdeteksi pada beberapa isolat seperti LP2, JM1, dan LS4, dengan nilai indeks tertinggi ditunjukkan oleh isolat JM1 ($\pm 1,5$), diikuti oleh LP2 dan LS4 ($\pm 1,1-1,2$). Sementara itu, sebagian besar isolat lainnya tidak menunjukkan aktivitas kitinase yang signifikan.



Gambar 4.6 Kemampuan cendawan endofit asal Zingiberaceae dalam menghasilkan enzim kitinase dan glukukanase. (A) Indeks aktivitas kitinolitik dan glukanolitik pada seluruh isolat yang diuji; (B) visualisasi aktivitas kitinase yang ditunjukkan oleh pembentukan zona bening di sekitar koloni pada medium uji; (C) visualisasi aktivitas glukukanase yang ditunjukkan oleh pembentukan zona bening pada medium spesifik.

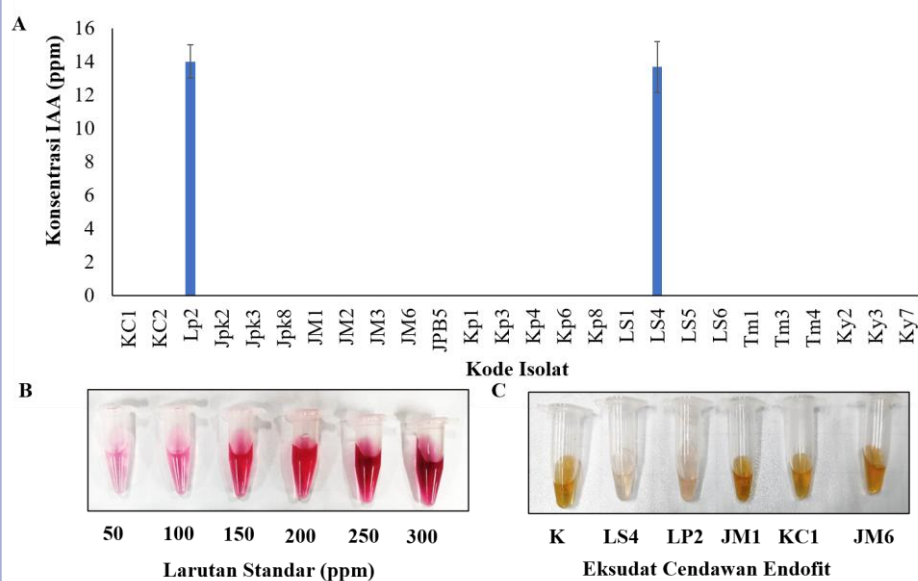
Berbeda dengan kitinase, aktivitas glukukanase lebih umum ditemukan pada isolat yang diuji. Isolat LS4 menunjukkan aktivitas glukukanase tertinggi ($\pm 2,1-2,3$), diikuti oleh isolat KP1 ($\pm 1,2$) serta beberapa isolat lain seperti KC1, LP2, dan JM1 dengan nilai berkisar $\pm 1,0-1,1$. Isolat-isolat lainnya menunjukkan aktivitas yang rendah atau tidak terdeteksi.

Visualisasi pada medium menunjukkan adanya zona bening di sekitar koloni cendawan, yang mengindikasikan degradasi substrat spesifik oleh enzim yang dihasilkan (Gambar 4.6B dan 4.6C). Variasi diameter zona bening ini selaras dengan nilai indeks enzimatik yang diperoleh secara kuantitatif.

4.5.5 Kemampuan Cendawan Endofit dalam Menghasilkan IAA

Produksi IAA oleh cendawan endofit asal Zingiberaceae menunjukkan variasi yang sangat terbatas antar isolat (Gambar 4.7A). Dari seluruh isolat yang diuji, hanya dua isolat, yaitu LP2 dan LS4, yang terdeteksi mampu menghasilkan IAA dengan konsentrasi sekitar ± 14 – 15 ppm. Sementara itu, isolat lainnya tidak menunjukkan produksi IAA yang terdeteksi atau berada di bawah ambang pengukuran.

Pengamatan visual menunjukkan adanya perubahan warna eksudat setelah penambahan reagen, yang menjadi indikator kualitatif produksi IAA (Gambar 4.7B dan 4.7C). Isolat yang menghasilkan IAA menunjukkan perubahan warna menjadi merah hingga merah tua, sedangkan isolat non-produktif tetap berwarna kuning hingga cokelat muda. Hasil ini konsisten dengan data kuantitatif yang diperoleh.



Gambar 4.7 Produksi asam indol-3-asetat (IAA) oleh cendawan endofit. (A) Konsentrasi IAA pada berbagai isolat; (B) larutan standar IAA; (C) perubahan warna eksudat cendawan setelah penambahan reagen sebagai indikator sintesis IAA.

4.5.6 Seleksi Isolat Potensial dengan Metode AHP

Delapan isolat cendawan endofit nonpatogenik terbaik berdasarkan uji *in vitro* disajikan pada Tabel 4.1. Untuk memudahkan pengujian selanjutnya, kode isolat disederhanakan dan diubah menjadi E1–E8. Pengujian *in vitro* menunjukkan adanya variasi potensi biokontrol antar isolat (Tabel 4.1). Isolat E3, E4, dan E7 menunjukkan potensi antibiosis yang ditandai dengan terbentuknya zona bening pada uji kultur ganda. Isolat E6 menunjukkan kemampuan tertinggi dalam memproduksi IAA pada medium sintesis. Isolat E8

memiliki kemampuan kompetitif paling kuat terhadap *P. zingiberis*, yang ditunjukkan oleh tingkat penghambatan koloni tertinggi pada uji *dual culture*. Isolat E1, E2, dan E5 juga menunjukkan kemampuan tinggi dalam menekan pertumbuhan koloni *P. zingiberis*, dengan tingkat penghambatan berkisar antara 52% hingga 59%. Seluruh isolat yang diuji menunjukkan kemampuan yang rendah dalam menekan *P. zingiberis* melalui produksi senyawa volatil.

Tabel 4.1 Kandidat isolat cendawan endofit sebagai agens biokontrol terbaik berdasarkan hasil uji *in vitro*

Kode Isolat	Dual Culture (%)	Antibiosis	Senyawa Volatil (%)	IAA (ppm)	Indeks Kitinolitik	Indeks Glukanolitik
E1 (Ky4)	55,15 ^c	—	0,94 ^d	—	—	—
E2 (Jpk3)	56,94 ^{bc}	—	14,15 ^{bc}	—	—	1,05
E3 (Lp2)	55,15 ^c	4,60	15,80 ^{bc}	14,00	1,29	1,11
E4 (Jm1)	55,15 ^c	3,10	15,80 ^{bc}	—	1,51	1,11
E5 (Jpb5)	52,46 ^c	1,97	29,01 ^a	—	—	—
E6 (Ls4)	69,50 ^b	—	7,54 ^{cd}	13,67	1,17	2,17
E7 (Kc1)	54,25 ^c	3,50	0,94 ^d	—	—	1,11
E8 (Jm6)	85,65 ^a	—	20,75 ^{ab}	—	—	—

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey HSD pada taraf $\alpha=5\%$.

Beberapa mekanisme biokontrol yang terdeteksi melalui pengujian *in vitro* dalam penelitian ini meliputi antibiosis, kompetisi, produksi enzim hidrolitik, dan produksi IAA, yang sejalan dengan temuan sebelumnya pada cendawan endofit (Sharma *et al.* 2023; Azeez *et al.* 2026). Namun demikian, hasil penelitian ini menegaskan bahwa mekanisme biokontrol bersifat spesifik isolat, dengan setiap isolat menunjukkan strategi dominan yang berbeda dalam menekan patogen.

Kemampuan antibiosis yang kuat ditunjukkan oleh isolat E3, E4, dan E7 mengindikasikan adanya produksi metabolit sekunder anti cendawan yang berperan dalam menghambat pertumbuhan *P. zingiberis*. Mekanisme ini umumnya berkaitan dengan sekresi senyawa bioaktif, seperti fenol, terpenoid, atau senyawa volatil, yang dapat mengganggu integritas sel patogen (Sowmiya *et al.* 2025).

Di sisi lain, isolat E8 menunjukkan keunggulan dalam kompetisi ruang dan nutrisi, yang ditunjukkan oleh laju pertumbuhan koloninya yang lebih cepat dibandingkan dengan patogen. Mekanisme ini memungkinkan isolat tersebut mendominasi substrat lebih awal sehingga membatasi akses patogen terhadap nutrisi dan ruang. Kompetisi merupakan salah satu strategi penting dalam interaksi mikroba, terutama pada lingkungan terbatas seperti medium kultur atau jaringan tanaman (Sowmiya *et al.* 2025).

Sementara itu, E6 mampu memproduksi IAA pada medium buatan, yang mengindikasikan adanya potensi peran tidak langsung dalam biokontrol melalui peningkatan pertumbuhan tanaman atau induksi ketahanan sistemik. Produksi

IAA oleh cendawan endofit diketahui dapat memodulasi fisiologi tanaman inang, sehingga meningkatkan toleransi terhadap stres biotik, seperti serangan patogen, maupun stres abiotik, seperti kekeringan dan salinitas (Hu *et al.* 2026; Wahid *et al.* 2026).

4.5.7 Identitas Cendawan Endofit berdasarkan Karakter Morfologi dan Molekuler

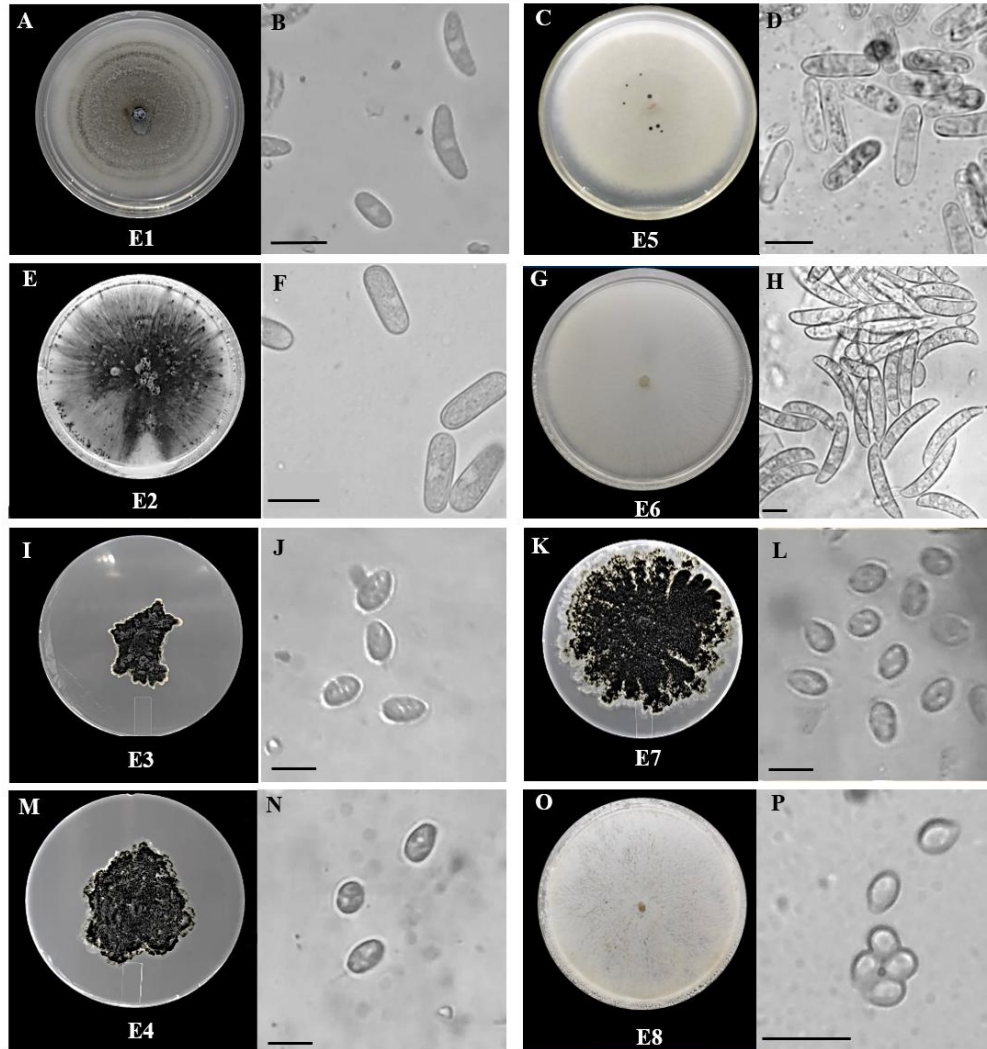
Delapan isolat cendawan endofit menunjukkan keanekaragaman morfologi dan laju pertumbuhan koloni. Isolat E1, E2, dan E5 menunjukkan pertumbuhan koloni yang cepat (Gambar 4.8A, C, E) serta menghasilkan konidia berbentuk oval hingga melengkung yang khas genus *Colletotrichum* (Gambar 4.8B, D, F). Sebaliknya, isolat E3, E4, dan E7 membentuk koloni yang lebih gelap dan bertekstur kasar dengan laju pertumbuhan lebih lambat (Gambar 4.8I, K, M), serta menghasilkan konidia hialin, aseptat, berbentuk elipsoid dengan satu apendiks apikal (Gambar 4.8J, L, N), yang merupakan ciri khas *Phyllosticta*. Isolat E6 menunjukkan pertumbuhan sedang dengan miselium putih tipis (Gambar 4.8G) serta menghasilkan makrokonidia dengan tiga sekat (Gambar 4.8H), yang sesuai dengan karakter *Fusarium*. Isolat dengan pertumbuhan tercepat, yaitu E8, awalnya menghasilkan miselium putih tipis yang kemudian mengalami pigmentasi (Gambar 4.8O) dan membentuk konidia α berbentuk oval (Gambar 4.8P), yang merupakan ciri khas *Diaporthe*.

Identifikasi morfologi tersebut selanjutnya dikonfirmasi melalui identifikasi molekuler multilokus (Tabel 4.2), yang menunjukkan tingkat kemiripan sekuen yang tinggi (98–100%) dengan taksa referensi dalam GenBank. Analisis filogenetik berdasarkan gabungan beberapa lokus mengonfirmasi posisi taksonomi isolat, yaitu E1, E2, dan E5 masing-masing dengan *Colletotrichum plurivorum*, *C. gigasporum*, dan *C. karsti* (Gambar 4.9), serta E3 dan E4 berkelompok dengan *Phyllosticta capitalensis*, E7 dengan *P. paracapitalensis* (Gambar 4.10), Isolat lainnya teridentifikasi sebagai *Fusarium keratoplasticum* (E6) (Gambar 4.11) dan *Diaporthe ueckeri* (E8) (Gambar 4.12).

Identifikasi hingga tingkat spesies dengan mengintegrasikan karakter morfologi dan analisis DNA multilokus menghasilkan resolusi taksonomi yang kuat, khususnya pada genus seperti *Colletotrichum* dan *Phyllosticta* yang diketahui memiliki kompleks spesies (Cannon *et al.* 2012; Silva *et al.* 2022). Beberapa spesies *Colletotrichum* yang teridentifikasi, seperti *C. karsti*, *C. gigasporum*, dan *C. plurivorum*, sebelumnya telah dilaporkan sebagai endofit pada berbagai tanaman inang (Rakotoniriana *et al.* 2013; Liu *et al.* 2023). Namun demikian, keberadaannya sebagai endofit daun serta potensi peran fungsionalnya pada tanaman jahe belum pernah dilaporkan.

Meskipun *Colletotrichum* umumnya dikenal sebagai genus patogen tanaman yang penting, keberadaannya sebagai endofit pada jaringan tanaman sehat semakin banyak dilaporkan. Fenomena ini mencerminkan kompleksitas ekologi genus tersebut, di mana beberapa spesies dapat berperan sebagai patogen yang merugikan, sementara yang lain membentuk hubungan yang menguntungkan dengan inangnya. Plastisitas ekologi ini memungkinkan spesies *Colletotrichum* tertentu berfungsi sebagai mutualis maupun patogen, tergantung pada genotipe inang dan kondisi lingkungan (Silva *et al.* 2022). Spesies *Colletotrichum* endofit yang bersifat hemibiotrofik berpotensi meningkatkan

pertumbuhan tanaman, toleransi terhadap kekeringan, serta ketahanan terhadap cekaman biotik dan abiotik dalam kondisi tertentu (Arnold *et al.* 2003; Jiang *et al.* 2025; Perumal *et al.* 2025).



Gambar 4.8 Morfologi koloni dan karakteristik konidia cendawan endofit terpilih. (A, C, E, G, I, K, M, dan O) morfologi koloni masing-masing isolate pada umur 7 hari di medium PDA ; (B, D, F, H, J, L, N, dan P) konidia yang dihasilkan oleh isolat yang bersesuaian (ditampilkan di sebelah kiri). Skala = 10 μ m.

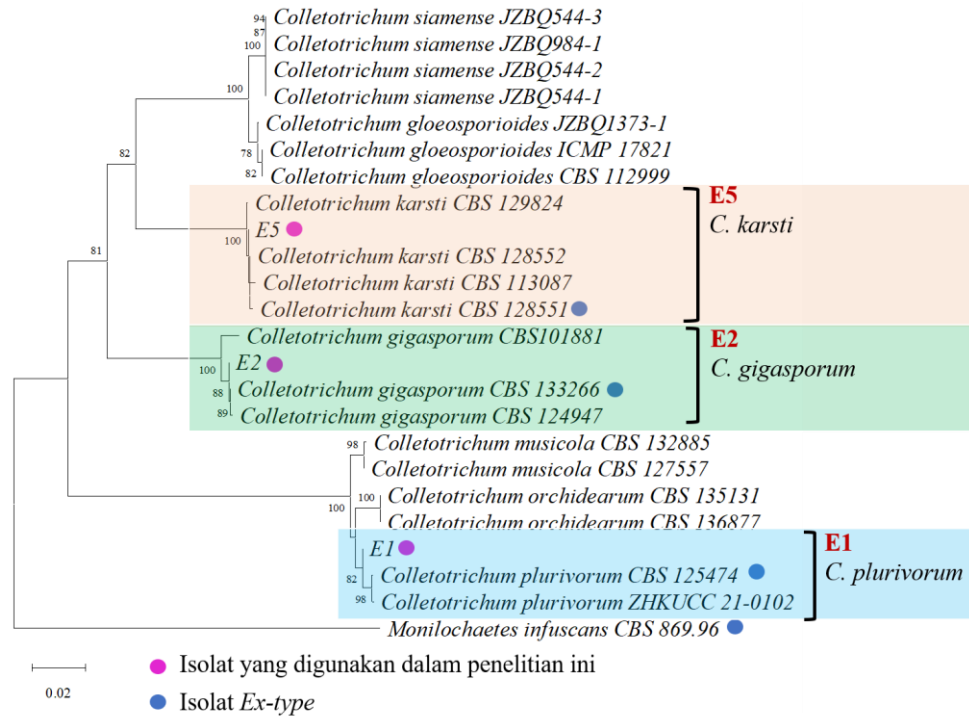
Berbeda dengan *Colletotrichum*, *P. capitalensis* dan *P. paracapitalensis* telah dilaporkan memiliki potensi sebagai agens pengendali hayati (Thambugala *et al.* 2022; Myovela *et al.* 2026). Aktivitas antagonistik secara *in vitro* dari spesies endofit *Diaporthe* terhadap berbagai patogen tanaman juga telah banyak dilaporkan (Dhakshinamoorthy *et al.* 2021; Hilário dan Gonçalves 2022; Gupta dan Saxena 2025). Genus *Diaporthe* diketahui sebagai penghasil enzim dan metabolit sekunder baru yang bersifat antikarsinogenik, fungisidal, dan antibiotik (Sessa *et al.* 2018), sehingga mendukung perannya yang multifungsi sebagai agens biokontrol.

Tabel 4.2 Kesesuaian terbaik hasil BLAST pada NCBI GenBank untuk cendawan endofit daun berdasarkan sekuen parsial ITS, TEF1- α , ACT, dan TUB2

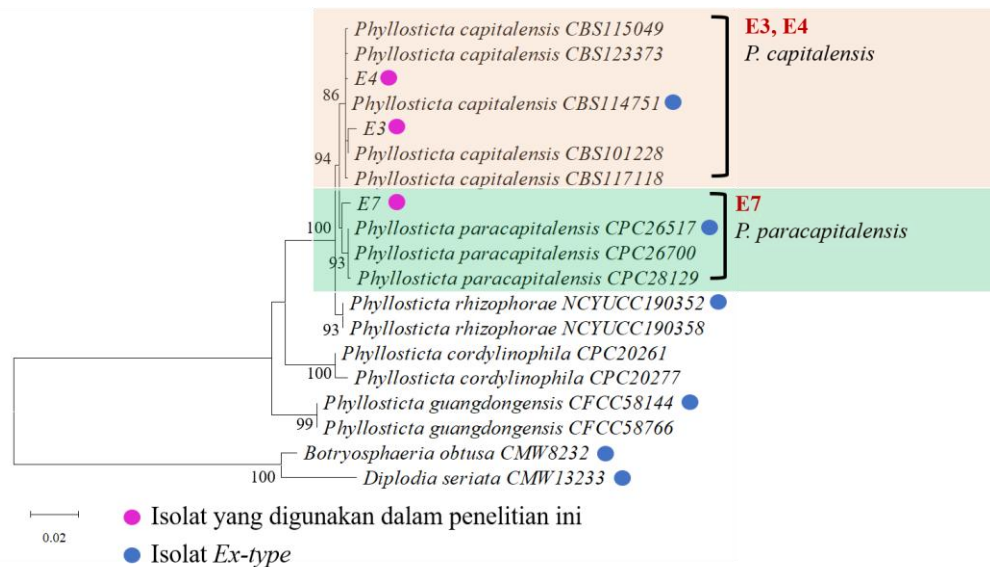
Kode Isolat	Tanaman Inang Asal Isolat	Takson Cendawan	Kemiripan sekuen (%) dengan basis data NCBI GenBank (<i>homology/query cover</i>)				Nomor akses pada GenBank
			ITS	TEF1- α	ACT	TUB2	
E1	<i>Curcuma longa</i>	<i>Colletotrichum plurivorum</i>	(99,81/94)	NA	NA	(100/100)	ITS: PV662914 TUB2: LC917148
E2	<i>Zingiber officinale</i> var. <i>amarum</i>	<i>Colletotrichum gigasporum</i>	(100/98)	NA	NA	(99,22/100)	ITS: PV662911 TUB2: LC917146
E3	<i>Zingiber zerumbet</i>	<i>Phyllosticta capitalensis</i>	(99,86/100)	NA	(99,46/100)	NA	ITS: PV662979 ACT: LC917151
E4	<i>Zingiber officinale</i> var. <i>rubrum</i>	<i>Phyllosticta capitalensis</i>	(99,69/100)	NA	(99,61/100)	NA	ITS: PV662973 ACT: LC917153
E5	<i>Zingiber officinale</i> var. <i>officinale</i>	<i>Colletotrichum karsti</i>	(99,81/98)	NA	NA	(100/100)	ITS: PV662909 TUB2: LC917147
E6	<i>Alpinia malaccensis</i>	<i>Fusarium keratoplasticum</i>	(99,79/100)	(100/100)	NA	NA	ITS: PV663015 Tef1- α : LC917154
E7	<i>Etilingera elatior</i>	<i>Phyllosticta paracapitalensis</i>	(99,82/100)	NA	(98,02/98)	NA	ITS: PV662976 ACT: LC917152
E8	<i>Zingiber officinale</i> var. <i>rubrum</i>	<i>Diaporthe ueckeri</i>	(100/97)	(100/100)	NA	NA	ITS: PV662985 Tef1- α : LC917150

@ Hak cipta milik IPB University

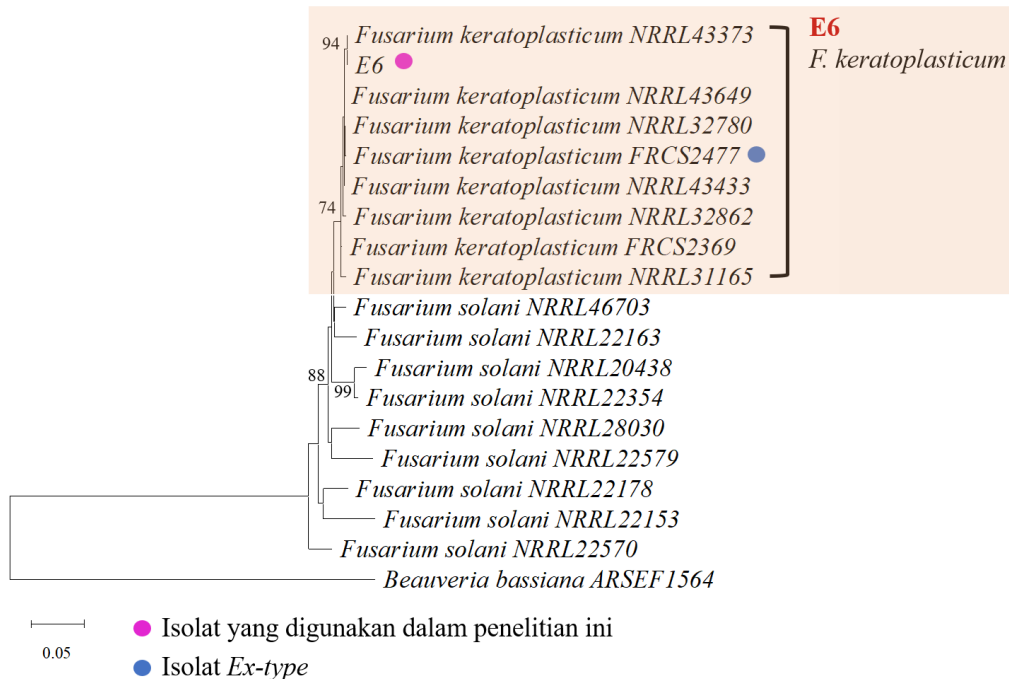
- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



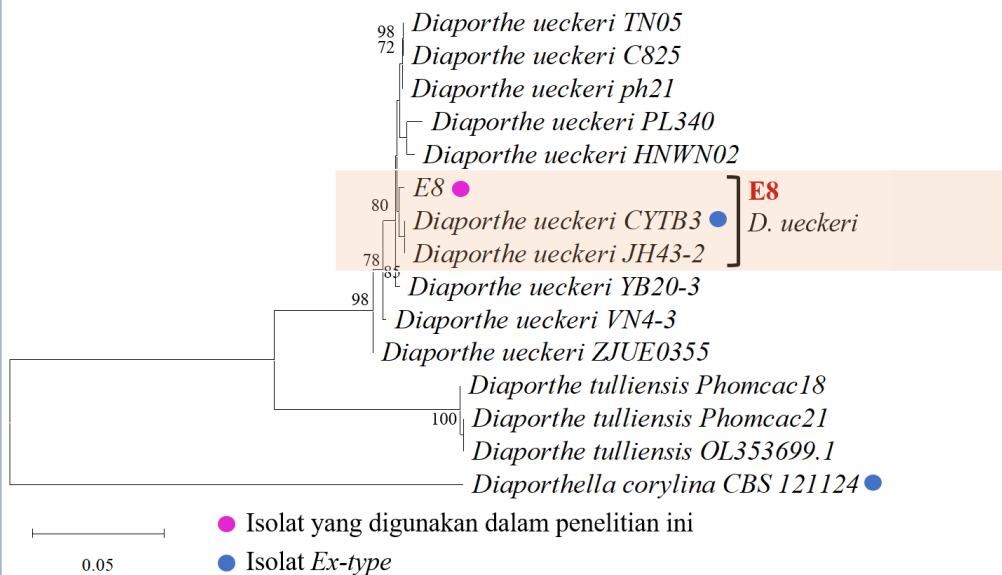
Gambar 4.9 Pohon filogenetik *Colletotrichum* berbasis dua lokus. Pohon dikonstruksi dengan metode *neighbour-joining* menggunakan 1.000 ulangan *bootstrap*. Nilai *bootstrap* ditampilkan pada simpul dendrogram, sedangkan nilai <70% tidak ditampilkan.



Gambar 4.10 Pohon filogenetik *Phyllosticta* berbasis dua lokus. Pohon dikonstruksi dengan metode *neighbour-joining* menggunakan 1.000 ulangan *bootstrap*. Nilai *bootstrap* ditampilkan pada simpul dendrogram, sedangkan nilai <70% tidak ditampilkan.



Gambar 4.11 Pohon filogenetik *Fusarium* berbasis dua lokus. Pohon dikonstruksi dengan metode *neighbour-joining* menggunakan 1.000 ulangan bootstrap. Nilai *bootstrap* ditampilkan pada simpul dendrogram, sedangkan nilai <70% tidak ditampilkan.

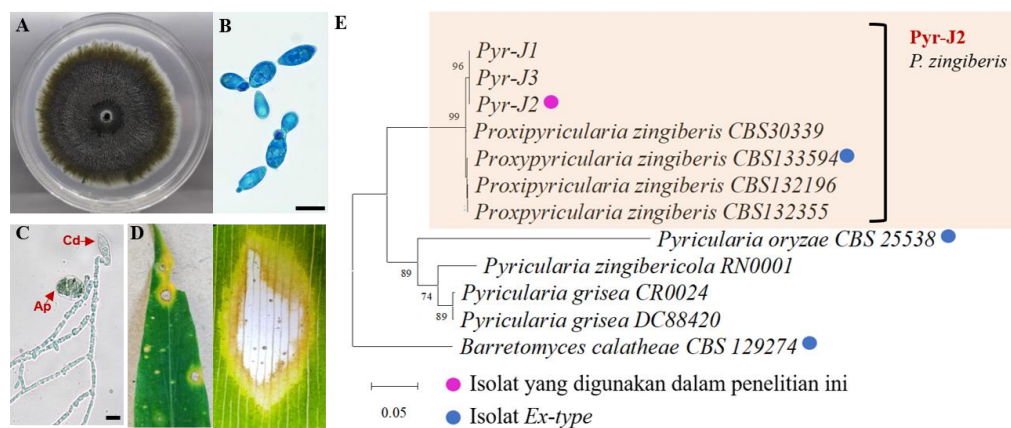


Gambar 4.12 Pohon filogenetik *Diaporthe* berbasis dua lokus. Pohon dikonstruksi dengan metode *neighbour-joining* menggunakan 1.000 ulangan bootstrap. Nilai *bootstrap* ditampilkan pada simpul dendrogram, sedangkan nilai <70% tidak ditampilkan.

4.5.8 *Proxypyricularia zingiberis* Penyebab Bercak Daun Berlian pada Jahe

Isolat koleksi Pyr-J2 diremajakan pada medium PDA dan menghasilkan koloni berwarna hitam keabu-abuan (Gambar 4.13A). Pertumbuhan koloni tergolong sedang, dengan diameter mencapai 10 cm pada 7 HSI. Untuk menginduksi sporulasi, cendawan ini memerlukan penambahan potongan jahe steril pada medium PDA serta penyinaran selama 12 jam. Konidia mulai terbentuk setelah inkubasi di bawah cahaya selama ± 14 HSI.

Konidia yang dihasilkan berbentuk *limoniform* (seperti lemon), bersekat, dengan ukuran $13\text{--}20 \times 5\text{--}7 \mu\text{m}$ (Gambar 4.13B). Konidia mampu berkecambah pada medium agar air setelah 24 jam inkubasi dan membentuk apresorium (Gambar 4.13C). Gejala nekrosis pada potongan daun mulai terlihat pada 3 HSI, sedangkan gejala khas berupa bercak berbentuk belah ketupat pada tanaman utuh muncul lebih lambat, yaitu pada 14 HSI (Gambar 4.13D).



Gambar 4.13 Konfirmasi *Proxypyricularia zingiberis* sebagai penyebab bercak daun (A) Morfologi koloni *P. zingiberis* Pyr-J2 pada medium PDA setelah 7 hari inkubasi; (B) konidia; (C) perkecambahan konidia (Cd) dan pembentukan apresorium (Ap); (D) gejala penyakit; serta (E) pohon filogenetik isolat yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan kombinasi sekuens gen ITS dan ACT. Pohon filogenetik dikonstruksi menggunakan metode *neighbour-joining* dengan 1.000 ulangan *bootstrap*. Skala batang = 10 μm .

Berdasarkan analisis molekuler menggunakan dua lokus, yaitu ITS dan ACT, isolat ini terkonfirmasi sebagai *P. zingiberis*. Analisis filogenetik juga mendukung hasil tersebut, di mana isolat Pyr-J2 asal Indonesia mengelompok dalam satu klad dengan isolat ex-tipe (*ex-type culture*) CBS133594 (Gambar 4.10E). Hasil analisis ini memperbarui nomenklatur identifikasi sebelumnya, yaitu dari *Pyricularia zingiberi* menjadi *Proxypyricularia zingiberis*. Penamaan ini juga telah dikonfirmasi melalui database *Index Fungorum*.

4.5.9 Pengaruh Aplikasi Cendawan Endofit pada Pertumbuhan, Kesehatan, dan Produktivitas Tanaman Jahe

Aplikasi cendawan endofit memberikan pengaruh signifikan terhadap tingkat keparahan penyakit dan produktivitas tanaman, yang ditunjukkan oleh

perubahan nilai AUDPC dan hasil rimpang, tetapi tidak berpengaruh signifikan pada parameter pertumbuhan vegetatif (Tabel 4.3). Performa tanaman dan rimpang disajikan pada Gambar 4.14. Perlakuan inokulasi patogen menunjukkan bahwa seluruh tanaman yang diberi perlakuan cendawan endofit memiliki periode inkubasi penyakit dan nilai AUDPC yang secara signifikan lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif. Isolat *C. gigasporum* (E2), *P. capitalensis* (E3), dan *F. keratoplasticum* (E6) menunjukkan tingkat penekanan penyakit tertinggi (Gambar 4.15A-B). Aplikasi cendawan endofit terpilih juga berpengaruh signifikan terhadap bobot rimpang dibandingkan perlakuan kontrol, dengan isolat *C. gigasporum* (E2) dan *C. karsti* (E5) menghasilkan biomassa tertinggi (Gambar 4.16). Menariknya, kedua isolat tersebut diisolasi dari jahe putih kecil dan jahe putih besar (Tabel 4.2). Namun, pola yang sama tidak dijumpai pada *D. ueckeri* (E8) yang berasal dari jahe merah, sehingga hubungan antara spesies inang asal dan efektivitas isolat belum menunjukkan pola yang konsisten. Temuan ini mengindikasikan bahwa peningkatan hasil tanaman kemungkinan lebih dipengaruhi oleh karakteristik biologis masing-masing cendawan dibandingkan oleh spesies tanaman asalnya.

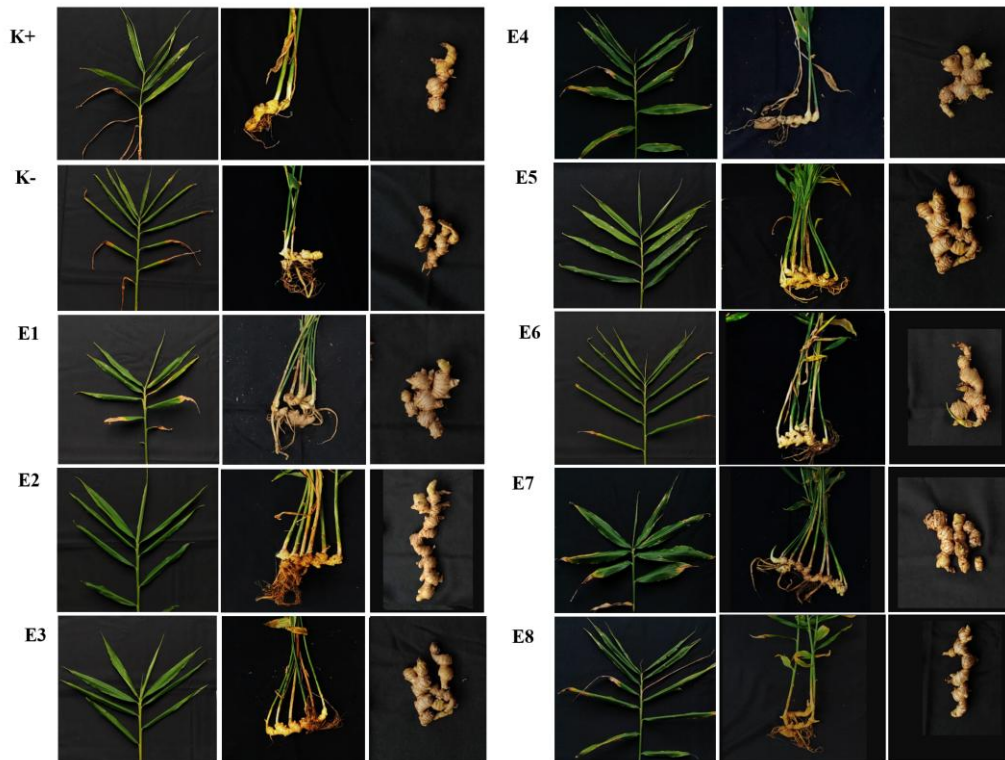
Tabel 4.3 Pengaruh aplikasi cendawan endofit terpilih terhadap pertumbuhan tanaman

No	Perlakuan	Tinggi tanaman (cm)	Jumlah daun	Jumlah anakan
1	Kontrol positif (K+)	86,73	10,80	2,87
2	Kontrol negatif (K-)	90,60	11,33	3,13
3	<i>Colletotrichum plurivorum</i> (E1)	100,80	14,33	3,73
4	<i>Colletotrichum gigasporum</i> (E2)	107,73	15,07	4,27
5	<i>Phyllosticta capitalensis</i> (E3)	103,53	15,53	4,27
6	<i>Phyllosticta capitalensis</i> (E4)	97,30	11,47	3,93
7	<i>Colletotrichum karsti</i> (E5)	102,73	14,33	3,93
8	<i>Fusarium keratoplasticum</i> (E6)	100,23	13,13	3,67
9	<i>Phyllosticta paracapitalensis</i> (E7)	105,07	15,13	3,73
10	<i>Diaporthe ueckeri</i> (E8)	100,13	12,67	3,53

Penelitian ini menunjukkan bahwa seluruh perlakuan cendawan endofit daun secara signifikan menurunkan tingkat keparahan penyakit bercak daun, yang ditunjukkan oleh nilai AUDPC yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol yang diinokulasi patogen (K+). Hasil ini mengindikasikan bahwa cendawan endofit daun memiliki kemampuan umum dalam menekan penyakit bercak daun pada jahe, sejalan dengan laporan sebelumnya pada sistem tanaman lain (Grabka *et al.* 2022; Majhi *et al.* 2025).

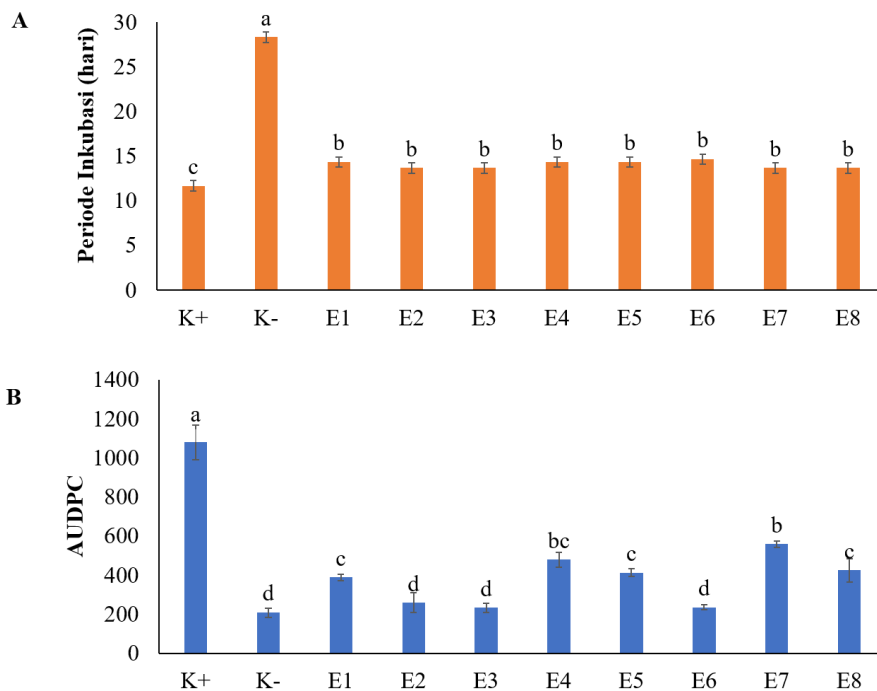
Meskipun seluruh perlakuan endofit menunjukkan efek penekanan penyakit, isolat *C. gigasporum* (E2) dan *C. karsti* (E5) secara signifikan meningkatkan bobot segar rimpang dibandingkan perlakuan lainnya. Potensi peningkatan pertumbuhan oleh beberapa spesies *Colletotrichum* endofit telah dilaporkan sebelumnya, yang menegaskan fleksibilitas fungsional genus ini tidak hanya sebagai patogen, tetapi juga sebagai agens yang menguntungkan (Dutta dan Banerjee 2024). Tingkat penekanan penyakit tidak selalu berkorelasi

secara linier dengan peningkatan hasil, yang mengindikasikan bahwa mekanisme yang mendasari induksi ketahanan dan peningkatan pertumbuhan kemungkinan berbeda atau bersifat spesifik isolat.

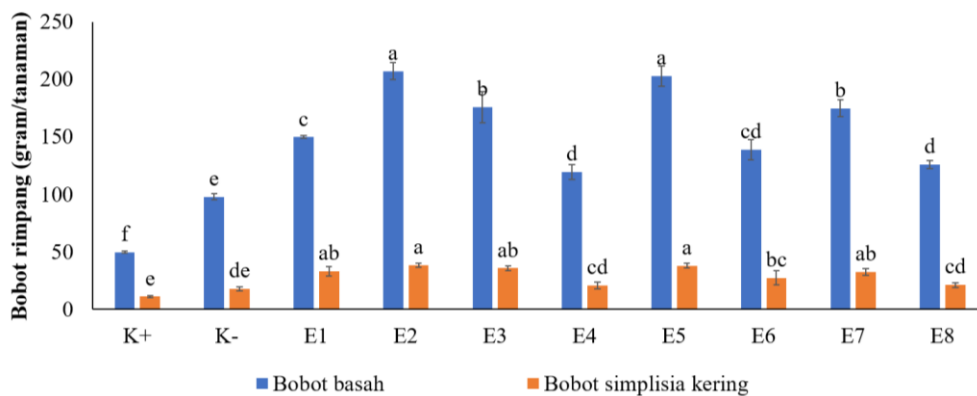


Gambar 4.14 Performa pertumbuhan tanaman jahe dan rimpang pada berbagai perlakuan endofit.

Temuan ini menunjukkan adanya perbedaan fungsi yang jelas di antara cendawan endofit daun. Beberapa isolat terutama berperan dalam menekan penyakit, sementara isolat lainnya memberikan manfaat ganda berupa penekanan penyakit sekaligus peningkatan produktivitas (Rodriguez dan Redman 2008; Fadji dan Babalola 2020). Perbedaan ini penting dalam aplikasi di lahan, karena endofit dengan fungsi ganda lebih berpotensi untuk diintegrasikan dalam strategi pengelolaan penyakit jahe yang berkelanjutan.



Gambar 4.15 Pengaruh aplikasi cendawan endofit terhadap (A) periode inkubasi, (B) AUDPC. Batang yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey HSD ($p < 0,05$). K+ = kontrol yang diinokulasi patogen (*P. zingiberis*), K- = kontrol tanpa inokulasi; E1 = *Colletotrichum plurivorum*, E2 = *C. gigasporum*, E3 = *Phyllosticta capitalensis*, E4 = *P. capitalensis*, E5 = *C. karsti*, E6 = *Fusarium keratoplasticum*, E7 = *P. paracapitalensis*, dan E8 = *Diaporthe ueckeri*.



Gambar 4.16 Pengaruh aplikasi cendawan endofit terhadap produksi rimpang. Nilai yang disajikan merupakan rata-rata dari tiga ulangan, dan batang galat menunjukkan simpangan baku (SD). Batang yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey HSD ($p < 0,05$). K+ = kontrol yang diinokulasi patogen (*P. zingiberis*), K- = kontrol tanpa inokulasi; E1 = *Colletotrichum plurivorum*, E2 = *C. gigasporum*, E3 = *Phyllosticta capitalensis*, E4 = *P. capitalensis*, E5 = *C. karsti*, E6 = *Fusarium keratoplasticum*, E7 = *P. paracapitalensis*, dan E8 = *Diaporthe ueckeri*.

4.6 Simpulan

Terdapat cendawan endofit nonpatogenik yang berasal dari Zingiberaceae yang berpotensi dikembangkan sebagai agens pengendali hayati penyakit bercak daun pada jahe. Secara *in vitro*, beberapa mekanisme yang teridentifikasi meliputi antibiosis, kompetisi, produksi enzim hidrolitik seperti kitinase dan glukukanase, serta sebagian kecil isolat mampu menghasilkan IAA. Aplikasi cendawan endofit terpilih pada tanaman secara signifikan menurunkan nilai AUDPC serta meningkatkan bobot rimpang jahe dengan *Colletotrichum gigasporum* (E2) menunjukkan performa terbaik. Namun demikian, mekanisme yang lebih mendalam terkait interaksi antara cendawan endofit dan respons tanaman belum sepenuhnya terjelaskan, akan dibahas lebih lanjut pada bab berikutnya.

@Hak cipta milik IPB University

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



V DETEKSI KOLONISASI CENDAWAN ENDOFIT DAN PROFIL METABOLIT DAUN JAHE

5.1 Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi kolonisasi cendawan endofit pada daun jahe serta mengevaluasi pengaruhnya terhadap perubahan profil metabolit tanaman. Delapan isolat cendawan endofit asal Zingiberaceae diinokulasikan pada tanaman jahe, dan kolonisasi diamati pada 2, 5, dan 10 HSI menggunakan metode reisolasi. Analisis metabolomik dilakukan menggunakan pendekatan LC-MS/HRMS tidak bertarget. Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh isolat berhasil mengkolonisasi jaringan daun sejak 5 HSI, dengan tingkat kolonisasi yang berbeda antar isolat. Analisis metabolomik mengungkap bahwa kolonisasi endofit menyebabkan perubahan nyata pada profil metabolit daun, dengan pemisahan yang jelas antarperlakuan berdasarkan analisis PCA dan PLS-DA. Metabolit ini dianotasi secara putatif. Respons metabolit yang dihasilkan bersifat spesifik pada masing-masing isolat. Metabolit seperti asam jasmonat (JA), asam pipekolat (Pip), dan kolin berperan sebagai pembeda utama sebelum inokulasi patogen, sedangkan setelah inokulasi patogen terjadi perubahan komposisi metabolit yang melibatkan dethiobiotin, Pip, dan DL-fenilalanin. Analisis korelasi menunjukkan bahwa Pip berkorelasi negatif yang kuat dengan tingkat keparahan penyakit (AUDPC) serta korelasi positif dengan hasil rimpang. Isolat *Colletotrichum gigasporum* (E2) berasosiasi dengan peningkatan kadar JA sebelum dan sesudah inokulasi patogen, sedangkan isolat *Phyllosticta capitalensis* (E3) berasosiasi dengan peningkatan Pip yang paling tinggi. Isolat *Fusarium keratoplasticum* (E6) dan *Diaporthe ueckeri* (E8) dikaitkan dengan akumulasi metabolit alternatif seperti pheoforbida dan asam linolenelaidat. Secara keseluruhan, cendawan endofit asal Zingiberaceae, khususnya *C. gigasporum* (E2), terbukti berpotensi sebagai agens pengendali hayati yang efektif terhadap penyakit bercak daun jahe sekaligus meningkatkan produktivitas tanaman. Temuan ini memberikan dasar ilmiah mengenai hubungan antara kolonisasi cendawan endofit, modulasi metabolit pertahanan, dan performa tanaman jahe.

Kata kunci: asam jasmonat, asam pipekolat, PCA, PLS-DA, metabolomik

5.2 Pendahuluan

Cendawan endofit asal Zingiberaceae telah menunjukkan potensi sebagai agens pengendali hayati penyakit bercak daun jahe yang disebabkan oleh *P. zingiberis*. Hasil seleksi menghasilkan delapan isolat yang memenuhi kriteria sebagai kandidat agens pengendali hayati, dan pengujian lebih lanjut pada tanaman jahe menunjukkan bahwa seluruh isolat mampu menekan perkembangan penyakit yang ditunjukkan oleh penurunan nilai AUDPC. Selain itu, beberapa isolat juga mampu meningkatkan bobot rimpang tanaman. Variasi respons tersebut mengindikasikan bahwa interaksi antara cendawan endofit dan tanaman jahe tidak hanya berkaitan dengan penekanan patogen, tetapi juga berpotensi memengaruhi proses fisiologis yang berhubungan dengan pertumbuhan dan produktivitas tanaman. Namun demikian, kemampuan kolonisasi masing-masing isolat pada

jaringan tanaman serta mekanisme biologis yang mendasari perbedaan respons tersebut masih belum diketahui.

Keberhasilan cendawan endofit dalam memengaruhi kesehatan tanaman sangat bergantung pada kemampuannya mengkolonisasi jaringan inang secara stabil. Kolonisasi yang berhasil memungkinkan terjadinya interaksi berkelanjutan antara cendawan dan tanaman, yang dapat memicu berbagai perubahan fisiologis, biokimia, dan molekuler pada tanaman inang (Hardoim *et al.* 2015). Interaksi tersebut berperan dalam mengatur berbagai proses penting, termasuk pertumbuhan tanaman, penyerapan hara, toleransi terhadap stres lingkungan, dan ketahanan terhadap patogen (White *et al.* 2019; Akram *et al.* 2023). Oleh karena itu, evaluasi kolonisasi cendawan endofit menjadi langkah penting untuk memahami efektivitas interaksi yang terjadi pada tanaman jahe.

Salah satu konsekuensi utama dari kolonisasi cendawan endofit adalah terjadinya perubahan metabolisme tanaman atau *metabolic reprogramming*. Proses ini mengacu pada perubahan pola metabolisme tanaman sebagai respons terhadap keberadaan mikroorganisme endofit, yang dapat menyebabkan peningkatan, penurunan, maupun pembentukan metabolit tertentu (Hardoim *et al.* 2015). Perubahan tersebut dapat melibatkan metabolisme primer maupun sekunder yang berperan dalam mempertahankan homeostasis tanaman serta meningkatkan kapasitas adaptasi terhadap berbagai tekanan biotik dan abiotik (Castro-Moretti *et al.* 2020; Pott *et al.* 2019). Berbagai penelitian menunjukkan bahwa kolonisasi cendawan endofit mampu meningkatkan akumulasi metabolit yang berkaitan dengan mekanisme pertahanan tanaman, seperti senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan berbagai senyawa bioaktif lainnya (Dupont *et al.* 2015; Yu *et al.* 2022).

Metabolit merupakan produk akhir dari berbagai proses biokimia yang mencerminkan kondisi fisiologis aktual tanaman. Oleh karena itu, analisis metabolit dapat memberikan gambaran yang lebih dekat dengan fenotip tanaman dibandingkan pendekatan genomik atau transkriptomik. Kajian metabolomik tidak bertarget (*untargeted metabolomics*) menggunakan LC-MS/HRMS memungkinkan deteksi berbagai metabolit secara simultan dengan sensitivitas dan resolusi tinggi sehingga mampu menggambarkan perubahan metabolisme tanaman secara komprehensif (Adeniji *et al.* 2020; Mishra *et al.* 2022). Pendekatan ini telah banyak digunakan untuk mengungkap mekanisme interaksi antara tanaman dan mikroorganisme menguntungkan, termasuk identifikasi metabolit yang berasosiasi dengan peningkatan ketahanan tanaman terhadap penyakit.

Meskipun pengaruh cendawan endofit terhadap metabolisme tanaman telah banyak dilaporkan pada berbagai sistem tanaman, informasi mengenai perubahan profil metabolit pada tanaman jahe setelah kolonisasi cendawan endofit asal Zingiberaceae masih sangat terbatas. Selain itu, hubungan antara keberhasilan kolonisasi, perubahan profil metabolit, tingkat penekanan penyakit, dan peningkatan hasil tanaman belum banyak dievaluasi secara terpadu. Pemahaman mengenai hubungan tersebut penting untuk menjelaskan mekanisme yang mendasari efektivitas cendawan endofit sebagai agens pengendali hayati sekaligus sebagai pemacu pertumbuhan tanaman.

Penelitian ini bertujuan mengonfirmasi kolonisasi cendawan endofit pada jaringan tanaman jahe serta menganalisis perubahan profil metabolit yang terjadi menggunakan pendekatan LC-MS/HRMS tidak bertarget. Profil metabolit yang

diperoleh selanjutnya diintegrasikan dengan parameter perkembangan penyakit berdasarkan nilai AUDPC dan hasil panen berupa bobot rimpang untuk memperoleh pemahaman yang lebih komprehensif mengenai hubungan antara kolonisasi cendawan endofit, perubahan metabolisme tanaman, ketahanan terhadap penyakit, dan performa agronomis tanaman jahe.

5.3 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2025-Februari 2026. Pengujian secara *in planta* dilakukan di rumah kaca IPB, preparasi sampel dan pengujian laboratorium dilakukan di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN).

5.4 Bahan dan Metode Penelitian

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari uji *in planta* cendawan endofit untuk pengendalian penyakit bercak daun jahe yang telah dijelaskan pada Subbab 4.4.9. Percobaan terdiri atas delapan perlakuan cendawan endofit (E1–E8), kontrol positif (K+), dan kontrol negatif (K–). Seluruh perlakuan digunakan untuk pengamatan kolonisasi cendawan endofit pada jaringan tanaman guna mengevaluasi keberhasilan kolonisasi masing-masing isolat.

Analisis metabolomik tidak bertarget menggunakan LC-MS/HRMS dilakukan pada empat isolat cendawan endofit terpilih, yaitu *Colletotrichum gigasporum* (E2), *Phyllosticta capitalensis* (E3), *Fusarium keratoplasticum* (E6), dan *Diaporthe ueckeri* (E8), serta kontrol positif (K+) dan kontrol negatif (K–). Keempat isolat tersebut dipilih karena mewakili genus yang berbeda dan menunjukkan variasi respons biologis pada pengujian sebelumnya, terutama dalam menekan perkembangan penyakit berdasarkan nilai AUDPC dan meningkatkan bobot rimpang tanaman. Pemilihan isolat tersebut diharapkan dapat memberikan gambaran yang lebih representatif mengenai hubungan antara kolonisasi cendawan endofit, perubahan profil metabolit, penekanan penyakit, dan performa agronomis tanaman jahe.

5.4.1 Deteksi Kolonisasi Cendawan Endofit

Kolonisasi cendawan endofit diamati pada 2, 5, dan 10 HSI menggunakan metode reisolasi. Sampel daun dikoleksi, kemudian disterilisasi permukaannya melalui perendaman bertahap dalam etanol 70% selama 30 detik dan NaOCl 5% selama 1 menit, lalu dibilas sebanyak tiga kali menggunakan akuades steril (Sari *et al.* 2025).

Potongan daun yang telah disterilisasi kemudian ditanam pada medium PDA 20% yang ditambahkan 0,25% kloramfenikol, dan diinkubasi pada suhu 25 °C selama 7–21 hari. Tingkat kolonisasi dihitung sebagai persentase potongan daun yang menunjukkan pertumbuhan kembali cendawan endofit yang diinokulasikan.

Proses penetrasi dan kolonisasi cendawan endofit pada jaringan daun diamati menggunakan metode pewarnaan dengan *Trypan Blue*. Untuk pewarnaan *Trypan Blue*, potongan sampel daun direndam dalam larutan *Trypan Blue* selama ±1 jam, kemudian dibilas dan direndam dalam etanol 90% selama 12 jam untuk proses dekolonisasi (Fernández-Bautista *et al.* 2016). Selanjutnya,

sampel diamati di bawah mikroskop untuk mengamati struktur kolonisasi cendawan pada jaringan daun.

5.4.2 Profil Metabolit

5.4.2.1 Pengambilan Sampel dan Ekstraksi

Daun ketiga yang telah berkembang penuh (dihitung dari pucuk) dikoleksi pada dua waktu pengamatan, yaitu lima hari setelah inokulasi cendawan endofit dan lima hari setelah inokulasi patogen. Untuk setiap perlakuan, daun dari lima tanaman dalam satu blok digabungkan menjadi satu sampel komposit ($n = 3$ ulangan biologis). Sampel segera dibekukan menggunakan nitrogen cair, kemudian dikeringbekukan (*freeze dried*), dan disimpan pada suhu $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ hingga analisis.

Sebanyak $\pm 5\text{--}10\text{ mg}$ jaringan kering hasil *freeze dried* diekstraksi menggunakan 1 mL pelarut metanol–asetonitril–air (2:2:1, v/v/v; grade LC–MS). Campuran kemudian disonikasi selama 30 menit dan disentrifugasi pada $12.000 \times G$ selama 10 menit pada suhu $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Supernatan disaring menggunakan membran PTFE berpori $0,22\text{ }\mu\text{m}$ sebelum dianalisis.

5.4.2.2 Analisis UHPLC–Q-Orbitrap HRMS

Profil metabolit dianalisis menggunakan sistem *ultra-high-performance liquid chromatography* (UHPLC) yang dipasangkan dengan spektrometer massa resolusi tinggi Q-Orbitrap (Thermo Scientific, Jerman). Pemisahan kromatografi dilakukan menggunakan kolom Accucore™ Phenyl-Hexyl. Fase gerak terdiri atas 0,1% asam format dalam air (A) dan asetonitril (B), dengan gradien linier dari 5% hingga 90% B selama 16 menit. Spektrum massa diperoleh dalam mode ionisasi elektro spray positif (ESI+) pada rentang m/z 66,7–1000 dengan resolusi 70.000 (FWHM pada m/z 200). Akuisisi data MS/MS dilakukan secara data-dependent untuk keperluan anotasi metabolit.

Data mentah diolah menggunakan perangkat lunak *Compound Discoverer 3.2* (Thermo Scientific, Jerman) untuk deteksi puncak, penyalarsan, dan pengurangan *noise*. Seleksi fitur dibatasi pada metabolit dengan spektrum MS/MS berkualitas tinggi dan akurasi massa prekursor dalam rentang $\pm 5\text{ ppm}$. Anotasi putatif metabolit dilakukan dengan mencocokkan spektrum MS² eksperimental terhadap pustaka referensi mzCloud. Tingkat kepercayaan identifikasi mengacu pada Level 2 menurut *Metabolomics Standards Initiative* (MSI).

5.4.3 Analisis Data

Data tingkat kolonisasi cendawan endofit dianalisis menggunakan ANOVA satu arah, dilanjutkan dengan uji Tukey HSD pada taraf signifikansi $p < 0,05$. Data metabolomik dinormalisasi (*sum normalization*) dan *Pareto scaling*, kemudian dianalisis menggunakan *Principal Component Analysis* (PCA) dan *Partial Least Squares Discriminant Analysis* (PLS-DA) melalui MetaboAnalyst 6.0. Kinerja model dievaluasi berdasarkan nilai R^2 dan Q^2 (validasi silang 5-fold), sedangkan ketahanannya diuji menggunakan *permutation test* ($n = 1.000$).

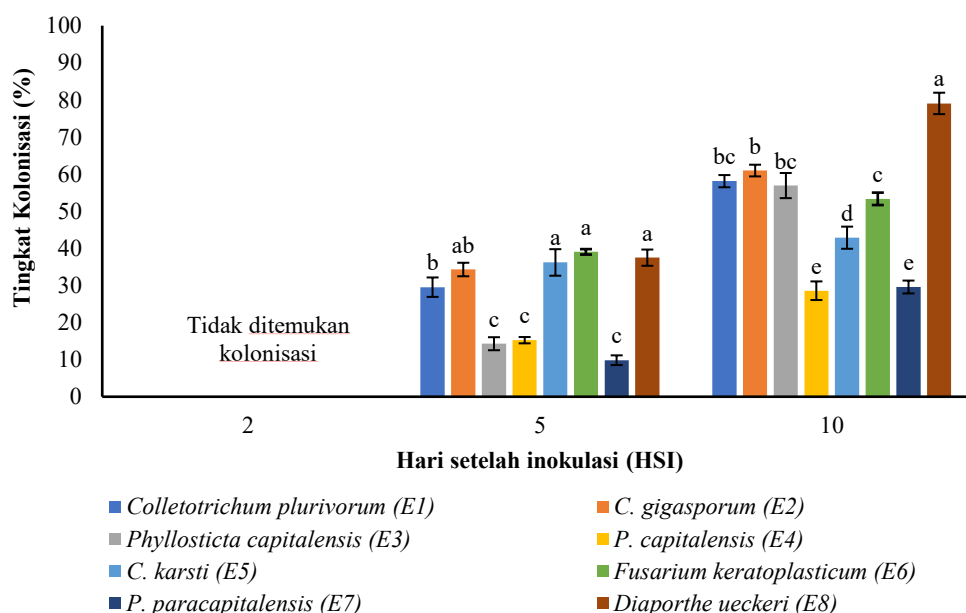
Metabolit dengan nilai *Variable Importance in Projection* (VIP) $\geq 1,5$ dianggap sebagai metabolit diskriminatif. Nilai $\log_2\text{ fold change}$ ($\log_2\text{FC}$) untuk

setiap metabolit dihitung untuk menilai besar dan arah perubahan metabolik antara perlakuan dan kontrol. *Fold change* (FC) ditentukan sebagai rasio kelimpahan metabolit pada setiap perlakuan relatif terhadap kontrol, kemudian ditransformasi ke dalam bentuk $\log_2$ untuk meningkatkan kemudahan interpretasi. Nilai $\log_2\text{FC}$ positif menunjukkan peningkatan (*upregulation*), sedangkan nilai negatif menunjukkan penurunan (*downregulation*). Metabolit yang tidak terdeteksi pada kelompok kontrol maupun perlakuan diberi anotasi sebagai *not detected* (ND). Analisis korelasi *Pearson* antara kelimpahan metabolit terpilih ($\text{VIP} > 1,5$; $|\log_2\text{FC}| > 1$), nilai AUDPC, dan hasil rimpang dilakukan menggunakan RStudio.

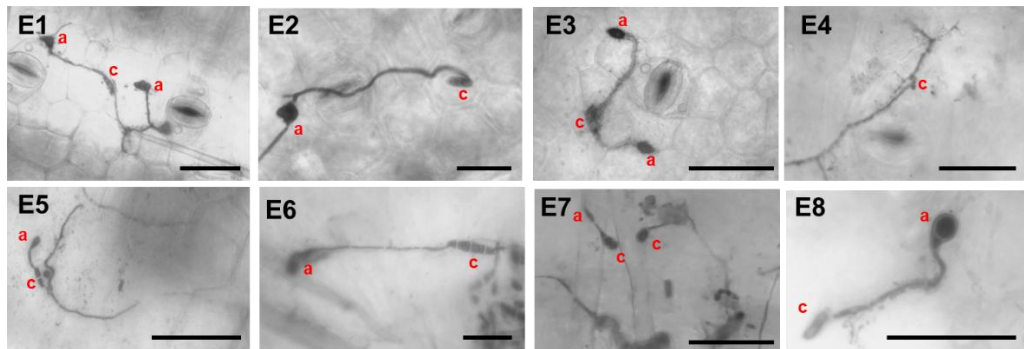
5.5 Hasil dan Pembahasan

5.5.1 Kolonisasi Endofit pada Daun Jahe

Seluruh isolat cendawan endofit yang diaplikasikan berhasil melakukan kolonisasi daun jahe pada 5 hari setelah inokulasi (HSI), dengan tingkat kolonisasi yang terus meningkat hingga 10 HSI (Gambar 5.1). Tingkat kolonisasi tertinggi diamati pada *Diaporthe ueckeri* (E8). Sebaliknya, isolat dari genus *Phyllosticta*, yaitu *P. capitalensis* (E3, E4) dan *P. paracapitalensis* (E7), menunjukkan tingkat kolonisasi yang lebih rendah dibandingkan isolat lainnya. Pola tersebut sejalan dengan laju pertumbuhan dan perkecambahan yang relatif lebih lambat pada medium buatan. Pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa konidia cendawan endofit mulai berkecambah pada permukaan daun pada 2 HSI, dan sebagian di antaranya telah membentuk apresorium sebagai struktur yang berperan dalam proses penetrasi jaringan inang (Gambar 5.2).



Gambar 5.1 Tingkat kolonisasi cendawan endofit pada 2, 5, dan 10 HSI. Huruf yang sama pada setiap kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada tingkat kepercayaan 95% berdasarkan uji Tukey's HSD. Data ditransformasi menggunakan transformasi *arcsine square root* untuk memenuhi asumsi kenormalan.



Gambar 5.2 Perkecambahan konidia (c) dan pembentukan apotesium(a) cendawan endofit yang diaplikasikan ke permukaan daun (2HSI). Skala batang = 50 μ m. a= apotesium, c= konidia.

Tingkat kolonisasi berbeda nyata antar isolat. *D. ueckeri* (E8) menunjukkan tingkat kolonisasi tertinggi, sejalan dengan pertumbuhan miselium yang cepat di medium buatan, yang diduga memberikan keunggulan kompetitif pada tahap awal kolonisasi dalam jaringan inang (Santos *et al.* 2016). Sebaliknya, isolat *Phyllosticta* (*P. capitalensis* dan *P. paracapitalensis*) menunjukkan tingkat kolonisasi yang relatif rendah, sesuai dengan laporan sebelumnya yang menggambarkan spesies ini sebagai cendawan endofit yang tumbuh lambat dengan strategi kolonisasi yang lebih lambat dan terbatas (Wikee *et al.* 2013a; Tran *et al.* 2019).

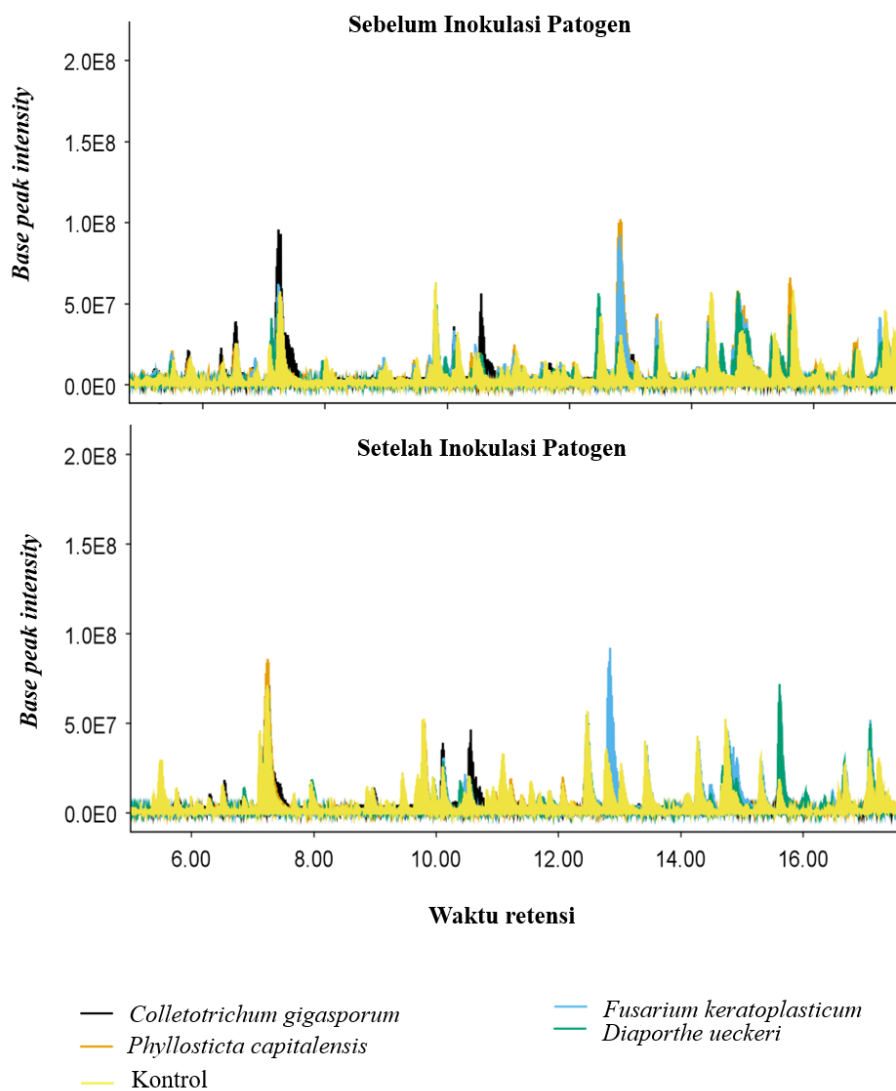
Tingkat kolonisasi yang tinggi tidak selalu berkorelasi dengan kemampuan penekanan penyakit yang lebih kuat atau peningkatan hasil rimpang (data penelitian 2), yang menunjukkan bahwa efektivitas cendawan endofit tidak semata-mata ditentukan oleh kelimpahan mikroba di dalam jaringan inang. Pola yang tidak selalu sejalan antara kemampuan kolonisasi dan kinerja fungsional serupa juga telah dilaporkan pada sistem tanaman–endofit lainnya (Rodriguez *et al.* 2009; Sahu *et al.* 2023). Selain itu, kolonisasi dalam penelitian ini diamati dalam rentang waktu yang relatif singkat dan terutama mencerminkan tahap awal kolonisasi, bukan persistensi jangka panjang atau distribusi spasial di dalam jaringan daun. Oleh karena itu, generalisasi hasil penelitian ini terhadap interaksi jangka panjang atau kondisi lapangan perlu dilakukan dengan kehati-hatian.

5.5.2 Profil Metabolit dan Analisis Diskriminan

Untuk mengevaluasi lebih lanjut respons biokimia tanaman terhadap kolonisasi cendawan endofit, dilakukan analisis metabolomik pada lima perlakuan representatif, yaitu kontrol, serta tanaman yang diinokulasi dengan *Colletotrichum gigasporum* (E2), *Phyllosticta capitalensis* (E3), *Fusarium keratoplasticum* (E6), dan *Diaporthe ueckeri* (E8). Keempat isolat tersebut dipilih karena mewakili genus yang berbeda serta menunjukkan variasi dalam kemampuan menekan perkembangan penyakit dan meningkatkan hasil rimpang. Kromatogram *Base Peak Intensity* (BPI) menunjukkan bahwa aplikasi cendawan endofit memengaruhi profil metabolit tanaman. Perbedaan pola puncak, intensitas sinyal, dan distribusi waktu retensi teramati antarperlakuan, yang mengindikasikan adanya perubahan komposisi dan kelimpahan metabolit pada

tanaman yang diinokulasi cendawan endofit dibandingkan dengan kontrol (Gambar 5.3). Beberapa puncak mengalami peningkatan intensitas pada perlakuan tertentu, sedangkan beberapa puncak lain muncul secara spesifik hanya pada tanaman yang mendapat aplikasi endofit. Hal ini mengindikasikan bahwa kolonisasi cendawan endofit memengaruhi metabolisme tanaman inang.

Setelah dilakukan proses *filtering* dan seleksi data untuk menghilangkan *noise* serta fitur dengan kualitas rendah, sebanyak 41 senyawa metabolit dianotasi secara putatif. Anotasi dilakukan berdasarkan nilai *m/z*, waktu retensi, dan kecocokan dengan basis data metabolit secara *online* (*mscloud*) (Lampiran 2).



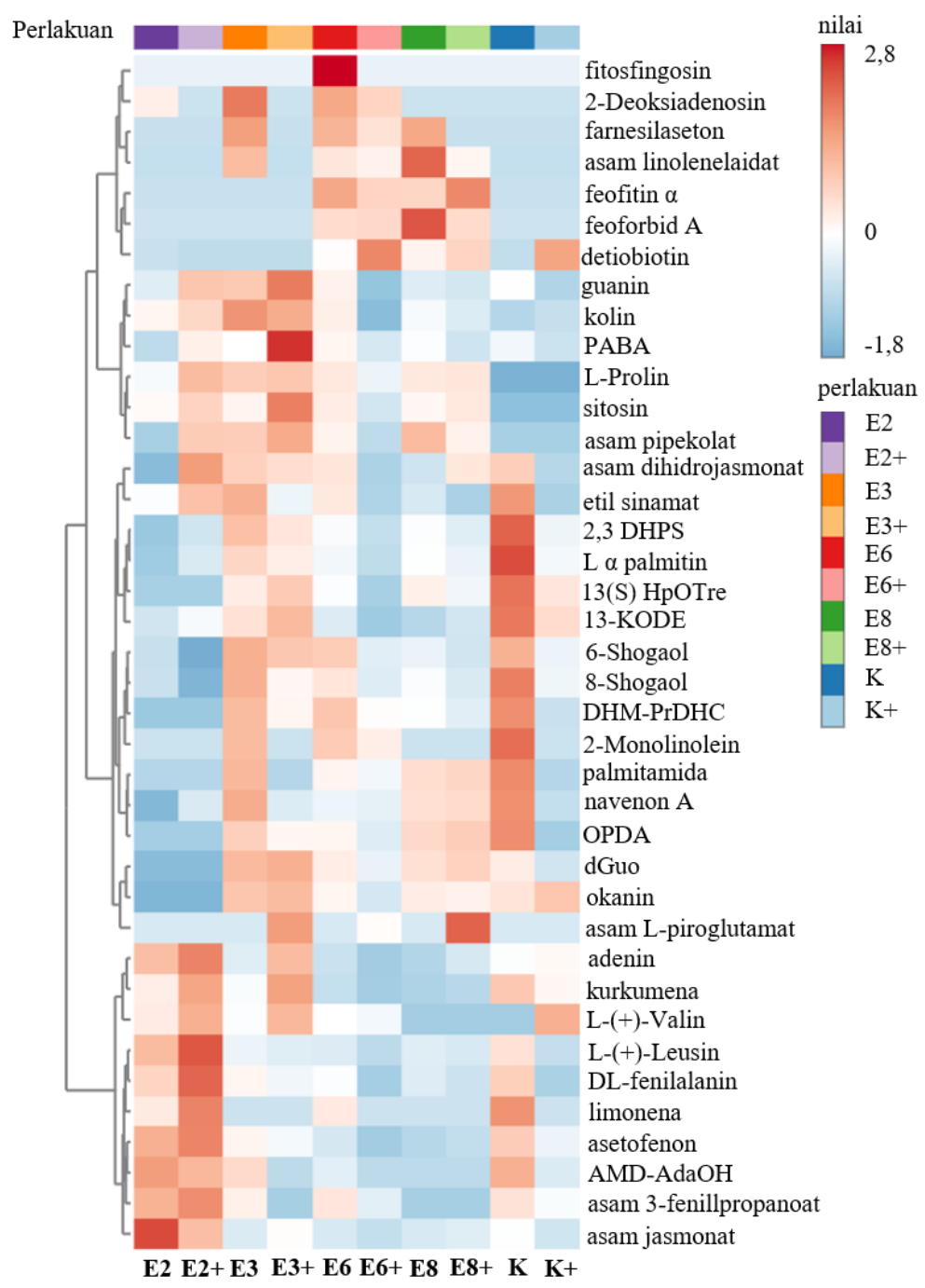
Gambar 5.3 Overlay kromatogram *Base Peak Intensity* (BPI) dari profil metabolit tanaman berdasarkan analisis LC-MS/HRMS pada berbagai isolat cendawan endofit. Variasi pola dan intensitas puncak mengindikasikan adanya perubahan komposisi dan kelimpahan relatif metabolit antar perlakuan.

Heatmap profil metabolit menunjukkan adanya perbedaan pola akumulasi metabolit antar tanaman yang diinokulasi dengan berbagai cendawan endofit, baik sebelum maupun setelah inokulasi *P. zingiberis* (Gambar 5.4). Secara umum, tanaman yang diinokulasi cendawan endofit memperlihatkan profil metabolit yang berbeda dibandingkan kontrol, yang ditunjukkan oleh variasi intensitas warna pada berbagai kelompok senyawa. Beberapa metabolit yang berperan dalam pertahanan tanaman, seperti asam jasmonat, asam piceolat, dan asam 12-okso-fitodienoat (OPDA), menunjukkan akumulasi yang lebih tinggi pada tanaman yang diinokulasi cendawan endofit setelah tantangan patogen. Selain itu, profil metabolit daun jahe setelah inokulasi *P. zingiberis* umumnya lebih kompleks dibandingkan sebelum inokulasi patogen, yang mengindikasikan adanya respons metabolik tanaman terhadap interaksi antara cendawan endofit dan patogen. Pola pengelompokan pada heatmap juga menunjukkan bahwa masing-masing spesies cendawan endofit menginduksi respons metabolik yang berbeda pada tanaman jahe.

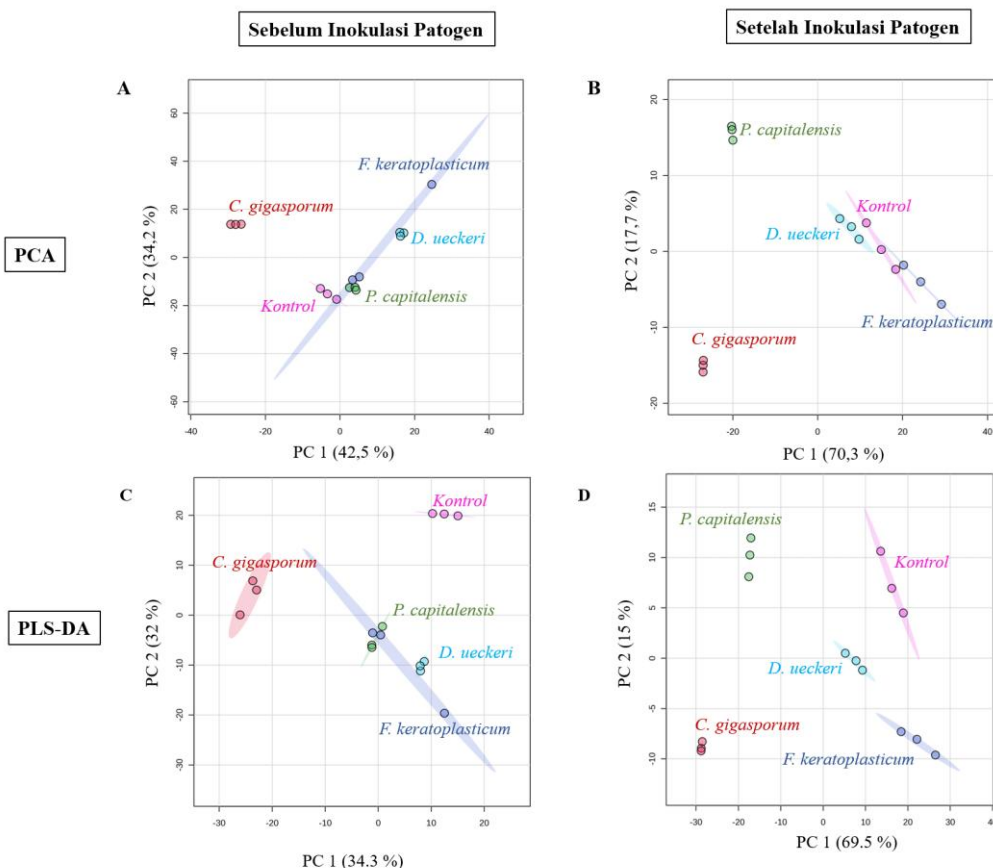
Untuk mengevaluasi perbedaan profil metabolit secara menyeluruh, dilakukan analisis *Principal Component Analysis* (PCA) dan *Partial Least Squares Discriminant Analysis* (PLS-DA). Analisis PCA menunjukkan adanya pemisahan profil metabolit antara tanaman yang diinokulasi dengan spesies cendawan endofit yang berbeda dan tanaman kontrol, baik sebelum maupun setelah inokulasi patogen (Gambar 5.5A–B). Pengelompokan sampel menjadi semakin jelas setelah inokulasi *P. zingiberis*, terutama sepanjang sumbu PC1. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa perubahan metabolisme yang diinduksi oleh cendawan endofit semakin nyata selama interaksi antara tanaman dan patogen. Analisis PERMANOVA mengonfirmasi bahwa spesies cendawan endofit yang diaplikasikan berpengaruh signifikan terhadap komposisi metabolit tanaman, baik sebelum inokulasi patogen ($F = 10,754$; $R^2 = 0,811$; $p = 0,001$) maupun setelah inokulasi patogen ($F = 166,82$; $R^2 = 0,985$; $p = 0,001$). Untuk mengevaluasi lebih lanjut pemisahan antarperlakuan, dilakukan analisis PLS-DA (Gambar 5.5C–D). Sejalan dengan hasil PCA, analisis PLS-DA menunjukkan pemisahan yang jelas antarperlakuan, yang mengindikasikan adanya karakteristik metabolik spesifik isolat yang diinduksi oleh masing-masing cendawan endofit daun. Pemisahan tersebut terutama terlihat setelah inokulasi patogen, yang menunjukkan adanya perbedaan aktivasi jalur metabolik terkait respons pertahanan pada setiap perlakuan.

Model PLS-DA menunjukkan tingkat kecocokan dan kemampuan prediksi yang baik. Sebelum inokulasi patogen, model menghasilkan nilai R^2 sebesar 0,88 dan Q^2 sebesar 0,71. Setelah inokulasi patogen, nilai R^2 dan Q^2 yang diperoleh masing-masing sebesar 0,82 dan 0,70. Ketahanan model selanjutnya diuji menggunakan uji permutasi ($n = 1.000$). Hasil pengujian menunjukkan bahwa model asli secara signifikan lebih baik dibandingkan model hasil permutasi (p empiris = 0,01), sehingga mendukung validitas statistik model PLS-DA yang digunakan (Gambar 5.5C–D).

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Gambar 5.4 Heatmap profil metabolit daun jahe pada berbagai perlakuan cendawan endofit sebelum dan setelah (+) inokulasi *P. zingiberis*. Intensitas warna menunjukkan tingkat kelimpahan relatif metabolit, dengan warna merah menunjukkan akumulasi lebih tinggi dan warna biru menunjukkan akumulasi lebih rendah.

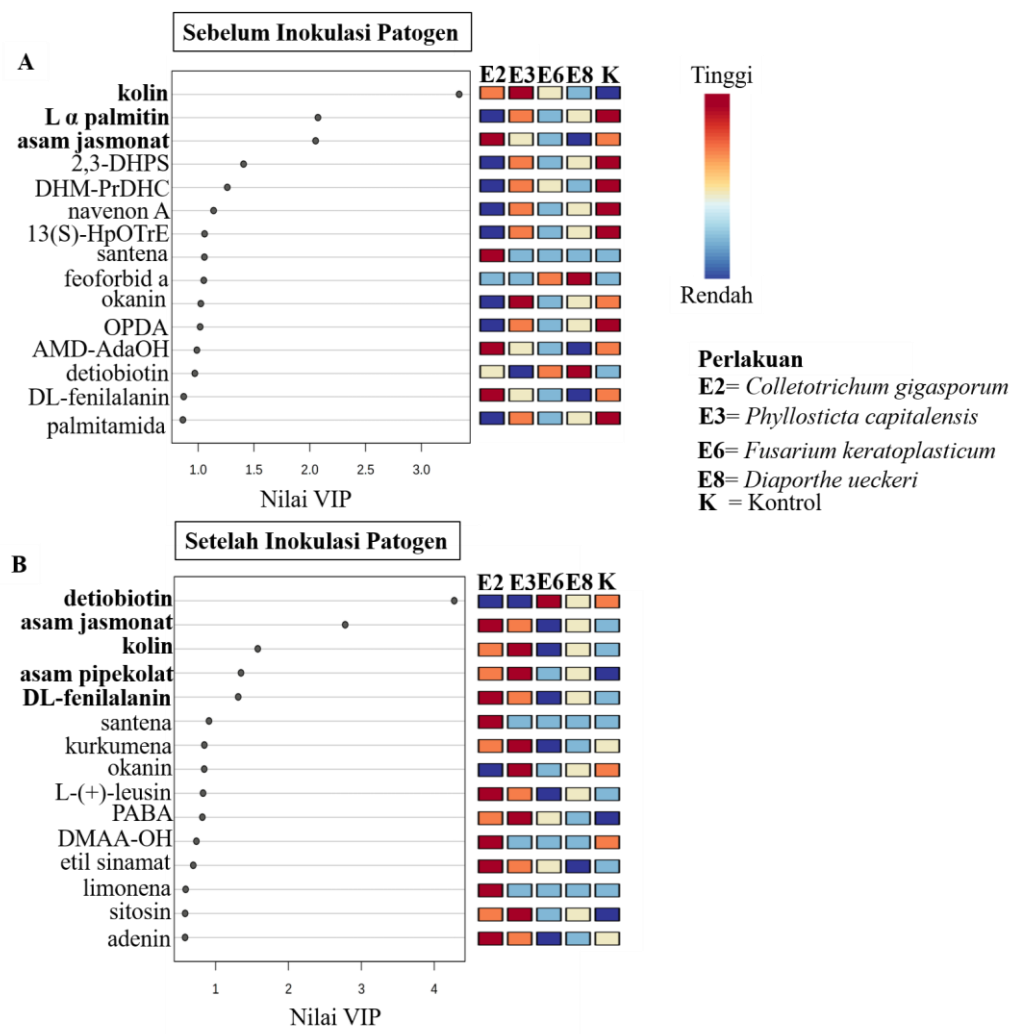


Gambar 5.5 PCA dan PLS-DA profil metabolit pada daun jahe yang diberi perlakuan cendawan endofit daun sebelum dan setelah inokulasi patogen. (A–B) Plot skor PCA yang menunjukkan pengelompokan perlakuan secara tidak terawasi (*unsupervised*) sebelum dan setelah inokulasi *P. zingiberis*. (C–D) Plot skor PLS-DA yang menunjukkan pemisahan perlakuan secara terawasi (*supervised*).

Analisis VIP (VIP > 1,5) mengidentifikasi metabolit yang berperan dalam membedakan perlakuan sebelum inokulasi patogen (Gambar 5.6.A). Kolin, L- α -palmitin, dan asam jasmonat (JA) merupakan metabolit pembeda antar perlakuan. Setelah inokulasi patogen, metabolit yang berperan dalam pemisahan perlakuan mengalami perubahan (Gambar 5.6.B). Detiobiotin, JA, kolin, asam pipekolat (Pip), dan DL-fenilalanin menunjukkan nilai VIP tertinggi, dan merupakan metabolit pembeda antar perlakuan.

Perubahan kelimpahan metabolit selanjutnya dianalisis menggunakan nilai $\log_2\text{FC}$. Beberapa senyawa menunjukkan peningkatan akumulasi yang tinggi pada tanaman yang diinokulasi cendawan endofit dibandingkan kontrol, ditunjukkan oleh nilai $|\log_2\text{FC}| > 1$ (Tabel 5.1). Peningkatan tersebut mengindikasikan adanya aktivasi jalur metabolisme tertentu setelah aplikasi endofit. Sebaliknya, beberapa metabolit mengalami penurunan kelimpahan, yang menunjukkan bahwa cendawan endofit juga dapat memengaruhi regulasi metabolisme tanaman secara kompleks.

Secara umum, sebagian besar tanaman yang diinokulasi cendawan endofit menunjukkan peningkatan kadar Pip, baik sebelum maupun setelah inokulasi patogen. Pengecualian ditemukan pada tanaman yang diinokulasi *C. gigasporum*, di mana akumulasi Pip hanya terdeteksi setelah inokulasi patogen. Menariknya, masing-masing spesies cendawan endofit menginduksi respons metabolik yang berbeda. Tanaman yang diinokulasi *C. gigasporum* dicirikan oleh akumulasi JA yang tinggi secara konsisten, baik sebelum maupun setelah inokulasi patogen, suatu pola yang tidak diamati pada perlakuan lainnya. Sebaliknya, *P. capitalensis* menunjukkan peningkatan kadar Pip tertinggi dibandingkan spesies cendawan endofit lainnya. Sementara itu, tanaman yang diinokulasi *F. keratoplasticum* dan *D. ueckeri* dicirikan oleh akumulasi feoforbid A dan asam linolenelaidat, selain Pip, baik sebelum maupun setelah inokulasi patogen.



Gambar 5.6 Plot skor VIP yang diturunkan dari model PLS-DA (A) sebelum inokulasi patogen (B) setelah inokulasi patogen. Metabolit dengan nilai VIP > 1,5 dianggap berkontribusi signifikan terhadap pemisahan kelompok. 2,3 DHPS = 2,3-dihidroksipropil stearat; DHM-PrDHC = 2',6'-dihidroksi-4'-metoksi-3'; AMD-AdaOH =

Tabel 5. 1 Metabolit penting yang terkait dengan pertahanan tanaman dan produktivitas pada daun jahe sebelum dan setelah inokulasi patogen (VIP > 1,5 dan $|\log_2FC| \geq 1$)

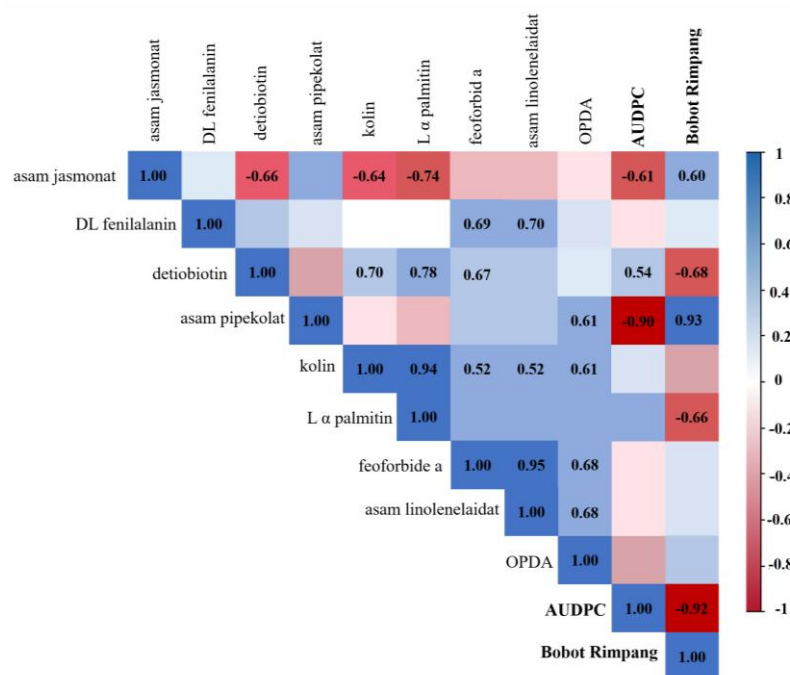
No	Senyawa Terprediksi	Sebelum Inokulasi Patogen				Setelah Inokulasi Patogen				Fungsi Biologis
		E2	E3	E6	E8	E2	E3	E6	E8	
1	Asam jasmonat	1,16*	-0,49	-0,62	-0,56	2,40*	0,20	-0,34	0,32	Sinyal utama pertahanan tanaman dan ISR (Yang <i>et al.</i> 2019; Macioszek <i>et al.</i> 2023; Danso <i>et al.</i> 2023).
2	12-okso fitodienoat (OPDA)	-2,08*	-0,39	-0,82	-0,47	ND	1,51*	2,07*	ND	Prekursor jasmonat dan sinyal respons stres (Li <i>et al.</i> 2022; Macioszek <i>et al.</i> 2023).
3	L- α -palmitin	-1,36*	-0,48	-0,92	-0,69	-0,18	0,22	-0,41	-0,05	Stabilitas membran dan metabolisme lipid (Carta <i>et al.</i> 2017).
4	Asam linolenat	ND	1,79*	2,31*	2,11*	ND	ND	2,34*	1,12*	Jalur biosintesis jasmonat dan pertahanan (He & Ding 2020).
5	Feoforb A	ND	ND	3,88*	3,67*	ND	ND	4,14*	2,97*	Respons stres dan degradasi klorofil (Aubry <i>et al.</i> 2020).
6	Asam piceolat	ND	3,66*	3,23*	3,35*	3,41*	3,75*	2,48*	3,05*	Molekul penting dalam SAR (Kumari <i>et al.</i> 2025; Chen <i>et al.</i> 2025).
7	DL-fenilalanin	0,26	-0,17	-0,30	-0,39	1,06*	0,42	-0,04	0,22	Prekursor fenilpropanoid dan senyawa fenolik (Kumari <i>et al.</i> 2023).
8	Kolin	0,61	0,61	0,29	0,26	0,35	0,48	-0,25	0,09	Stabilitas membran dan toleransi

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

N o	Senyawa Terprediksi	Sebelum Inokulasi Patogen				Setelah Inokulasi Patogen				Fungsi Biologis
										stres (Zhang <i>et al.</i> 2010; Singh 2025).
	Detiobiotin	1,71*	-1,17*	0,95	3,64*	-3,65*	-2,65*	0,16	-0,39	Mendukung metabolisme dan aktivitas enzim (Cobessi <i>et al.</i> 2012).

Catatan: E2, E3, E6, dan E8 menunjukkan perlakuan cendawan endofit. Nilai positif (warna pink) menunjukkan peningkatan, sedangkan nilai negatif (warna biru) menunjukkan penurunan. Nilai $\log_2 \text{fold change}$ ($\log_2\text{FC}$) dihitung berdasarkan rerata peak area dari tiga ulangan biologis. Tanda bintang (*) menunjukkan metabolit yang berbeda nyata dibandingkan kontrol berdasarkan p -value ($p < 0.05$). ND=tidak terdeteksi.

Untuk mengeksplorasi lebih lanjut hubungan antara akumulasi metabolit, penekanan penyakit, dan kinerja tanaman, dilakukan analisis korelasi *Pearson* (Gambar 5.7). Di antara metabolit yang dianalisis, asam pipekolat (Pip) menunjukkan korelasi negatif terkuat dengan AUDPC ($r = -0,90$), diikuti oleh asam jasmonat ($r = -0,61$), yang mengindikasikan bahwa peningkatan kadar kedua metabolit tersebut berkorelasi dengan penurunan perkembangan penyakit. Sebaliknya, L- α -palmitin menunjukkan korelasi positif dengan tingkat keparahan penyakit ($r = 0,44$), yang mengindikasikan kemungkinan keterkaitan dengan progresi penyakit atau respons stres inang.



Gambar 5.7 Heatmap korelasi Pearson yang menunjukkan hubungan antara metabolit terpilih ($VIP > 1,5$; $|\log_2\text{FC}| > 1$), AUDPC, dan hasil rimpang. Warna pada setiap sel merepresentasikan koefisien korelasi Pearson, sedangkan nilai numerik hanya ditampilkan untuk korelasi yang signifikan secara statistik ($p < 0,05$).

Profil metabolomik menunjukkan bahwa perlakuan cendawan endofit daun menyebabkan perubahan yang nyata pada metabolit daun jahe. Pemisahan yang jelas antarperlakuan pada PCA dan plot skor PLS-DA, baik sebelum maupun setelah inokulasi patogen, menunjukkan bahwa kolonisasi cendawan endofit memengaruhi kondisi metabolik tanaman inang. Perbedaan ini tetap terlihat, bahkan setelah inokulasi patogen (Dupont *et al.* 2015; Gore *et al.* 2025).

Sebelum inokulasi patogen, kolin, L- α -palmitin, dan JA muncul sebagai metabolit pembeda utama, yang menunjukkan bahwa cendawan endofit memodulasi metabolisme terkait lipid serta jalur pensinyalan pertahanan bahkan pada kondisi tanpa stres (Seth *et al.* 2024). Setelah inokulasi patogen, profil metabolit pembeda mengalami perubahan yang nyata, dengan dethiobiotin, Pip, dan DL-fenilalanin memberikan kontribusi kuat terhadap pemisahan antar perlakuan. Perubahan ini mencerminkan respons metabolik yang lebih kompleks, melibatkan metabolisme primer, senyawa turunan asam amino, serta jalur yang terkait dengan stres, sejalan dengan adanya rekonfigurasi metabolik di bawah kondisi stres biotik (Pellissier *et al.* 2023; Muñoz-Hoyos dan Stam 2023). Pola ini mendukung konsep bahwa endofit dapat melakukan *priming* terhadap metabolisme inang, sehingga memungkinkan respons metabolik yang berbeda ketika terjadi infeksi patogen (Gore *et al.* 2025).

Setiap perlakuan cendawan endofit menunjukkan ciri metabolik yang berbeda sesuai dengan pengaruhnya pada fenotipik tanaman. Namun demikian, seluruh perlakuan cendawan endofit berasosiasi dengan peningkatan Pip, baik sebelum maupun setelah inokulasi patogen. Pip menunjukkan korelasi negatif yang paling kuat dengan AUDPC serta korelasi positif dengan hasil rimpang, yang mengindikasikan bahwa peningkatan kadar Pip berkaitan dengan penurunan keparahan penyakit. Pip merupakan asam amino heterosiklik non-proteinogenik yang berasal dari lisin dan berperan sebagai regulator utama *systemic acquired resistance* (SAR) (Pazarlar *et al.* 2021; Kumari *et al.* 2025). Berbagai penelitian melaporkan peran Pip dalam menginduksi pertahanan tanaman, umumnya terkait dengan serangan patogen. Kedelai yang diinokulasi secara buatan dengan *Fusarium virguliforme* menunjukkan akumulasi Pip pada getah xilem dan daun (Abeysekara *et al.* 2016). Aplikasi eksogen Pip pada buah persik juga dilaporkan menurunkan insidensi penyakit yang disebabkan oleh *Monilinia fructicola*, dengan gen-gen yang terekspresi terutama terkait dengan pensinyalan hormon, metabolisme dinding sel, dan jalur ketahanan penyakit (Chen *et al.* 2025). Selain itu, peningkatan Pip juga dilaporkan pada interaksi tanaman–mikroba menguntungkan, seperti inokulasi *Kosakonia oryziphila* pada bibit padi yang meningkatkan ketahanan terhadap penyakit blas melalui peningkatan ekspresi gen *OsALDI* yang terkait dengan akumulasi Pip (Thanwisai *et al.* 2026).

Berbeda dengan perlakuan lainnya, tanaman yang diberi perlakuan *C. gigasporum* menunjukkan akumulasi JA baik sebelum maupun setelah inokulasi patogen, sebagaimana didukung oleh hasil analisis VIP, nilai $\log_2$ fold change ($\log_2FC$), dan p -value < 0.001. Analisis korelasi juga menunjukkan hubungan negatif antara akumulasi JA dan AUDPC, serta hubungan positif dengan hasil rimpang. JA merupakan regulator utama *induced systemic resistance* (ISR), terutama terhadap patogen nekrotrof, dan akumulasinya sering dikaitkan dengan peningkatan ketahanan penyakit pada tanaman yang dikolonisasi endofit (Yu *et*



al. 2022). Meskipun hubungan kausal tidak dapat disimpulkan secara langsung dari data metabolomik, konsistensi pola antara perubahan metabolit, penekanan penyakit, dan peningkatan hasil rimpang menunjukkan adanya keterkaitan fungsional. Namun, validasi lebih lanjut menggunakan analisis LC-MS/HRMS bertarget dengan larutan standar maupun uji fungsional lainnya masih diperlukan untuk mengonfirmasi hubungan kausal antara metabolit-metabolit tersebut dengan penurunan nilai AUDPC dan peningkatan produksi rimpang.

Asam lemak tak jenuh ganda (*poly-unsaturated fatty acids*, PUFA), yang secara putatif dianotasi sebagai asam linolenelaidat, meningkat signifikan pada perlakuan *Fusarium keratoplasticum* dan *Diaporthe ueckeri*. Senyawa ini merupakan isomer yang berhubungan dengan turunan asam linoleat/linolenat dan diketahui berperan dalam jalur pensinyalan stres serta pertahanan tanaman (He dan Ding 2020). Feoforbida juga meningkat pada kedua perlakuan tersebut dan menunjukkan korelasi negatif sedang dengan AUDPC. Senyawa ini merupakan intermediat degradasi klorofil yang sering dikaitkan dengan respons tanaman terhadap stres dan mekanisme pertahanan (Zribi *et al.* 2024; Karami *et al.* 2025). Namun, kedua metabolit tersebut tidak menunjukkan korelasi yang signifikan dengan AUDPC maupun hasil rimpang, sehingga akumulasinya kemungkinan lebih mencerminkan respons metabolik spesifik yang dipicu oleh kolonisasi *F. keratoplasticum* dan *D. ueckeri* dibandingkan sebagai penanda langsung penekanan penyakit atau peningkatan produktivitas tanaman.

Temuan penelitian ini menunjukkan bahwa penekanan penyakit bercak daun pada jahe tidak ditentukan oleh satu pola metabolit tertentu yang bersifat umum pada semua perlakuan. Sebaliknya, setiap isolat cendawan endofit daun mampu memicu perubahan profil metabolit tanaman yang berbeda-beda. Perubahan tersebut kemudian membentuk respons pertahanan yang spesifik, sehingga memengaruhi kemampuan tanaman dalam menekan penyakit maupun mempertahankan produktivitasnya melalui mekanisme yang beragam.

Penelitian ini dilakukan pada kondisi lingkungan terkontrol di rumah kaca dan difokuskan pada tahap awal kolonisasi serta gambaran profil metabolom pada satu titik waktu tertentu. Oleh karena itu, aspek seperti persistensi endofit dalam jangka panjang, efektivitasnya di lapangan, serta hubungan kausal langsung antara perubahan metabolit dan ketahanan tanaman masih perlu dikaji lebih lanjut. Penelitian yang mengintegrasikan kuantifikasi metabolit secara tertarget menggunakan LC-MS/HRMS, aplikasi metabolit secara eksogen, pendekatan berbasis inhibitor, maupun analisis ekspresi gen terkait pertahanan tanaman diharapkan dapat memberikan pemahaman yang lebih mendalam mengenai mekanisme ketahanan yang dimediasi cendawan endofit, khususnya yang berkaitan dengan jalur JA/Pip, pada penelitian selanjutnya.

5.6 Simpulan

Cendawan endofit asal Zingiberaceae mampu kolonisasi pada jaringan daun jahe sejak 5 hari setelah inokulasi dan memengaruhi profil metabolit daun. Respons metabolik yang diinduksi bersifat spesifik terhadap spesies cendawan endofit. *Phyllosticta capitalensis* (E3) dikaitkan dengan peningkatan asam piperolat (Pip). *Colletotrichum gigasporum* (E2) berkaitan dengan peningkatan asam jasmonat (JA) baik sebelum maupun setelah inokulasi patogen. Pip dan JA memiliki korelasi negatif kuat dengan AUDPC dan positif dengan bobot basah

rimpang. Perbedaan respons metabolik tersebut sejalan dengan variasi tingkat penekanan penyakit bercak daun dan produksi rimpang yang diamati pada masing-masing perlakuan, sehingga mengindikasikan adanya hubungan antara kolonisasi cendawan endofit, modulasi metabolisme tanaman, dan performa tanaman jahe.

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



VI PEMBAHASAN UMUM

Proxipyricularia zingiberis memulai infeksi melalui penyebaran konidia, pada permukaan daun basah konidia mampu berkecambah dan membentuk apresorium setelah 48 jam. Meskipun dalam penelitian ini tidak diamati secara detail proses infeksi cendawan ini, namun berdasarkan karakter gejala yang muncul *P. zingiberis* diduga memiliki strategi infeksi hemibiotrof. Patogen hemibiotrof menerapkan dua strategi berbeda saat menginvasi tanaman. Pada fase penetrasi awal yang bersifat biotrof, patogen tumbuh dan menyerap nutrisi dari sel-sel hidup. Setelah kolonisasi jaringan berhasil secara masif, patogen beralih ke fase nekrotrof dengan cara mematikan jaringan tanaman dan memanfaatkan sel mati tersebut sebagai sumber nutrisi (Hyde *et al.* 2016).

Cendawan endofit daun merupakan komponen mikrobioma tanaman yang membentuk hubungan jangka panjang dengan inangnya melalui proses kolonisasi jaringan tanpa menimbulkan gejala penyakit. Berbeda dengan patogen, cendawan endofit memasuki jaringan tanaman, kemudian berkembang secara interseluler maupun intraseluler dengan tetap menjaga keseimbangan interaksi bersama inang. Kemampuan ini dimungkinkan oleh mekanisme modulasi sistem imun tanaman yang mencegah aktivasi respons pertahanan penuh, sehingga kolonisasi dapat berlangsung secara laten (Bhattacharya *et al.* 2020; Magday *et al.* 2023, 2024). Penelitian ini menunjukkan bahwa daun Zingiberaceae merupakan habitat bagi berbagai cendawan endofit dengan karakteristik biologis dan fungsi yang beragam. Dominasi genus seperti *Colletotrichum*, *Phyllosticta*, dan *Diaporthe* menunjukkan bahwa kelompok cendawan tersebut memiliki kemampuan adaptasi yang baik terhadap lingkungan internal tanaman inang.

Sebagian genus yang ditemukan pada penelitian ini diketahui memiliki anggota yang bersifat patogen maupun endofit, terutama *Colletotrichum* dan *Fusarium*. Namun, hasil uji keamanan hayati menunjukkan bahwa sebagian besar isolat yang diperoleh bersifat nonpatogenik terhadap tanaman jahe. Hal tersebut menunjukkan bahwa status ekologis cendawan sangat dipengaruhi oleh konteks interaksi dengan inang dan lingkungan. Cendawan yang secara taksonomi dekat dengan patogen dapat berkembang sebagai simbiosis mutualistik yang hidup tanpa menyebabkan kerusakan jaringan pada kondisi tertentu (Photita *et al.* 2004; Chambard *et al.* 2026; Zhang *et al.* 2026).

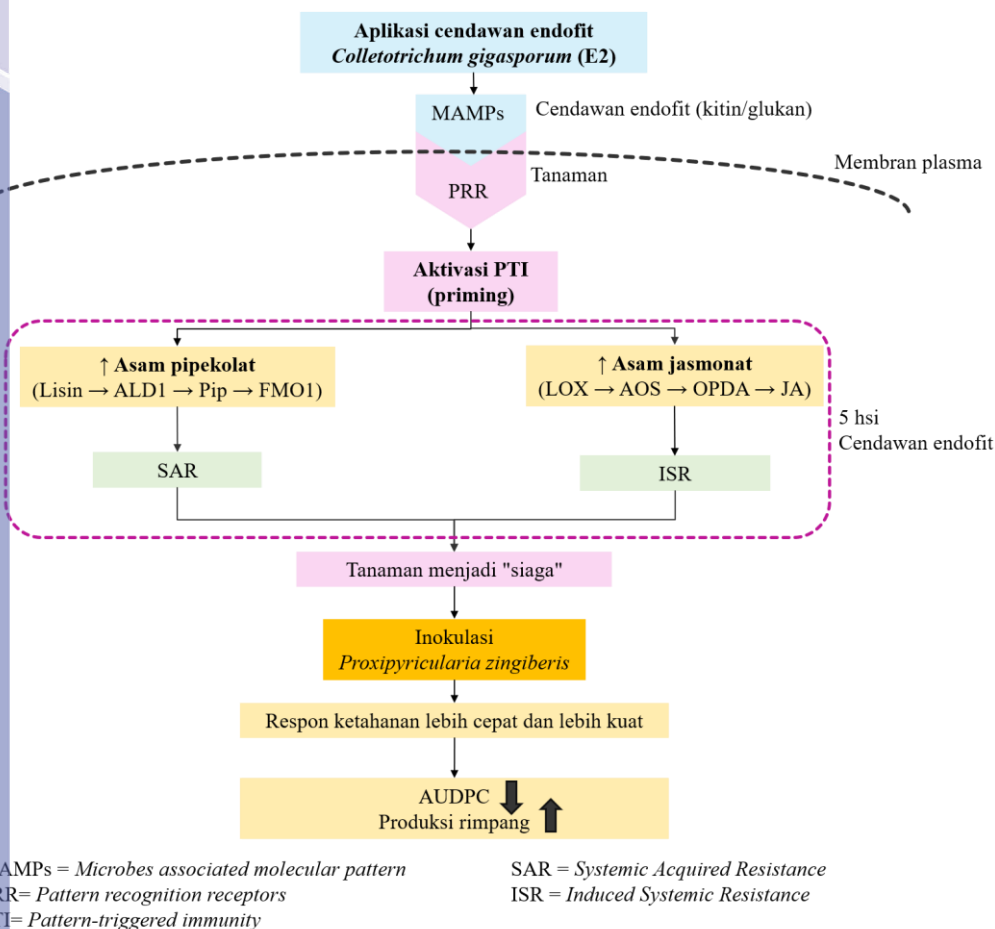
Tahapan seleksi isolat menggunakan pendekatan bertingkat melalui uji keamanan hayati, antagonisme *in vitro*, produksi enzim hidrolitik, produksi IAA, serta metode AHP memungkinkan diperolehnya isolat potensial secara lebih komprehensif. Pendekatan ini menunjukkan bahwa efektivitas agens pengendali hayati tidak ditentukan hanya oleh satu karakter tunggal, tetapi merupakan kombinasi dari berbagai sifat biologis. Kemampuan menghambat *P. zingiberis* secara *in vitro* menunjukkan bahwa cendawan endofit memiliki potensi antagonistik melalui berbagai mekanisme, terutama kompetisi ruang dan nutrisi serta antibiosis (Zhou *et al.* 2026; Mapuranga dan Yang 2026). Produksi enzim hidrolitik seperti kitinase dan glukukanase juga mengindikasikan adanya kemampuan degradasi struktur dinding sel patogen yang dapat mendukung aktivitas antagonistik (Wang *et al.* 2025b; Zhou *et al.* 2026).

Meskipun demikian, hasil penelitian menunjukkan bahwa kemampuan antagonisme *in vitro* tidak selalu secara langsung mencerminkan efektivitas pengendalian penyakit pada tanaman. Pengujian *in planta* memperlihatkan bahwa beberapa isolat yang memiliki daya hambat tinggi secara *in vitro* tidak selalu memberikan penekanan penyakit tertinggi pada tanaman. Hal ini menunjukkan bahwa keberhasilan pengendalian hayati pada kondisi tanaman dipengaruhi oleh faktor yang lebih kompleks, termasuk kemampuan kolonisasi jaringan tanaman, adaptasi terhadap lingkungan internal inang, serta kapasitas memodulasi respons fisiologis tanaman. Dengan demikian, interaksi antara cendawan endofit, tanaman, dan patogen merupakan sistem biologis yang dinamis dan tidak dapat sepenuhnya dijelaskan hanya melalui pengujian antagonisme laboratorium.

Cendawan endofit terbukti sebagai strategi pengendalian yang efektif, menurunkan AUDPC sekaligus meningkatkan produksi rimpang. Cendawan endofit diduga mempersiapkan sistem pertahanan tanaman melalui mekanisme priming. Cendawan endofit mampu kolonisasi dan hidup di dalam jaringan daun jauh sebelum konidia *P. zingiberis* berkecambah. Cendawan endofit tidak menunggu tanaman sakit (fase nekrotrof), melainkan bekerja secara preventif di dalam jaringan. Target utamanya adalah mencegah pembentukan atau perkembangan fase biotrof patogen. Jika fase biotrof ini berhasil dihambat secara total, patogen *P. zingiberis* tidak akan bisa mengkolonisasi jaringan ataupun beralih ke fase nekrotrof yang mematikan sel tanaman.

Model mekanisme yang mungkin terjadi dalam penelitian ini digambarkan dalam Gambar 6.1. Tanaman jahe akan mengenali *Microbes associated molecular patterns* (MAMPs) dari cendawan endofit yang berupa kitin. Proses ini kemudian menginduksi terjadinya *PAMPs triggered immunity* (PTI) pada tanaman, sehingga tanaman berada dalam kondisi siaga. Ketika *P. zingiberis* dinokulasi tanaman akan merespon dengan lebih cepat dalam menghadapi infeksi patogen, suatu kondisi yang dikenal sebagai *defense priming*. *Defense priming* yang diinduksi oleh cendawan endofit meningkatkan kesiagaan sistem imun tanaman tanpa menimbulkan biaya fisiologis yang tinggi, sehingga tanaman dapat mengalokasikan sumber daya secara lebih efisien untuk pertumbuhan dan produktivitas (Conrath 2011; Mauch-Mani *et al.* 2017).

Pada lima hari setelah inokulasi cendawan endofit, beberapa senyawa terkait ketahanan meningkat, terutama Asam pipemat (Pip) dan Asam Jasmonat (JA). Meskipun status identifikasinya masih bersifat dugaan (*putative*), kedua metabolit ini merupakan indikator metabolik yang kuat dari kondisi *defense priming*. Pip adalah asam amino non-protein hasil katabolisme lisin yang bertindak sebagai regulator kunci dan sinyal seluler untuk memicu status siaga (*defense priming*). Senyawa ini sangat krusial dalam induksi *Systemic Acquired Resistance* (SAR) (Kumari *et al.* 2025). Dalam jalur SAR, Pip terakumulasi secara sistemik untuk menginduksi status siaga melalui konversi menjadi *N-hydroxy-pipecolic acid* (NHP) yang mengaktifasi ekspresi gen pertahanan. Berbeda dengan asam salisilat (SA) yang telah lama dikenal sebagai penginduksi SAR, peran Pip baru dilaporkan secara intensif dalam satu dekade terakhir. Bahkan, literatur menyebutkan bahwa Pip memiliki peran yang lebih unggul dibandingkan SA dalam aktivasi SAR, serta mampu bekerja melalui jalur yang bergantung (*dependent*) maupun tidak bergantung (*independent*) terhadap SA (Pazarlar *et al.* 2021).



Gambar 6.1 Prediksi mekanisme peningkatan ketahanan tanaman jahe terhadap penyakit bercak daun oleh cendawan endofit

Sementara itu, asam jasmonat (JA) merupakan fitohormon golongan oksilipin yang bertindak sebagai regulator utama dalam jalur pertahanan *Induced Systemic Resistance* (ISR) (Danso *et al.* 2025). Peningkatan akumulasi JA pada 5 HSI mengindikasikan terjadinya aktivasi sinyal *downstream* melalui faktor transkripsi seperti *MYC2*. Proses ini memicu ekspresi gen pertahanan untuk menyintesis fitoaleksin dan protein terkait patogenesis (protein PR) yang siap menghambat serangan patogen. Secara umum, jalur JA sangat efektif untuk menahan serangan patogen bertipe nekrotrof yang merusak jaringan.

Menariknya, akumulasi simultan antara Pip (jalur SAR) dan JA (jalur ISR) mengindikasikan adanya fenomena *cross-talk* atau sinergi pertahanan berlapis. Sinergi antara modulasi SAR oleh Pip dan ISR oleh JA menciptakan efek perlindungan ganda. Ketika konidia *P. zingiberis* menginfeksi tanaman, sistem imun inang sudah berada dalam status siaga penuh (*fully primed state*) untuk membendung perkembangan fase biotrof awal patogen (melalui penguatan berbasis Pip) sekaligus memotong kemampuan patogen saat akan beralih ke fase nekrotrof yang destruktif (melalui kesiapan pertahanan berbasis JA).

Temuan metabolomik dalam penelitian ini memberikan dimensi baru dalam memahami mekanisme interaksi antara cendawan endofit, tanaman jahe, dan *P. zingiberis*. Meskipun demikian, penelitian ini masih memiliki beberapa

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

keterbatasan. Pertama, identifikasi metabolit dilakukan pada tingkat kepercayaan MSI Level 2, sehingga seluruh anotasi masih bersifat putatif dan memerlukan konfirmasi menggunakan standar autentik melalui pendekatan metabolomik bertarget. Kedua, hubungan antara perubahan metabolit, penekanan penyakit, dan peningkatan produktivitas yang ditemukan dalam penelitian ini bersifat korelatif dan belum dapat diklaim sebagai hubungan kausal. Ketiga, seluruh pengujian dilakukan dalam kondisi terkontrol di rumah kaca sehingga generalisasi terhadap kondisi lapangan perlu dilakukan dengan kehati-hatian, mengingat efektivitas agens hayati di lapangan dipengaruhi oleh berbagai faktor abiotik dan biotik yang lebih kompleks. Keempat, pengamatan kolonisasi cendawan endofit difokuskan pada tahap awal dan belum mencakup persistensi jangka panjang maupun distribusi spasial endofit dalam jaringan daun. Kelima, pengujian keamanan hayati yang dilakukan masih terbatas pada kisaran inang tertentu, sehingga potensi patogenisitas laten pada inang lain belum dapat sepenuhnya dikesampingkan.

Terlepas dari batasan tersebut, penelitian ini memberikan kontribusi ilmiah yang signifikan pada beberapa aspek. Dari perspektif ilmu pengetahuan, penelitian ini merupakan kajian pertama yang secara terintegrasi mengkaji potensi biokontrol cendawan endofit daun asal Zingiberaceae terhadap *P. zingiberis* sekaligus mengkarakterisasi respons metabolomik tanaman jahe terhadap kolonisasi endofit dan infeksi patogen. Pendekatan integrasi ini membuka dimensi baru dalam pemahaman mekanisme interaksi tripartit antara tanaman, endofit, dan patogen yang selama ini masih belum banyak dieksplorasi khususnya pada tanaman obat. Dari perspektif aplikasi, identifikasi *C. gigasporum* sebagai isolat dengan performa terbaik, yang menggabungkan kemampuan antagonisme, kolonisasi, penekanan penyakit, peningkatan produktivitas, dan asosiasi dengan *defense priming* melalui jalur JA, membuka peluang pengembangan bioformulasi yang ramah lingkungan untuk sistem budidaya jahe. Dalam konteks yang lebih luas, pengendalian penyakit bercak daun yang efektif tanpa residu fungisida memiliki relevansi tinggi bagi industri jamu dan fitofarmaka yang semakin menuntut bahan baku jahe yang berkualitas tinggi dan minim residu kimia.

Beberapa arah penelitian lanjutan perlu diprioritaskan untuk mengisi kesenjangan yang masih ada. Validasi metabolit JA dan Pip menggunakan pendekatan *targeted* LC-MS/HRMS dengan standar autentik merupakan langkah pertama yang paling utama untuk mengonfirmasi identitas dan kuantifikasi senyawa-senyawa kunci tersebut. Analisis ekspresi gen yang terkait dengan jalur biosintesis JA dan Pip, seperti gen *AOS* (*Allene Oxide Synthase*), *OPR3* (*12-Oxophytodienoate Reductase 3*), dan *ALD1* (*AGD2-Like Defense Response Protein 1*), akan memberikan bukti molekuler yang memperkuat interpretasi *defense priming* yang ditemukan dalam penelitian ini. Selain itu, aplikasi eksogen JA dan Pip pada tanaman jahe yang diinokulasi *P. zingiberis* dapat digunakan untuk menguji secara langsung apakah kedua metabolit tersebut memang berperan kausal dalam penekanan penyakit.



VII SIMPULAN DAN SARAN UMUM

7.1 Simpulan Umum

@Hak cipta milik IPB University

Daun tanaman Zingiberaceae merupakan habitat bagi berbagai cendawan endofit dengan keanekaragaman dan potensi biologis yang tinggi. Terdapat isolat cendawan endofit yang potensial untuk menekan penyakit bercak daun. Delapan isolat cendawan endofit terpilih yang diaplikasi ke tanaman jahe mampu mengkolonisasi jaringan daun jahe dan memengaruhi profil metabolit daun secara spesifik isolat. Isolat *Colletotrichum gigasporum* (E2) menunjukkan performa terbaik karena mampu menekan keparahan penyakit bercak daun dan meningkatkan bobot rimpang jahe.

7.2 Saran Umum

1. Hasil penelitian ini masih bersifat korelatif dan identifikasi senyawa metabolit masih bersifat putatif. Oleh karena itu, untuk memastikan hubungan kausal antara penekanan AUDPC maupun peningkatan produksi rimpang dengan peningkatan JA dan Pip, masih diperlukan validasi lebih lanjut, antara lain melalui pendekatan metabolomik bertarget, analisis ekspresi gen terkait, maupun aplikasi eksogen JA atau Pip pada tanaman jahe.
2. Penelitian lanjutan perlu dilakukan untuk mengevaluasi kisaran inang cendawan endofit sebagai bagian dari kajian keamanan hayati. Hal ini penting mengingat beberapa spesies cendawan endofit diketahui dapat bersifat oportunistik atau berkembang sebagai patogen laten pada inang dan kondisi lingkungan tertentu. Selain itu, kemampuan kolonisasi jangka panjang serta efektivitasnya pada kondisi lapangan juga perlu dikaji lebih lanjut sebelum aplikasi yang lebih luas.

DAFTAR PUSTAKA

- Abed-Ashtiani F, Kadir J, Nasehi A, and others. 2016. Occurrence of leaf spot or blast on ginger (*Zingiber officinale*) caused by *Pyricularia zingiberi* in Malaysia. *Plant Disease*. 100:1505. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-16-0122-PDN>
- Abeyssekara NS, Swaminathan S, Desai N, and others. 2016. The plant immunity inducer pipelicolic acid accumulates in the xylem sap and leaves of soybean seedlings following *Fusarium virguliforme* infection. *Plant Science*. 243:105–114. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.11.008>
- Adeleke BS, Ayilara MS, Akinola SA, and Babalola OO. 2022. Biocontrol mechanisms of endophytic fungi. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. 32. <https://doi.org/10.1186/s41938-022-00547-1>
- Adeniji AA, Babalola OO, and Loots DT. 2020. Metabolomic applications for understanding complex tripartite plant-microbes interactions: Strategies and perspectives. *Biotechnology Reports*. 25:e00425. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00425>
- Akram S, Ahmed A, He P, and others. 2023. Uniting the role of endophytic fungi against plant pathogens and their interaction. *Journal of Fungi*. 9. <https://doi.org/10.3390/jof9010072>
- Aktas E, and Yigit N. 2015. Hemolytic activity of dermatophytes species isolated from clinical specimens. *Journal de Mycologie Médicale*. 25:e25–e30. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2014.10.014>
- Allwood JW, Ellis DI, and Goodacre R. 2008. Metabolomic technologies and their application to the study of plants and plant-host interactions. *Physiologia Plantarum*. 132:117–135. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.01001.x>
- Amaria W, Sinaga MS, Mutaqin KH, and others. 2024. Bacterial biocontrol potential against *Rigidoporus microporus*: Hydrolytic enzyme activity and antibiotic inhibition. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 23:289–299. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2023.12.006>
- Arnold AE. 2007. Understanding the diversity of foliar endophytic fungi: Progress, challenges, and frontiers. *Fungal Biology Reviews*. 21:51–66.
- Arnold AE, Carlos Mejía L, Kyllö D, and others. 2003. Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 100(26):15649–15654. <https://doi.org/10.1073/pnas.2533483100>
- Arnold AE, Maynard Z, Gilbert GS, and others. 2000. Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? *Ecology Letters*. 3:267–274. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2000.00159.x>
- Azeez AA, Wen Z, and Asiegbu FO. 2026. Antibiosis and transcriptomic analysis of inhibitory effect of the endophytic fungus *Simplicillium lamellicola* against phytopathogenic fungi. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 141:103034. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2025.103034>
- Azizah N, Purnamaningsih SL, and Fajriani S. 2019. Land characteristics impact productivity and quality of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) in Java,

Indonesia. *Agrivita*. 41:439–449.
<https://doi.org/10.17503/agrivita.v41i3.2321>

- Baczkowski A, Joanes D, and Shamia G. 1997. Properties of a generalized diversity index. *Journal of Theoretical Biology*. 188:207–213.
- Balmer A, Pastor V, Gamir J, Flors V, and Mauch-Mani B. 2015. The “prime-ome”: Towards a holistic approach to priming. *Trends Plant Science*. 20:443–452.
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.04.002>
- Bermawie N, and Purwiyanti S. 2011. Botani, sistematika dan keragaman kultivar jahe. In: Supriyadi *et al.* eds. *Monograf Jahe, Status Teknologi Hasil Penelitian Jahe*. Bogor: Balitro. pp. 1–19.
- Bhattacharya S, Debnath S, and Saha AK. 2020. Diversity and endophytic fungal composition in *Ananas comosus* (L.) Merr. var. Queen cultivar isolated from three different growing conditions. *Studies in Fungi*. 5:310–319.
<https://doi.org/10.5943/sif/5/1/13>
- BPS-Kementerian Pertanian. 2025. Produksi tanaman biofarmaka menurut provinsi dan jenis tanaman. Accessed 11 May 2026.
- Campbell CL, and Madden LV. 1990. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. New York: John Wiley Sons.
- Cannon PF, Damm U, Johnston PR, and Weir BS. 2012. *Colletotrichum*: Current status and future directions. *Studies in Mycology*. 73:181–213.
<https://doi.org/10.3114/sim0014>
- Carbone I, and Kohn LM. 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia*. 91:553–556.
<https://doi.org/10.2307/3761358>
- Card S, Johnson L, Teasdale S, and Caradus J. 2016. Deciphering endophyte behaviour: The link between endophyte biology and efficacious biological control agents. *FEMS Microbiology Ecology*. 92:fiw114.
<https://doi.org/10.1093/femsec/fiw114>
- Castro-Moretti FR, Gentzel IN, Mackey D, and Alonso AP. 2020. Metabolomics as an emerging tool for the study of plant–pathogen interactions. *Metabolites*. 10:52. <https://doi.org/10.3390/metabo10020052>
- Chambard M, Cantù D, Bortolami G, and others. 2026. Fungal pathogen activity and stress-dependent responses of grapevine wood to esca and drought. *Physiologia Plantarum*. 178:e70914. <https://doi.org/10.1111/ppl.70914>
- Chen D, Wang R, Niu J, and others. 2025. PpMYB102 as a central regulator of pipecolic acid-induced defense against *Monilinia fructicola* brown rot in peach fruit. *Scientia Horticulturae*. 350:114318.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2025.114318>
- Chen XL, Sun MC, Chong SL, and others. 2022. Transcriptomic and metabolomic approaches deepen our knowledge of plant–endophyte interactions. *Frontiers in Plant Science*. 12:700200. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.700200>
- Conrath U. 2011. Molecular aspects of defence priming. *Trends Plant Science*. 16:524–531. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.06.004>

- da Silva JSA, Alves VCS, da Silva SF, and others. 2024. *Diaporthe ueckeri* causing cassava root rot in Pernambuco, Brazil. *Crop Protection*. 184:106811. <https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2024.106811>
- Danso AO, Su W, Zheng T, and others. 2025. Jasmonic acid (JA) signaling pathway in rice defense against *Chilo suppressalis* infestation. *Rice*. 18:7. <https://doi.org/10.1186/s12284-025-00761-z>
- Dauda AO, and Abiodun OA. 2017. Comparative study of the effect of dry and wet ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) spice on the proximate and microbial safety of soybean beverage. *Croatian Journal of Food Science and Technology*. 9:130–135. <https://doi.org/10.17508/CJFST.2017.9.2.07>
- Dean R, Van Kan JAL, Pretorius ZA, *et al.* 2012. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol.* 13:414–430. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>
- De Meyer G, Capieau K, Audenaert K, and others. 1999. Nanogram amounts of salicylic acid produced by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 activate the systemic acquired resistance pathway in bean. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 12:450–458.
- Dettmer K, Aronov PA, and Hammock BD. 2007. Mass spectrometry-based metabolomics. *Mass Spectrometry Reviews*. 26:51–78.
- Dhakshinamoorthy M, Kilavan Packiam K, Kumar PS, and Saravanakumar T. 2021. Endophytic fungus *Diaporthe caatingaensis* MT192326 from *Buchanania axillaris*: An indicator to produce biocontrol agents in plant protection. *Environmental Research*. 197:111147. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111147>
- Doyle J. 1991. DNA protocols for plants. In: Hewitt GM, Johnston AWB, and Young JPW, eds. *Molecular Techniques in Taxonomy*. Berlin: Springer Berlin Heidelberg. pp. 283–293.
- Dupont PY, Eaton CJ, Wargent JJ, and others. 2015. Fungal endophyte infection of ryegrass reprograms host metabolism and alters development. *New Phytologist*. 208:1227–1240. <https://doi.org/10.1111/nph.13614>
- Dutta R, and Banerjee D. 2024. Plant growth promoting activity of *Colletotrichum* sp., an endophyte of *Helicteres isora* L. and its growth optimization using response surface methodology. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 18:332–346. <https://doi.org/10.22207/JPAM.18.1.17>
- Fadiji AE, and Babalola OO. 2020. Exploring the potentialities of beneficial endophytes for improved plant growth. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 27:3622–3633. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00467>
- Fang C, Luo J, and Wang S. 2019. The diversity of nutritional metabolites: Origin, dissection, and application in crop breeding. *Frontiers in Plant Science*. 10:1028. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01028>
- FAO. 2026. The average production share of ginger by region from 2020 to 2024. Accessed 11 May 2026.
- Fernández-Bautista N, Domínguez-Núñez J, Moreno MM, and Berrocal-Lobo M. 2016. Plant tissue trypan blue staining during phytopathogen infection. *Bio-Protocol*. 6:1–7. <https://doi.org/10.21769/bioprotoc.2078>



- Ferro LO, Bezerra JDP, da Silva TM, and others. 2024. Endophytic *Diaporthe* species from Brazil. *Fungal Systematics and Evolution*. 14:251–269. <https://doi.org/10.3114/fuse.2024.14.16>
- Fiehn O. 2002. Metabolomics—the link between genotypes and phenotypes. *Plant Molecular Biology*. 48:155–171. <https://doi.org/10.1023/A:1013713905833>
- Fu ZQ, and Dong X. 2013. Systemic acquired resistance: Turning local infection into global defense. *Annual Review of Plant Biology*. 64:839–863. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105606>
- Fujita SI, Senda Y, Nakaguchi S, and Hashimoto T. 2001. Multiplex PCR using internal transcribed spacer 1 and 2 regions for rapid detection and identification of yeast strains. *Journal of Clinical Microbiology*. 39:3617–3622. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.10.3617-3622.2001>
- Ginting R, Sukarno N, Widyastuti U, and others. 2013. Diversity of endophytic fungi from red ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) plant and their inhibitory effect to *Fusarium oxysporum* plant pathogenic fungi. *Hayati Journal of Biosciences*. 20:127–137. <https://doi.org/10.4308/HJB.20.3.127>
- Gladieux P, Condon B, Ravel S, Soanes D, Maciel JLN, Nhani A, et al. 2018. Gene flow between divergent cereal- and grass-specific lineages of the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *mBio* 9:e0121917. <https://doi.org/10.1128/mBio.01219-17>
- Glazebrook J. 2005. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 43:205–227. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.040204.135923>
- Glass NL, and Donaldson GC. 1995. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology*. 61:1323–1330. <https://doi.org/10.1128/aem.61.4.1323-1330.1995>
- González-Teuber M, Vilo C, Guevara-Araya MJ, and others. 2020. Leaf resistance traits influence endophytic fungi colonization and community composition in a South American temperate rainforest. *Journal of Ecology*. 108:1019–1029. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13314>
- Gore S, Singh S, Swarnkar P, and Rathore KS. 2025. Endophyte mediated plant defence responses and their potential against pathogenic bacteria and fungi. *Discover Plants*. 2:331. <https://doi.org/10.1007/s44372-025-00429-4>
- Grabka R, D'entremont TW, Adams SJ, and others. 2022. Fungal endophytes and their role in agricultural plant protection against pests and pathogens. *Plants*. 11:384. <https://doi.org/10.3390/plants11030384>
- Guarnaccia V, Groenewald JZ, Li H, and others. 2017. First report of *Phyllosticta citricarpa* and description of two new species, *P. paracapitalensis* and *P. paracitricarpa*, from citrus in Europe. *Studies in Mycology*. 87:161–185. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2017.05.003>
- Gupta S, Choudhary M, Singh B, and others. 2022. Diversity and biological activity of fungal endophytes of *Zingiber officinale* Rosc. with emphasis on *Aspergillus terreus* as a biocontrol agent of its leaf spot. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 39:102234. <https://doi.org/10.1016/j.cbab.2021.102234>

- Gupta S, and Saxena S. 2025. Endophytic *Diaporthe citrichinensis* as a new source to alleviate post-harvest fungal infections in apple (*Malus × domestica* Borkh.). *International Journal of Food Microbiology*. 440:111289. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2025.111289>
- Hardoim PR, van Overbeek LS, Berg G, and others. 2015. The hidden world within plants: Ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 79:293–320. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00050-14>
- Harsonowati W, Marian M, Surono M, and Narisawa K. 2020. The effectiveness of a dark septate endophytic fungus, *Cladophialophora chaetospora* SK51, to mitigate strawberry fusarium wilt disease and with growth promotion activities. *Frontiers in Microbiology*. 11:585. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00585>
- Hartati S, Djiwanti S, Wahyuno D, and Manohara D. 2011. Penyakit penting pada tanaman jahe. In: Supriadi, ed. *Monograf Jahe, Status Teknologi Hasil Penelitian Jahe*. Bogor: Balittro. pp. 86–110.
- He M, and Ding NZ. 2020. Plant unsaturated fatty acids: Multiple roles in stress response. *Frontiers in Plant Science*. 11:562785. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.562785>
- Heidari Z, Moradi L, Farhangiyan Z, and others. 2026. The effects of ginger (*Zingiber officinale*) supplementation on the hormonal profile, hirsutism, amenorrhea, dysmenorrhea, and hair loss in women with polycystic ovary syndrome: A randomized double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of Functional Foods*. 141:107316. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2026.107316>
- Hilário S, and Gonçalves MFM. 2022. Endophytic *Diaporthe* as promising leads for the development of biopesticides and biofertilizers for a sustainable agriculture. *Microorganisms*. <https://doi.org/10.2453/10.3390/microorganisms10122453>
- Hu H, Xie J, Chen X, and others. 2026. Integrated metabolomic and transcriptomic analysis unveils the molecular mechanism of tobacco growth promotion mediated by endophytic fungi. *Industrial Crops and Products*. 239:122471. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2025.122471>
- Hyde KD, Norphanphoun C, Maharachchikumbura SS, Alves A, Zhang M, and McKenzie EH. 2016. Defining biotrophs and hemibiotrophs. *Mycosphere Essays* 7(5): 546-561.
- Iriarte FB, Urbina H, Paez CA, and others. 2025. First report of canker and dieback caused by *Diaporthe ueckeri* in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) in Florida. *Plant Health Progress*. <https://doi.org/10.1094/PHP-02-25-0072-BR>
- Jansen JJ, Allwood JW, Marsden-Edwards E, and others. 2009. Metabolomic analysis of the interaction between plants and herbivores. *Metabolomics*. 5:150–161. <https://doi.org/10.1007/s11306-008-0124-4>
- Jayawardena RS, Bhunjun CS, Hyde KD, and others. 2021. *Colletotrichum*: Lifestyles, biology, morpho-species, species complexes and accepted species. *Mycosphere*. 12:519–669. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/12/1/7>
- Jiang Z, Peng F, Yu J, and Li Q. 2025. Plant growth-promoting effects and possible mechanisms of a plant endophytic fungus *Aureobasidium* sp. JRF1. *Plant*

Physiology and Biochemistry. 222:109724.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2025.109724>

- Karami S, Shiran B, and Ravash R. 2025. Molecular investigation of how drought stress affects chlorophyll metabolism and photosynthesis in leaves of C3 and C4 plant species: A transcriptome meta-analysis. *Heliyon*. 11. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2025.e42368>
- Kessler A, and Kalske A. 2026. Plant secondary metabolite diversity and species interactions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 49:115–138. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110617>
- Khare E, Mishra J, and Arora NK. 2018. Multifaceted interactions between endophytes and plant: Developments and prospects. *Frontiers in Microbiology*. 9:2732. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02732>
- Kobayashi T. 1993. White leaf blight, *Phyllosticta zingiberi* Hori. In: Kobayashi T, ed. *Diagnostic Manual for Industrial Crop Disease in Indonesia*. JICA-ISMCR, Bogor.
- Kotani S. 1994. Disease cycle of blast of ginger and mioga caused by *Pyricularia zingiberi* Nishikado. *Japanese Journal of Phytopathology*. 60:644–647. <https://doi.org/10.3186/jjphytopath.60.644>
- Kotani S, and Kurata M. 1992. Black blotch of ginger rhizome by *Pyricularia zingiberi* Nishikado. *Japanese Journal of Phytopathology*. 58:469–472. <https://doi.org/10.3186/jjphytopath.58.469>
- Kumari M, Sharma P, and Singh A. 2025. Pipecolic acid: A positive regulator of systemic acquired resistance and plant immunity. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*. 1869:130808.
- Kusari S, Hertweck C, and Spiteller M. 2012. Chemical ecology of endophytic fungi: Origins of secondary metabolites. *Chemistry and Biology*. 19:792–798. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2012.06.004>
- Lamb A, Gobilik J, Ardiyani M, and Poulsen AD. 2013. *A Guide to Gingers of Borneo*. Kota Kinabalu: Natural History Publications.
- Li C jie, Gao J hui, and Nan Z biao. 2007. Interactions of *Neotyphodium gansuense*, *Achnatherum inebrians*, and plant-pathogenic fungi. *Mycological Research*. 111:1220–1227. <https://doi.org/10.1016/J.MYCRES.2007.08.012>
- Li C, Xu M, Cai X, and others. 2022. Jasmonate signaling pathway modulates plant defense, growth, and their trade-offs. *International Journal of Molecular Sciences*. 23:3945. <https://doi.org/10.3390/ijms23073945>
- Liang L, Fu Y, Deng S, and others. 2022. Genomic, antimicrobial, and aphicidal traits of *Bacillus velezensis* ATR2, and its biocontrol potential against ginger rhizome rot disease caused by *Bacillus pumilus*. *Microorganisms*. 10. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10010063>
- Liao C, Doilom M, Jeewon R, and others. 2025. Challenges and update on fungal endophytes: Classification, definition, diversity, ecology, evolution and functions. *Fungal Diversity*. 131:301–367. <https://doi.org/10.1007/s13225-025-00550-5>
- Macan GPF, Khalil S, Kalyandurg PB, and others. 2022. A detached leaf assay for rapidly screening plant pathogen-biological control agents. In: Luchi N, ed.

Plant Pathology: Methods and Protocols. New York: Springer US. pp. 449–458.

- Macioszek VK, Jęcz T, Ciereszko I, and Kononowicz AK. 2023. Jasmonic acid as a mediator in plant response to necrotrophic fungi. *Cells*. 12:1027. <https://doi.org/10.3390/cells12071027>
- Magday JC, Alejandro GJD, Bungihan ME, and Dela Cruz TEE. 2023. Diversity of fungal endophytes associated with the Philippine endemic ginger *Vanoverberghia sepulchrei* Merr. (Zingiberaceae). *Asian Journal of Mycology*. 6:244–270. <https://doi.org/10.5943/ajom/6/2/8>
- Magday JC, Alejandro GJD, Bungihan ME, and dela Cruz TEE. 2024. An annotated checklist of fungal endophytes associated with Southeast Asian Zingiberaceae. *Philippine Journal of Systematic Biology*. 18:59–70. <https://doi.org/10.26757/pjsb202418008>
- Majhi P, Pradhan U, Toppo A, and Shukla AK. 2025. Fungal endophytes: An insight into diversity, stress tolerance, biocontrol and plant growth-promoting potentials. *Current Microbiology*. 82:283. <https://doi.org/10.1007/s00284-025-04266-2>
- Maknurah J, and Sinaga S. 2018. Eksplorasi dan karakterisasi khamir dan bakteri sebagai agens antagonis terhadap penyebab penyakit blas pada padi. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 14:83–88. <https://doi.org/10.14692/jfi.14.3.88>
- Manganyi MC, and Ateba CN. 2020. Untapped potentials of endophytic fungi: A review of novel bioactive compounds with biological applications. *Microorganisms*. 8:1–25. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8121934>
- Manners JM, Penninckx IAMA, Vermaere K, and others. 1998. The promoter of the plant defensin gene PDF1.2 from *Arabidopsis* is systemically activated by fungal pathogens and responds to methyl jasmonate but not to salicylic acid. *Plant Molecular Biology*. 38:1071–1080.
- Mapuranga J, and Yang W. 2026. Harnessing biological control and advanced technologies for sustainable wheat rust management: An integrated approach. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 218. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2025.106931>
- Mauch-Mani B, Baccelli I, Luna E, Flors V. 2026. Defense Priming: An adaptive part of induced resistance. *Annu. Rev. Plant Biol.* 78:485–512. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042916>
- McBreen K, Lockhart PJ, McLenachan PA, and others. 2003. The use of molecular techniques to resolve relationships among traditional weaving cultivars of *Phormium*. *New Zealand Journal of Botany*. 41:301–310. <https://doi.org/10.1080/0028825X.2003.9512849>
- McKinney HH. 1923. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. *Journal of Agricultural Research*. 26:195–217.
- Mejía LC, Herre EA, Sparks JP, and others. 2014. Pervasive effects of a dominant foliar endophytic fungus on host genetic and phenotypic expression in a tropical tree. *Frontiers in Microbiology*. 5:479. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00479>

- Merga J. 2021. Epidemiology and management strategies of ginger leaf spot disease (*Phyllosticta zingiberi*). *Plant Pathology and Quarantine*. 11:138–143. <https://doi.org/10.5943/ppq/11/1/15>
- Mishra S, Priyanka, and Sharma S. 2022. Metabolomic insights into endophyte-derived bioactive compounds. *Frontiers in Microbiology*. 13:835931. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.835931>
- Mousa WK, and Raizada MN. 2013. The diversity of anti-microbial secondary metabolites produced by fungal endophytes: An interdisciplinary perspective. *Frontiers in Microbiology*. 4. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00065>
- Mulyani H, Artanti N, Yuniati R, and others. 2026. Comparative evaluation of antioxidant and antidiabetic activities of kombucha fermented with three ginger (*Zingiber officinale*) varieties. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 71:103888. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2025.103888>
- Munir E, Lutfia A, and Yurnaliza. 2019. Records of culturable endophytic fungi inhabiting rhizome of *Elettaria* in Hutan Sibayak, North Sumatera. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. Institute of Physics Publishing. p. 305.
- Muñoz-Hoyos L, and Stam R. 2023. Metabolomics in plant pathogen defense: From single molecules to large-scale analysis. *Phytopathology*. 113:760–770. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-11-22-0415-FI>
- Myovela H, Tibuhwa D, and Hussein J. 2026. Endophytic *Phyllosticta* diversity in mangroves and its antimicrobial potential: Dominance of *P. capitalensis*. *The Microbe*. 10:100688. <https://doi.org/10.1016/j.microb.2026.100688>
- Newfeld J, Ujimatsu R, and Hiruma K. 2025. Uncovering the host range–lifestyle relationship in the endophytic and anthracnose pathogenic genus *Colletotrichum*. *Microorganisms*. 13:428. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13020428>
- Nguyen DT, Hieu NC, Linh DTP, and others. 2022. Molecular characterisation of *Proxipyricularia zingiberis* causing blast disease of ginger in Vietnam. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 55:373–386. <https://doi.org/10.1080/03235408.2021.2023384>
- Obata T, and Fernie AR. 2012. The use of metabolomics to dissect plant responses to abiotic stresses. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 69:3225–3243. <https://doi.org/10.1007/s00018-012-1091-5>
- Olunuga OA, Kamaldeen ZA, and Jo O. 2022. The growth, yield and nutritional value of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) as influenced by application of organic phosphorus fertilizer and plant denseness. *AGBIR*. 38:273–277. <https://doi.org/10.35248/0970-1907.22.38.273-277>
- Parlindo F, Wiyono S, and Tondok ET. 2023a. Endophytic fungi and their potential in controlling white root disease of cashew. *Plant Protection Science*. 59:73–91. <https://doi.org/10.17221/134/2021-PPS>
- Parlindo F, Khairani HS, and Ardie SW. 2023b. Reducing the risk of seed-borne fungi development of foxtail millet from Buru Island through hot water treatment. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 18:264–268. <https://doi.org/10.14692/jfi.18.6.264-268>

- Pazarlar S, Sanver U, and Cetinkaya N. 2021. Exogenous pipecolic acid modulates plant defence responses against *Podosphaera xanthii* and *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Biology*. 23:473–484. <https://doi.org/10.1111/plb.13243>
- Pellissier L, Gaudry A, Vilette S, and others. 2023. Comparative metabolomic study of fungal foliar endophytes and their long-lived host *Astrocaryum sciophilum*: A model for exploring the chemodiversity of host-microbe interactions. *Frontiers in Plant Science*. 14:1278745. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1278745>
- Perumal S, Hariharan M, Arun M, and Radhakrishnan R. 2025. Plant growth enhancing activity of endophytic fungus to alleviate drought stress in soybean plants. *South African Journal of Botany*. 181:446–457. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2025.04.036>
- Photita W, Lumyong S, Lumyong P, and others. 2004. Are some endophytes of *Musa acuminata* latent pathogens? *Fungal Diversity*. 16:131–140.
- Pieterse CMJ, Van Wees SCM, Hoffland E, and Van Pelt JA. 1996. Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene expression. *The Plant Cell*. 8:1225–1237. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154055>
- Pieterse CMJ, Van Der Does D, Zamioudis C, and others. 2012. Hormonal modulation of plant immunity. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 28:489–521. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154055>
- Pieterse CMJ, Zamioudis C, Berendsen RL, Weller D, Van Wees S, Bakker P. 2014. Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annu. Rev. Phytopathol.* 52:347–375. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102340>
- Pillai TG. 2015. *Colletotrichum gloeosporioides*: A true endophyte of the endangered tree, *Cynometra travancorica* in the Western Ghats. *Journal of Plant Pathology and Microbiology*. 6. <https://doi.org/10.4172/2157-7471.1000267>
- Plett JM, and Martin FM. 2018. Know your enemy, embrace your friend: Using omics to understand how plants respond differently to pathogenic and mutualistic microorganisms. *The Plant Journal*. 93:729–746. <https://doi.org/10.1111/tpj.13802>
- Pott DM, Osorio S, and Vallarino JG. 2019. From central to specialized metabolism: An overview of some secondary compounds derived from the primary metabolism for their role in conferring nutritional and organoleptic characteristics to fruit. *Frontiers in Plant Science*. 10:835. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00835>
- Poulsen A. 2006. *Ginger of Sarawak*. Kota Kinabalu: Natural History Publications.
- Rachmat A. 1993. Rust of *Zingiber ottensii*. In: Kobayashi T, ed. *Diagnostic Manual for Industrial Crop Disease in Indonesia*. Bogor: JICA-RISMC. pp. 15–17.
- Rodriguez R, and Redman R. 2008. More than 400 million years of evolution and some plants still cannot make it on their own: Plant stress tolerance via fungal symbiosis. *Journal of Experimental Botany*. 59:1109–1114.

- Rodriguez RJ, White JF, Arnold AE, and Redman RS. 2009. Fungal endophytes: Diversity and functional roles. *New Phytologist*. 182:314–330. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02773.x>
- Rosli NM, Ponari MHA, Sundram TCM, and others. 2024. Exploring the beneficial endophytes of Zingiberaceae. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 13:e9746. <https://doi.org/10.55251/jmbfs.9746>
- Roussin-Léveillé C, Rossi CAM, Castroverde CDM, Moffett P. 2024. The plant disease triangle facing climate change: a molecular perspective. *Trends in Plant Science* 29(8): 895-914. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2024.03.004>
- Ruchi Sood RS, and Dohroo NP. 2005. Epidemiology and management of leaf spot of ginger in Himachal Pradesh. *Indian Phytopathology*. 58:282–288.
- Saaty TL. 2008. Decision making with the analytic hierarchy process. *International Journal of Services Sciences*. 1:83–98. <https://doi.org/10.1504/IJSSCI.2008.017590>
- Saensouk P, Boonma T, and Saensouk S. 2022. Revision of the genus *Cornukaempferia* Mood & K. Larsen (Zingiberaceae), and a new species from Thailand. *Biodiversitas*. 23:5718–5729. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d231123>
- Saensouk P, and Saensouk S. 2021. Diversity, traditional uses and conservation status of Zingiberaceae in Udon Thani Province, Thailand. *Biodiversitas*. 22:3083–3097. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220801>
- Sahu PK, Shafi Z, Singh S, and others. 2023. Colonization potential of endophytes from halophytic plants growing in the “Runn of Kutch” salt marshes and their contribution to mitigating salt stress in tomato cultivation. *Frontiers in Microbiology*. 14:1226149. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1226149>
- Santos PJC dos, Savi DC, Gomes RR, and others. 2016. *Diaporthe endophytica* and *D. terebinthifolii* from medicinal plants for biological control of *Phyllosticta citricarpa*. *Microbiological Research*. 186–187:153–160. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.04.002>
- Sari MP, Wahyuno D, Florina D, and others. 2022a. Effectiveness of essential oil formula and silica against diamond shape leaf spot disease in red ginger. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. Bristol: IOP Publishing Ltd. p. 012010.
- Sari MP, Wahyuno D, Hardiyanti S, and Manohara D. 2022b. Application of fungicides and silica fertilization suppress *Pyricularia zingiberi* leaf spot disease on red ginger. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 18:167–176. <https://doi.org/10.14692/jfi.18.4.167-176>
- Sari MP, Wiyono S, Giyanto, and others. 2025. Optimization of surface sterilization techniques to enhance the diversity of leaf endophytic fungal isolates from bitter ginger. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. Bristol: Institute of Physics. p. 012022.
- Sasikumar JKGB, and T. G. Nagewar TG. 2002. Field reaction of ginger germplasm to *Phyllosticta zingiberi*. *Indian Phytopathology*. 48:463–465.

- Saunders M, and Kohn LM. 2009. Evidence for alteration of fungal endophyte community assembly by host defense compounds. *New Phytologist*. 182:229–238. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02746.x>
- Serrato-Diaz LM, Aviles-Noriega A, Rivera-Vargas LI, and Goenaga R. 2023. First report of *Diaporthe tulliensis* causing necrotic spots and leaf blight on rambutan in Puerto Rico. *Plant Disease*. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-22-2058-PDN>
- Sessa L, Abreo E, and Lupo S. 2018. Diversity of fungal latent pathogens and true endophytes associated with fruit trees in Uruguay. *Journal of Phytopathology*. 166:633–647. <https://doi.org/10.1111/jph.12726>
- Seth T, Asija S, Umar S, and Gupta R. 2024. The intricate role of lipids in orchestrating plant defense responses. *Plant Science*. 338:111904. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2023.111904>
- Shabong K, and Kayang H. 2023. First report of *Diaporthe tulliensis* causing leaf spot of betel vine. *New Disease Reports*. 47:e12174. <https://doi.org/10.1002/ndr2.12174>
- Sharma S, Dhar MK, and Kaul S. 2023. Antagonistic, plant growth promoting and extracellular hydrolytic enzyme activity of fungal endophytes of *Dioscorea bulbifera* L. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 50:102694. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102694>
- Shende S, Surve U, Patil M, and others. 2025. Effect of shade management and agronomic management including soil types, fertigation levels and intervals on yield and biochemical-quality parameters of ginger. *International Journal of Advanced Biochemistry Research*. 9:760–774. <https://doi.org/10.33545/26174693.2025.v9.i4i.4183>
- Silva A de O, Aliyeva-Schnorr L, Wirsal SGR, and Deising HB. 2022. Fungal pathogenesis-related cell wall biogenesis, with emphasis on the maize anthracnose fungus *Colletotrichum graminicola*. *Plants*. 11:849. <https://doi.org/10.3390/plants11070849>
- Siswanto, Wahyuno D, Manohara D, and others. 2008. Sebaran hama dan penyakit tanaman jahe di tiga propinsi di Indonesia. In: *Prosiding Seminar Nasional Pengendalian Terpadu Organisme Pengganggu Tanaman Jahe dan Nilam*. Bogor: Kementerian Pertanian. p. 39.
- Soni JK, Dayal V, and others. 2022. Performance of ginger genotypes on growth, yield and quality traits under Mizoram condition. *Indian Journal of Hill Farming*. 35:106–114.
- Sowmiya A, Suganthi M, Saranya R, and others. 2025. Harnessing the power of microbes for plant protection in regenerative agriculture: A comprehensive review. *Journal of Natural Pesticide Research*. 14:100170. <https://doi.org/10.1016/j.napere.2025.100170>
- Sun Y, Wang Q, Lu X, and others. 2012. Endophytic fungal community in stems and leaves of plants from desert areas in China. *Mycological Progress*. 11:781–790. <https://doi.org/10.1007/s11557-011-0790-x>
- Suryanarayanan TS, Ayesha MS, and Shaanker RU. 2022. Leaf photosynthesis: Do endophytes have a say? *Trends in Plant Science*. 27:968–970. <https://doi.org/10.1016/J.TPLANTS.2022.07.009>

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.
- Suryanarayanan TS, Ravishankar JP, Venkatesan G, and Murali TS. 2004. Characterization of the melanin pigment of a cosmopolitan fungal endophyte. *Mycological Research*. 108:974–978. <https://doi.org/10.1017/S0953756204000619>
- Szucs Z, Plaszkó T, Cziáky Z, and others. 2018. Endophytic fungi from the roots of horseradish (*Armoracia rusticana*) and their interactions with the defensive metabolites of the glucosinolate–myrosinase–isothiocyanate system. *BMC Plant Biology*. 18. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1295-4>
- Thambugala K, Daranagama D, and Kannangara S. 2022. Biocontrol potential of endophytic fungi in tea (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) leaves against selected fungal phytopathogens. *Malaysian Journal of Microbiology*. 18:665–669. <https://doi.org/10.21161/mjm.220055>
- Thianwisai L, Siripornadulsil W, and Siripornadulsil S. 2026. A dual-function biocontrol agent, *Kosakonia oryziphila* NP19, suppresses rice blast and promotes rice growth by priming host defense responses. *Plant Stress*. 19:101196. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2025.101196>
- Tran NT, Miles AK, Dietzgen RG, and Drenth A. 2019. *Phyllosticta capitalensis* and *P. paracapitalensis* are endophytic fungi that show potential to inhibit pathogenic *P. citricarpa* on citrus. *Australasian Plant Pathology*. 48:281–296. <https://doi.org/10.1007/s13313-019-00628-0>
- Tripathi A, Pandey P, Tripathi SN, and Kalra A. 2022. Perspectives and potential applications of endophytic microorganisms in cultivation of medicinal and aromatic plants. *Frontiers in Plant Science*. 13:985429. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.985429>
- Udayanga D, Liu X, McKenzie EHC, and others. 2011. The genus *Phomopsis*: Biology, applications, species concepts and names of common phytopathogens. *Fungal Diversity*. 50:189–225. <https://doi.org/10.1007/s13225-011-0126-9>
- Van Hulten M, Pelser M, Van Loon LC, and others. 2006. Costs and benefits of priming for defense in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 103:5602–5607.
- Valent B, Khang CH. 2010. Recent advances in rice blast effector research. *Curr. Opin. Plant Biol*. 13:434–441. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2010.04.012>
- Wable A, Belge S, Wagh T, and others. 2025. A review on Zingiberaceae. *International Research Journal of Modernization in Engineering Technology and Science*. 7:1007–10011.
- Wahid H, Gul H, Rauf M, and others. 2026. *Aspergillus flavus* and *Colpomenia sinoua* mixture act as biocatalyst to improve growth, fruit yield and salinity resistance of *Brassica napus* for sustainable agriculture. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 72:103944. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2026.103944>
- Wahyuno D, Florina D, Sari MP, and Susilowati DN. 2020. *Pyricularia zingiberi*, a causal agent of diamond shape leaf spot disease of ginger in Indonesia. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. Institute of Physics Publishing. p. 012032.

- Wahyuno D, Sari MP, Hardiyanti S, and Miftakhurohmah. 2023. *Phoma* spp. are causal agents of white leaf spot disease of ginger in Indonesia. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. Institute of Physics Publishing.
- Wang JY, Guo C, Zhao P, and others. 2021. Biocontrol potential of *Bacillus altitudinis* AMCC1040 against root-knot nematode disease of ginger and its impact on rhizosphere microbial community. *Biological Control*. 158:104598. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104598>
- Wang Z, Yun S, An Y, and others. 2025a. Effect of fungicides on soil respiration, microbial community, and enzyme activity: A global meta-analysis (1975–2024). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 289.
- Wang Y, Li J, Zhang Y, and others. 2025b. The β -1,6-glucanase MoGlu16 is required for mycelia growth and pathogenicity of *Magnaporthe oryzae*. *Current Microbiology*. 83:44. <https://doi.org/10.1007/s00284-025-04635-x>
- Warwick RM, and Clarke KR. 1995. New biodiversity measures reveal a decrease in taxonomic distinctness with increasing stress. *Marine Ecology Progress Series*. 129:301–305.
- Wasternack C, Song S. 2017. Jasmonates: Biosynthesis, metabolism, and signaling by proteins activating and repressing transcription. *Journal of Experimental Botany*. 68:1303–1321. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw443>
- Wen J, Okyere SK, Wang S, and others. 2022. Endophytic fungi: An effective alternative source of plant-derived bioactive compounds for pharmacological studies. *Journal of Fungi*. 8:205. <https://doi.org/10.3390/jof8020205>
- Wheeler KA, and Hocking AD. 1993. Interactions among xerophilic fungi associated with dried salted fish. *Journal of Applied Bacteriology*. 74:164–169.
- White JF, Kingsley KL, Zhang Q, and others. 2019. Review: Endophytic microbes and their potential applications in crop management. *Pest Management Science*. 75:2558–2565. <https://doi.org/10.1002/ps.5527>
- Wikee S, Lombard L, Crous PW, and others. 2013a. *Phyllosticta capitalensis*, a widespread endophyte of plants. *Fungal Diversity*. 60:91–105. <https://doi.org/10.1007/s13225-013-0235-8>
- Wikee S, Lombard L, Nakashima C, and others. 2013b. A phylogenetic re-evaluation of *Phyllosticta* (*Botryosphaerales*). *Studies in Mycology*. 76:1–29. <https://doi.org/10.3114/sim0019>
- Wilson RA, Talbot NJ. 2009. Under pressure: investigating the biology of plant infection by *Magnaporthe oryzae*. *Nature Review on Microbiology*. 7:185–195. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2032>
- Wink M. 2010. Biochemistry, physiology and ecological functions of secondary metabolites. *Annual Plant Reviews*. 40:1–19. <https://doi.org/10.1002/9781444320503.ch1>
- Wishart DS. 2008. Metabolomics: Applications to food science and nutrition research. *Trends in Food Science and Technology*. 19:482–493. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.03.003>

- Yan JF, Broughton SJ, Yang SL, and Gange AC. 2015. Do endophytic fungi grow through their hosts systemically? *Fungal Ecology*. 13:53–59. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2014.07.005>
- Yan X, Talbot NJ. 2016. Investigating the cell biology of plant infection by the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Curr. Opin. Microbiol.* 34:147–153. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2016.10.001>
- Yeh YH, and Kirschner R. 2019. Diversity of endophytic fungi of the coastal plant *Vitex rotundifolia* in Taiwan. *Microbes and Environments*. 34:59–63. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME18075>
- Yin X, Li Z, Han R, and others. 2023. *Epicoccum sorghinum* as leaf spot disease-causing pathogen in ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) in China. *Crop Protection*. 170:106263. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2023.106263>
- Yin Y, Gui Y, Li Z, and others. 2022. Induced systemic resistance for improving plant immunity by beneficial microbes. *Plants*. 11. <https://doi.org/10.3390/plants11030386>
- Zhang RQ, Xu KC, Li X, and others. 2020. Ginger wilt and rot disease caused by *Ceratocystis fimbriata* in China. *Plant Disease*. 105:1569. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-20-1647-PDN>
- Zhang Y, Zhai Y, Zhang Q, and others. 2026. Endophytic *Alternaria oxytropis* modulates host metabolism and enhances stress resilience in locoweed independent of swainsonine biosynthesis. *BMC Plant Biology*. 26:368. <https://doi.org/10.1186/s12870-026-08257-8>
- Zhao C, Onyino J, and Gao X. 2024. Current advances in the functional diversity and mechanisms underlying endophyte–plant interactions. *Microorganisms*. 12:779. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12040779>
- Zhou ZY, Liu X, Gao F, and others. 2026. Composition characterization of the culturable endophytic fungi in roots and their antagonistic activity against root rot of *Astragalus mongholicus*. *Archives of Microbiology*. 208:178. <https://doi.org/10.1007/s00203-025-04672-x>
- Zribi I, Ghorbel M, and Brini F. 2024. Pathogenesis-related proteins and plant defense response. In: Upadhyay SK, ed. *Defense-Related Proteins in Plants*. Academic Press. pp. 53–97.