

**IDENTIFIKASI JAMUR ENDOFIT SEBAGAI AGEN PENGENDALI
HAYATI JAMUR PATOGEN ANTRAKNOSA (*Colletotrichum
gloeosporioides*) PADA APEL MANALAGI (*Malus sylvestris* Mill.)**

SKRIPSI

**Oleh:
FITRI NUR RAHAYU
NIM. 200602110069**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2024**

**IDENTIFIKASI JAMUR ENDOFIT SEBAGAI AGEN PENGENDALI
HAYATI JAMUR PATOGEN ANTRAKNOSA (*Colletotrichum
gloeosporioides*) PADA APEL MANALAGI (*Malus sylvestris* Mill.)**

SKRIPSI

**Oleh:
FITRI NUR RAHAYU
NIM. 200602110069**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelas Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2024**

**IDENTIFIKASI JAMUR ENDOFIT SEBAGAI AGEN PENGENDALI
HAYATI JAMUR PATOGEN ANTRAKNOSA (*Colletotrichum
gloeosporioides*) PADA APEL MANALAGI (*Malus sylvestris* Mill.)**

SKRIPSI

Oleh:
FITRI NUR RAHAYU
NIM. 200602110069

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
Tanggal: 19 Juni 2024

Pembimbing I



Didik Wahyudi, M.Si
NIP. 19860102 201801 1 001

Pembimbing II



Dr. H. Ahmad Barizi, M.A
NIP. 19731212 199803 1 008

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
NIP. 19741018 200312 2 002

**IDENTIFIKASI JAMUR ENDOFIT SEBAGAI AGEN PENGENDALI
HAYATI JAMUR PATOGEN ANTRAKNOSA (*Colletotrichum
gloeosporioides*) PADA APEL MANALAGI (*Malus sylvestris* Mill.)**

SKRIPSI

Oleh:
FITRI NUR RAHAYU
NIM. 200602110069

telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai salah satu
persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.)
Tanggal: 19 Juni 2024

Ketua Penguji : Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si
NIP. 19731005 200212 003
Anggota Penguji 1 : Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc
NIP. 19900428 202321 2 037
Anggota Penguji 2 : Didik Wahyudi, M.Si.
NIP. 19860102 201801 1 001
Anggota Penguji 3 : Dr. H. Ahmad Barizi, M.A
NIP. 19731212 199803 1 008

(.....)
(.....)
(.....)
(.....)



Mengesahkan,
Ketua Program Studi Biologi

Dr. Lyika Sandi Savitri, M.P.
NIP. 19741018 200312 2 002

MOTTO

“Orang lain tidak akan bisa paham *Struggle* dan masa sulit nya kita. Yang mereka ingin tahu hanya bagian *success stories*. Berjuanglah untuk diri sendiri walaupun gak ada yang tepuk tangan. Kelak diri kita dimasa depan akan sangat bangga dengan apa yang kita perjuangkan hari ini”

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini didedikasikan untuk semua orang yang telah mendukung penulis dalam Menyusun skripsi ini, khususnya:

1. Cinta pertama dan panutanku, Bapak Nanto. Beliau memang tidak sempat merasakan hangatnya bangku perkuliahan karena adanya suatu halangan. Namun beliau mampu mendidik penulis, memberikan semangat dan motivasi tiada henti sehingga penulis dapat menyelesaikan studinya sampai sarjana.
2. Pintu surgaku, Ibunda ratu Marni. Terimakasih sudah melahirkan, merawat dan mendidik penulis sampai saat ini. Terimakasih telah menyayangi serta memotivasi dikala penulis merasa putus asa dan tidak mampu. *“Terimakasih ibu telah menjadi tempatku untuk pulang”*.
3. Didik Wahyudi, S.Si., M.Si dan Dr. H. Ahmad Barizi, M.A selaku pembimbing Idan II, yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan keikhlasan dalam meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan
4. Adikku tersayang, Qhoyirin Amalla. Terimakasih sudah menghibur penulis dikala sedang jenuh, serta atas semangat dan doa yang diberikan kepada penulis. *“Tumbuhlah lebih hebat lagi dari kakak ya dek”*.
5. My Bestod, Septiani Favika Putri. Yang telah menemani penulis dari kecil. Terimakasih sudah kebersamai, memberikan kebahagiaan disetiap waktu dan selalu ada dalam keadaan suka maupun duka.
6. My Bestie, Dewi Muna Larasati dan Imroatus Tsaany Maghfira. Bestie dari masa putih abu-abu yang selalu ada disaat kapanpun, sekaligus tempat berkeluh kesah penulis. Terimakasih sudah memberi warna hari-hari penulis.
7. Teman seperjuangan, Multazimatul Karimah. Teman dari awal masuk kuliah hingga *till Jannah amiin*. Yang sudah kebersamai berkembang dari satu fakultas, satu jurusan, hingga satu kelas. *“Mari daftar wisuda bareng yaa”*
8. Teman-teman geng “Patekkes”, Muna, Dinda, Kamelia, Bella, Rafi, Cholis, Iqbal, dan Ilyas. Yang sudah menghabiskan waktu dan menghibur penulis dikala banjir Laprak. *” Yukk Lulus bareng yokk”*
9. *Last but not least*, terimakasih teruntuk diri sendiri, karena telah mampu berusaha keras dan berjuang sejauh ini. Mampu mengendalikan diri dari berbagai tekanan diluar keadaan dan tidak pernah menyerah sesulit apapun proses penyusunan skripsi ini dengan menyelesaikan sebaik dan semaksimal mungkin, terimakasih sudah hebat dan berhasil mencapai titik ini. *“Kamu Hebat Cuu <3”*

Dan aku persembahkan skripsi ini untuk yang selalu bertanya

“Kapan Skripsimu Selesai?”

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:


Nama : Fitri Nur Rahayu
NIM : 200602110069
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Identifikasi Jamur Endofit Sebagai Agen Pengendali Hayati Jamur Patogen Antraknosa (*Colletotrichum gloeosporioides*) Pada Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-banar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 19 Juni 2023

Yang membuat pernyataan,




Fitri Nur Rahayu
NIM. 200602110069

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya

Identifikasi Jamur Endofit Sebagai Agen Pengendali Hayati Jamur Patogen Antraknosa (*Colletotrichum gloeosporioides*) Pada Apel Manalagi (*Malus Sylvestris* Mill.)

Fitri Nur Rahayu, Didik Wahyudi, Ahmad Barizi

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Penyakit antraknosa yang disebabkan oleh jamur patogen *Colletotrichum gloeosporioides* telah banyak menyerang tanaman Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.). Salah satu alternatif pengendalian jamur patogen tersebut dengan penggunaan agen pengendali hayati Jamur Endofit. Tujuan dari penelitian ini adalah eksplorasi jamur endofit bagian daun, batang, dan buah tanaman apel manalagi berdasarkan karakter morfologi dan molekuler berdasarkan gen ITS (*Internal Transcribed Spacer*) dan untuk mengetahui efektifitas jamur endofit terhadap pertumbuhan jamur patogen *Colletotrichum gloeosporioides* penyebab penyakit Antraknosa pada buah Apel Manalagi secara *in vitro*. Setelah dilakukan isolasi dihasilkan 16 isolat dimana enam isolat dari batang, enam isolat dari daun, dan empat isolat dari buah. Identifikasi secara morfologi menunjukkan bahwa isolat Bu3 menunjukkan genus *Aspergillus* sp., isolat D5 adalah genus *Alternaria* sp., serta isolat Ba4 adalah genus *Fusarium* sp.. Hal tersebut dikonfirmasi secara molekuler berdasarkan gen ITS dan diketahui bahwa isolat Bu3 adalah *Aspergillus niger*, Ba4 adalah *Fusarium lateritium*, dan D5 adalah *Alternaria alternata*. Uji antagonis jamur *Aspergillus* sp, *Fusarium* sp. dan *Alternaria* sp. terhadap jamur patogen *Colletotrichum gloeosporioides* dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode *dual culture*. Isolat jamur antagonis *Alternaria* sp. mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen *Colletotrichum gloeosporioides* dengan persentase hambatan tertinggi sebesar 62,5% pada perlakuan ulangan 1 dan persentase daya hambat paling rendah sebesar 15,5% pada isolat jamur antagonis *Aspergillus* sp pada perlakuan ulangan 2. sedangkan pada jamur *Fusarium* sp. mampu menghambat pertumbuhan dengan persentase hambatan 46,6% pada ulangan 1 dan 33% pada ulangan 2. Ketiga jamur antagonis tersebut memiliki potensi sebagai Agen Hayati antagonis terhadap jamur patogen.

Kata Kunci: Apel Manalagi, Molekuler, *C. gloeosporioides*, Jamur endofit, Uji Antagonis.

Identification of Endophytic Fungi as Biological Control Agents Against Anthracnose Pathogen (*Colletotrichum gloeosporioides*) in Manalagi Apple (*Malus sylvestris* Mill.)

Fitri Nur Rahayu, Didik Wahyudi, Ahmad Barizi

Biology Study Program, Faculty of Science and Technology, The State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

Anthracnose disease caused by the pathogenic fungus *Colletotrichum gloeosporioides* has attacked many Manalagi apple plants (*Malus sylvestris* Mill.). One alternative for controlling these pathogenic fungi is the use of biological control agents for endophytic fungi. The aim of this research is to explore endophytic fungi in the leaves, stems and fruit of Manalagi apple plants based on morphological and molecular characters based on the ITS (*Internal Transcribed Spacer*) gene and to determine the effectiveness of endophytic fungi on the growth of the pathogenic fungus *Colletotrichum gloeosporioides* which causes anthracnose disease on Manalagi apples. *in vitro*. After isolation, 16 isolates were produced, six isolates from stems, six isolates from leaves, and four isolates from fruit. Morphological identification showed that isolate Bu3 was of the genus *Aspergillus* sp., isolate D5 was of the genus *Alternaria* sp., and isolate Ba4 was of the genus *Fusarium* sp.. This was confirmed molecularly based on the ITS gene and it was known that isolate Bu3 was *Aspergillus niger*, Ba4 was *Fusarium lateritium*, and D5 is *Alternaria alternata*. Antagonist test for fungi *Aspergillus* sp, *Fusarium* sp. and *Alternaria* sp. against the pathogenic fungus *Colletotrichum gloeosporioides* carried out *in vitro* using the dual culture method. Isolate of the antagonistic fungus *Alternaria* sp. able to inhibit the growth of the pathogenic fungus *Colletotrichum gloeosporioides* with the highest percentage of inhibition of 62.5% in replication treatment 1 and the lowest percentage of inhibition of 15.5% in the isolate of the antagonistic fungus *Aspergillus* sp. in replication treatment 2. Meanwhile, in the fungus *Fusarium* sp. able to inhibit growth with an inhibition percentage of 46.6% in replication 1 and 33% in replication 2. The three antagonist fungi have the potential to act as antagonistic biological agents against pathogenic fungi.

Keywords: Manalagi apple, Molecular, *C. gloeosporioides*, Endophytic fungi, Antagonistic test.

تحديد الفطريات الداخلية كعوامل مكافحة بيولوجية للفطريات المسببة للأمراض
أنثراكوز (*Collectrichum gloeosporioides*) في تفاح مانالاجي (*Malus sylvestris* Mill)

فتري نور راهايو، ديديك واهيودي، أحمد باريزي

قسم علم الإحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم مالانج

مستخلص البحث

مرض أنثراكوز الذي سبب بالفطريات فاتوغين *Colletotrichum gloeosporioides* هاجم نبات تفاح (*Malus sylvestris mill*). إحدى البدائل للسيطرة على الفطريات المسببة للأمراض هو استخدام عوامل المكافحة العالمية للفطريات الداخلية. وأما الغرض من هذا البحث هو استكشاف الفطريات الداخلية في أوراق وسيقان وثمار نباتات تفاح مانالاجي بناء على الخصائص المورفولوجية والجزيئية القائمة على جينات ITS (المباعد الداخلي المنسوخ) وتحديد فعالية الفطريات الداخلية على نمو الفطريات المسببة للأمراض *Colletotrichum gloeosporioides* التي تسبب مرض أنثراكوز في تفاح مانالاجي في المختبر. بعد العزل، تم إنتاج 16 عزلة، منها ست عزلات من السيقان، وست عزلات من الأوراق، وأربع عزلات من الفاكهة. يظهر التحديد المورفولوجي أن عزل Bu3 يظهر جنس *Penicillium sp*، وعزل D5 هو جنس *Alternaria sp*، وعزل Ba4 هو جنس *Fusarium sp*. تم تأكيد ذلك جزيئياً بناء على جين ITS والمعروف أن عزل Bu3 هو *Penicillium guebinense*. Ba4 هو *Penicillium lateritium*، و D5 هو *Alternaria alternata*. اختبار مضاد الفطريات *Aspergillus sp*، *Trichoderma sp* و *Alternaria sp* في الفطريات المسببة للأمراض *Colletotrichum gloeosporioides* تم تنفيذها في المختبر باستخدام طريقة الثقافة المزدوجة. يعزل الفطريات المضادة *Aspergillus sp* قدرة على تثبيط نمو الفطريات المسببة للأمراض *Colletotrichum gloeosporioides* مع أعلى نسبة تثبيط 57.7% في تكرار 2 العلاج وأقل نسبة تثبيط 17.7% في عزل الفطريات المضادة *Alternaria sp* في تكرار العلاج 1. بينما في الفطريات *Trichoderma sp* قدرة على تثبيط النمو بنسبة تثبيط 37% في تكرار 1 و 24% في تكرار 2. الفطريات الثلاثة المضادة لديها القدرة على أن تكون عوامل بيولوجية معادية ضد الفطريات المسببة للأمراض.

الكلمات الأساسية: تفاح مانالاجي، جزئي، *C. gloeosporioides*، الفطريات الداخلية، اختبار الخصم

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb.

Bismillahirrohmanirrohim, segala puji bagi Allah Tuhan semesta alam karena atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul “Identifikasi Jamur Endofit Sebagai Agen Pengendali Hayati Jamur Patogen Antraknosa (*Colletotrichum gloeosporioides*) Pada Apel Manalagi (*Malus Sylvestris* Mill.)”. Tidak lupa sholawat serta salam disampaikan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW. yang telah menegakkan diinul Islam yang terpatri hingga akhirul zaman. Aamiin.

Berkat bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak maka penulis mengucapkan terimakasih yang tak terkira khususnya kepada:

1. Prof. Dr. Zainuddin, M.A selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P. selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Didik Wahyudi, S.Si., M.Si dan Dr. H. Ahmad Barizi, M.A selaku pembimbing I dan II, yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan keikhlasan dalam meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan.
5. Prof. Ulfa Utami, M.Si dan Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc selaku Penguji 1 dan penguji 2 yang telah memberikan arahan dan saran Skripsi dari awal hingga akhir.
6. Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si. selaku Dosen wali, yang telah membimbing dan memberikan masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.
7. Seluruh dosen dan laboran di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang setia menemani penulis dalam melakukan penelitian di laboratorium tersebut.
8. Ibuku dan Bapakku tercinta Marni dan Nanto yang selalu memberikan dukungan penuh dan keluarga tercinta yang telah memberikan Doa, dukungan serta motivasi kepada penulis.
9. Teman-teman seperjuangan Biogen-C 2020 khususnya teman-teman Biologi-A yang telah menjadi keluarga selama 4 tahun perkuliahan.

Semoga amal baik yang telah diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah SWT. Penulis memohon maaf apabila dalam penulisan tugas akhir ini terdapat kesalahan dan semoga tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi penulis, para pembaca, maupun berbagai pihak.

Malang, 19 Juni 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
MOTTO	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
مستخلص البحث	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan	8
1.4 Manfaat Penelitian	8
1.5 Batasan Masalah	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	10
2.1 Botani Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill.).....	10
2.1.1 Morfologi Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill.).....	10
2.1.2 Klasifikasi Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill.).....	12
2.1.3 Habitat Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill.)	13
2.2 Penyakit Antraknosa (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>).....	14
2.2.1 Morfologi <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	16
2.2.2 Klasifikasi <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	17
2.2.3 Patogenitas <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	18
2.3 Jamur.....	19
2.3.1 Jamur Endofit.....	21
2.3.2 Jamur Patogen.....	23
2.4 Identifikasi Isolat Jamur.....	25

2.4.1	Identifikasi Morfologi	25
2.4.2	Identifikasi Molekuler	26
2.4.2.1	Sequencing DNA.....	27
2.4.2.2	Gen ITS (<i>Internal Transcribed Spacer</i>)	28
2.4.2.3	DNA Barcoding.....	29
2.4.2.3	CTAB (<i>Cetyl Trimetyl Ammonium Bromide</i>)	30
2.5	Mekanisme Kerja Antijamur	31
BAB III METODE PENELITIAN		35
3.1	Rancangan Penelitian.....	33
3.2	Waktu dan Tempat.....	33
3.3	Alat dan Bahan Penelitian.....	33
3.3.1	Alat	33
3.3.2	Bahan	34
3.4	Prosedur Penelitian	34
3.4.1	Pengambilan Organ Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill.)	34
3.4.2	Pembuatan Media PDA	34
3.4.3	Isolasi Jamur Endofit pada Daun, Buah, dan Batang Apel Manalagi.....	35
3.4.4	Pemurnian Jamur Endofit	35
3.4.5	Identifikasi Morfologi Jamur Endofit.....	35
3.4.6	Identifikasi Molekuler	36
3.4.7	Pengujian Antagonis	39
3.4.8	Parameter Pengamatan.....	40
3.5	Analisis Data	41
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		42
4.1	Karakteristik Jamur Endofit pada Apel Manalagi	42
4.1.1	Karakteristik Jamur Endofit Secara Morfologi Pada Apel Manalagi	42
4.1.2	Karakteristik Jamur Endofit Secara Molekuler Pada Apel Manalagi.....	45
4.2	Uji Antagonis Jamur Endofit dan Jamur Patogen	52
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		60
5.1	Kesimpulan	60
5.2	Saran	60
DAFTAR PUSTAKA.....		60
LAMPIRAN.....		67

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi Bunga Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill.)	12
Gambar 2.2 Morfologi Buah Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill.)	12
Gambar 2.3 Morfologi Penyakit Antraknosa	16
Gambar 2.4 Morfologi Makroskopis dan Mikroskopis <i>C.gloeosporioides</i>	17
Gambar 3.1 Uji Antagonis Endofit vs Patogen Metode <i>Dual Culture</i>	40
Gambar 4.1 Rekontruksi Pohon Filogenetik	53
Gambar 4.2 Uji Antagonis Isolat D5, Bu3 dan Bu4 vs <i>C. gloeosporioides</i>	55

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Ciri Karakter Jamur Endofit Organ Batang Apel Manalagi	44
Tabel 4.2 Ciri Karakter Jamur Endofit Organ Daun Apel Manalagi	44
Tabel 4.3 Ciri Karakter Jamur Endofit Organ Buah Apel Manalagi	45
Tabel 4.4 Hasil Uji Kuantitatif Kemurnian DNA.....	50
Tabel 4.5 Hasil Analisis Penyejajaran BLAST.....	50
Tabel 4.6 Rerata Diameter Koloni Jamur Endofit & Jamur Patogen	54
Tabel 4.7 Rata-rata Persentase Hambatan Jamur Endofit vs Patogen.....	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Kunci Identifikasi	67
Lampiran 2. Morfologi Jamur Endofit Pada Apel Manalagi	68
Lampiran 3. Hasil Sequencing DNA.....	71
Lampiran 4. Hasil Uji Kuantitatif DNA.....	72
Lampiran 5. Hasil Perhitungan Uji Antagonisme	73
Lampiran 6. Hasil Perhitungan Rata -rata Persentase Hambatan	75
Lampiran 7. Hasil Perhitungan SPSS Uji ANOVA	77
Lampiran 8. Gambar Dokumentasi	78

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) adalah salah satu buah yang banyak diminati oleh masyarakat Indonesia (Triasih *et al.*, 2022). Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) dikenal juga sebagai buah yang mempunyai nilai ekonomi tinggi. (Shinta *et al.*, 2017). Jawa Timur mempunyai potensi tinggi sebagai produsen apel manalagi karena iklim dan lingkungan yang memenuhi syarat tumbuhnya apel, terutama pada daerah Batu dengan menghasilkan 5.093.675 ton pertahunnya (BPS Jawa Timur, 2022). Namun dalam beberapa tahun belakangan produksi apel mengalami penurunan dari 350.091 ton pada tahun 2021 menjadi 299.963 ton pada tahun 2022 di wilayah Batu Malang (BPS Jawa Timur, 2022).

Penurunan produksi apel terjadi karena adanya kerusakan yang disebabkan oleh faktor perubahan iklim dan serangan hama penyakit (biologis) (Shabrina *et al.*, 2018). Perubahan iklim khususnya kenaikan suhu, berdampak negatif terhadap bidang pertanian terutama pada apel manalagi (Ruminta, 2015). Faktor yang kedua disebabkan oleh faktor biologis yaitu adanya serangan hama dan penyakit berupa kutu sisik, milda atau cambuk putih, kutu daun hijau, kembang daun dan jamur patogen (Afandhi *et al.*, 2017).

Beberapa penyakit yang disebabkan oleh jamur patogen seperti layu fusarium yang disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum* menyebabkan layu daun pada apel manalagi (Shabrina *et al.*, 2018). Selain itu, timor adalah serangan jamur *Gromorella* yang juga menyerang daun apel dengan gejala warna kuning dan bintik hitam serta menunjukkan karatan pada permukaan daun (Ernawati *et al.*, 2023). Di lain sisi, Jamur *Colletotrichum* dapat menyebabkan penyakit

Antraknosa yang menyerang pada buah apel dan menyebabkan busuk buah (Shabrina *et al.*,2018).

Jamur dapat menginfeksi buah matang maupun buah muda. Jamur dapat menginfeksi buah melalui dua cara yaitu luka dan secara langsung. Gejala awal antraknosa pada buah yang disebabkan oleh *C. gloeosporioides* ditandai dengan bercak oval, sedikit berair, membentuk lesio cekung pada permukaan buah yang akan berkembang menjadi nekrosis, dan kematian pada jaringan (Weir *et al.*, 2012). Jamur dapat menginfeksi buah matang maupun buah muda. Jamur dapat menginfeksi buah melalui dua cara yaitu luka dan secara langsung. Gejala awal antraknosa pada buah yang disebabkan oleh *C. gloeosporioides* ditandai dengan bercak oval, sedikit berair, membentuk lesio cekung pada permukaan buah yang akan berkembang menjadi nekrosis, dan kematian pada jaringan (Weir *et al.*, 2012).

Colletotrichum merupakan jamur dalam famili *Glomerellaaceae* yang terdiri atas 5 spesies yaitu *Colletotrichum capsici*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum truncatum* dan *Colletotrichum cocodes*. Jamur patogen penyebab antraknosa yang banyak dijumpai di Indonesia adalah *Colletotrichum capsici* dan *Colletotrichum gloeosporioides* (Triasih *et al.*, 2022). Namun, jamur patogen yang menyebabkan penyakit antraknosa pada buah apel adalah *Colletotrichum gloeosporioides* (Grahovac *et al.*, 2011).

Infeksi *Colletotrichum gloeosporioides* pada tanaman terdiri dari dua fase yaitu biotropik dan nekrotik (Peralta *et al.*, 2023). Jalur biotropik dimulai ketika konidia jamur masuk ke dalam permukaan jaringan buah dan berkecambahnya spora di dalam jaringan buah. Jamur kemudian masuk ke dalam sel epidermal melalui jaringan apresorium yang kemudian membentuk vesikel (Peralta *et al.*, 2023).

Selanjutnya, hifa primer tumbuh dan membentuk koloni yang bersamaan dengan sekresi protein dan absorpsi metabolit sekunder tanaman inang oleh jamur dengan cara berinteraksi dengan apoplast. Pada fase ini gen-gen yang berhubungan dengan endositosis seperti glikoprotein C1H1 dan CgDN3 terekspresi (Peralta *et al.*, 2023). Setelah itu infeksi berlanjut ke tahap nekrotik yang ditandai dengan penampakan gejala serangan antraknosa pada tanaman, terproduksinya hifa sekunder dan fungi menghasilkan polygalacturonase dan pectate lyase yang merusak sel tanaman dan menghilangkan sistem pertahanan tanaman (Peralta *et al.*, 2023).

Perlu adanya tindakan pengendalian yang efektif dan aman terhadap serangan jamur patogen tersebut. Salah satu upaya yang telah dilakukan selama ini untuk mengendalikan penyakit antraknosa adalah menggunakan fungisida sintetis yang mempunyai efek buruk baik bagi lingkungan, manusia dan tanaman itu sendiri (Camatti *et al.*, 2015). Pestisida sintetis dapat dengan cepat menurunkan populasi OPT (Organisme Pengganggu Tanaman) dengan periode pengendalian (residu) yang lebih panjang (Ermawati *et al.*, 2023) dan dapat mengendalikan penyakit antraknosa dengan instan dan praktis (Jati *et al.*, 2023). Mengingat dampak negatif yang diakibatkan oleh penggunaan fungisida sintetis maka perlu dilakukan riset lebih lanjut mengenai penanganan penyakit antraknosa pada Apel manalagi, contohnya dapat mengganti pestisida sintetis dengan agen pengendali hayati (Kim *et al.*, 2018).

Pengendalian menggunakan agen hayati saat ini menjadi perhatian di seluruh dunia karena telah terbukti efektif dalam mengendalikan jamur patogen serta tidak menimbulkan dampak negatif dan sifat ramah lingkungan (Ye *et al.*, 2020). Penggunaan bakteri sebagai pengendali hayati banyak menunjukkan keberhasilan.

Zainudin *et al.*, (2014) menyatakan bahwa bakteri *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens* menunjukkan kemampuan yang tinggi dalam menekan perkembangan penyakit layu fusarium pada jagung. Perlakuan isolat *Bacillus* dapat menekan penyakit layu fusarium sebesar 50% sedangkan *Pseudomonas fluorescens* sebesar 40% (Zainudin *et al.*, 2014). Selain itu, jamur endofit juga dapat digunakan sebagai agen pengendalian hayati yang potensial, yang telah beradaptasi untuk hidup dan bertahan di dalam tanaman dengan efek samping yang minimal (Kim *et al.*, 2018).

Jamur endofit merupakan mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman baik keseluruhan maupun sebagian kecil dari siklus hidupnya tanpa menyebabkan gejala yang merugikan bagi tanaman inangnya (Saikkonen *et al.*, 1998). Jamur endofit berperan dalam menjaga kesehatan, maupun meningkatkan pertumbuhan tanaman. Menjaga kesehatan tanaman dengan cara memproduksi ketahanan metabolisme, mengurangi resistensi stress secara biotik maupun abiotik pada tanaman inang dan meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan fitohormon (Terhonen *et al.*, 2019). Kelebihan Jamur endofit dibanding bakteri endofit dalam pengendalian hayati yaitu jamur endofit dapat berpotensi melindungi tanaman dari jamur patogen melalui berbagai cara seperti penghambatan langsung melalui kompetisi, antibiosis atau mikoparasitisme, dan penghambatan tidak langsung dengan cara induksi resistensi (Latz *et al.*, 2018).

Jamur endofit juga telah terbukti ampuh menjadi agen pengendali hayati terhadap jamur patogen *Colletotrichum gloeosporioides* pada Tanaman karet (Rita *et al.*, 2021). Lebih lanjut, Rita *et al* (2021) menghasilkan sepuluh isolat dari daun tanaman karet, dimana terdapat tiga isolat yang dapat menghambat pertumbuhan

patogen *Colletotrichum gloeosporioides*, dengan hasil persentase daya hambat sebesar 64,17%-86,67% pada isolat CEPR 19, CEBPM 21, dan DTJE 1 dengan penekanan keparahan penyakit berturut-turut sebesar 68,57%; 67,88%; dan 60,20% dengan mekanisme kerjanya menginduksi ketahanan, antibiosis, kompetisi, dan hiperparasit (Rita *et al.*, 2021). Banyaknya potensi jamur endofit yang dapat dimanfaatkan merupakan salah satu anugerah, nikmat dan Rahmat Allah SWT. Keberadaan jamur endofit tersebut menjadi tanda-tanda kekuasaannya yang patut disyukuri dan dipelajari. Al- Qur'an secara tegas menyebutkan bahwa apa yang ada dilangit dan ada di bumi telah ditundukkan untuk manusia. Sebagaimana hal tersebut sesuai dengan firman Allah dalam Al-Qur'an Surat Al- Jaatsiyah ayat 13:

وَسَخَّرَ لَكُم مَّا فِي السَّمٰوٰتِ وَمَا فِي الْاَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُۥٓ اِنَّ فِيْ ذٰلِكَ لَآٰيٰتٍ لِّقَوْمٍ يَّتَفَكَّرُوْنَ ﴿١٣﴾

Artinya: “Dia telah menundukkan (pula) untukmu apa yang ada di langit dan apa yang ada di bumi semuanya (sebagai rahmat) dari-Nya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berpikir.”

Tafsir Al-Jaatsiyah ayat 13 menurut Ibnu Katsir (2002) ialah:

وَسَخَّرَ لَكُم مَّا فِي السَّمٰوٰتِ وَمَا فِي الْاَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُۥ (Dan Dia telah menundukkan untukmu apa yang di langit dan apa yang di bumi semuanya, (sebagai rahmat) daripada-Nya). Yakni Allah menundukkan segala makhluk-Nya di langit seperti matahari, bulan, bintang, komet, hujan, awan, dan angin; dan makhluk-makhluk yang ada di bumi. Semua itu merupakan rahmat Allah bagi hamba-hamba-Nya sebagai kenikmatan dan karunia bagi mereka.

Ibnu Katsir pada surat Al-Jaatsiyah ayat 13 menjelaskan bahwa Allah telah menciptakan makhluk hidup di bumi, termasuk hewan, tumbuhan dan mikroorganisme. Makhluk hidup tersebut perlu dikaji oleh manusia karena sangat bermanfaat juga merupakan tanda-tanda dari eksistensi-Nya. Jutaan jenis makhluk

hidup yang ada di jagad raya ini hadir sebagai tanda yang membuktikan bahwa keberadaan sang pencipta. Seperti halnya manfaat yang ada pada jamur endofit sebagai agen pengendali hayati pada penyakit antraknosa pada Apel Manalagi.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Ina *et al* (2020); Ernawati, (2023) hasil eksplorasi dan uji efektifitas jamur endofit pada daun Apel Timor didapatkan 38 isolat dari 6 genus yaitu jamur *Penicillium*, *Aspergillus*, *Acremonium*, *Fusarium*, *Culvularia*, dan *Alternaria*. Namun, demikian *Aspergillus* kurang efektif dalam mengendalikan jamur patogen *Gromorella* sp. pada Apel Timor, sedangkan *Fusarium* efektif dalam menghambat pertumbuhan *Gromorella* sp. (Ernawati *et al.*, 2023). Sementara jamur endofit pada batang dan buah Apel Manalagi ini belum dilakukan eksplorasi dan uji efektifitasnya sebagai pengendali hayati, maka perlu dilakukan eksplorasi dan uji efektifitas sebagai agen pengendali penyakit antraknosa pada Apel Manalagi (Ernawati *et al.*, 2023).

Eksplorasi jamur endofit dapat dilakukan pada beberapa organ seperti daun, batang dan buah (Camatti *et al.*, 2015). Namun hal yang terpenting dari tahapan eksplorasi adalah identifikasi (Silva *et al.*, 2018). Identifikasi jamur endofit dapat dilakukan baik secara morfologi maupun molekuler. Karakter yang diamati pada identifikasi morfologi seperti hifa, spora, konidia, dan konidiofor merupakan karakter yang umum untuk diamati. Namun demikian karakter tersebut tidak selalu muncul, oleh sebab itu dibutuhkan identifikasi dengan pendekatan molekuler (Camatti *et al.*, 2015). Salah satu marka molekuler yang umum digunakan dalam identifikasi fungi adalah ITS (*Internal Transcribed Spacer*) 1 dan ITS (*Internal Transcribed Spacer*) 4. Marker ITS (*Internal Transcribed Spacer*) telah berhasil digunakan untuk identifikasi jamur endofit *Byssochlamys spectabilis* pada umbi

bawang rambut (Prima, 2019). ITS (*Internal Transcribed Spacer*) merupakan sekuens DNA barcode universal dan bersifat konservatif serta berukuran pendek sehingga mudah untuk diamplifikasi (Umesha *et al.*, 2016). Oleh sebab itu dalam penelitian ini akan digunakan marker ITS (*Internal Transcribed Spacer*) untuk tahapan identifikasi secara molekuler (Camatti *et al.*, 2015).

Poin penting paska eksplorasi adalah uji efektifitas dari jamur endofit dalam mengatasi penyakit antraknosa pada Apel Manalagi (Ebrahimi *et al.*, 2021). Uji yang dapat dilakukan yaitu menggunakan Uji antagonisme untuk pengendalian hayati (Ebrahimi *et al.*, 2021). Dalam penelitian ini, jamur endofit diisolasi dan diidentifikasi dari daun, buah, dan batang yang sehat, dan diuji apakah jamur endofit berpotensi sebagai agen pengendalian hayati terhadap jamur patogen *Colletotrichum gloeosporioides* pada tanaman Apel Manalagi. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang berguna dalam pengembangan agen pengendalian hayati yang aman dan ramah lingkungan untuk mengendalikan penyakit antraknosa pada tanaman Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian adalah:

1. Bagaimana karakteristik jamur endofit pada daun, buah, dan batang Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) berdasarkan karakter morfologi dan molekuler?
2. Bagaimana potensi daya hambat jamur endofit terhadap jamur patogen *Colletotrichum gloeosporioides* penyebab penyakit antraknosa pada buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) secara *in vitro*?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini adalah;

1. Untuk mengetahui karakteristik jamur endofit pada daun, buah, dan batang Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) berdasarkan karakter morfologi dan molekuler.
2. Untuk mengetahui potensi daya hambat jamur endofit terhadap jamur patogen *Colletotrichum gloeoporiodes* penyebab penyakit antraknosa pada buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) secara *in vitro*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan peneliti dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi tentang jenis dan karakteristik jamur endofit pada daun, buah, dan batang Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) berdasarkan karakter morfologi dan molekuler.
2. Memberikan informasi jamur endofit dari tanaman apel yang memiliki potensi sebagai agen pengendalian hayati terhadap jamur patogen *Colletotrichum gloeosporioides* penyebab penyakit antraknosa pada buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.).
3. Dapat dijadikan sebagai sumber informasi bagi peneliti berikutnya.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Identifikasi dilakukan secara Morfologi dan Molekuler, identifikasi molekuler dengan ITS1 dan ITS4. Identifikasi morfologi dilihat secara makroskopik dan mikroskopik (hifa, spora, konidia dan konidiofor).

2. Uji antagonisme dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan *dual culture method* terhadap jamur patogen penyebab penyakit antraknosa pada Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill). Parameter yang diamati adalah hasil diameter koloni (cm), dan presentase hambatan (100%).

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Botani Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

2.1.1 Morfologi Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

Apel manalagi merupakan tanaman tahunan berasal dari Asia Barat yang beriklim sub tropis. Apel dapat tumbuh di Indonesia setelah tanaman apel ini beradaptasi dengan iklim di Indonesia, yaitu iklim tropis (Pah & Mauko, 2021). Penanaman apel di Indonesia dimulai sejak tahun 1934 dan berkembang pesat pada tahun 1960 hingga saat ini. Apel di Indonesia dapat tumbuh dan berbuah baik di dataran tinggi, khususnya di Malang (Batu dan Poncokusumo) dan Pasuruan (Nongkojajar), Jawa Timur (Artanti, 2018).

Apel Manalagi umumnya memiliki sistem perakaran yang disebut akar tunggang, yang berbentuk tegak untuk menembus ke dalam tanah. Peran akar pada tanaman ini sangat vital dalam proses pertumbuhan dan perkembangannya. Akar yang sehat dan kuat berperan dalam menyerap air dan unsur hara dari tanah secara efisien, sehingga memungkinkan tanaman tumbuh secara optimal (Afandhi, 2017). Fungsi utama akar apel Manalagi adalah untuk menyerap air dan nutrisi dari tanah, serta memberikan dukungan untuk menjaga kestabilan tanaman. Sistem perakaran ini terdiri dari akar utama yang tumbuh tegak ke bawah dan akar lateral yang tumbuh ke samping (Afandhi, 2017). Akar utama apel Manalagi dapat mencapai kedalaman hingga 2 meter, sementara akar lateral dapat menyebar hingga radius 1 meter. Struktur akar meliputi pangkal akar yang melekat pada batang tanaman, batang akar yang tumbuh tegak ke bawah, cabang akar yang tumbuh ke samping dari batang akar, dan ujung akar yang berfungsi sebagai penyerap utama air dan nutrisi (Afandhi, 2017).

Batang apel manalagi merupakan salah satu bagian terpenting dari tanaman ini. Batang berfungsi untuk menopang tanaman agar tetap berdiri tegak, menyalurkan air dan nutrisi dari akar ke daun, serta menyimpan cadangan makanan. Batang Apel manalagi memiliki ciri-ciri yaitu, batang memiliki warna hijau kekuningan (Dwi, 2009). Kulit pohon kayu cukup tebal dan berwarna cokelat kekuningan. Batang apel memiliki cabang yang jika dibiarkan tidak dipangkas maka pertumbuhannya vertikal dan tidak beranting. Ukuran batang apel manalagi berdiameter sekitar 10-15 cm, bentuk batang berbentuk silindris, permukaan batang apel manalagi kasar dan beralur (Dwi, 2009). Daun apel berbentuk lonjong / oval, ada yang lebar dan ada yang kecil. Ujung daun runcing, pangkal daun tumpul dan tepi daunnya bergerigi teratur (Imama & Hidayati, 2018). Bentuk daun apel dipilah dalam enam kategori, yaitu oval, broadly oval, narrow oval, acute, broadly acute, dan narrow acute. Permukaan daun bisa datar atau bergelombang. Sisi daun ada yang melipat ke bawah, ada juga yang melipat ke atas. Bagian bawah daun umumnya diselimuti bulu-bulu halus. Daun manalagi berukuran sekitar 5-7 cm. warna dari daun apel manalagi berwarna hijau dengan permukaan mengkilap (Imama & Hidayati, 2018).

Bunga apel bertangkai pendek, menghadap ke atas, dan bertandan. Bunga tumbuh pada ketiak daun dan mahkota bunga berwarna putih sampai merah jambu berjumlah 5 helai (Gambar 2.1). Pada semua varietas, jumlah tangkai benangsari dan tangkai putik adalah sama yaitu antara 15-20 dan 5, panjang tangkai benangsari dan panjang tangkai putik bervariasi antara 0.5-1.2 cm, sedangkan panjang tangkai bunga antara 1.0-4.0 cm (Pradana *et al.*, 2013).



Gambar 2.1 Morfologi Bunga Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.).
(Pradana *et al.*, 2013).

Buah apel mempunyai bentuk bulat sampai lonjong bagian pujuk buah berlekuk dangkal, kulit agak kasar dan tebal, pori-pori buah kasar dan renggang tetapi setelah tua menjadi halus dan mengkilap. Warna buah hijau, hijau kekuning-kuningan, hijau berbintik-bintik, dan sebagainya sesuai dengan variatesnya (Gambar 2.2). Bijinya ada yang berbentuk panjang dengan ujung meruncing, ada yang berujung bulat dan tumpul, ada pula yang bentuknya antara pertama dan kedua (Imama dan Hidayati, 2018).



Gambar 2.2 Morfologi Buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.).
(Imama dan Hidayati, 2018).

2.1.2 Klasifikasi Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

Menurut Basson (2019), mendefinisikan kedudukan tanaman apel dalam sistematika (taksonomi) tanaman diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Rosales
Family	: Rosaceae
Genus	: Malus
Spesies	: <i>Malus sylvestris</i> Mill.

2.1.3 Habitat Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

Di Indonesia, apel manalagi dapat tumbuh dan berbuah dengan baik di daerah dataran tinggi. Sentra produksi apel manalagi berada di Malang (Batu dan Poncokusumo) dan Pasuruan di Jawa Timur. Apel manalagi dapat tumbuh pada ketinggian 700-1200 mdpl dengan iklim kering dan curah hujan yang ideal. Tanaman ini membutuhkan intensitas cahaya matahari sebesar 50-60% dengan suhu 16-27°C dan kelembapan 75-85% (Pah & Mauko, 2021). Menurut Artanti (2018), tanaman apel manalagi sebenarnya bisa tumbuh di berbagai jenis tanah, namun jenis tanah yang paling cocok adalah regosol (entisol), andosol, dan latosol dengan tekstur sedang, gembur, kedalaman efektif lebih dari 50 cm, drainase yang baik, dan pH tanah antara 5,5 hingga 7. Berdasarkan firman Allah SWT dalam Surat Al-A'raf ayat 58:

وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ يَخْرِجُ نَبَاتَهُ بِإِذْنِ رَبِّهِ وَالَّذِي خَبُثَ لَا يَخْرِجُ إِلَّا نَكِدًا كَذَلِكَ نُصَرِّفُ الْآيَاتِ لِقَوْمٍ يَشْكُرُونَ

Artinya: “Tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur seizin Tuhannya. Adapun tanah yang tidak subur, tanaman-tanamannya hanya tumbuh merana. Demikianlah Kami jelaskan berulang kali tanda-tanda kebesaran (Kami) bagi orang-orang yang bersyukur”. (Al-A'raf:58)

Tafsir Surat Al-A'raf ayat 58 menurut Imam Ibnu Katsir adalah:

“Yakni tanah yang baik mengeluarkan tumbuhannya dengan cepat dan subur. Seperti yang disebut dalam ayat lain, Al-Qu'an surat Ali Imran ayat 37 yang artinya “*dan menumbuhkannya dengan pertumbuhan yang baik*”.

Ayat tersebut menerangkan tanah yang baik untuk pertumbuhan tanaman-tanaman. Begitupula dengan tanaman Apel Manalagi, dia bisa tumbuh pada media tanam tertentu, dan Apel juga akan terganggu pertumbuhannya apabila berada pada media tanah yang kualitasnya buruk. Sesuai dengan pendapat Artanti (2018), tanah yang tidak baik untuk penanaman cabai rawit adalah tanah yang strukturnya padat dan tidak berongga. Tanah semacam itu akan sulit ditembus air pada saat penyiraman sehingga air akan tergenang. Selain itu, tanah tidak akan memberikan keleluasaan bagi akar tanaman untuk bergerak, karena sulit ditembus akar tanaman. Akibatnya, tanaman sulit menyerap air dan zat hara pada tanah (Artanti, 2018).

2.2 Penyakit Antraknosa (*Colletotrichum gloeosporioides*)

Colletotrichum merupakan patogen utama penyebab antraknosa. Cendawan ini memiliki tubuh berbentuk oval sampai memanjang, agak melengkung dan dalam jumlah banyak berwarna kemerahan. Cendawan ini tidak hanya menyerang buah saja tetapi juga menyerang daun, bunga, ranting dan tanaman semai (Grahovac *et al.*, 2011). Genus yang menjadi penyebab utama penyakit antraknosa adalah *Colletotrichum*. *Colletotrichum* digolongkan menjadi lima spesies utama yaitu *C. gloeosporioides*, *C. acutatum*, *C. dematium*, *C. capsici* dan *C. coccodes*. *C. gloeosporioides* dan *C. acutatum* menyebabkan kerusakan pada buah dan kehilangan hasil paling besar (Grahovac *et al.*, 2011).

Penyakit antraknosa menyerang berbagai jenis tanaman seperti apel, cabai, tomat, bawang merah, pepaya, pisang, buncis, mangga, dan mentimun. Penyakit ini dapat menyerang hampir di semua tahap pertumbuhan tanaman, termasuk setelah panen (Saharma & Kulhrestha, 2015). Serangan di persemaian dapat menyebabkan bibit tanaman mengalami rebah kecambah atau damping off. Pada tanaman dewasa, penyakit ini dapat menyebabkan mati pucuk, yang kemudian diikuti dengan infeksi lebih lanjut pada buah. *Colletotrichum* sp. menyerang daun, buah hijau, batang, dan buah matang (Weir *et al.*, 2012).

Jamur dapat menginfeksi buah yang masih muda maupun yang sudah matang melalui dua cara: melalui luka dan secara langsung. Gejala awal antraknosa pada buah yang disebabkan oleh *C. gloeosporioides* dimulai dengan bercak oval yang sedikit berair dan membentuk lesi cekung pada permukaan buah, yang kemudian berkembang menjadi nekrosis dan kematian jaringan (Weir *et al.*, 2012). Bercak antraknosa pada buah umumnya berwarna pucat dengan margin yang juga pucat. Daerah yang terinfeksi akan melebar menjadi cekung dan bergabung menjadi bercak yang besar (Gambar 2.3). Selama proses pematangan buah, penyakit ini menunjukkan gejala berupa bercak kecil yang banyak, berwarna gelap, membentuk lingkaran yang membesar dan menjadi cekung (Gonçalves *et al.*, 2019). Pada serangan parah, buah akan mengkerut, kering, membusuk, dan akhirnya jatuh dari pohonnya (Modbouly *et al.*, 2020).

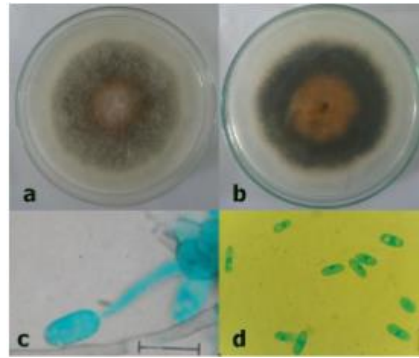


Gambar 2.3 Morfologi Penyakit Antaknosa (Weir *et al.*, 2012).

2.2.1 Morfologi *Colletotrichum gloeosporioides*

Colletotrichum gloeosporioides umumnya mempunyai konidium hialin, berbentuk silinder dengan ujung-ujung tumpul, kadang-kadang berbentuk agak jorong dengan ujung yang membulat dan pangkal yang sempit terpancung, tidak bersekat, berinti satu, $9 - 24 \times 3 - 6 \mu\text{m}$, terbentuk pada konidiofor seperti fialid, berbentuk silinder, hialin atau agak kecokelatan. Spora hanya dapat berkecambah bila kelembaban nisbi udara tidak kurang dari 95 %. Infeksi tidak akan terjadi bila kelembaban udara kurang dari 96 %, spora tumbuh paling baik pada suhu 25 - 28 °C (Saharma & Kulhrestha, 2015).

Selain *C. gloeosporioides* yang terdapat pada apel terdapat pula *C. capsici* yang juga merupakan penyebab penyakit antraknosa pada cabai, namun morfologi konidium dari jamur ini berbeda dengan *C. gloeosporioides*. *C. gloeosporioides* dengan ke khasan bentuk konidiumnya yang berbentuk jorong dengan bagian ujung membulat atau tumpul seperti kapsul sangat berbeda dengan *C. capsici* yang konidiumnya berwarna hialin, berbentuk tabung (silindris), dan ujung-ujungnya tumpul atau bengkok seperti sabit (Gonçalves *et al.*, 2019) (Gambar 2.4).



Gambar 2.4 Morfologi Makroskopis dan Mikroskopis *Colletotrichum gloeosporioides*: a) Koloni tampak atas, b) koloni tampak bawah, c) Konidiofor, d) Konidia. (Triasih *et al.*, 2022)

Konidia terbentuk secara tunggal di ujung konidiofor yang pendek, tidak berwarna, tidak bercabang, dan tidak bersekat. Mereka sering ditemukan pada aservuli dari jamur *Colletotrichum*, meskipun kehadirannya dapat bervariasi tergantung pada kondisi tempat tumbuhnya. Massa spora berwarna merah jambu atau salmon. Aservuli dapat menyerang kulit dan jaringan tanaman (Pratiwi, 2017). Patogen dapat bertahan pada ranting-ranting sakit di pohon atau pada daun-daun yang sakit baik di pohon maupun di permukaan tanah. Pada cuaca lembab dan berkabut, patogen membentuk spora (konidia). Spora keluar dari aservulus dalam bentuk massa lendir dan disebarkan oleh percikan air hujan serta oleh serangga (Pratiwi, 2017).

2.2.2 Klasifikasi *Colletotrichum gloeosporioides*

Klasifikasi jamur *Colletotrichum gloeosporioides* menurut Weir *et al.*

(2012) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Fungi
 Filum : Ascomycota
 Kelas : Ascomycetes
 Ordo : Melanconiales

Family : Melanconiaceae
Genus : Colletotrichum
Spesies : *Colletotrichum gloeosporioides*

2.2.3 Patogenitas *Colletotrichum gloeosporioides*

Pratiwi (2017) mendefinisikan patotipe sebagai populasi parasit yang semua anggota individunya memiliki kemampuan yang sama sebagai parasit. Selain itu menurut Modbouly *et al.* (2020) patotipe adalah sebagai suatu sub species yang berbeda virulensinya pada inang tertentu dari suatu kelompok patogen yang sama. Pratiwi (2017), menyatakan penentuan patotipe didasarkan dari hasil intensitas penyakit dan reaksi inang terhadap inokulasi patogen pada beberapa jenis tanaman inang.

Informasi tentang variabilitas dan struktur patotipe dalam suatu populasi patogen adalah penting dan sangat diperlukan dalam pengembangan varietas tahan. Hal ini dikarenakan informasi tersebut merupakan syarat agar program pengembangan varietas tahan berhasil menciptakan genotipe yang resisten dan karena program pengembangan varietas tahan tidak akan berhasil apabila tidak mengetahui struktur patotipe yang ada dalam suatu populasi patogen (Modbouly *et al.*, 2020).

Florian *et al.* (2018) menerangkan bahwa dari wilayah Himachal Pradesh di India Selatan *C. gloeosporioides* memiliki 15 patotipe, ini didasarkan pada perbedaan-perbedaan kuantitatif perkembangan nekrotik buah yang diinokulasi dari genotipe-genotipe *Capsicum annum*. Cloete *et al.* (2011) juga menerangkan perbedaan-perbedaan patotipe pada isolat-isolat *C. acutatum* dari buah strawberry dan cabai. Selain itu Sianipar, (2017) menyatakan bahwa di Thailand, juga

ditemukan adanya 5 patotipe dari 11 isolat *C. gloeosporioides* pada jenis cabai yang beragam.

2.3 Jamur

Jamur adalah mikroorganisme eukariotik dengan karakteristik yang berbeda, termasuk adanya inti sel, produksi spora, tidak adanya klorofil, berkembang biak dengan cara aseksual, adanya bagian tubuh dalam bentuk filamen pada beberapa spesies, dan uniseluleritas pada spesies lain (Shohihati & Suharjono, 2014). Namun, beberapa jamur juga dapat menyerang inang yang hidup kemudian dan berkembang sebagai parasit, menyebarkan penyakit pada tumbuhan, manusia dan hewan lainnya (Shohihati & Suharjono, 2014).

Ciri-ciri morfologi dapat digunakan untuk mengidentifikasi jamur atau cendawan. Menurut Samson (2011), tingkat genus atau spesies suatu jamur atau cendawan dapat diketahui melalui pengamatan mikroskopis. Miselium dan spora adalah dua bagian berbeda dari tubuh jamur (thallus). Hifa adalah kumpulan dari beberapa filamen yang membentuk miselium. Hifa vegetatif adalah bagian dari hifa yang mendapat nutrisi, dan hifa reproduktif atau aerial hifa adalah bagian dari hifa yang berkembang biak karena pemanjangannya mencapai bagian atas media tempat jamur tumbuh (Shohihati & Suharjono, 2014). Menurut Florian *et al.* (2018) mengatakan bahwa Morfologi jamur sebagai berikut:

- a. Hifa Pertumbuhan spora atau konidia mengakibatkan terbentuknya struktur jamur berbentuk tabung yang disebut hifa, yang menyerupai benang panjang. Protoplasma dalam hifa tertutup oleh dinding tebal. Karena pertumbuhan hifa terjadi terus menerus di bagian apikal, panjangnya tidak dapat ditentukan secara akurat. Senyawa melanin dan lipid merupakan bahan tambahan yang terdapat pada dinding sel hifa tua. Ada dua kategori hifa yang berbeda, hifa vegetatif,

yang bertanggung jawab untuk menyerap nutrisi, dan hifa fertil, yang bertanggung jawab untuk reproduksi. Hifa dengan dan tanpa septa dapat dibedakan secara mikroskopis berdasarkan morfologinya.

- b. Septum Hifa dipisahkan menjadi kompartemen oleh septum, sebuah partisi. Meskipun demikian, lubang septum menjaga agar protoplasma sel tetap terhubung. Sebagian besar hifa jamur memiliki septum langsung dengan diameter pori antara 0,05 dan 0,5 mikrometer. Septum sederhana memiliki satu atau lebih bukaan di tengahnya, mirip dengan saringan, atau hanya satu pori. Hifa Basidiomycota mayoritas memiliki ciri khas berupa septum dengan bentuk yang khas yang dikenal dengan nama septum dolipor (dolipor septum). Zygomycota dan jamur lainnya tidak memiliki hifa septum. Septum hanya dibentuk apabila jamur tersebut akan membuat sel-sel khusus seperti klamidospora, zigospora, atau sporangium.

Sporangiospora, atau spora yang dihasilkan di dalam sporangium Ketika columella (ujung sporangiophore) memasuki sporangium, intinya akan muncul melalui dinding. Sporangium adalah karpus bulat atau semi-bulat yang digunakan untuk reproduksi aseksual seperti kantung (Florian *et al.*, 2018). Mulanya bening atau agak kekuningan karena adanya senyawa karoten, berubah menjadi hitam akibat polimerisasi senyawa karoten akibat proses oksidasi. Sekitar 100.000 sporangiospora, masing-masing dengan beberapa inti, akan membelah di dalam sporangium protoplasma (Shohihati & Suharjono, 2014). Dinding sporangiospora yang juga mengandung senyawa sporopolenin, seperti sporangium yang berwarna gelap, seperti pada *Aspergillus* sp. *Rhizopus* dan *Absidia* (Florian *et al.*, 2018).

Klamidospora adalah sel hifa berdinding tebal yang diproduksi saat jamur berada dalam lingkungan yang tidak menguntungkan. Ukurannya lebih besar dibandingkan sel-sel lain di hifa dan dapat berbentuk silinder, globose, atau subglobose. Klamidospora berfungsi sebagai sel istirahat (Charisma, 2019). Fialid adalah sel konidiogenik yang membentuk konidia basipetal secara blastik. Istilah hialin digunakan untuk menggambarkan sesuatu yang bening, transparan, atau tidak berwarna. Columella adalah pembengkakan di ujung hifa fertil yang masuk ke dalam struktur penghasil spora. Konidium adalah mitospora non-motil yang tidak terbentuk di sporangium. Konidiofor, atau hifa fertil, adalah organ reproduksi yang dapat berupa tunggal atau bercabang. Pada Rhizopus, sporangiofor ditopang oleh hifa panjang yang disebut stolon, yang menghubungkan dua kumpulan rizoid (Charisma, 2019).

2.3.1 Jamur Endofit

Jamur endofit adalah jamur yang hidup, tumbuh, dan berkembang di dalam jaringan tanaman. Jamur ini menginfeksi tumbuhan sehat pada jaringan tertentu dan mampu menghasilkan mikotoksin, enzim, serta antibiotik (Charisma, 2019). Jamur endofit hidup dalam jaringan tumbuhan tanpa menyebabkan gejala penyakit pada inangnya. Hubungan antara jamur endofit dan tumbuhan inangnya adalah bentuk simbiosis mutualisme, yang berarti kedua belah pihak saling menguntungkan (Florian *et al.*, 2018). Jamur endofit mendapatkan nutrisi dari tanaman inangnya untuk melengkapi siklus hidupnya, sementara tanaman inangnya mendapatkan proteksi terhadap patogen dari senyawa yang dihasilkan oleh mikroba endofit. Mikroba endofit terdiri dari bakteri dan jamur, namun yang paling banyak ditemukan adalah dari golongan jamur (Charisma, 2019).

Jamur endofit ditemukan pada batang, akar, dan daun dari jaringan tanaman yang sehat. Endofit tumbuh di antara sel-sel tanaman, umumnya pada kulit batang dan bagian-bagian reproduksi. Jamur endofit hidup di dalam pembuluh xilem dan hanya keluar ketika inangnya tertekan dan mendekati kematian (Boddington & Dearnaley, 2008). Jamur endofit tidak menyebabkan gejala atau serangan. Mereka dapat masuk melalui lubang alami tanpa memerlukan luka. Meskipun jamur ini berada di dalam pembuluh xilem, mereka mencapainya melalui luka, jaringan muda, atau ujung akar. Kolonisasi jamur endofit dalam pembuluh korteks tidak merugikan tanaman yang sehat (Florian *et al.*, 2018). Jamur endofit banyak ditemukan pada berbagai varietas inang di seluruh dunia, termasuk pohon, semak, rumput, lumut, tumbuhan paku, dan lumut kerak (Boddington & Dearnaley, 2008).

Proses infeksi tanaman oleh jamur endofit dapat diamati melalui mekanisme masuknya mikroorganisme tersebut ke dalam biji. Biji yang terinfeksi jamur endofit berada dalam kondisi lembab dengan suhu antara 4°C hingga 20°C (Florian *et al.*, 2018). Dalam kondisi tersebut, endofit dan biji dapat bertahan hidup hingga 15 bulan pada gandum, dan dua tahun pada kelompok rumput-rumputan tinggi. Berdasarkan hal ini, siklus hidup jamur endofit dianggap mengikuti siklus hidup pembentukan biji, baik secara langsung maupun tidak langsung (Boddington & Dearnaley, 2008). Siklus hidup jamur endofit terdiri dari dua tahap yaitu:

1. Siklus hidup jamur endofit dari pembentukan biji secara langsung. Pada siklus ini, jamur endofit masuk atau inokulasi secara langsung ke dalam biji tanaman inang. Miselium aktif menginfeksi atau masuk ke dalam pembibitan, lalu masuk ke dalam jaringan tangkai daun. Setelah itu, miselium endofit masuk ke dalam tangkai bunga kemudian menuju ke dalam ovule, dan setelah pembentukan biji

selesai miselium tersebut telah terdapat di dalam biji (Boddington & Dearnaley, 2008).

2. Siklus hidup jamur endofit dari pembentukan biji secara tidak langsung. Prosesnya berawal pada masuknya miselium aktif kedalam pembibitan, lalu masuk kedalam jaringan tangkai daun dan daun. Kemudian terjadi pembentukan spora pada tanaman inang, dan spora tersebut berkecambah pada bagian floem dari tanaman inang dan pragisme (germinasi) spora tersebut merupakan benih jamur yang selanjutnya masuk dan menginfeksi stigma, lalu menuju ovul. Kemudian setelah pembentukan biji selesai, jamur endofit telah terdapat dan menginfeksi didalam biji (Boddington & Dearnaley, 2008).

2.3.2 Jamur Patogen

Jamur patogen adalah jamur yang dapat menginfeksi tanaman dan menyebabkan penyakit. Ketika jamur patogen bersentuhan dengan jaringan tanaman yang hidup dan berkembang di dalamnya, penyakit akan muncul (Azizi *et al.*, 2020). Jamur patogen melepaskan enzim dan racun yang menyebabkan penyakit dalam tubuh tanaman. Siklus hidup jamur patogen dan siklus penyakit adalah dua rangkaian peristiwa yang berbeda. Siklus hidup jamur patogen dimulai saat jamur tumbuh dan menghasilkan organ reproduksi (Azizi *et al.*, 2020). Dalam periode waktu tertentu, siklus penyakit adalah proses perubahan yang terjadi pada tubuh tumbuhan dan keberadaan patogen (siklus hidup patogen). Azizi *et al.*, (2020) menyatakan bahwa siklus penyakit meliputi:

- a. Inokulasi Pertama kali patogen bersentuhan dengan tanaman adalah melalui inokulasi atau transmisi. Gen transmisi dibawa oleh patogen (seperti serangga, air hujan, dan sebagainya). dan melekat pada komponen tanaman. Inokulum

mengacu pada komponen patogen yang bersentuhan dengan tanaman. Spora merupakan inokulum jamur karena ukurannya yang sangat kecil, sangat banyak, dan dapat dengan cepat disebarkan oleh air atau angin setelah terbentuk.

- b. Penetrasi Proses masuknya patogen atau sebagiannya ke dalam sel, jaringan, atau tubuh tanaman inang disebut penetrasi. Bukaan alami (stomata), luka, langsung melalui permukaan tubuh tanaman, atau melalui perantara (pembawa) memungkinkan patogen masuk ke dalam sel, jaringan, atau tubuh tanaman inang.
- c. Infeksi Proses dimana patogen mulai mengkonsumsi nutrisi tanaman disebut infeksi. Selama proses infeksi, patogen akan tumbuh dan berkembang pada jaringan tanaman. Apresorium jamur patogen tumbuh di ujung pembuluh setelah patogen memasuki tubuh tanaman atau epidermis tanaman. Apresorium membuat hifa menular yang terlihat seperti tonjolan kecil. Hifa ini menyebar ke segala arah dan tumbuh menjadi haustorium yang memakan sel tumbuhan.
- d. Periode inkubasi waktu yang diperlukan patogen untuk mulai menginokulasi sebelum gejala muncul dikenal sebagai perubahan inkubasi. Tingkat perkembangan inang dan hubungan antara patogen dan inang menentukan lamanya masa inkubasi berbagai.

Allah SWT berfirman dalam Al- Qur'an surat Thaha ayat 6:

لَهُ ۥ مَا فِي السَّمٰوٰتِ وَمَا فِي الْاَرْضِ وَمَا بَيْنَهُمَا وَمَا تَحْتَ الثَّرٰى ۝ ٦

Artinya: *“Kepunyaan-Nya-lah semua yang ada di langit, semua yang dibumi, semua yang diantara keduanya dan semua yang dibawah tanah”*

Tafsir Surat Thaha ayat 6 menurut Shihab (2002) adalah: *“Kepunyaan-Nyalah semua yang ada di langit, semua yang ada dibumi, semua yang ada diantara*

keduanya dan semua yang ada dibawah tanah, maksudnya, segala sesuatu adalah milik Allah, dibawah kendali, kehendak, keinginan, dan keputusan-Nya, dan dialah pencipta semua itu sekaligus baik itu Rajanya juga rabbnya, yang tiada ilah (yang berhak diibadahi) selain Dia, dan tidak juga ada Rabb selain Dia semata”.

Dari ayat diatas, dapat kita ketahui bahwa Allah SWT menciptakan makhluk hidup bermacam-macam. Ada yang bisa dilihat dengan mata telanjang dan ada pula yang hanya bisa dilihat dengan alat bantu mikroskop. Salah satu contoh makhluk mikroskopis itu adalah mikroorganisme maupun senyawa alami. Allah menciptakan makhluk hidup tidak hanya merugikan tetapi juga menguntungkan. Itu semua salah satu tanda-tanda kekuasaan Allah SWT.

2.4 Identifikasi Isolat Jamur

2.4.1 Identifikasi Morfologi

Karakterisasi morfologi isolat jamur dilakukan dengan cara mengamati penampakan karakteristik dari suatu organisme, identifikasi morfologi dilakukan untuk mengetahui identitas suatu organisme sampai pada tingkat genus. Pada tingkat identifikasi ini terdapat dua tahapan yaitu identifikasi secara makroskopis dan mikroskopis (Deacon, 2006). Identifikasi secara makroskopis dilakukan dengan cara mengamati beberapa karakter yang dapat dilihat seperti warna jamur pada permukaan atas dan bawah (*reverse slide*), bentuk, tepi koloni, ukuran koloni, garis radial dari pusat koloni ke tepi, ada atau tidaknya lingkaran kosentris, pola pertumbuhan dari awal ditanam serta tekstur permukaan seperti halus, kasar, rata, licin dan ada tidaknya tetes eksudat. Sedangkan untuk Identifikasi jamur secara mikroskopis menggunakan alat bantu berupa mikroskop dengan cara mengamati

bentuk sel, ukuran sel, tipe miselium, tipe reproduksi dan tipe pertunasan (Deacon, 2006).

Menurut Gandjar (1999) dalam identifikasi morfologi secara makroskopis jamur ada beberapa hal yang harus diperhatikan yaitu media yang digunakan, suhu saat inkubasi dan umur isolat pada saat pengamatan. Sedangkan dalam identifikasi secara mikroskopis beberapa hal yang harus diperhatikan adalah:

1. Pengamatan karakter hifa berseptum atau tidak, berpigmen hialin (munculnya warna biru atau tidak saat ditambahkan pewarna) atau dematiaceous (berwarna coklat kehijuan dan kehitaman) serta bentukan hifa (mempunyai rhizoid atau tidak).
2. Pengamatan spora aseksual meliputi bentuk seperti arthospora, blastospora dan klamidospora atau spora khusus seperti konidia dan aleuspora. Karakter spora askus diamati yaitu bentuk, ukuran, jumlah dan letak.
3. Pengamatan spora seksual yang memiliki beberapa bentuk seperti basidiospore, askospora dan zigospora.
4. Karakter sel berupa sel tunggal (berdinding tipis atau tebal dan berpigmen atau tidak) atau bersel banyak (dinding tipis atau tebal, bersepta atau tidak, bersepta transversal dan longitudinal dan berpigmen atau tidak).

2.4.2 Identifikasi Molekuler

2.4.2.1 Sequencing DNA

Sekuensing DNA adalah metode analisis yang digunakan untuk membaca informasi genetik yang ada pada sekuens DNA (Rosenberg, 2017). Metode ini pertama kali dikembangkan oleh Frederick Sanger dan timnya dengan menciptakan metode sekuens dideoxy, yang didasarkan pada perpanjangan untai DNA oleh enzim DNA polimerase. Metode sekuens kedua diperkenalkan oleh Maxam dan Gilbert sekitar waktu yang sama dengan Sanger. Metode Maxam dan Gilbert melibatkan degradasi fragmen DNA secara kimia (Pierce, 2016). Akhirnya, metode Sanger digunakan sebagai prosedur standar yang lebih populer karena penggunaannya yang lebih mudah dan lebih cepat secara teknis (McGinn & Gut, 2012).

Metode sekuensing Sanger didasarkan pada proses replikasi. Dalam metode ini, digunakan substrat khusus untuk mensintesis DNA. Biasanya, DNA disintesis dari deoxyribonucleoside triphosphates (dNTPs), tetapi pada metode Sanger, DNA disintesis menggunakan dideoxyribonucleoside triphosphates (ddNTPs) (Pierce, 2016). Sekuensing DNA dengan metode Sanger memerlukan beberapa komponen, seperti DNA target, primer, campuran ddNTP yang terdiri dari ddATP, ddGTP, ddCTP, ddTTP, dan enzim polimerase (Graham & Hill, 2001).

Metode sekuensing Sanger juga disebut dengan cycle sequencing karena reaksinya dilakukan dengan metode siklus pada thermocycler. Campuran dari sampel dimasukkan ke dalam thermocycler yang akan memanaskan campuran pada suhu 96C, dimana pada suhu ini templat sampel DNA akan mengalami denaturasi. Selanjutnya, suhu diturunkan sehingga primer dapat menempel pada templat DNA dan suhu kemudian menyesuaikan untuk proses sintesis salinan DNA oleh DNA

polimerase sampai ddNTP bergabung (Clark, 2019). Hasil akhir dari reaksi sekuensing adalah sejumlah potongan DNA dengan panjang untai yang bervariasi. Untai DNA memiliki akhiran nukleotida yang beragam sesuai dengan campuran pada dNTP. DNA akan berakhir dengan nukleotida A jika dNTP dicampur dengan ddATP, berakhir dengan nukleotida T jika dicampur dengan ddTTP, berakhir dengan nukleotida C jika dicampur dengan ddCTP dan berakhir dengan nukleotida G jika dNTP dicampur dengan ddGTP (Dewi, 2012).

2.4.2.2 Gen ITS (Internal Transcribed Spacer)

Organisme eukariotik memiliki deret rDNA yang terdapat di inti sel dan mitokondria. Deret rDNA (DNA ribosomal) ini merupakan bagian penyandi genom yang membentuk komponen rRNA (RNA ribosomal) (Mulyatni *et al.*, 2011). Daerah penyandi ini dipisahkan menjadi beberapa segmen oleh daerah pembatas yaitu ETS (*external transcribed spacer*), IGS (*intergenic spacer*), dan ITS (*internal transcribed spacer*). Fragmen ITS membatasi segmen 18S, 5.8S, dan 28S. Pada jenis jamur, daerah ITS terbagi menjadi dua bagian, yaitu ITS1 dan ITS4. Kedua daerah ini adalah daerah non-coding, karena tidak dapat diterjemahkan dalam proses pengkodean RNA ribosom (Mulyatni *et al.*, 2011).

Daerah ITS memiliki tingkat konservasi yang tinggi, sehingga sering digunakan sebagai penanda universal untuk identifikasi jamur, serta untuk mempelajari hubungan kekerabatan (Rampersad, 2014). Keunggulan daerah ITS terletak pada kemampuannya mengalami perubahan atau mutasi yang cepat, yang menghasilkan variasi genetik yang tinggi. Variasi genetik ini memungkinkan untuk membedakan spesies yang berbeda dalam satu genus. Selain itu, daerah ITS memiliki ukuran basa yang pendek, yang memudahkan proses amplifikasi menggunakan primer universal (Rampersad, 2014).

Pada penelitian Lattifah & Nuraini (2018) jamur endofit yang diisolasi dari daun pisang diidentifikasi menggunakan sekuens ITS (*Internal Transcribed Spacer region*) dimana 10 genera yang terdiri dari 17 spesies diidentifikasi secara molekuler. Jenis jamur endofit yang teridentifikasi adalah *Nigrospora oryzae*, *Nigrospora sphaerica*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum siamense*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium chlamydosporum*, *Phoma sorghina*, *Pestalotiopsis oxyanthi*, *Pestalotiopsis theae*, *Pestalotiopsis eugeniae*, *Penicillium steckii*, *Penicillium purpurogenum*, *Bipolaris papendorfii*, *Bipolaris sp.*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Cochliobolus intermedius* dan *Aspergillus niger*. Penelitian ini menunjukkan bahwa beberapa genera/spesies jamur endofit merupakan patogen tanaman yang umum dan terdapat kemungkinan bahwa endofit tersebut dapat menjadi patogen. Beberapa jamur endofit mungkin bersifat mutualis atau saprofit (Lattifah & Nuraini, 2018).

2.4.2.3 DNA Barcoding

Metode DNA Barcoding, atau Barcode DNA, telah diterima secara luas di seluruh dunia untuk mengidentifikasi spesies dengan cepat dan akurat tanpa memerlukan ciri-ciri morfologis (Hu *et al.*, 2019). DNA Barcoding menggunakan perbedaan nukleotida pada lokus gen tertentu yang mudah diamplifikasi dan unik untuk setiap spesies sebagai dasar identifikasi makhluk hidup (Hashim *et al.*, 2020). Informasi genetik ini kemudian disimpan dalam perpustakaan digital untuk data urutan barcode, yang nantinya dapat digunakan untuk mengidentifikasi makhluk hidup yang belum diketahui identitasnya. Penggunaan DNA Barcoding tidak hanya terbatas pada identifikasi, tetapi juga untuk klasifikasi makhluk hidup, mirip dengan fungsi barcode UPC (*Universal Product Code*) yang dipindai pada produk di supermarket (Blaxter, 2003).

Barcoding DNA sebagai alat identifikasi sangat bergantung pada basis data sekuens yang telah ada (Vere *et al.*, 2012). Informasi sekuens DNA untuk barcode DNA makhluk hidup tersimpan dalam Barcode of Life Database. Sekuens barcode dari spesimen yang belum diketahui identitasnya kemudian dibandingkan dengan data sekuens yang ada dalam CBOL (Hajibabaei *et al.*, 2007). Data yang tersimpan dapat digunakan sebagai referensi untuk mengidentifikasi makhluk hidup, mendapatkan informasi tentang spesies kriptik (yang identitasnya belum diketahui), mencegah eksploitasi spesies langka, dan menyusun inventaris data molekuler tentang makhluk hidup (Kress, 2017).

Barcoding DNA pada awal publikasinya masih didesain dan diaplikasikan untuk hewan (Maia *et al.*, 2012). Barcode DNA untuk tumbuhan tidak seketika berhasil dan diterima oleh komunitas ilmuan hingga beberapa tahun kemudian. Lokus gen COI tidak sesuai untuk dilakukan barcoding DNA pada hampir semua tumbuhan darat (Chase *et al.*, 2005). CBOL (*Consortium for the Barcode of Life*) Working Group menyetujui penggunaan lokus gen *matK*, *rbcL*, *trnH-psbA* dan ITS sebagai lokus standard untuk aplikasi barcode DNA pada tumbuhan (Kress, 2017). Kombinasi dari lokus gen *matK* dan *rbcL* adalah yang disarankan sebagai lokus gen universal untuk identifikasi dan autentikasi bagi tumbuhan darat dan tumbuhan berbunga (Wattoo *et al.*, 2016).

2.4.2.4 CTAB (*Cetyl Trimetyl Ammonium Bromide*)

CTAB (*Cetyl Trimetyl Ammonium Bromide*) sendiri adalah surfaktan kationik bermuatan positif pada bagian kepala dan gugus hidrofobik pada bagian ekor, gugus hidrofobik pada surfaktan akan berinteraksi dengan lemak sehingga akan terdenaturasi sedangkan muatan positif surfaktan akan berinteraksi dengan muatan negatif protein sehingga protein akan terdenaturasi. CTAB juga memiliki

kemampuan untuk memecah polisakarida menjadi monomer sederhana dengan cara berinteraksi dengan polisakarida secara hidrofobik membentuk senyawa kompleks. Kandungan NaCl berfungsi menghilangkan senyawa polisakarida, EDTA berfungsi mengurangi integritas dinding sel dengan mengikat ion magnesium agar aktivitasnya menurun, ion magnesium berkontribusi dalam mempertahankan aktivitas enzim nuklease, Tris-HCl berfungsi menyeimbangkan pH, dan PVP berfungsi untuk menghilangkan senyawa fenolik (Nystrom, 2009).

Dinding sel yang telah lisis menyebabkan semua isi yang ada di dalam sel termasuk DNA akan keluar, kontaminan yang masih tersisa bisa dikeluarkan dengan menggunakan pelarut organik. Pelarut organik yang dipakai adalah kloroform dan isoamil alkohol, dalam larutan ini kloroform berfungsi sebagai pendenaturasi protein dan isoamil alkohol berfungsi menghilangkan busa. Perlakuan tersebut membentuk 3 lapisan dengan penampakan yang berbeda, lapisan yang paling atas mengandung DNA dan RNA karena sifatnya yang polar. Hal ini dikarenakan meningkatnya kelarutan DNA dalam air akibat interaksi antara muatan dipol negatif pada gugus fosfodiester DNA. Protein yang terdenaturasi akan masuk di antara lapisan intermediet atau fase organik air, sedangkan pada lapisan bawah atau fase organik tersisa lemak dan protein nonpolar yang mudah larut dalam kloroform (Almarhoon, 2019).

2.5 Mekanisme Kerja Antijamur

Menurut Pelczar dan Chan (2008), lima mekanisme kerja antijamur adalah sebagai berikut:

- a. Merusak dinding sel Dinding sel, berfungsi untuk membentuk sel dan melindungi isi sel dari luar. Reaksi enzimatik berperan dalam pembentukan dinding sel. Zat antimikroba memiliki kemampuan untuk menghentikan

banyak reaksi enzimatik. Kitinase, misalnya, mampu menghidrolisis kitin, komponen dari dinding sel jamur. Perubahan yang menyebabkan kematian sel dapat terjadi ketika dinding sel rusak.

- b. Mengubah Permeabilitas Membran sel Membran sel sangat penting untuk menjaga permeabilitas, mengangkut nutrisi ke dalam sel, dan mengumpulkan sisa metabolisme dari sel. Peran Sangat penting bahwa itu tidak mengikat organel sel lainnya. Oleh karena itu, membran permeabilitas juga mengalami kerusakan ketika membran sel rusak. Sel menjadi lamban dan mati akibat kerusakan ini.
- c. Kerusakan Sitoplasma Air, asam nukleat, protein, karbohidrat, lipid, dan berbagai senyawa lain menyusun 80% sitoplasma sel. Komponen tersebut harus dijaga agar kehidupan sel dapat terus berfungsi. Karena adanya bahan kimia dalam konsentrasi tinggi, sel dapat mengalami koagulasi dan denaturasi.
- d. Penghambatan mitosis jamur Adanya senyawa antibiotik griseofulvin yang mampu mengikat protein mikrotubulus dalam sel, mengganggu struktur gelendong mitosis, dan menghentikan metafase pembelahan sel pada jamur, inilah yang menyebabkan efek antijamur.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif yang terdiri dari eksplorasi dan eksperimen. Penelitian eksplorasi terdiri dari isolasi dan identifikasi jamur endofit dari Apel manalagi. Penelitian eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dimana faktor dependen adalah jamur endofit yang diisolasi dari Apel Manalagi dan uji efektivitas jamur endofit sebagai agen pengendali hayati pada jamur patogen *Colletotrichum gloeosporioides*. Faktor independen yaitu jamur patogen *Colletotrichum gloeosporioides* dari Apel manalagi.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian tentang “Identifikasi Jamur Endofit Sebagai Agen Pengendali Hayati Jamur Patogen Antraknosa (*Colletotrichum gloeosporioides*) pada Apel Manalagi (*Malus Sylvestris* Mill.) dilaksanakan pada bulan Februari sampai April 2024. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Biologi Molekuler Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Laminar Air Flow (LAF), autoklaf, hot plate dan stirrer, Cawan petri, jarum oase, Bunsen, pengaduk kaca, pinset, tabung reaksi, blue tip, gelas ukur, tabung reaksi, *vortex*, *freezer*, centrifuge, PCR *thermal cycler*, tabung *Eppendorf*, elektroforesis, mikroskop, mikropipet, spektrofotometer NanoDrop, Erlenmeyer, penggaris, gelas beaker, lemari pendingin, kompor gas, timbangan analitik, dan kamera.

3.3.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang, daun, dan buah pada Tanaman Apel Manalagi, Isolat Jamur *Colletotrichum gloeosporioides* dari IPBCC, Media PDA (*Potato Dextrose Agar*) dan PDB (*Potato Dextrose Broth*), *lysis buffer*, nitrogen cair, primer ITS1 dan ITS4, TAE *buffer*, *gel agarose*, *loading dye*, Kloramfenikol sebagai antibakteri, aquades steril, kloroform, ddH₂O, isopropanol, natrium hipokloit, alcohol 70%, plastic wrab, plastic tahan panas merk Petromax, karet gelang, kapas, spirtus, kertas label, kertas HVS, kain kasa, tisu, handscune, jas laboratorium, dan alumunium foil.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pengambilan Organ Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

Pengambilan organ Apel Manalagi pada penelitian ini diambil dari wilayah Batu. Organ yang diambil adalah daun, batang, dan buah yang masih segar, dalam kondisi sudah tua, tidak layu atau tidak menguning dan bebas dari penyakit atau kontaminasi (tidak ada bercak hitam atau jamur yang menempel) (Ningsih, 2022). Kemudian masing-masing organ apel dimasukkan ke dalam kantong plastik yang steril. Selanjutnya organ apel dibawa ke Laboratorium untuk dilakukan isolasi dan identifikasi jamur endofit.

3.4.2 Pembuatan Media PDA (*Potato Dextrose Agar*) untuk Isolasi Jamur Endofit

Isolasi jamur endofit dari buah, daun, dan batang Apel Manalagi menggunakan media PDA (*Potato Dextrose Agar*). Ditimbang sebanyak 20 gram PDA instan dan 0,1 gram kloramfenikol, ditambahkan 500 ml aquades. Di atas hot plate, semua bahan ini dididihkan dan diaduk dengan stirrer hingga tercampur

secara homogen. Setelah Media mendidih selanjutnya, disterilkan selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm dalam autoklaf.

3.4.3 Isolasi Jamur Endofit pada Daun, Batang, dan Buah Apel Manalagi

Organ daun, batang dan buah apel diambil secara acak. Daun, batang, dan buah dicuci dengan air mengalir sampai bersih kemudian dipotong 1x1 cm. potongan organ kemudian direndam secara berurutan dengan etanol 70% selama 1 menit, natrium hipokloit 5,25% selama 1 menit dan aquades steril sebanyak 3 kali, lalu dibiarkan mengering dalam ruang steril. Potongan organ yang sudah steril kemudian ditanam ke dalam media PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang telah padat. Media yang sudah ditanami sampel tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 27°C dan diamati setiap hari sampai muncul pertumbuhan konidia jamur. Jika sudah ada pertumbuhan koloni jamur selanjutnya dilakukan pemurnian isolat (Raja *et al.*, 2017).

3.4.4 Pemurnian Jamur Endofit

Jamur endofit yang telah tumbuh pada media isolat PDA (*Potato Dextrose Agar*), dimurnikan masing-masing yang dianggap berbeda berdasarkan kenampakan morfologi makroskopis meliputi warna dan bentuk koloni pada media PDA baru dengan menggunakan jarum ose. Bila jamur endofit yang tumbuh masih bercampur dengan jamur yang lain maka dipurifikasi Kembali. Hal ini berfungsi untuk memperoleh isolat jamur endofit yang murni (Ernawati, 2023). Jamur endofit diinkubasi pada suhu ruang selama 3-5 hari sesuai dengan pertumbuhannya (Noverita dan Emawati, 2009).

3.4.5 Identifikasi Morfologi Jamur Endofit

Identifikasi morfologi dilakukan dengan dua jenis pengamatan, yaitu pengamatan yang dilakukan secara makroskopis dan juga mikroskopis, pengamatan

makroskopis dilakukan langsung pada koloni jamur yang telah tumbuh selama tujuh hari. Beberapa karakter yang diamati secara makroskopis adalah warna jamur (atas dan bawah), tekstur permukaan koloni, bentuk koloni, dan tepi koloni (Roosheroe, 2016).

Pengamatan mikroskopis menggunakan alat bantu mikroskop, pengamatan ini dilakukan dengan metode *slide culture* (Pal *et al.*, 2020). Disiapkan isolat jamur dari media tumbuh dengan ukuran 1x1 cm diambil menggunakan pinset steril secara aseptis. Diletakkan potongan media diatas kaca obyek steril. Dikultur isolat jamur yang akan diidentifikasi dengan cara digoreskan pada empat sudut media, kemudian ditutup dengan kaca penutup dan ditekan secara perlahan. Preparate tersebut diletakkan diatas tisu yang sudah dibasahi dengan akuades steril dalam cawan petri steril dan diinkubasi pada suhu ruang selama 5-7 hari. Langkah selanjutnya disiapkan kaca obyek baru dan ditetesi larutan pewarna lactophenol cotton blue. Ditutup dengan kaca penutup yang berasal dari preparate kultur jamur. Diamati dibawah mikroskop binokuler dengan perbesaran 100x dan 1000x. Komponen yang diamatai meliputi: hifa, spora, konidia, dan konidiofor serta ciri khusus yang Nampak dan akan menentukan jenis jamur endofit. Identifikasi dilakukan menggunakan buku identifikasi jamur *Taxonomy of Fungi* (Bessey, 1950), *Illustrated Genera of Fungi* (Barnet & Hunter, 1998), dan *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi* (Watanabe, 2002).

3.4.6 Identifikasi Molekuler

3.4.6.1 Isolasi DNA Menggunakan Metode CTAB

Isolat yang telah ditumbuhkan di dalam media PDB kemudian, disiapkan miselium jamur sebanyak 100 mg kemudian digerus menggunakan mortar dan alu sampai hancur, ditambahkan nitrogen cair untuk memudahkan penggerusan

kemudian ditambah 1000 μL buffer 2X CTAB yang mengandung 20 mM EDTA; 1,4 M NaCl; 10 mM Tris-HCl pH 8; 2% CTAB; 2% PVP40; 0,2% β -mercaptoethanol, divortex dan diinkubasi pada suhu 65°C selama 60 menit. Selama proses inkubasi, tabung mikro dibolak-balik setiap 5 menit sekali. Ditambah 900 μL (24:1) *chloroform*: isoamilalkohol dan diinkubasi di suhu ruang selama 1 jam. Disentrifugasi 13.000 rpm selama 10 menit, supernatan yang terbentuk dipindah pada tube 1.5 mL. Ditambah 1x volume *chloroform*: isoamilalkohol (24:1) dan disentrifugasi 13.000 rpm selama 10 menit. Diambil supernatan dan dipindah pada tube 1.5 mL.

Langkah selanjutnya adalah presipitasi DNA dengan isopropanol dingin sebanyak $2/3$ kali volume supernatan yang diperoleh, disimpan semalaman dalam suhu -4°C kemudian dilakukan sentrifugasi 13.000 rpm selama 10 menit untuk memperoleh endapan DNA pada pellet. Ditambahkan 500 μL etanol absolut dan disentrifugasi 13.000 rpm/ 5 menit kemudian dikering anginkan dan diresuspensi dengan 50 μL buffer TE. Disimpan pada suhu -4°C dan dilakukan uji kuantitatif dengan spektrofotometer NanoDrop dengan panjang gelombang 260/280 nm (Bechem *et al.*, 2018).

3.4.6.2 Amplifikasi DNA dengan PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Amplifikasi daerah ITS dilakukan dengan pembuatan PCR mix volume 25 μL dan menggunakan primer universal ITS1 dan ITS4. Komponen dalam PCR mix meliputi: DNA template 2 μL , primer *forward* 2 μL 1 pmol, primer *reverse* 2 μL 1 pmol, ddH₂O 7 μL , PCR mix 12 μL . Primer *forward* yang digunakan adalah ITS1 (5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3'), sedangkan primer *reverse* yang digunakan adalah ITS4 (5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'). Amplifikasi dilakukan dengan tahapan denaturasi awal 95°C selama 3 menit sebanyak satu siklus. Selanjutnya 35

siklus yang terdiri atas: denaturasi 95°C selama 30 detik, penempelan 55°C selama 45 detik dan pemanjangan 72°C selama 3 menit kemudian diakhiri dengan tahap tiga sebanyak satu siklus pada 72°C selama 5 menit. Sampel hasil amplifikasi dilakukan uji kualitatif untuk mengetahui panjang fragmen DNA (Jati *et al.*, 2023).

3.4.6.3 Elektroforesis

Hasil isolasi genom DNA jamur dianalisis dengan elektroforesis *gel agarose* 0,9%. Gel dan cetakan direndam pada *buffer* TAE IX pada kolom elektroforesis. Larutan sampel dari freezer diambil sebanyak 5 µl, kemudian dicampurkan dengan 1 µl *loading dye* dan 4 µl dH₂O. Sampel dimasukkan ke dalam sumur yang terdapat dalam gel pada kolom elektroforesis. Setelah sampel dimasukkan, kemudian dielektroforesis pada tegangan 50 volt selama 100 menit. Gel berisi DNA hasil elektroforesis direndam menggunakan larutan Ethium Bromide (EtBr) selama 10 menit, kemudian dibilas dengan *delution water steril*. Gel hasil elektroforesis dilihat dengan alat sinar UV (*UV Transluminator*) dan dicetak fotonya.

3.4.6.4 Sequencing DNA dan Identifikasi Molekuler

Hasil amplifikasi yang diperoleh kemudian dilakukan proses *sequencing* di PT. Genetika Science Indonesia. Hasil *sequencing* DNA disusun dengan program Bioedit kemudian dilakukan analisis dengan menggunakan BLAST-N pada NCBI dan ditentukan *outgroup* dari family yang berbeda. Setelah itu dilakukan konstruksi pohon filogenetik menggunakan *software* MEGA-X. data yang disejajarkan sebelumnya dibuka dengan aplikasi MEGA-X dan dikonfirmasi pembuatan pohon filogenetik dengan menggunakan metode *statistic Maximum Likelihood*. Digunakan tes filogeni berupa metode *bootstrap* (jumlah replikasi sebanyak 1000 kali) dan model substitusi *Neighbor joining*. Tingkat kemiripan yang paling tinggi

ditunjukkan dengan jarak terdekat dari sekuen sampel terhadap sekuen pembanding (Haubracken & Samson., 2017).

3.4.7 Pengujian Antagonis

3.4.7.1 Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

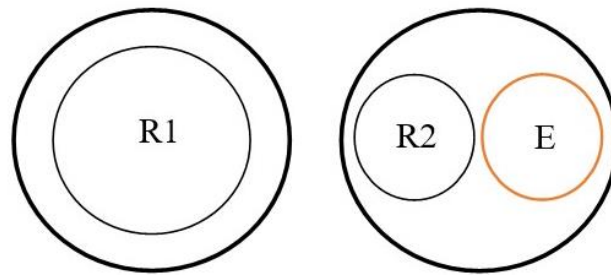
Peremajaan jamur patogen *Colletotrichum gloeosporioides* dan jamur endofit menggunakan media PDA (*Potato Dextrose Agar*). Ditimbang sebanyak 20 gram PDA instan dan 0,1 gram kloramfenikol, ditambahkan 500 ml aquades. Di atas hot plate, semua bahan ini dididihkan dan diaduk dengan stirrer hingga tercampur secara homogen. Setelah Media mendidih selanjutnya, disterilkan selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm dalam autoklaf.

3.4.7.2 Peremajaan Jamur Patogen *Colletotrichum gloeosporioides* dan Jamur Endofit

Peremajaan biakan murni jamur patogen *Colletotrichum gloeosporioides* dan jamur endofit dilakukan di Laminar Air Flow (LAF) dengan menumbuhkan isolat dalam cawan petri steril yang berisi media PDA. Isolat jamur patogen dan jamur endofit diambil dengan jarum ose dan diinokulasi ke dalam media PDA hingga satu loop. Isolat diinkubasi dalam inkubator pada suhu 28°C selama kurang lebih 5-7 hari.

3.4.7.3 Uji Antagonis Jamur Endofit Terhadap jamur Patogen *Colletotrichum gloeosporioides*

Pengujian antagonis jamur endofit (Gambar 3.2) terhadap jamur patogen *Colletotrichum gloeosporioides* secara *in vitro* dilakukan dengan metode *dual culture*, yaitu dengan menumbuhkan isolat jamur patogen secara sejajar dengan isolat jamur endofit dengan jarak 3 cm dalam cawan petri berdiameter 9 cm yang berisi media PDA steril secara bersamaan.



Gambar 3.1 Uji antagonis jamur endofit terhadap jamur patogen *Colletotrichum gloeosporioides* menggunakan metode *dual culture*. (Padder *et al.*, 2021).

Keterangan: E = Diameter Jamur Endofit

R1 = Diameter Koloni Jamur Patogen Kontrol

R2 = Diameter Koloni Jamur Patogen Pada Perlakuan

Setelah itu diinkubasi selama 3-7 hari pada suhu 28°C. jumlah perlakuan uji antagonis yang dilakukan diulang sebanyak tiga kali dan satu isolat kontrol ditumbuhkan secara bersamaan.

3.4.8 Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan dalam penelitian ini adalah:

a. Diameter Koloni (cm)

Pada hari pertama, hari ketiga, hari kelima, dan hari ketujuh dilakukan pengamatan dan pengukuran diameter pertumbuhan koloni jamur patogen. Tujuan dari pengukuran diameter pertumbuhan koloni adalah untuk menentukan diameter koloni jamur patogen, serta apakah jamur endofit dapat menghambat pertumbuhan koloni jamur patogen. Persentase daerah hambat jamur endofit terhadap jamur patogen kemudian ditentukan dengan menggunakan data diameter koloni patogen yang diperoleh dari hasil pengukuran (Lopez *et al.*, 2021).

b. Presentase Hambatan Pertumbuhan (%)

Pengamatan dilakukan dengan menggunakan rumus persentase hambatan metode Fatmawati, (2015) digunakan untuk menghitung daya hambat jamur endofit, yaitu dengan mengukur perkembangan luas miselium dan perkembangan koloni *C. gloeosporioides* pada setiap perlakuan dimulai pada hari pertama sampai miselium dan koloni tumbuh dipermukaan cawan petri. Adapun rumus perhitungannya sebagai berikut:

$$P = \frac{R1-R2}{R1} \times 100\%$$

Keterangan:

P = Presentase penghambatan antagonis jamur endofit terhadap jamur patogen

R1 = Diameter pertumbuhan jamur patogen pada kontrol atau tanpa perlakuan (cm)

R2 = Diameter pertumbuhan jamur patogen yang ditambahkan dengan jamur endofit atau dengan perlakuan (cm)

3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji efektifitas jamur endofit dengan mengukur diameter miselium dalam cm dan menunjukkan daerah hambatan pada media PDA. Data yang diperoleh diuji secara statistik dengan *Oneway Variant Analysis* (ANOVA) untuk mengetahui jamur endofit berpengaruh atau tidak terhadap jamur patogen dengan uji antagonis. Jika ada pengaruh, maka uji lanjut Duncan pada taraf nyata ($\alpha=5\%$) digunakan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang nyata antar perlakuan.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakteristik Jamur Endofit Pada Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

4.1.1 Karakteristik Jamur Endofit Secara Morfologi Pada Daun, Buah, dan Batang Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

Total 16 isolat berhasil diisolasi dari Apel Manalagi, dimana empat isolat dari buah, enam isolat dari daun, dan enam isolat dari batang. Isolat Jamur endofit hasil isolasi memiliki perbedaan karakteristik secara mikroskopis dan makroskopis. Dari ketiga organ tersebut memiliki warna isolat yang bervariasi, seperti warna putih pada bagian batang, warna merah muda pada bagian buah, serta warna abu-abu terdapat pada organ daun (Lampiran 2). Perbedaan bentuk koloni ditemukan pada setiap bagian organ, misalnya koloni berbentuk bulat terdapat pada semua organ batang dan koloni dengan bentuk tidak beraturan pada organ daun dan buah (Lampiran 2). Tidak terdapat perbedaan pada tepi koloni dari setiap isolat; semua isolat menunjukkan tepi yang rata. Namun beberapa isolat memiliki tepi yang bertekstur pada organ batang dan buah (Lampiran 2).

Secara mikroskopis, bentuk spora jamur endofit yang ditemukan diberbagai organ Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) memiliki bentuk yang beraneka ragam seperti, lonjong terdapat pada daun, bulat pada batang, dan bulan sabit pada buah (Lampiran 2). Selain itu, terdapat bentuk konidia jamur endofit yang berbeda disetiap organ Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) misalnya, konidia bulat terdapat pada daun (Tabel 4.2), lonjong pada batang (Tabel 4.1), dan berbentuk bulan sabit pada buah (Lampiran 2). Perbedaan warna konidiofor juga teramati, dengan konidiofor berwarna gelap pada daun (Tabel 4.2), tidak berwarna pada

batang (Tabel 4.1), dan berwarna hijau pada buah (Tabel 4.3). Dari perbedaan karakteristik secara makroskopis dan mikroskopis menunjukkan bahwa ketiga organ tersebut memiliki karakteristik jamur endofit yang bervariasi (Lampiran 1).

Tabel 4.1 Ciri karakter Jamur Endofit pada Organ Batang Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

Pengamatan	Isolat Ba1	Isolat Ba2	Isolat Ba3	Isolat Ba4	Isolat Ba5	Isolat Ba6
Bentuk koloni	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat
Tepi koloni	Rata	Rata bertekstur	Rata	Rata	Rata bertekstur	Rata
Warna permukaan koloni	Putih kehijauan	Hitam	Putih	Merah muda	Hitam	Abu-abu
Warna Belakang koloni	Putih susu	Putih kekuningan	Kuning	Merah Muda	Putih	Coklat
Hifa	Tidak bersekat	Bersekat	Tidak bersekat	Tidak bersekat	Tidak bersekat	Bersekat
Spora	Bulat	Bulat	Lonjong	Bulan sabit	Bulat	Bulat
Konidia	Bulat	Bulat	Lonjong	Bulan sabit	Bulat	Bulat
Konidiofor	Tidak berwarna	Tidak berwarna	Hijau	Tidak berwarna	Tidak berwarna	Berwarna coklat
Dugaan Genus	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Trichoderma</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.

Tabel 4.2 Ciri karakter Isolat Jamur Endofit pada Organ Daun Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

Pengamatan	Isolat D1	Isolat D2	Isolat D3	Isolat D4	Isolat D5	Isolat D6
Bentuk koloni	Bulat	Bulat tidak beraturan	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat
Tepi koloni	Rata	Rata	Rata	Rata	Rata	Rata
Warna permukaan koloni	Putih dengan pusat abu-abu	Abu-abu kehijauan	Putih dengan pusat abu-abu	Abu-abu	Abu-abu	Putih
Warna Belakang koloni	Putih	Hitam	Hitam	Hitam	Hitam	Putih
Hifa	Bersekat	Bersekat	Bersekat	Bersekat	Bersekat	Tidak bersekat
Spora	Bulat	Bulat	Bulat	Lonjong	Lonjong	Bulat
Konidia	Bulat	Bulat	Bulat	Rantai panjang	Rantai panjang	Bulat
Konidiofor	Gelap	Berwarna coklat	Pendek	Berwarna coklat	Berwarna coklat	Gelap
Dugaan Genus	<i>Botrytis</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.	<i>Nigrospora</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.	<i>Botrytis</i> sp.

Tabel 4.3 Ciri karakter Jamur Endofit pada Organ Buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

Pengamatan	Isolat Bu1	Isolat Bu2	Isolat Bu3	Isolat Bu4
Bentuk koloni	Tidak beraturan	Bulat tidak beraturan	Bulat tidak beraturan	Bulat
Tepi koloni	Rata	Rata bertekstur	Rata	Rata
Warna permukaan koloni	Putih kekuningan	Hitam	Putih	Merah muda
Warna Belakang koloni	Kuning	Putih kekuningan	Kuning	Merah muda
Hifa	Bersekat	Bersekat	Bersekat	Tidak Bersekat
Spora	Bulat	Bulat	Bulat	Bulan sabit
Konidia	Bulat rantai	Bulat	Bulat rantai	Bulan sabit
Konidiofor	Berwarna hijau	Gelap	Berwarna hijau	Tidak berwatna
Dugaan Genus	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.

Berdasarkan pengamatan terhadap ciri makroskopis dan mikroskopis seperti yang ditampilkan pada (Lampiran 1) dan mengacu pada referensi dari Watanabe (2002) serta Barnett dan Hunter (1998), dapat disimpulkan bahwa jamur endofit yang ditemukan pada organ batang didominasi oleh genus *Aspergillus* sp., pada organ daun didominasi oleh genus *Alternaria* sp., dan pada organ buah didominasi oleh genus *Penicillium* sp.. Penelitian yang telah dilakukan oleh Ernawati *et al.* (2023) juga menemukan beberapa genus jamur endofit pada daun apel, yaitu *Penicillium*, *Culvularia*, *Acremonium*, *Alternaria*, dan *Aspergillus*. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat variasi dalam jenis jamur endofit yang ditemukan pada organ-organ yang berbeda.

Perbandingan jamur endofit di daun, batang, dan daun memiliki perbedaan seperti pada Daun, Jamur endofit yang ditemukan pada daun didominasi oleh genus *Alternaria* sp. dan *Aspergillus* sp. seperti yang ditunjukkan oleh Ernawati *et al.* (2023). *Alternaria* sp. dikenal sebagai endofit yang dapat menghasilkan fitohormon

pada tanaman, sedangkan *Aspergillus* sp. dapat berperan sebagai endofit dapat memicu mekanisme ketahanan sistemik pada tanaman. Pada Batang, Jamur endofit yang ditemukan pada batang didominasi oleh genus *Aspergillus* sp. seperti yang disimpulkan berdasarkan referensi Watanabe (2002) serta Barnett dan Hunter (1998). Sedangkan organ Buah, Jamur endofit yang ditemukan pada buah didominasi oleh genus *Penicillium* sp. seperti yang disimpulkan berdasarkan referensi Watanabe (2002) serta Barnett dan Hunter (1998). *Penicillium* sp. dapat berperan sebagai endofit atau patogen tergantung pada kondisi inangnya.

Menurut Husna (2005), keberadaan jamur endofit lebih banyak ditemukan pada daun disebabkan oleh beberapa faktor yang mempengaruhi keanekaragaman jamur endofit dalam jaringan tumbuhan. Jamur endofit memiliki kemampuan untuk beradaptasi dengan kondisi lingkungan, memungkinkan mereka untuk menghasilkan metabolit yang sesuai dengan lingkungannya. Daun tumbuhan mengandung berbagai nutrisi dan senyawa yang dapat memengaruhi keanekaragaman jamur endofit. Selain itu, jamur endofit mampu beradaptasi dengan berbagai varietas inang dan menghasilkan metabolit yang sesuai dengan inang tersebut (Husna, 2005).

Distribusi jamur endofit dalam tanaman sangat dipengaruhi oleh kombinasi alokasi sumber daya tanaman dan kemampuan jamur endofit untuk berkoloni. Jamur Endofit yang terdapat di akar tanaman biasanya masuk melalui tempat munculnya akar lateral dan membantu mengkolonisasi epidermis, retakan akar, serta area di bawah zona rambut akar (Zakria et al., 2007). Penjajah semacam ini dapat membentuk populasi baik di dalam sel maupun antar sel (Zakria et al., 2007). Setelah kolonisasi terjadi, endofit dapat berpindah ke bagian tanaman lainnya

melalui jaringan pembuluh darah, di mana mereka mulai berkembang biak secara sistemik. Johnston-Monje dan Raizada (2011) menunjukkan pengangkutan jamur endofit dengan pelabelan protein fluoresen hijau (GFP) ke dalam akar dan jaringan, dan hasilnya menunjukkan bahwa jamur endofit yang dimasukkan ke batang dapat bergerak ke akar dan rizosfer, yang mengindikasikan adanya distribusi berkelanjutan organisme endofit dalam mikrobioma akar.

Pada penelitian Garveta *et al.*, 2001 lebih banyak menemukan jamur endofit pada batang dan daun dibandingkan pada akar sehingga meningkatkan pertumbuhan tanaman, menduga bahwa keberadaan jamur endofit yang lebih tinggi di dalam tajuk tanaman dibandingkan dengan jaringan metaxylem mungkin disebabkan oleh tingkat fotosintat yang lebih tinggi di kawasan tajuk, yang mungkin memasok lebih banyak sumber daya untuk meningkatkan komunitas yang lebih besar. Ketika jaringan tanaman terkolonisasi secara efektif, jamur endofit dapat didistribusikan secara bebas di tanaman inang, sehingga meningkatkan pertumbuhan tanaman. Namun, menemukan mekanisme di balik distribusi ini masih menjadi fokus penting (Garveta *et al.*, 2001).

4.1.2 Karakteristik Jamur Endofit Secara Molekuler pada Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

Tiga isolat terpilih, yaitu D5, Bu3, dan Ba4, menunjukkan kemampuan antagonis setelah dilakukan uji antagonisme pada jamur patogen (*Colletotrichum gloesporioides*). Berdasarkan identifikasi secara morfologi diduga bahwa isolat D5 merupakan kelompok jamur dari genus *Alternaria* sp., sedangkan untuk isolat Ba4 diduga termasuk dalam genus *Fusarium* sp., isolat Bu3 diduga termasuk dalam genus *Aspergillus* sp.. Maka untuk mengetahui jenis isolat tersebut dalam tingkat

spesies perlu dilakukan identifikasi secara molekuler dengan menganalisis urutan DNA. Menurut Nasution (2005) DNA ialah suatu bentuk susunan yang juga merekam informasi tentang status dan Sejarah suatu kehidupan, tentunya diperlukan suatu pengetahuan dasar untuk menghubungkan kedua informasi tersebut menggunakan ilmu yang bernama bioinformatika agar informasi menjadi lebih berguna. Dalam Al-Qur'an surah Al-Furqan ayat 2 Allah SWT berfirman:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ وَّمَن يَّتَّخِذْ وَلَدًا وَّمَن يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِى الْمُلْكِ وَاَخْلَقَ كُلَّ شَيْءٍ
فَعَدَّ رَهٗٓ تَقْدِيْرًا

Artinya: “Yang kepunyaan-Nya lah Kerajaan langit dan bumi, dan tidak mempunyai anak dan tidak ada sekutu bagi-Nya dan dia telah menciptakan segala sesuatu dan dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya” (Q.S Al-Furqan:2).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT adalah penguasa mutlak dan Maha Esa, Allah SWT juga telah menciptakan apapun itu dengan serapi-rapinya. Tafsir Al-Misbah volume 9 menjelaskan bahwa setiap makhluk memiliki sifat dan waktu perkembangan masing-masing, semua kejadian berjalan sesuai dengan system yang sangat teliti dan tentunya sesuai dengan apa yang direncanakan oleh Allah SWT. Dari semua kejadian yang telah terjadi, sudah jelas bahwa semua makhluk hidup terdiri atas kesatuan unsur-unsur yang sangat terbatas jumlahnya (Shihab, 2012).

Proses dalam penciptaan makhluk hidup tentunya tidak lepas dari komposisi yang sangat presisi dan susunan yang terstruktur menjadi pusat informasi yang membedakan antara satu individu dengan yang lain. Tafsir Al-Misbah juga menjelaskan bahwa setiap jenis makhluk hidup memiliki sifat-sifat tertentu yang akan diwariskan ke generasi selanjutnya, semua itu berjalan sesuai hukum dan aturan yang bersifat konstan dan teliti yang menunjukkan jelas kebesaran dan

kekuasaan Allah SWT. Hal ini berhubungan dengan adanya daerah ITS sebagai gen penanda universal dalam mengidentifikasi jamur, daerah ITS dimiliki oleh setiap jamur namun memiliki variasi genetik yang tinggi. Variasi genetik ini dapat membedakan antara spesies satu dengan yang lain, Maha suci Allah dari apa yang mereka persekutukan (Shihab, 2012).

Keberhasilan identifikasi molekuler ditentukan oleh kemurnian DNA melalui uji kualitas dan kuantitas DNA. Hasil uji kuantitatif menunjukkan rentang kemurnian DNA pada nilai absorbansi A260/A280 berkisar antara 1,02-1,16. Nilai tersebut menunjukkan bahwa Tingkat kemurnian DNA masih rendah. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Sambrook (2006) yang menyatakan bahwa rasio nilai kemurnian DNA yang baik pada absorbansi A260/A280 adalah 1,8-2,0. Isolat D5 menunjukkan nilai absorbansi yaitu sebesar 1,02. Isolat Bu3 menunjukkan nilai absorbansi sebesar 1,16, sedangkan untuk isolat Ba4 memiliki nilai absorbansi sebesar 1,11 (Tabel 4.4). Hasil uji kualitatif DNA menunjukkan bahwa seluruh sampel menunjukkan adanya smear (Lampiran 3), smear tersebut adalah hasil elektroforesis DNA genom yang disebabkan adanya presipitasi protein hasil isolasi DNA (Skutkova, 2013).

Hasil isolasi DNA selanjutnya diamplifikasi menggunakan Teknik PCR menggunakan dua jenis primer ITS yaitu ITS1 sebagai primer forward dan ITS4 sebagai primer reverse. Visualisasi hasil PCR menunjukkan bahwa sampel D5, Bu3 dan Ba4 memunculkan band dengan panjang 550 bp. Menurut pendapat Harahap (2018), visualisasi hasil PCR dipengaruhi oleh Tingkat kemurnian DNA, kemurnian DNA yang baik akan mempengaruhi proses amplifikasi sehingga band akan terlihat pada saat visualisasi DNA. Berdasarkan keterangan tersebut

menunjukkan bahwa konsentrasi DNA yang rendah membuat DNA tidak teramplifikasi dengan baik dan tidak memunculkan band (Harahap, 2018).

Tabel 4.4 Hasil Uji Kuantitatif Kemurnian DNA

Kode Isolat	260/230	Abs 230	Abs 260	Abs 280	260/280	Con(ng/l)
D5	1.14	0.41	0.47	0.46	1.02	470
Bu3	2.33	0.03	0.07	0.06	1.16	70
Ba4	2.37	0.08	0.19	0.17	1.11	190

Isolat D5, Bu3, dan Ba4 teridentifikasi sebagai *Alternaria alternata* (D5), *Fusarium lateritium* (Ba4), dan *Aspergillus niger* (Bu3) (Tabel 4.5). Berdasarkan data Percent Identity yang telah didapatkan dari hasil analisis penyejajaran BLAST dari NCBI, isolat D5 memiliki tingkat kemiripan 99,49% dengan spesies *Alternaria alternata*, isolat Bu3 memiliki tingkat kemiripan 98,55% dengan spesies *Aspergillus niger*, dan isolat Ba4 memiliki tingkat kemiripan 99,22% dengan spesies *Fusarium lateritium*. Sedangkan, analisis berdasarkan Nilai similarity dari Boldsystems isolat D5 menunjukkan angka 94,65%, isolat Bu3 menunjukkan 89,41% dan isolat Ba4 menunjukkan angka 98,58% (Tabel 4.5).

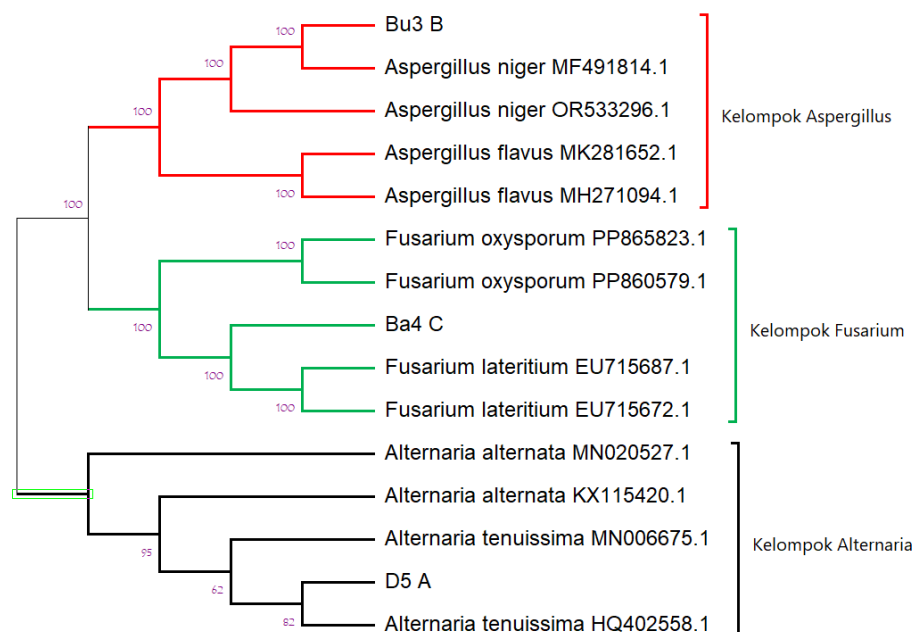
Tabel 4.5 Hasil Analisis Penyejajaran BLAST dari NCBI dan Boldsystems Untuk Nilai 3 Tertinggi Antara Isolat D5, Bu3, dan Ba4 Dengan Data Gen Bank Bank

No	Jenis Isolat	NCBI	Boldsystems	Similarity (Boldsystems)	Percent Identity (NCBI)
1.	(D5)	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Alternaria alternata</i>	94,65%	99,49%
2.	(Bu3)	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus niger</i>	89,41%	98,55%
3.	(Ba4)	<i>Fusarium lateritium</i>	<i>Fusarium lateritium</i>	98,58%	99,22%

Menurut Sogandi (2018) nilai max identity adalah nilai tertinggi dari presentase identitas atau kecocokan antar sekuen query dengan database yang disejajarkan. Nilai max identity diatas 97% menandakan bahwa isolat memiliki tingkat homologi yang tinggi dan merupakan spesies yang sama (Sogandi, 2018). Pada hasil BLAST juga menunjukkan hasil *E-value* 0.0 dimana angka ini mengindikasikan adanya keidentikan antara sampel dengan data, *E-value* adalah nilai ukuran statistik yang signifikan antara kedua sekuen termasuk rendah, sedangkan semakin rendah nilai *E-value* maka homologi antara kedua sekuen semakin tinggi. Nilai *E-value* yang bernilai 0 maka menunjukkan kedua sekuen tersebut identic (Claverie,2003).

Hasil sekuensing menunjukkan bahwa hasil identifikasi isolat D5, Bu3, dan Ba4 secara molekuler sama dengan hasil identifikasi secara morfologi. Hasil identifikasi morfologi yang didasarkan pada struktur makroskopis dan mikroskopis menunjukkan bahwa isolat D5 menyerupai genus *Alternaria* sp. dan berdasarkan hasil sekuensing menunjukkan *Alternaria alternata*, isolat Bu3 menyerupai genus *Aspergillus* sp. dan berdasarkan hasil sekuensing menunjukkan *Aspergillus niger*, dan isolat Ba4 menyerupai genus *Fusarium* sp. dan berdasarkan hasil sekuensing menunjukkan *Fusarium lateritium*. Pentingnya identifikasi molekuler dilakukan karena struktur mikroskopis isolat yang tidak terlihat dengan jelas saat pengamatan akan menimbulkan hasil identifikasi yang tidak akurat. Hal tersebut dinyatakan dalam penelitian Senanayake *et al.* (2020) yang menyatakan bahwa identifikasi berbasis morfologi pada jamur terkadang tidak dapat menghasilkan hasil yang akurat dikarenakan karakter yang tumpang tindih, spesies samar dan adanya perbedaan morfologi teksa dikarenakan factor lingkungan.

Hasil rekontruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa isolat D5 berada dicabang yang sama dengan *Alternaria alternata* (Gambar 4.1), Dimana hal tersebut menunjukkan bahwa isolat D5 memiliki kekerabatan dekat dengan *Alternaria alternata*, dapat disimpulkan bahwa isolat D5 dengan *Alternaria alternata* memiliki kemiripan identik. isolat Bu3 berada dicabang yang sama dengan *Aspergillus niger* (Gambar 4.1), Dimana hal tersebut menunjukkan bahwa isolat Bu3 memiliki kekerabatan dekat dengan *Aspergillus niger*. Diperkuat dengan data hasil BLAST yang menunjukkan nilai *similarity* 94,65% dan nilai *max identity* 98,55%, dapat disimpulkan bahwa isolat Bu3 dengan *Aspergillus niger* memiliki kemiripan identik. Sedangkan untuk isolat Ba4 berada di cabang yang dekat dengan *Fusarium lateritium* pada Gambar 4.1, menunjukkan kekerabatan dekat antara keduanya. Hal ini didukung oleh hasil BLAST yang menunjukkan nilai *similarity* sebesar 98,58%, dan *max identity* sebesar 99,22%. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa isolat Ba4 memiliki kemiripan identik dengan *Fusarium lateritium*.



Gambar 4.1 Rekonstruksi pohon filogenetik isolat D5, Bu3, dan Ba4 metode Maximum Likelihood, bootstrap 1000 pengulangan berdasarkan nilai p-distance basa-basa nuleotida rDNA ITS

Nilai *bootstrap* dapat dijadikan sebagai dasar penentu kestabilan untuk cabang pohon filogenetik, percabangan yang stabil berarti akurat dan pohon filogenetik tidak akan berubah. Yuniarti *et al.*, (2017) menjelaskan bahwa konstuksi pohon filogenetik dikatakan stabil jika nilai *bootstrap* diatas 90%, sedangkan nilai dibawah 70% dianggap rendah. Metode yang digunakan dalam rekonstruksi pohon filogenetik adalah metode *Neighbor joining* dengan analisis *bootstrap* menjadi metode terbaik dalam mengevaluasi hubungan kekerabatan berbasis jarak.

4.2 Uji Antagonis Jamur Endofit dan Jamur Patogen

Pada pengamatan ini dilakukan uji antagonis berdasarkan kecepatan pertumbuhan jamur endofit Ketika diisolasi selama 7 hari. Uji aktivitas antagonis jamur endofit pada isolat D5, Bu3 dan Ba4 terhadap jamur patogen *Colletotrichum gloeosporioides* yang menyebabkan busuk buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris*

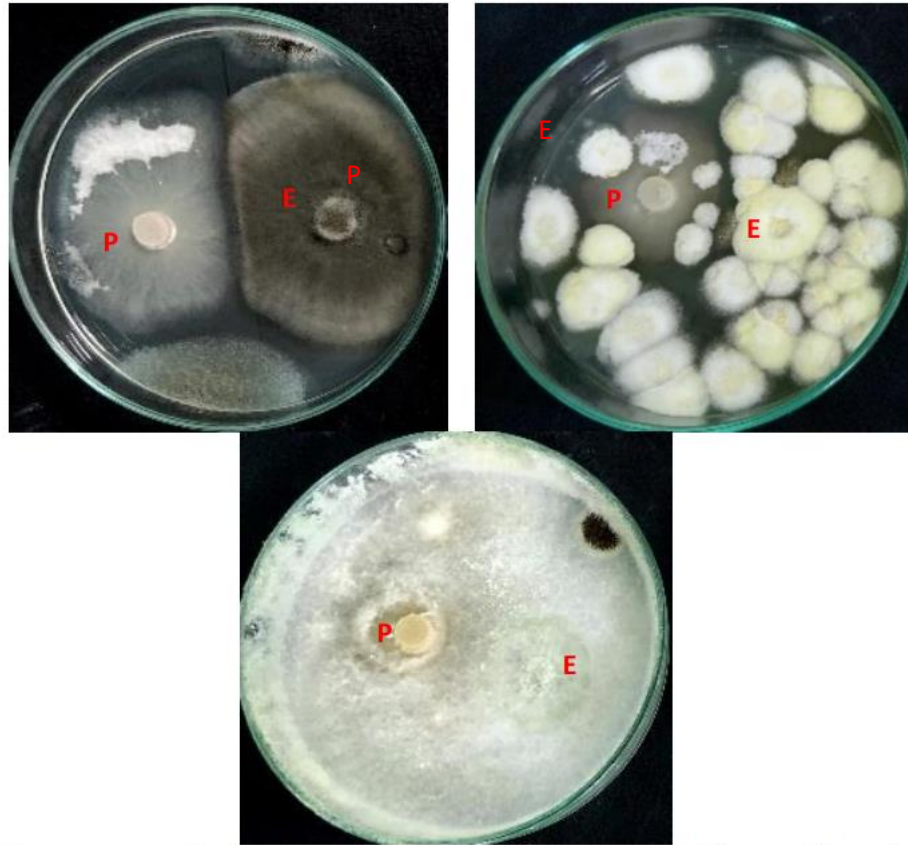
Mill.) dilakukan dengan metode dual culture. Pengamatan uji antagonis dilakukan sejak 3 hari setelah inokulasi sampai 7 hari setelah inokulasi. Perlakuan uji antagonis dilakukan dengan 2 kali ulangan (Lampiran 4). Hasil pengamatan pada penelitian ini dapat diketahui bahwa uji antagonis jamur endofit terhadap jamur patogen memberikan pengaruh yang berbeda-beda terhadap diameter koloni jamur patogen. Rata-rata Diameter Koloni (cm) jamur endofit dan jamur patogen tersaji pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Rata-rata Diameter Koloni (cm) Jamur Endofit dan Jamur Patogen

No	Perlakuan	Kode Isolat	Rata-rata Diameter Koloni (cm)
1.	D5 VS CG	D5	6,25
		Patogen	2,15
		Kontrol	4,5
2.	Bu3 VS CG	Bu3	4,8
		Patogen	1,9
		Kontrol	4,5
3.	Ba4 VS CG	Ba4	5,75
		Patogen	2,9
		Kontrol	4,5
Keterangan : CG= <i>Colletotrichum gloesporioides</i> ,			

Rerata diameter miselium antara tiga isolat antagonis terhadap jamur patogen pada hari ke tujuh menunjukkan hasil yang berbeda-beda. Pada perlakuan kali ini jamur endofit dan jamur patogen diinokulasi pada hari yang sama dan diamati pada hari ketujuh setelah inkubasi. Rerata diameter miselium terbesar yaitu pada jamur endofit dengan kode isolat D5 yaitu 6,25 cm untuk jamur endofit. Sedangkan isolat yang menunjukkan Rerata diameter miselium terendah yaitu Bu3 dengan pertumbuhan miselium sebesar 4,8 cm (Tabel 4.6). Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan miselium isolat *Alternaria* sp. lebih cepat dibandingkan dengan isolat *Aspergillus* sp. sedangkan untuk isolat (Ba4) *Fusarium* sp. menunjukkan hasil

Tengah antara (D5) *Alternaria* sp. dan (Bu3) *Aspergillus* sp. yaitu dengan nilai 7,1 cm pada isolat Ba4a perlakuan 1 (Lampiran 5).



Keterangan: a. Isolat D5 (*Alternaria* sp), b. Isolat Bu3 (*Aspergillus* sp),
c. Isolat Ba4 (*Fusarium* sp). (E= Jamur Endofit, P= Jamur Patogen)

Gambar 4.2 Uji Antagonis Isolat D5, Bu3 dan Bu4 vs *C. gloeosporioides* pada hari ke tujuh

Besarnya hambatan ditunjukkan pada masing-masing perlakuan yaitu pada jamur endofit yang memiliki pertumbuhan yang cepat pada media PDA, kecepatan pertumbuhan jamur yang tinggi menunjukkan besar aktivitas dalam menekan pertumbuhan patogen. Melsya *et al.* (2013) menyatakan bahwa sifat antagonis muncul karena adanya persaingan yang terjadi antara jamur endofit dan jamur patogen yang ditumbuhkan berdampingan, persaingan terjadi akibat adanya

kebutuhan yang sama dari masing-masing jamur, yaitu kebutuhan tempat tumbuh dan nutrisi dari media yang digunakan untuk tumbuh.

Pada pengamatan rerata diameter miselium, diantara ketiga jenis jamur endofit yang digunakan dalam penelitian ini dapat diketahui bahwa tidak semua jenis jamur endofit memiliki daya hambat yang cukup baik bahkan tidak memiliki daya hambat sama sekali. Hal tersebut dapat dilihat pada gambar 4. 2 dimana rerata diameter miselium isolat D5, Bu3, dan Ba4 terhadap jamur patogen *Colletotrichum gloeosporioides* menunjukkan kemampuan yang berbeda dalam menekan pertumbuhan jamur patogen. Untuk itu dapat dilihat secara signifikan dengan mengetahui persentase hambatannya. Persentase hambatan patogen dihitung untuk mengetahui pengaruh penghambatan jamur endofit pertumbuhan koloni patogen.

Tabel 4.7 Rata-rata Persentase Hambatan Pertumbuhan Jamur Endofit Terhadap Jamur Patogen pada hari Ke tujuh

No.	Perlakuan	Rata-rata (%)
1.	D5 vs CG	52,25a
2.	Bu3 vs CG	22,15b
3.	Ba4b vs CG	39,8b

Keterangan: angka-angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata antar perlakuan.

Hasil analisis sidik ragam ANOVA pada persentase daya hambat menunjukkan nilai signifikan sebesar 0,136 atau ($p < 0,05$), hal ini menunjukkan bahwa adanya pengaruh nyata pada perlakuan uji antagonis *Alternaria* sp. terhadap jamur patogen, sehingga perlu diadakan uji lanjut *Duncan*. Hasil analisis uji *Duncan* menunjukkan bahwa jamur *Alternaria* sp. memiliki kemampuan yang berbeda nyata dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen dari beberapa ulangan. Rata-rata persentase daya hambat terbesar untuk isolat D5 (*Alternaria* sp.)

terlihat yaitu sebesar 52,25% (Tabel 4.7), berbeda nyata dengan isolat Bu3 dan Bu4, karena diikuti dengan huruf yang berbeda (Tabel 4.7).

Hasil analisis sidik ragam ANOVA pada persentase hambat menunjukkan nilai signifikan sebesar 0,637 atau ($p < 0,05$), hal ini menunjukkan bahwa adanya pengaruh nyata pada perlakuan uji antagonis isolat Ba4 (*Fusarium* sp.) terhadap jamur patogen *Colletotrichum gloeosporioides*. Oleh karena itu dilakukan uji lanjut Duncan untuk melihat beda nyata antar perlakuan konsentrasi. Rata-rata persentase daya hambat tertinggi pada isolat Ba4. terhadap jamur patogen yaitu sebesar 39,8% (Tabel 4.7), hasil tersebut berbeda nyata dengan perlakuan yang lainnya (Tabel 4.7).

Hasil analisis sidik ragam ANOVA pada persentase hambat menunjukkan nilai signifikan sebesar 0,540 atau ($p < 0,05$), hal ini menunjukkan bahwa adanya pengaruh nyata pada perlakuan uji antagonis isolat Bu3 (*Aspergillus* sp.) terhadap jamur patogen *Colletotrichum gloeosporioides*. Oleh karena itu dilakukan uji lanjut Duncan untuk melihat beda nyata antar perlakuan konsentrasi. Rata-rata persentase daya hambat tertinggi pada isolat Bu3 terhadap jamur patogen yaitu sebesar 22,15% (Tabel 4.7), hasil tersebut berbeda nyata dengan perlakuan yang lainnya (Tabel 4.7).

Dari ketiga isolat yang telah dilakukan uji antagonisme terhadap jamur patogen *Colletotrichum gloeosporioides* pada Apel Manalagi memperoleh daya hambatan paling tinggi terdapat pada isolat D5 (*Alternaria*) dengan daya hambat sebesar 52, 25%. Menurut Syamsia (2023) jamur *Alternaria* sp dapat bersaing dengan jamur patogen untuk sumber nutrisi dan tempat tumbuh, sehingga menghambat pertumbuhan jamur patogen. Jamur ini juga dapat menghasilkan

senyawa metabolit sekunder yang memiliki sifat antimikroba atau antifungal. Senyawa-senyawa tersebut dapat membantu menghambat pertumbuhan patogen. Beberapa penelitian mengidentifikasi bahwa interaksi antar jamur *Alternaria* sp dan tanaman dapat merangsang respons pertahanan tanaman, seperti peningkatan produksi fitoaleksin atau aktivasi jalur pertahanan sistemik.

Besarnya hambatan yang ditunjukkan oleh masing-masing perlakuan yaitu pada jamur antagonis yang memiliki pertumbuhan yang cepat pada media PDA, kecepatan pertumbuhan jamur yang tinggi menentukan besar aktivitas dalam menekan pertumbuhan jamur patogen. Menurut Syamsia (2023) sifat antagonis pada mikroorganisme muncul akibat adanya interaksi mereka dengan jamur patogen atau organism lain, hal tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti produksi senyawa antibiotik atau senyawa lain yang bersifat toksik terhadap jamur patogen, senyawa-senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan jamur patogen, sehingga dapat melindungi tanaman dari serangan penyakit.

Menurut Junita *et al.*, (2023) jenis agen hayati banyak dikembangkan adalah mikroorganisme alami, hal tersebut dikarenakan lebih cepat dibandingkan dengan ekstrak senyawa tertentu dari tanaman, bahkan sebagian ada pula yang mampu hidup dalam jaringan tanaman (endofit) memiliki sifat menghambat pertumbuhan dan berkompetisi dalam ruang dan nutrisi dengan jamur patogen. Pengembangan dan penggunaan agen hayati dalam pengendalian penyakit pada tanaman merupakan alternatif yang lebih ramah lingkungan dan berkelanjutan dibanding dengan penggunaan fungisida kimia sintetis. Agen hayati ini bekerja secara selektif, mengurangi dampak negatif terhadap lingkungan dan kesehatan manusia, serta membuat keseimbangan ekosistem pertanian.

Pemanfaatan jamur endofit untuk dijadikan sebagai agen pengendali hayati terhadap jamur patogen yang dapat menyebabkan penyakit pada tanaman sudah dijelaskan dalam Al-Qur'an yang mana segala sesuatu yang diciptakan di muka bumi ini berpasang-pasangan dan bukan tanpa tujuan, melainkan semua diciptakan dengan tujuan tertentu. Namun tidak semua tujuan yang dimaksudkan Allah SWT diketahui oleh manusia, seperti halnya jamur endofit yang harus terus digali potensinya, sehingga semua itu harus dipelajari terlebih dahulu. Sebagaimana firman Allah SWT dalam surat Adz-Dzariyat ayat 49:

وَمِنْ كُلِّ شَيْءٍ خَلَقْنَا زَوْجَيْنِ لَعَلَّكُمْ تَذَكَّرُونَ

Artinya: “*dan segala sesuatu Kami ciptakan berpasang-pasangan supaya kamu mengingat kebesaran Allah*” (Q.S Adz-Dzariyat:49).

Menurut Tafsir Ibnu Katsir (1997) maka dari lafadz “*Waminkulli syaiin kholaqnaa zaujaini*” (dan segala sesuatu Kami ciptakan berpasang-pasangan), yaitu seluruh makhluk itu berpasang-pasangan, langit dan bumi, siang dan malam, matahari dan bulan, daratan dan lautan, terang gelap, surga dan neraka. Oleh karena itu jika Allah SWT berfirman, “*La’lalakum Tdzkurun*” (supaya kamu mengingat akan kebesaran Allah), maka hendaklah hamba-hamba-Nya ingat kepada-Nya sebagai Maha pencipta yang Maha Esa tiada sekutu, maksudnya berlindunglah kalian kepada-Nya, dan bersandarlah kepada-Nya dalam menangani semua urusan kalian. Hal tersebut menunjukkan bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu dengan berpasang-pasangan, dalam hal ini Allah menciptakan penyakit berupa jamur patogen yang dapat merusak tanaman inangnya sekaligus menciptakan obatnya berupa jamur endofit yang hidup didalam jaringan tanaman dan mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan jamur patogen.

Penghambatan pertumbuhan jamur patogen oleh jamur endofit ini dapat dilakukan dengan berbagai cara, satu diantaranya adalah memproduksi senyawa bioaktif yang di produksi oleh jamur endofit. Arifah (2016) menjelaskan bahwa jamur endofit mampu menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif misalnya senyawa antibakteri, antifungi, antivirus, dan lain sebagainya. Penelitian kali ini jamur endofit yang dimanfaatkan untuk menghambat pertumbuhan jamur patogen penyebab antraknosa, Dimana gejala busuk buah yang disebabkan oleh antraknosa ini dapat menyebabkan adanya penurunan pada produksi buah Apel Manalagi bagi para petani buah.

Berdasarkan hasil penelitian mengenai potensi jamur endofit sebagai agen pengendali antagonis untuk menekan pertumbuhan jamur patogen penyebab antraknosa pada buah Apel Manalagi, jamur endofit berguna sebagai agen hayati, Dimana jika digunakan tidak akan memberikan pengaruh buruk terhadap lingkungan disekitarnya. Dengan demikian banyak Pelajaran yang dapat diambil dan disyukuri atas anugrah yang Allah berikan, yaitu berupa kekayaan alam yang memiliki potensi luar biasa seperti jamur endofit yang tumbuh dalam jaringan tanaman, dan dapat melindungi tanaman inangnya. Hal ini sebagai Pelajaran bagi manusia bahwa bukti kekuasaan Allah SWT begitu besar, sehingga hendaknya harus dijaga dan dipelihara kelestariannya untuk bisa terus mempelajarinya (Arifah, 2016).

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh Kesimpulan sebagai berikut:

1. Terdapat 16 Jamur endofit yang berhasil diisolasi dari Daun, Batang, dan Buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) yaitu 6 isolat dari Batang, 6 isolat dari Daun, dan 4 isolat dari Buah. Hasil identifikasi morfologi menunjukkan bahwa isolat D1 & D6 adalah genus *Botrytis* sp., isolat D2, D4, D5 dan Ba6 menunjukkan genus *Alternaria* sp., isolat Ba1, Ba2, Ba5, Bu3 dan Bu2 termasuk genus *Aspergillus* sp., Isolat Bu1 adalah genus *Penicillium* sp., Isolat Ba4 dan Bu4 termasuk dalam genus *Fusarium* sp., serta Isolat Ba3 adalah genus *Trichoderma* sp. Sedangkan identifikasi secara molekuler memperoleh hasil bahwasannya isolat D5 termasuk spesies *Alternaria alternata*, isolat Bu3 adalah spesies *Aspergillus niger*, dan isolat Ba4 spesies *Fusarium lateritium*.
2. Hasil uji antagonis menunjukkan bahwa jamur endofit asal daun, batang, dan buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) mempunyai kemampuan sebagai antagonis terhadap jamur patogen *Colletotrichum gloeosporioides* penyebab Antraknosa. Rata-rata persentase hambat terbesar ditunjukkan oleh isolat D5a jamur endofit *Alternaria* sp. pada ulangan 1 dengan nilai hambat yaitu 62,5%.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang dapat dikemukakan saran yaitu Diharapkan analisis sekuensing dilakukan pada seluruh sampel untuk membuktikan keakuratan dalam tahap identifikasi mengingat identifikasi jamur berdasarkan morfologi yang masih bersifat subjektif dan kurang akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Afandhi, A., Choliq, F. A., WS, H. A., & Tarno, H. (2017). Distribution of the endophytic fungi in apple leaves. *AGRIVITA, Journal of Agricultural Science*, 40(1), 91-100.
- Agustina, N., Purnawati, A., & Prasetyawati, E. T. (2022). Potensi Konsorsium *Bacillus* Spp. Dan *Pseudomonas Fluorescens* Untuk Mengendalikan Penyakit Layu *Fusarium* Pada Tanaman Cabai Rawit. *Plumula: Berkala Ilmiah Agroteknologi*, 10(1), 1-8.
- Artanti, D. (2018). Perbedaan Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* Pada Berbagai Konsentrasi Perasan Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) Secara In Vitro. *Jurnal Biologi*. 2(8).
- Arifah, H. R. (2016). Potensi Fungi Endofit Asal Daun Kenikir (*Cosmos sulphureus* Cav.) sebagai Antagonis Terhadap *Fusarium Oxysporum* Penyebab Pokahbung pada Tebu (*Saccharum officinarum* L.). *Eduvest-Journal of Universal Studies*, 4(1), 270-283.
- Azizi, R., Ghosta, Y., & Ahmadpour, A. (2020). New fungal canker pathogens of apple trees in Iran. *Journal of crop protection*, 9(4), 669-681.
- Basson, E., Meitz-Hopkins, J. C., & Lennox, C. L. (2019). Morphological and molecular identification of fungi associated with South African apple core rot. *European Journal of Plant Pathology*, 153, 849-868.
- Bechem, E. E. T., Wapouo, S. F., & Loubana, P. M. (2018). Nematicidal Properties of Endophytic Fungi Isolatd from Some *Musa* Species in Cameroon, for the Management of *Radopholus similis* and *Platylenchus coffeae*. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*, 19(4), 1-19.
- Boddington, M., & Dearnaley, J. D. (2008). Morphological and Molecular Identification of Fungal Endophytes from Roots of *Dendrobium Speciosum*'. *Proceedings of the Royal Society of Queensland, The*, 114, 13-17.
- Camatti-Sartori, V., da Silva-Ribeiro, R. T., Valdebenito-Sanhueza, R. M., Pagnocca, F. C., Echeverrigaray, S., & Azevedo, J. L. (2005). Endophytic yeasts and filamentous fungi associated with southern Brazilian apple (*Malus domestica*) orchards subjected to conventional, integrated or organic cultivation. *Journal of Basic Microbiology: An International Journal on Biochemistry, Physiology, Genetics, Morphology, and Ecology of Microorganisms*, 45(5), 397-402.
- Charisma, A. M. (2019). *Buku Ajar Mikologi*. Airlangga University Press.
- Claverie, F., González, H., Flores, C., Antón-, M., & García, V. (2003). De novo insertion of an Alu sequence in the coding region of the CLCN5 gene results in Dent's disease. *Human genetics*, 113, 480-485.
- Cloete, M., Fourie, P. H., Damm, U., Crous, P. W., & Mostert, L. (2011). Fungi associated with die-back symptoms of apple and pear trees, a possible inoculum source of grapevine trunk disease pathogens. *Phytopathologia Mediterranea*, 50, S176-S190.
- Dwi Cahyanto, D. (2009). *Isolasi Dan Uji Mikroba Antagonis Potensial Dari Rhizosfir Tanaman Apel (Malus Sylvestris Mill) Terhadap Patogen Embun*

- Tepung Dan Bercak Daun Secara In Vitro* (Doctoral dissertation, University of Muhammadiyah Malang).
- Ebrahimi, L., Hatami Rad, S., Ayenekar, T., Agh-Atabay, M. E., Moghimi, H., & Etebarian, H. R. (2021). New records of apple endophytic fungi for the Funga of Iran. *Mycologia Iranica*, 8(2), 31-39.
- Ernawati, E., Senari, A. M., Mellu, Y., & Boimau, M. (2023). Agensi Hayati Jamur Endofit Daun dan Batang Apel Timor. *Jurnal Biologi UNAND*, 11(1), 22-28.
- Fatmawati. (2015) Keanekaragaman Cendawan Endofit Pada Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.) di Kabupaten Bantaeng. Skripsi. Makassar: Program Studi Agroteknologi Jurusan Ilmu Hama dan Penyakit Tanaman.
- Fauziah, N., Agustina, D., Triwiratno, A., & Endarto, O. (2021). *Identifikasi dan Pengendalian Hayati Penyakit Busuk Buah Apel di Kota Batu, Jawa Timur* (Doctoral dissertation, Sebelas Maret University).
- Florian, V. C., Carmen, P. U. I. A., Groza, R., Suci, L. A., & Florian, T. (2018). Study of the major pathogens that lead to apple fruit decay during storage. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 46(2), 538-545.
- Gonçalves, A. E., Velho, A. C., & Stadnik, M. J. (2016). Formation of conidial anastomosis tubes and melanization of appressoria are antagonistic processes in *Colletotrichum* spp. from apple. *European journal of plant pathology*, 146, 497-506.
- Grahovac, M. S., Balaž, J., Grahovac, J., Dodić, J. M., Tanović, B. B., Hrustić, J. G., & Tadijan, I. Ž. (2014). Screening of antagonistic activity of selected microorganisms against apple rot pathogens. *Romanian Biotechnological Letters*, 19(1), 8959-8965.
- Harahap, M. R. (2018). Elektroforesis: Analisis elektronika terhadap biokimia genetika. *CIRCUIT: Jurnal Ilmiah Pendidikan Teknik Elektro*, 2(1).
- Husna, N. A. (2005). *Studi Profil Metabolit Fungi Endofit Hypocrea cf koningii (AE A)*. Universitas Airlangga).
- Houbraken, J., & Samson, R. A. (2017). Current taxonomy and identification of foodborne fungi. *Current Opinion in Food Science*, 17, 84-88.
- Imama, I., & Hidayati, N. I. (2018). Analisa Pendapatan Usaha Tani Apel (*Malus Sylvester* Mill) Di Kabupaten Pasuruan (Studi Kasus Desa Andonosari Kecamatan Tukur Kabupaten Pasuruan). *AGROMIX*, 9(1), 18-26.
- Ina, Y. T., Agnes, V. S., & Mayafira, V. H. (2020). Identifikasi Penyakit Pada Tanaman Apel Di Kabupaten Timor Tengah Selatan, Provinsi Nusa Tenggara Timur. In *Seminar Nasional Pertanian ke. 7*, 26-27.
- Intan, R. M. T., Cholil, A., & Sulistyowati, L. (2014). Potensi antagonis jamur endofit dan khamir pada tanaman pisang (*Musa accumunata*) terhadap jamur *Mycosphaerella musicola* penyebab penyakit bercak kuning sigatoka. *Jurnal HPT (Hama Penyakit Tumbuhan)*, 2(4), 110-118.
- Jain, R., Vanamee, E. S., Dzikovski, B. G., Buku, A., Johnson, R. E., Prakash, L., ... & Aggarwal, A. K. (2014). An Iron–Sulfur cluster in the polymerase domain of yeast DNA polymerase ϵ . *Journal of molecular biology*, 426(2), 301-308.
- Jati, W. W., Kristini, A., Mulyatni, A. S., & Abadi, A. L. (2023). Identifikasi Molekuler *Trichoderma* sp. Isolat T10 ISRI sebagai Agen Hayati Penyakit

- Busuk Akar dan Pangkal Batang Xylaria. *Indonesian Sugar Research Journal*, 3(1), 25-32.
- Junita, A., Nurhayani, N., & Afridayanti, N. (2023, January). Optimalisasi Suhu di Inkubator untuk Penyimpanan Isolat Jamur Trichoderma Sp. di Laboratorium Fitopatologi. In *Seminar Nasional Lahan Suboptimal* (Vol. 10, No. 1, pp. 847-858).
- Kim, Y. S., Balaraju, K., & Jeon, Y. (2016). Biological control of apple anthracnose by *Paenibacillus polymyxa* APEC128, an antagonistic rhizobacterium. *The plant pathology journal*, 32(3), 251.
- Kurtzman, C., Fell, J. W., & Boekhout, T. (2011). *The yeasts: a taxonomic study*. Elsevier.
- Latz, M. A. C., Jensen, B., Collinge, D. B., and Jørgensen, H. J. L. (2018). Endophytic fungi as biocontrol agents: elucidating mechanisms in disease suppression. *Plant Ecol. Divers.* 11, 555–567.
- López-González, R. C., Juárez-Campusano, Y. S., Rodríguez-Chávez, J. L., Delgado-Lamas, G., Medrano, S. M. A., Martínez-Peniche, R. Á., & Pacheco-Aguilar, J. R. (2021). Antagonistic activity of bacteria isolated from apple in different fruit development stages against blue mold caused by *penicillium expansum*. *The plant pathology journal*, 37(1), 24.
- Madbouly, A. K., Elyousr, K. A. A., & Ismail, I. M. (2020). Biocontrol of *Monilinia fructigena*, causal agent of brown rot of apple fruit, by using endophytic yeasts. *Biological control*, 144, 104239.
- Munir M, Amsden B, Dixon E, Vaillancourt L, Gauthier NAW. (2016). Karakterisasi spesies *Colletotrichum* menyebabkan busuk pahit pada apel di kebun Kentucky. *Tanaman Dis.* 100 :2194–2203. doi: 10.1094/PDIS-10-15-1144-RE.
- Nasution, M. K. (2005). Pangkalan data untuk rangkaian DNA. *Al-Khawarizmi: Journal of Computer Science*, 1(2), 7-12.
- Ningsih, F. R. (2022). *Isolasi Dan Identifikasi Jamur Endofit Pada Daun Tanaman Keji Beling (Strobilanthes crispus Bl)* (Doctoral dissertation, UNIMED).
- Triasih, U., Abadi, A. L., Muhibbudin, A., & Widyaningsih, S. (2022, October). Uji Beberapa Jamur Antagonis Terhadap *Colletotrichum gloeosporioides* Penyebab Penyakit Busuk Buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris*) Secara In Vitro. In *Agropross: National Conference Proceedings of Agriculture* (pp. 389-397).
- Padder, S. A., Mansoor, S., Bhat, S. A., Baba, T. R., Rather, R. A., Wani, S. M., ... & Darwish, H. (2021). Bacterial endophyte community dynamics in apple (*Malus domestica* Borkh.) germplasm and their evaluation for scab management strategies. *Journal of Fungi*, 7(11), 923.
- Pah, N. E. R., Mola, S. A., & Mauko, A. Y. (2021). Ekstraksi Ciri Warna Hsv Dan Ciri Bentuk Moment Invariant Untuk Klasifikasi Buah Apel Merah. *J-Icon: Jurnal Komputer dan Informatika*, 9(2), 142-153.
- Pal, J., Sharma, S. K., Devi, S., Sharma, R., Raj, H., Karn, M., ... & Sharma, A. (2020). Screening, identification, and colonization of fungal root endophytes against *Dematophora necatrix*: a ubiquitous pathogen of fruit trees. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30, 1-14.
- Palestine, F. *Book Illustrated Genera of Imperfect Fungi*.

- Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan. (2008). *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta: UI Press.
- Peralta-Ruiz, Y., Rossi, C., Grande-Tovar, C. D., & Chaves-López, C. (2023). Green Management of Postharvest Anthracnose Caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Journal of Fungi*, 9(6), 623.
- Pradana, G. S., Ardiyati, T., & Aini, L. Q. (2013). Eksplorasi kapang antagonis dan kapang patogen tanaman apel di lahan perkebunan apel Poncokusumo. *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 1(1), 14-18.
- Pratiwi, R. H. (2017). Mekanisme pertahanan bakteri patogen terhadap antibiotik. *Jurnal pro-life*, 4(3), 418-429.
- Prima, S. R. (2019). Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit dari Daun Bawang Rambut (*Allium chinense* G. Don). *semnaskes*, 87-91.
- Rahayu, F., Saryono, S., & Nugroho, T. T. (2015). *Isolasi DNA dan amplifikasi PCR daerah ITS rDNA fungi endofit umbi tanaman dahlia (Dahlia variabilis) LBKURCC69* (Doctoral dissertation, Riau University).
- Raja, H. A., Miller, A. N., Pearce, C. J., & Oberlies, N. H. (2017). Fungal identification using molecular tools: a primer for the natural products research community. *Journal of natural products*, 80(3), 756-770.
- Rani, S. (2021). *Potensi Bakteri Bacillus Spp. Dalam Menekan Pertumbuhan Jamur Colletotrichum Capsici Penyebab Penyakit Antraknosa Pada Tanaman Cabai Merah (Capsicum annum L.)* (Doctoral dissertation, UPN" Veteran" Jawa Timur).
- Ruminta, R. (2015). Dampak perubahan iklim pada produksi apel di Batu Malang Impacts of climate change on production of apple in Batu Malang. *Kultivasi*, 14(2).
- Roosheroe, I. G., Sjamsuridzal, W., & Oetari, A. (2006). *Mikologi dasar dan terapan*. Yayasan Pustaka Obor Indonesia.
- Saikkonen, K., Faeth, S. H., Helander, M., and Sullivan, T. J. (1998). Fungal endophytes: a continuum of interactions with host plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 29, 319–343.
- Samson, R. A. (2011). Ecology and general characteristics of indoor fungi. *Fundamentals of mold growth in indoor environments and strategies for healthy living*, 101-116.
- Sandy, Y. A., Djauhari, S., & Sektiono, A. W. (2015). Identifikasi molekuler jamur antagonis *Trichoderma harzianum* diisolasi dari tanah pertanian di Malang, Jawa Timur. *Jurnal HPT (Hama Penyakit Tumbuhan)*, 3(3), 1-8.
- Senanayake, I. C., Rathnayaka, A. R., Marasinghe, D. S., Calabon, M. S., Gentekaki, E., Lee, H. B., ... & Xiang, M. M. (2020). Morphological approaches in studying fungi: Collection, examination, isolation, sporulation and preservation. *Mycosphere*, 11(1), 2678-2754.
- Shabrina, A., Sukmawati, D., & Hidayat, I. (2018). Isolasi dan Uji Patogenitas Kapang Perusak pada Apel Malang (*Malus sylvestris* Mill.) Pasca Panen. *Bioma*, 14(1), 30-36.
- Sharma, M., & Kulshrestha, S. (2015). *Colletotrichum gloeosporioides*: an anthracnose causing pathogen of fruits and vegetables. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 12(2), 1233-1246.
- Shihab, Q (2002) Tafsir Al-Mishbah, Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Quran. Jakarta. Lentera Hati.

- Shihab, Q (2012) Tafsir Al-Mishbah, Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Quran. Jakarta. Lentera Hati.
- Shohihati, L., & Suharjono, S. (2014). Uji Potensi dan Identifikasi Berdasarkan Sekuen ITS Kapang Antagonis Pengendali Kapang Patogen Tanaman Apel di Perkebunan Apel Gabes. *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 2(4), 240-244.
- Shinta, D., Suryanto, A., & Ainurrasjid, A. (2017). *Kendala Produksi Apel (Malus Sylvestris Mill) Var. Manalagi Di Desa Poncokusumo Kabupaten Malang* (Doctoral dissertation, Brawijaya University).
- Sianipar, Y. E. (2017). *Eksplorasi Khamir Pada Tanaman Apel (Malus sylvestris Mill) Dan Uji Potensi Antagonisnya Terhadap Penyakit Busuk Buah Gloeosporium gloeosporioides* (Doctoral dissertation, Universitas Brawijaya).
- Skutkova, H., Vitek, M., Krizkova, S., Kizek, R., & Provaznik, I. (2013). Preprocessing and classification of electrophoresis gel images using dynamic time warping. *International Journal of Electrochemical Science*, 8(2), 1609-1622.
- Sudantha, I. (2007). *Karakterisasi dan Potensi Jamur Endofit dan Saprofit Antagonistik sebagai Agens Pengendali Hayati Jamur Fusarium oxysporum f. sp. vanillae pada Tanaman Vanili di Pulau Lombok NTB* (Universitas Mataram).
- Sogandi, S. (2018). *Biologi Molekuler: Identifikasi Bakteri Secara Molekuler*. Universitas, 17.
- Sudantha, I. (2009). Pemanfaatan Jamur Endofit Dan Saprofit Antagonis Sebagai Agens Pengendali Hayati Patogen Tular Tanah Untuk Meningkatkan Kesehatan Dan Hasil Tanaman.
- Syamsia, S. (2023). The Potential of Endophyte Fungus as Control of Bacterial Leaf Blight Disease in Rice. *Jurnal Galung Tropika*, 12(1), 1-8.
- Terhonen, E., Blumenstein, K., Kovalchuk, A., and Asiegbu, F. O. (2019). Forest tree microbiomes and associated fungal endophytes: functional roles and impact on forest health. *Forests* 10:42.
- Wahyuni, S., & Noviani, N. (2019). Isolasi jamur endofit dan uji penghambatan dengan jamur patogen Fusarium oxysporum sebagai agen pengendali hayati pada tanaman kedelai secara invitro. In *Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian* (Vol. 2, No. 1, pp. 712-719).
- Watanabe, T. (2002). *Pictorial Atlas of soil and seed fungi* (No. 632.4 W29p Ej. 1). CRC Press.
- Weir, B. S., Johnston, P. R., & Damm, U. (2012). The Colletotrichum gloeosporioides species complex. *Studies in mycology*, 73, 115-180.
- Ye, S., Cheng, M., Zeng, G., Tan, X., Wu, H., Liang, J., ... & Zhang, Y. (2020). Insights into catalytic removal and separation of attached metals from natural-aged microplastics by magnetic biochar activating oxidation process. *Water Research*, 179, 115876.
- Yuniarti, F., Shofaya, L., Utomo, S. P., & Munaziah, L. (2017). Screening And Identification Endophytic Bacteria From Indonesian Bay Leaves (Eugenia polyantha Wight) With Antibacteria Activity. *Proceeding Kolok UHAMKA* 1(2), 167-76.



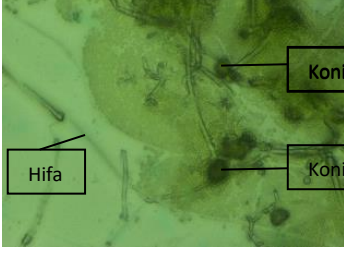


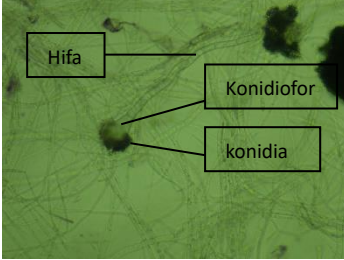

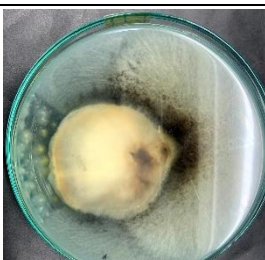
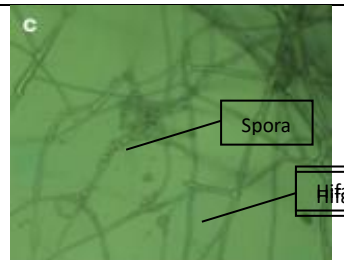





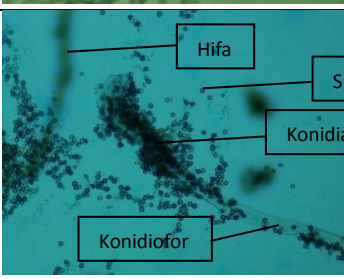
Zainudin, Z., Abadi, A. L., & Aini, L. Q. (2014). Pengaruh pemberian Plant Growth Promoting Rhizobacteria (*Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens*) terhadap penyakit bulai pada tanaman jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal HPT (Hama Penyakit Tumbuhan)*, 2(1), 11-18.

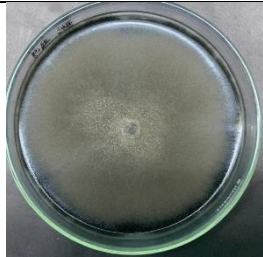
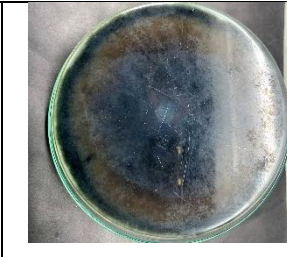
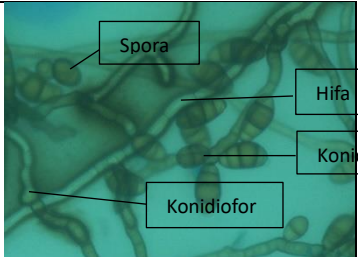

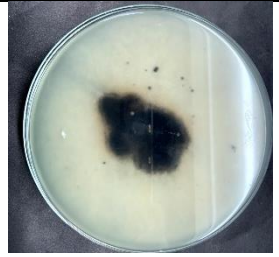
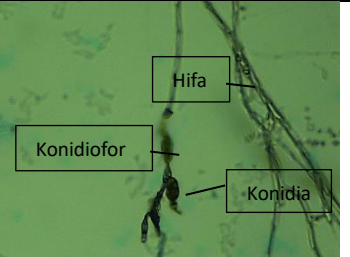


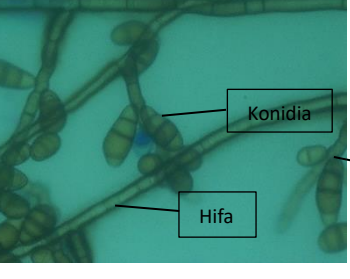

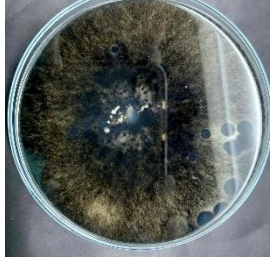
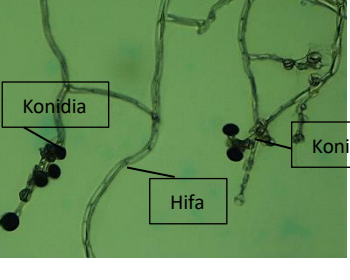

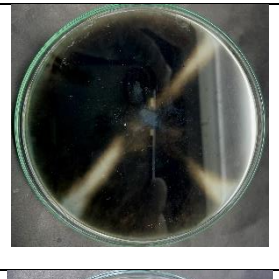
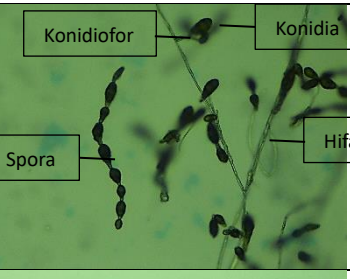


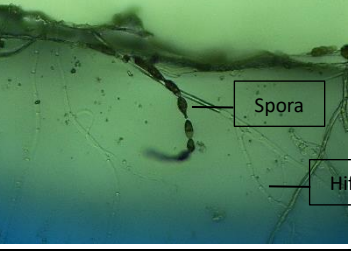
LAMPIRAN

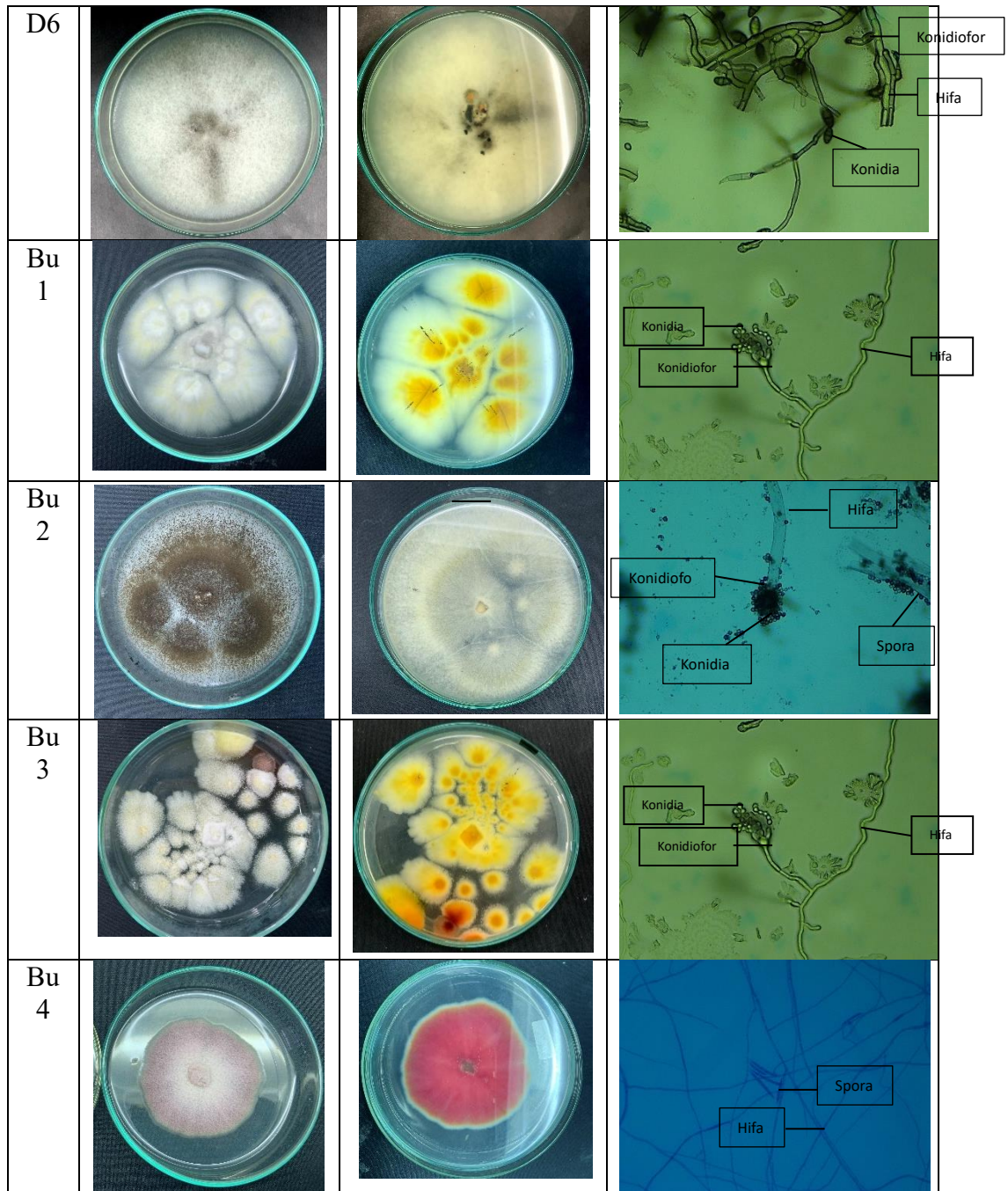
Lampiran 1. Kunci Identifikasi

1a Jamur Mikroskopis.....	2
1b Jamur Makroskopis.....	3
2a Tipe Spora.....	3
2b Tipe Konidia.....	4
3a Ada Spora.....	<i>Aspergillus</i> sp.
3b Tidak ada Spora.....	<i>Nigrospora</i> sp.
4a Konidia Bulat.....	<i>Penicillium</i> sp.
4b Konidia Bulan sabit.....	<i>Fusarium</i> sp.
5a Tipe Hifa.....	6
5b Bentuk Hifa.....	7
6a Memiliki Hifa.....	8
6b Tidak memiliki Hifa.....	9
7a Hifa Bersekat.....	<i>Alternaria</i> sp.
7b Hifa Tidak Bersekat.....	<i>Botrytis</i> sp.
8a memiliki permukaan atas dan bawah.....	9
8b Tidak memiliki permukaan atas dan bawah.....	10
9a Bentuk koloni.....	10
9b Warna Koloni.....	11
10a Koloni Bulat.....	<i>Trichoderma</i> sp.
10b Koloni tidak beraturan.....	<i>Alternaria</i> sp.
11a Warna Hitam.....	<i>Aspergillus</i> sp.
11b Warna Merah Muda.....	<i>Fusarium</i> sp.

Lampiran 2. Morfologi Jamur Endofit pada Apel Manalagi

Kode Isolat	Koloni Tampak Depan	Koloni Tampak Belakang	Hasil Mikroskopis
Ba1			
Ba2			
Ba3			
Ba4			
Ba5			

Ba6			
D1			
D2			
D3			
D4			
D5			



Lampiran 3. Hasil Sequencing DNA

>D5_A

CGAGGTCAAAGTTGAAAAAAGGCTTAATGGATGCTAGACCTTTGCTG
 ATAGAGAGTGC GACTTGTGCTGCGCTCCGAAACCAGTAGGCCGGCTGC
 CAATTACTTTAAGGCGAGTCTCCAGCAAAGCTAGAGACAAGACGCCCA
 ACACCAAGCAAAGCTTGAGGGTACAAATGACGCTCGAACAGGCATGC
 CCTTTGGAATACCAAAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATT
 CACTGAATTCTGCAATTCACACTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTC
 ATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTGTAATTATTAA
 TTTGTTACTGACGCTGATTGCAATTACAAAAGGTTTATGTTTGTCTTAG
 TGGTGGGCGAACCCACCAAGGAAACAAGAAGTACGCAAAGACAAGG
 GTGAATAATTCAGCAAGGCTGTAACCCCGAGAGGTTCCAGCCCGCCTT
 CATATTTGTGTAATGATCCCTCCGCAGGTCACCCTACGGA

>Bu3_B

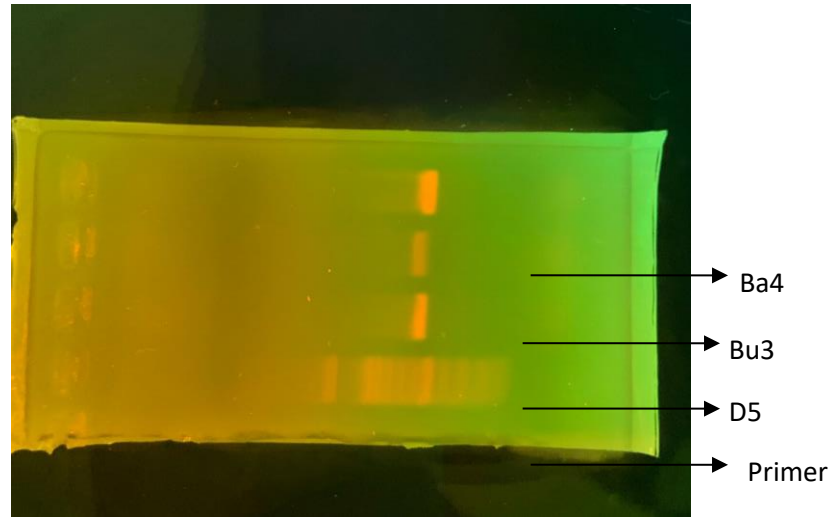
AGGTCACCTGAAAGATTGATGGGGGGTCGCCGGCGGGCGCCGGCCGG
 GCCTACGAGAGCGGGTGACGAAGCCCCATACGCTCGAGGACCGGACG
 CGGTGCCCGCCGCTGCCTTTCGGGTCCGCCCCCTGGAAGCAGGGGGCGG
 GGACCCAACACACAAGCCGTGCTTGAGGGCAGCAATGACGCTCGGAC
 AGGCATGCCCTCCGGAATACCAGAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGACT
 CGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTTCGCTG
 CGTTCCTTCATCGATGCCGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTAA
 ACTGATTTAGCTAAGATGCTCAGACTGCAATCTTCAGACAGCGTTCAA
 TGGTGTCTTCGGCGGGCGCGGGCCCCGGGGGCAGATGCCCCCCGGCGGG
 CGTGAGGCGGGCCCCGCCGAAGCAACAAGGTACGATAAACACGGGTGG
 GAGGTTGGACCCAGAGGGGCCCTCACTCGGAAATGATCCTTCC

>Ba4_C

CGAGGTCACATTCAGAAGTTGGGGGTTTAAACGGCTTGGCCGCGCCGCG
 TCCCAGTTGCGAGGTGTTATCTACTACGCAATGGAAGCTGCAGCGTGA
 CCGCCACTAGATTTCTGGGGCCGGGCTGACTAGCAGCCCGATCCCCAAC
 ACCAAACCCGGGGGTTTGAGGGTTGAAATGACGCTCGAACAGGCATG
 CCCGCCAGAATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGAT
 TCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTTGTGCTGCGTTCTTC
 ATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTGTGATTTATTT
 GTTTGTGTTACTCAGAAGATACACTAGATAACAATAGAGTTTGGGTCCT
 CTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACGGGGCGCGGGCTGATCCGCCGAGGCA
 ACAATAAGGTATGTTACAGGGGTTTGGGAGTTGTAAACTCGGTAATG
 ATCCCTCCGCAGGTTCCCTACGGAAGGATCATTACCGA

Lampiran 4. Hasil Uji Kuantitatif DNA

2.2 Hasil Elektroforesis



2.3 Hasil Spektrofotometer

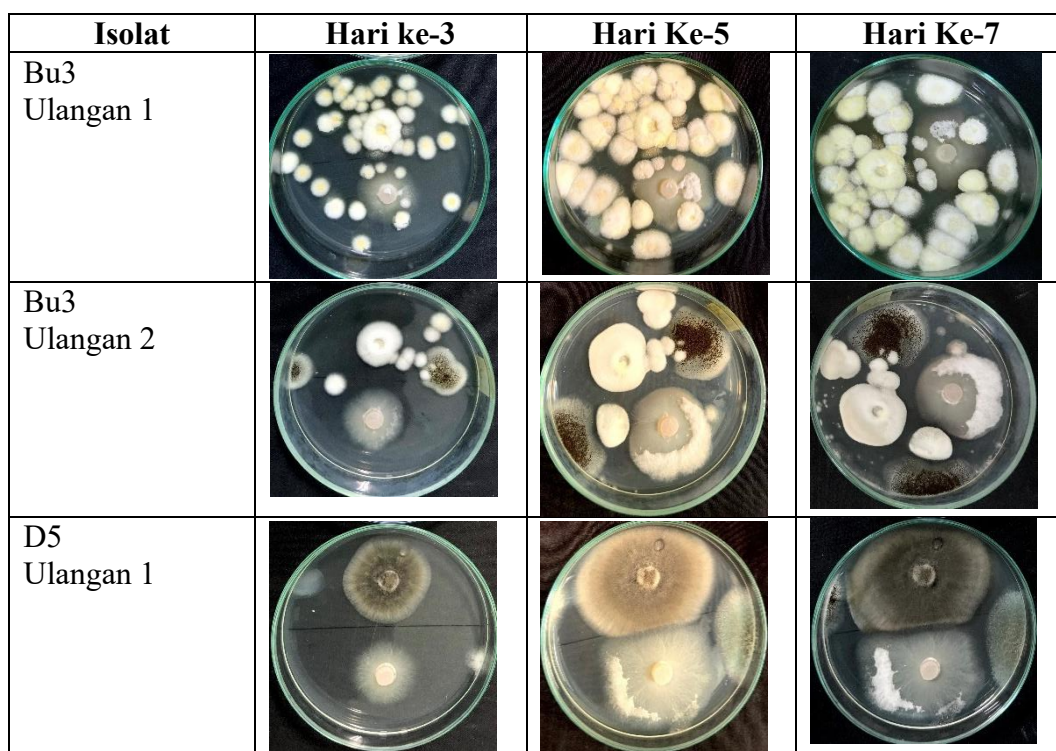


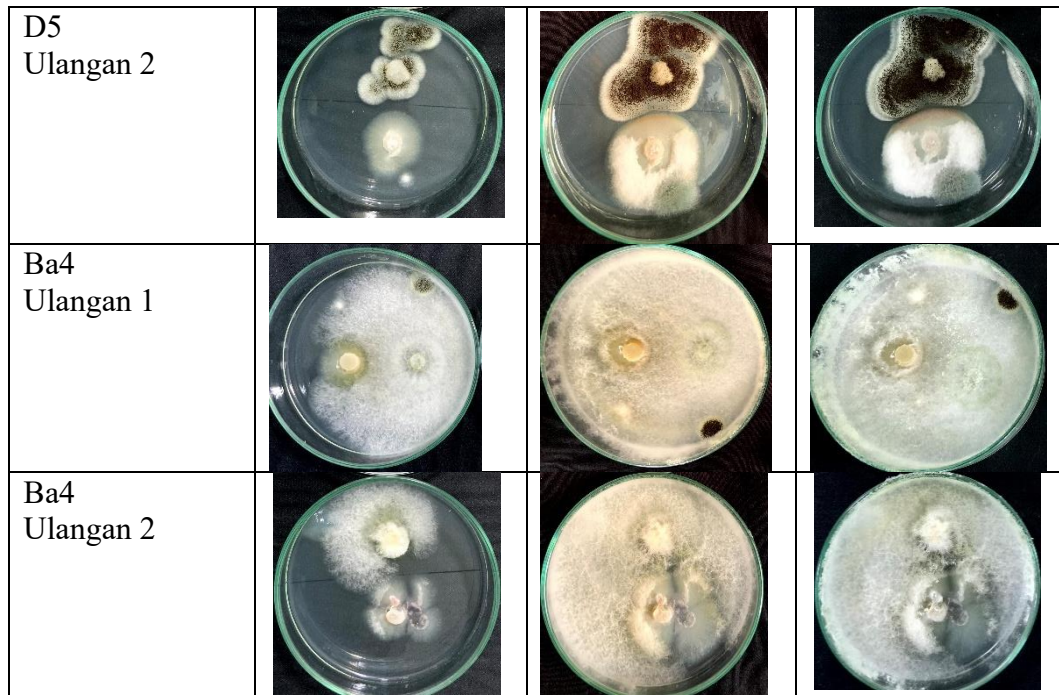
Lampiran 5. Hasil Perhitungan Uji Antagonisme

Uji Antagonis isolat D5 vs <i>Colletotrichum gloesporioides</i>						
Perlakuan	Hari Ke-3		Hari Ke-5		Hari Ke-7	
	Endofit	Patogen	Endofit	Patogen	Endofit	Patogen
Ulangan 1	3,2	2,5	7,5	2,5	8	2,6
Ulangan 2	5,5	2	7	2	9	2,1

Uji Antagonis isolat Bu3 vs <i>Colletotrichum gloesporioides</i>						
Perlakuan	Hari Ke-3		Hari Ke-5		Hari Ke-7	
	Endofit	Patogen	Endofit	Patogen	Endofit	Patogen
Ulangan 1	4	3	5	3,8	5,5	4
Ulangan 2	3,2	2,8	3,5	3,9	4,5	4,7

Uji Antagonis isolat Ba4 vs <i>Colletotrichum gloesporioides</i>						
Perlakuan	Hari Ke-3		Hari Ke-5		Hari Ke-7	
	Endofit	Patogen	Endofit	Patogen	Endofit	Patogen
Ulangan 1	7,5	2,7	8,9	2,8	9	3
Ulangan 2	5,5	3	7	3,5	9	3,7





Lampiran 6. Hasil Perhitungan Rata-rata Persentase Hambatan

$$\text{Rumus Perhitungan : } P = \frac{R1-R2}{R1} \times 100\%$$

Keterangan:

P = Presentase penghambatan antagonis jamur endofit terhadap jamur patogen

R1 = Diameter pertumbuhan jamur patogen pada kontrol atau tanpa perlakuan (cm)

R2 = Diameter pertumbuhan jamur patogen yang ditambahkan dengan jamur endofit atau dengan perlakuan (cm)

1. Isolat D5 Ulangan 1

$$P = \frac{R1-R2}{R1} \times 100\%$$

$$P = \frac{4,5-1,7}{4,5} \times 100\%$$

$$P = 62,5\%$$

2. Isolat D5 Ulangan 2

$$P = \frac{R1-R2}{R1} \times 100\%$$

$$P = \frac{4,5-2,6}{4,5} \times 100\%$$

$$P = 42\%$$

3. Isolat Bu3 Ulangan 1

$$P = \frac{R1-R2}{R1} \times 100\%$$

$$P = \frac{4,5-3,2}{4,5} \times 100\%$$

$$P = 28,8\%$$

4. Isolat Bu3 Ulangan 2

$$P = \frac{R1-R2}{R1} \times 100\%$$

$$P = \frac{4,5-3,8}{4,5} \times 100\%$$

$$P = 15,5\%$$

5. Isolat Ba4 Ulangan 1

$$P = \frac{R1-R2}{R1} \times 100\%$$

$$P = \frac{4,5-2,4}{4,5} \times 100\%$$

$$P = 46,6\%$$

6. Isolat Ba4 Ulangan 2

$$P = \frac{R1-R2}{R1} \times 100\%$$

$$P = \frac{4,5-3,7}{4,5} \times 100\%$$

$$P = 33\%$$

Lampiran 7. Hasil Perhitungan SPSS uji ANOVA

		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
JamurEndofit	Between Groups	1,815	1	1,815	3,468	,136
	Within Groups	2,093	4	,523		
	Total	3,908	5			
JamurPatoge n	Between Groups	312,482	1	312,482	,992	,376
	Within Groups	1260,287	4	315,072		
	Total	1572,768	5			

		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
JamurEndofit	Between Groups	1,307	1	1,307	,260	,637
	Within Groups	20,093	4	5,023		
	Total	21,400	5			
JamurPatogen	Between Groups	,482	1	,482	144,500	,000
	Within Groups	,013	4	,003		
	Total	,495	5			

		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
JamurEndofit	Between Groups	,960	1	,960	,448	,540
	Within Groups	8,573	4	2,143		
	Total	9,533	5			
JamurPatogen	Between Groups	,482	1	,482	6,283	,066
	Within Groups	,307	4	,077		
	Total	,788	5			

Lampiran 8. Gambar Dokumentasi




KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi

Nama : Fitri Nur Rahayu
NIM : 200602110069
Judul : Identifikasi Jamur Endofit Sebagai Agen Pengendali Hayati Jamur Patogen Antraknosa (*Colletotrichum gloesporioides*) Pada Apel Manalagi (*Malus Sylvestris* Mill.)

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si	296	
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc		
5	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc		

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P

NIP. 19741018 200312 2 002



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
Jalan Gajayana Nomor 50, Telepon (0341)551354, Fax. (0341) 572533
Website: <http://www.uin-malang.ac.id> Email: info@uin-malang.ac.id

JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DISERTASI

IDENTITAS MAHASISWA

NIM : 200602110069
Nama : FITRI NUR RAHAYU
Fakultas : SAINS DAN TEKNOLOGI
Jurusan : BIOLOGI
Dosen Pembimbing 1 : DIDIK WAHYUDI,S.Si., M.Si
Dosen Pembimbing 2 : Dr. H.AHMAD BARIZI,M.A
Judul Skripsi/Tesis/Disertasi : Isolasi dan Identifikasi Jamur pada Cabai Merah (*Capsicum annum* L.) dengan Gejala Antraknosa Pascapanen

IDENTITAS BIMBINGAN

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Proses Bimbingan	Tahun Akademik	Status
1	12 Juni 2023	DIDIK WAHYUDI,S.Si., M.Si	Konsultasi Judul Skripsi	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
2	25 September 2023	DIDIK WAHYUDI,S.Si., M.Si	Konsultasi Judul Skripsi	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
3	11 Oktober 2023	DIDIK WAHYUDI,S.Si., M.Si	Konsultasi Judul Skripsi	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
4	30 Oktober 2023	DIDIK WAHYUDI,S.Si., M.Si	Konsultasi Judul Skripsi	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
5	07 November 2023	DIDIK WAHYUDI,S.Si., M.Si	Bimbingan Bab 1	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
6	15 November 2023	DIDIK WAHYUDI,S.Si., M.Si	Bimbingan Bab 1 dan 3	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
7	21 November 2023	Dr. H.AHMAD BARIZI,M.A	Bimbingan Integrasi BAB 1	Ganjil 2023/2024	Belum Dikoreksi
8	24 November 2023	Dr. H.AHMAD BARIZI,M.A	Bimbingan Integrasi BAB 1 dan 2	Ganjil 2023/2024	Belum Dikoreksi
9	11 Desember 2023	DIDIK WAHYUDI,S.Si., M.Si	Bimbingan BAB 1, 2 dan 3	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
10	28 Mei 2024	DIDIK WAHYUDI,S.Si., M.Si	Bimbingan Bab IV	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
11	04 Juni 2024	DIDIK WAHYUDI,S.Si., M.Si	Bimbingan BAB IV	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi

Telah disetujui
Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Desertasi

Dosen Pembimbing 2

Dr. H.AHMAD BARIZI,M.A

Malang, 19 Juni 2024

Dosen Pembimbing 1

DIDIK WAHYUDI,S.Si., M.Si

