

Isolasi dan Identifikasi Cendawan Endofit Akar Anggrek Epifit dan Hemiepifit

Isolation and Identification of Endophytic Fungi in Epiphytic and Hemiepiphytic Orchid Root

MICHAEL¹, NAMPIAH SUKARNO^{1,4*}, SOFI MURSIDAWATI², EDHI SANDRA³, NADIYA DWI RAHAYU⁴

¹*Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University, Kampus Dramaga, Bogor 16680*

²*Pusat Konservasi Tumbuhan, Kebun Raya Bogor, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Bogor 16003*

³*Departemen Konservasi dan Sumberdaya Kehutanan, Fakultas Kehutanan dan Lingkungan, IPB University, Kampus Dramaga, Bogor 16680*

⁴*Program Studi Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University, Kampus Dramaga, Bogor 16680*

Diterima 7 Oktober 2023/Diterima dalam Bentuk Revisi 10 November 2023/Disetujui 29 November 2023

Orchids form a symbiotic relationship with endophytic fungi throughout their life cycle, including their seed germination. Research on orchid endophytic fungi in Indonesia is still limited. This study aimed to isolate and identify endophytic fungi of *Phalaenopsis amabilis*, *Dipodium brevilabium*, *Vanilla planifolia*, and *Aerides odorata* orchids. Endophytic fungi were isolated from surface-sterilized orchid root pelotons. Fungal identification was based on morphological and molecular characteristics using ITS rDNA sequences, followed by BLAST and phylogenetic tree analysis. All orchids studied had peloton structures in root cortex tissues. From the four orchids studied, 22 fungal isolates were obtained. Five fungal isolates were obtained from the *P. amabilis* orchid, consisting of 1 *Penicillium* and 4 sterile mycelium isolates. The *D. brevilabium* had 7 fungal isolates, namely 1 *Penicillium* and 6 *Fusarium* isolates. The *V. planifolia* had 6 *Fusarium* isolates, whereas the *A. odorata* had 4 isolates, such as 1 *Penicillium*, 2 sterile mycelium, and 1 unidentified isolate. The genus *Penicillium* was found in 3 out of the 4 orchid species studied. One *Penicillium* isolate was molecularly identified as *Penicillium citrinum*. Endophytic fungi in *P. amabilis* were mostly sterile mycelium, while *D. brevilabium*, *V. planifolia*, and *A. odorata* were dominated by *Fusarium*.

Key words: *Aerides odorata*, *Dipodium brevilabium*, peloton, *Penicillium citrinum*, *Phalaenopsis amabilis*, *Vanilla planifolia*

PENDAHULUAN

Anggrek ialah kelompok tumbuhan angiosperma yang memiliki anggota sekitar 25.000 spesies, baik sebagai epifit maupun terestrial. Sebanyak sekitar 5.000 spesies anggrek dapat ditemukan di Indonesia. Anggrek menjadi populer karena memiliki bunga yang indah, harum, serta bentuk dan coraknya yang menarik (Kurniawati *et al.* 2019). Secara holistik, tanaman ini berperan penting dalam berbagai aspek kehidupan mulai dari industri tanaman ornamental hingga studi evolusi. Menurut Sandrasagaran *et al.* 2014, anggrek memiliki berbagai manfaat kesehatan seperti anti-inflamasi, anti-kanker, antimikroba, relaksasi, neuroprotektif, dan antivirus. Anggrek

tumbuh tersebar hampir pada seluruh ekosistem daratan kecuali gurun dan kutub. Keberadaan anggrek di alam terancam oleh berbagai faktor negatif baik dari dalam maupun dari luar. Faktor luar yang berpengaruh sangat besar diantaranya ialah berkurangnya habitat dan perubahan iklim yang berpengaruh pada penurunan populasinya secara langsung. Sementara faktor dari dalam adalah kompleksitas kebutuhan biologis anggrek yang secara obligat membutuhkan simbiosis mutualisme dengan cendawan pada fase awal kehidupannya sehingga membatasi distribusinya (Ai *et al.* 2023). *Phalaenopsis amabilis*, *Dipodium brevilabium*, *Vanilla planifolia*, dan *Aerides odorata* dalam studi ini adalah anggrek alam yang merupakan bagian dari koleksi ilmiah Kebun Raya Bogor-Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), yang dimanfaatkan untuk kepentingan riset.

*Penulis korespondensi:
E-mail: nampiah@apps.ipb.ac.id

Anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) merupakan anggrek epifit monopodial yang berasal dan tersebar di Indonesia (Puspitaningtyas & Handini 2021). Anggrek bulan memiliki perhiasan bunga berwarna putih dengan motif bercak kuning kecokelatan pada labelumnya. Masa berbunga anggrek tersebut dapat bertahan hingga 6 bulan lamanya (Mursyidin *et al.* 2022). Dalam industri hortikultura anggrek bulan berperan penting sebagai induk pemuliaan anggrek hibrida (Mose *et al.* 2017). Anggrek bulan juga diduga memiliki manfaat kesehatan karena mengandung antioksidan yang cukup tinggi (Nguyen *et al.* 2018). *Dipodium brevilabium* merupakan anggrek hemiepifit monopodial langka yang ditemukan oleh D. Metusala dan P. O'Byrne. Area distribusinya diperkirakan terbatas hanya di Papua-Indonesia. Tanamannya dapat mencapai tinggi lebih dari 1 meter dengan bunga berwarna kuning dengan corak totol berwarna merah marun dengan bibir bunga yang pendek dan lobus tengah yang membulat. Anggrek ini memiliki rupa yang indah sehingga berpotensi baik sebagai tanaman hias daun maupun bunga. Informasi mengenai *D. brevilabium* masih terbatas, upaya konservasi dan eksplorasi harus terus dilakukan untuk mengungkap potensi anggrek ini (Metusala 2011).

Vanilla planifolia merupakan anggrek hemiepifit (Gantiva *et al.* 2020) asal Meksiko yang dibudidayakan di seluruh dunia (Ellestad *et al.* 2022). *Vanilla* menghasilkan senyawa vanilin yang bernilai jual tinggi karena penggunaannya yang luas sebagai perasa dan penghasil aroma pada makanan, minuman, dan parfum. *Vanilla* juga mengandung senyawa seperti terpenoid, alkaloid, lektin, polipeptida, dan fenol yang telah dikenal memiliki sifat antimikroba. Terdapat juga senyawa asam vanilat yang telah terbukti memiliki manfaat sebagai antioksidan, perangkap radikal bebas, dan anti-inflamasi (Maisch *et al.* 2022).

Anggrek kuku macan (*Aerides odorata*) merupakan anggrek epifit dengan percabangan simpodial (Hongthongkham & Bunnag 2014) yang tersebar luas di Asia Tenggara, India, Cina, dan Papua Nugini. Habitat anggrek ini berupa dataran rendah sekitar pantai (0-400 mdpl) dengan kelembapan rendah dan intensitas cahaya tinggi, namun tanaman ini juga memiliki adaptasi yang baik di wilayah lain (Nugraheni *et al.* 2022). *Aerides odorata* memiliki infloresens berwarna putih, ungu, atau merah muda yang indah dan harum (Hongthongkham & Bunnag 2014). Anggrek kuku macan juga bermanfaat mengobati nyeri dada, masalah lambung, penyakit kulit, tuberkulosis, luka, infeksi telinga dan hidung, pneumonia, peradangan serta antikanker (Katta *et al.* 2019).

Anggrek memiliki biji mikroskopis hampir tanpa endosperm sehingga pada fase awal kelangsungan hidupnya bergantung secara absolut kepada simbiosis dengan cendawan mikoriza atau endofit anggrek (Calevo & Duffy 2023). Secara fisik melalui benang-benang hifanya, cendawan membantu menyediakan suplai air dan ion mineral, sementara secara fisiologis cendawan memiliki kemampuan menghasilkan hormon pertumbuhan tanaman seperti asam giberelat (GA3), auksin (IAA), asam absisat (ABA), zeatin, dan zeatin ribosida (Parthibhan *et al.* 2017). Fase perkecambahan bagi anggrek adalah fase kritis yang sangat menentukan berlanjut tidaknya mencapai fase dewasa hingga menyelesaikan siklus hidupnya.

Di fase dewasa, selain melakukan simbiosis mutualisme dengan cendawan mikoriza anggrek (Hossain 2022), tanaman anggrek juga bersimbiosis dengan cendawan endofit (Zhao *et al.* 2022) yang tumbuh pada semua jaringan tanaman anggrek termasuk akar. Terkadang masih menjadi tantangan tersendiri untuk memisahkan cendawan endofit dan mikoriza karena kompleksitas interaksi yang dihasilkannya. Secara definisi cendawan endofit ialah cendawan yang menempati jaringan inang tanpa memperlihatkan gejala fisik tertentu. Berbeda dengan mikoriza, cendawan endofit tidak membentuk struktur khas seperti hifa koil (peloton). Selain itu, cendawan endofit dapat mengolonisasi semua organ akar tanaman, tidak hanya akar. Seperti dilaporkan oleh Favre-Godal *et al.* (2020), cendawan endofit berpotensi mensintesis senyawa antimikrob dan meningkatkan ketahanan tanaman terhadap fitopatogen.

Anggrek memiliki keanekaragaman cendawan yang tinggi. Rahayu *et al.* (2021) melaporkan bahwa organ bunga anggrek tanah *Geodorum densiflorum* asal Sulawesi dikolonisasi oleh cendawan *Aspergillus section Nigri*, *A. oryzae*, *Curvularia pseudobranchyspora*, *Humicola* sp., *Hypomontagnella barbarensis*, dan *Nigrospora chinensis*. Selain itu, Sukarno *et al.* (2023) juga melaporkan bahwa terdapat cendawan endofit *Fusarium solani species complex* (FSSC) pada empat spesies anggrek, yaitu anggrek epifit *Cymbidium finlaysonianum* Lindl. dan *Vanda tricolor* Lindl., serta anggrek tanah *Calanthe triplicata* (Willemet) Ames dan *Phaius tankervilleae* (Banks) Blume. Akan tetapi, penelitian terkait keanekaragaman cendawan endofit pada anggrek asal Indonesia masih terbatas. Penelitian terkait keanekaragaman cendawan endofit pada anggrek epifit *P. amabilis*, dan hemiepifit *D. brevilabium*, *V. planifolia*, dan *A. odorata* asal Indonesia juga belum dilakukan. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini ialah untuk mengisolasi

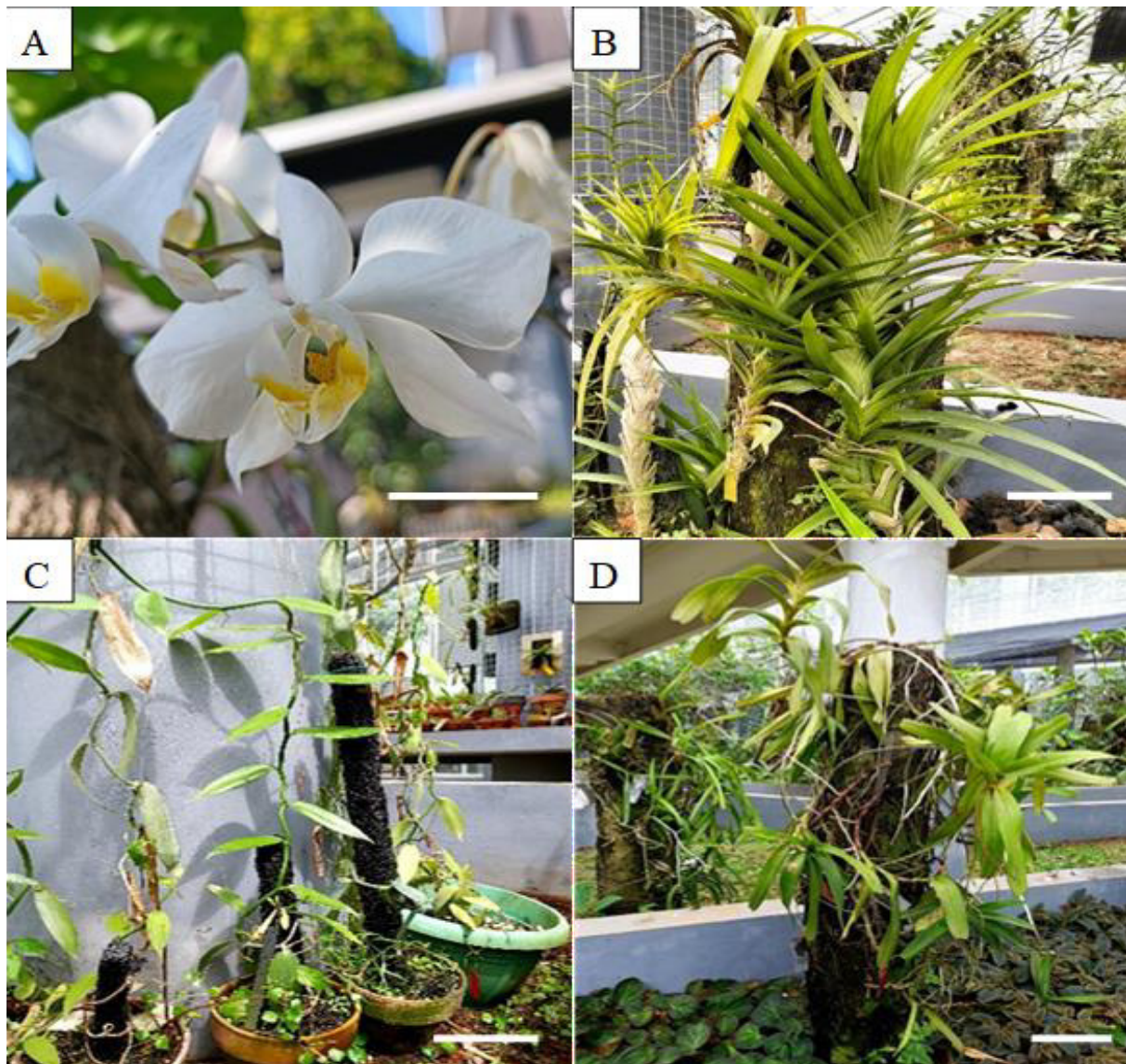
dan mengidentifikasi cendawan endofit anggrek asal Indonesia. Isolasi dan identifikasi cendawan endofit dalam studi ini merupakan upaya untuk mempelajari keanekaragaman cendawan endofit yang berasosiasi dengan anggrek, khususnya di Indonesia. Informasi yang didapatkan dari penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai dasar ilmiah dalam mengembangkan upaya konservasi anggrek alam Indonesia.

BAHAN DAN METODE

Bahan Penelitian. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah akar anggrek yang berasal dari dua habitat yang berbeda. Sampel *P. amabilis* tumbuh epifit pada pohon inang yang tumbuh di luar rumah kaca, sedangkan tiga anggrek lainnya (*D. brevilabium*,

V. planifolia, *A. odorata*) tumbuh di dalam rumah kaca anggrek Soedjana Kassan (Gambar 1).

Isolasi Cendawan Endofit. Akar anggrek disayat melintang dan diletakkan di atas kaca objek lalu diamati menggunakan mikroskop majemuk perbesaran rendah (Pecoraro *et al.* 2018) untuk mengetahui keberadaan koloni cendawan di dalam jaringan akar anggrek. Sampel akar disterilisasi permukaannya dengan dicuci menggunakan beberapa tetes tween 80 dan dibilas dengan akuades. Akar direndam dalam larutan etanol 70% selama 30 detik lalu direndam dalam larutan NaOCl selama 10 menit, setelah itu dibilas dengan akuades steril (Herrera *et al.* 2010). Akar steril dipotong membujur menjadi dua bagian lalu diamati di bawah mikroskop stereo. Bagian dalam akar dikikis dan ditetesi akuades steril untuk mengeluarkan peloton. Peloton kemudian



Gambar 1. Anggrek *Phalaenopsis amabilis* (A), *Dipodium brevilabium* (B), *Vanilla planifolia* (C), *Aerides odorata* (D). Skala = 3 cm (A), 30 cm (B-D)

dipindahkan menggunakan pipet ke dalam cawan petri berisi *Fungal Isolation Medium* (FIM) (Alghamdi 2019). Setiap cawan diisi dengan tiga tetes akuades berisi peloton. Cawan ditempatkan pada suhu ruangan dan diamati setiap hari. Hifa yang tumbuh selanjutnya diisolasi dan dimurnikan dengan menggunakan medium PDA.

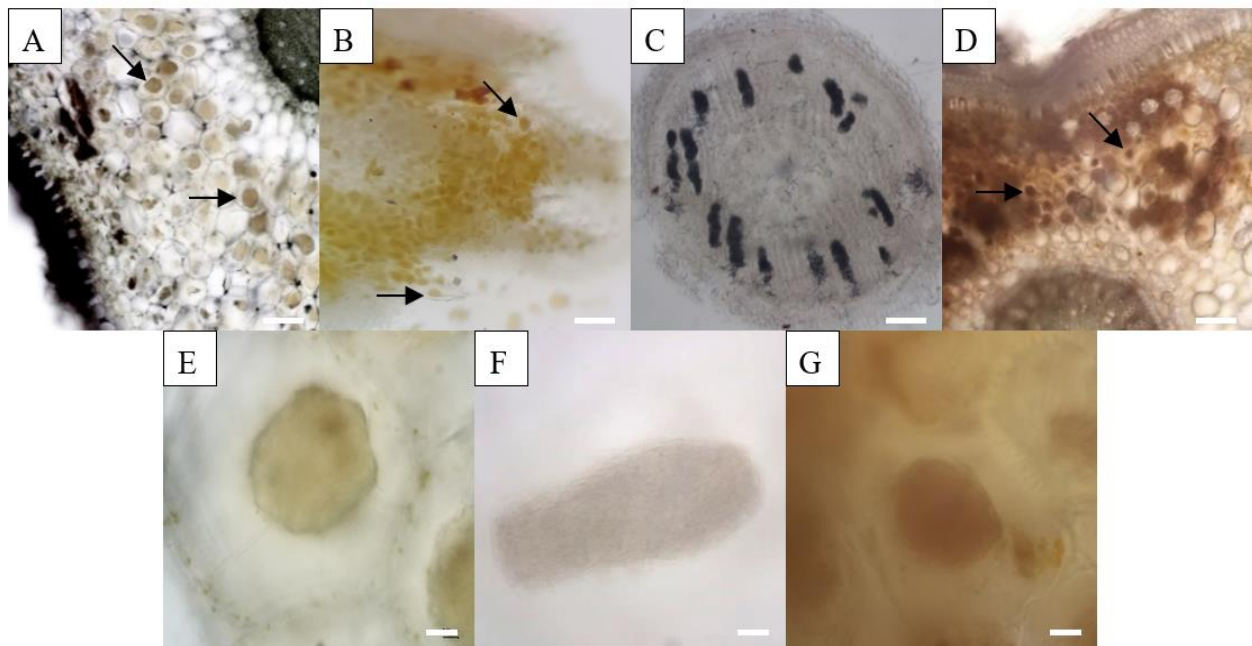
Identifikasi Morfologi Cendawan. Koloni cendawan ditumbuhkan pada cawan berisi media PDA dan diinkubasi pada suhu ruang. Pertumbuhan dan karakter miselium selanjutnya diamati selama 7-14 hari (Riddell 1950). Karakteristik koloni, hifa, dan spora dianalisis sesuai metode Barnett dan Hunter (1972). Karakteristik warna permukaan koloni ditentukan berdasarkan buku panduan warna HSV *Colour Plates for Mycology* (Malloch 2017).

Identifikasi Molekuler Cendawan. Isolat cendawan terpilih ditumbuhkan pada selofan yang diletakkan di atas media PDA, kemudian diinkubasi selama 7-14 hari. Isolat cendawan terpilih merupakan isolat cendawan yang memiliki struktur lengkap dan ditemukan pada 3 dari 4 anggrek yang diteliti. Miselia yang tumbuh dari satu isolat terpilih kemudian diekstraksi DNA-nya menggunakan metode CTAB (Sambrook *et al.* 1989). DNA yang telah diperoleh selanjutnya diampifikasi menggunakan mesin PCR menggunakan primer ITS1 (*forward*) dan ITS4 (*reverse*) (White *et al.* 1990) dengan kondisi PCR sebagai berikut: *pre-denaturation* pada 95°C

selama 10 menit, 30 siklus *denaturation* pada 95°C, *annealing* pada 55°C, dan *elongation* pada 72°C selama 1 menit setiap siklus, diikuti oleh *post elongation* pada 72°C selama 10 menit. Hasil ampifikasi DNA selanjutnya dilakukan elektroforesis pada 100 V selama 20 menit. Produk sekuens PCR kemudian dianalisis menggunakan layanan Genetika *Science*. Sekuens DNA hasil analisis diurutkan menggunakan program *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* (MEGA) untuk menghasilkan satu sekuens konsensus (*contig*). *Contig* yang telah diperoleh kemudian dibandingkan dengan spesies yang terdapat pada GenBank di situs *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) menggunakan *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) untuk menentukan homologinya. Sekuens homolog yang diperoleh kemudian disejajarkan menggunakan aplikasi MEGA untuk membangun pohon filogeni. Konstruksi pohon filogenetik dilakukan dengan metode *Maximum Likelihood* (ML) menggunakan model Tamura-Nei dan nilai *bootstrap* 1000.

HASIL

Isolasi dan Identifikasi Morfologi Cendawan Endofit. Seluruh sampel anggrek memiliki struktur peloton pada bagian korteks akarnya yang menjadi penanda interaksi simbiosis antara anggrek dengan cendawan (Gambar 2). Sebanyak 22 isolat didapatkan



Gambar 2. Struktur peloton pada sayatan melintang akar *Phalaenopsis amabilis* (A), *Dipodium breviliabium* (B), *Vanilla planifolia* (C), *Aerides odorata* (D), Citra peloton *Phalaenopsis amabilis* (E), *Vanilla planifolia* (F), *Aerides odorata* (G). Skala = 200 µm (A-D), 20 µm (E-G)

dari empat spesies anggrek yang diteliti. Lima isolat diisolasi dari *P. amabilis*, terdiri dari 1 isolat *Penicillium* dan 4 isolat miselia sterilia (Tabel 1, Gambar 3). Tujuh isolat diisolasi dari *D. brevilabium*, terdiri dari 1 isolat *Penicillium* dan 6 isolat *Fusarium* (Tabel 3, Gambar 4). Enam isolat diisolasi dari *V. planifolia*, terdiri dari 6 isolat *Fusarium* (Tabel 4, Gambar 5). Empat isolat diisolasi dari *A. odorata*, terdiri dari 1 isolat *Penicillium*, 2 isolat miselia sterilia, dan 1 isolat tidak teridentifikasi (Tabel 2, Gambar 6).

Identifikasi Molekuler Cendawan. Sebanyak 3 dari 4 spesies anggrek yang diteliti merupakan inang bagi *Penicillium*, yang menunjukkan cendawan ini bersifat kosmopolitan. Satu isolat *Penicillium* sp. berhasil diidentifikasi secara molekuler sebagai *Penicillium citrinum*. Berdasarkan hasil analisis molekuler pada daerah ITS, isolat cendawan *Penicillium* sp. menunjukkan persentase kemiripan sebesar 100% (Tabel 5) dengan nilai bootstraps pada analisis filogenetik sebesar 87% dengan *Penicillium citrinum* NRRL 1841 (Gambar 7).

PEMBAHASAN

Peloton merupakan hifa intraseluler yang ditemukan pada bagian korteks akar dan hanya dijumpai pada periode tertentu sebelum akhirnya mengalami lisis. Peloton berfungsi sebagai situs

pertukaran nutrisi antara cendawan dengan anggrek. Anggrek mendapatkan karbohidrat, glutamin, asam glutamat, asam aspartat dan asam nikotinat (Gao *et al.* 2023). Cendawan berperan dalam penyerapan dan transfer nutrisi serta berkontribusi dalam ketersediaan unsur hara bagi tanaman inang melalui aktivitas dekomposisi bahan organik (Santos & Silva 2023). Peloton yang aktif dicirikan dengan bentuk gumpalan yang longgar, sedangkan peloton yang sudah tidak aktif berbentuk gumpalan padat (Fritsche *et al.* 2021).

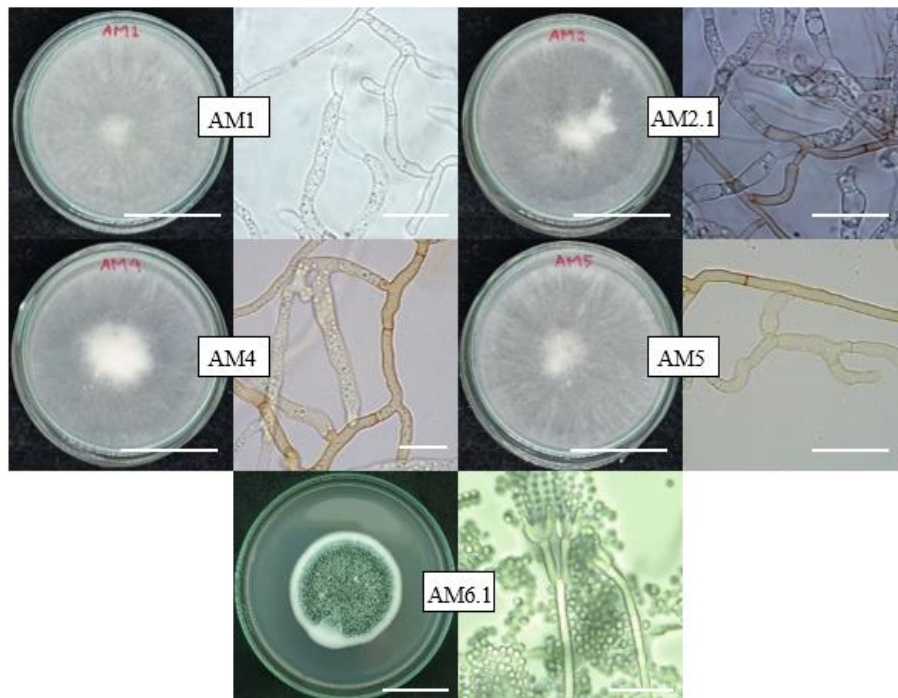
Miselial sterilia merupakan kelompok cendawan yang tidak membentuk organ reproduksi baik seksual maupun aseksual (Wiese *et al.* 2011; Jayanthi *et al.* 2014). Genus *Fusarium* dapat berperan sebagai endofit ataupun mikoriza anggrek. Salah satu contoh mikoriza anggrek dari genus *Fusarium* ialah *Fusarium oxysporum* yang juga memiliki kemampuan sebagai parasit mematikan pada tanaman lain (Bayman & Otero 2006). *Fusarium* dicirikan dengan adanya makrokonidia berbentuk fusoid dengan bagian dorsal lebih melengkung dibandingkan bagian ventralnya (Sukarno *et al.* 2023). *Penicillium* umumnya ialah cendawan saprob monomorfik berfilamen. *Penicillium* memiliki karakteristik morfologi berupa hifa bersekat dengan diameter 2-5 μm , konidiofor bercabang atau tidak bercabang yang memiliki penampilan menyerupai kuas pada cabang sekundernya (Langlois *et al.* 2014).

Tabel 1. Karakteristik morfologi koloni dan mikroskopis isolat cendawan yang diisolasi dari anggrek *Phalaenopsis amabilis*

Spesies cendawan	Karakteristik morfologi koloni	Ukuran spora (μm)	Ukuran hifa (μm)
Miselial sterilia AM1	Permukaan atas berwarna coklat pucat (HSV 50:20:90). Bentuk koloni <i>filamentous</i> , dan tepian <i>filiform</i>	-	(4.16-4.62)9.88
Miselial sterilia AM2.1	Permukaan atas berwarna coklat pucat (HSV 50:20:90). Bentuk koloni <i>filamentous</i> , dan tepian <i>filiform</i>	-	(3.81-4.87)(5.09-6.97)12.16
Miselial sterilia AM4	Permukaan atas berwarna coklat pucat (HSV 50:20:90). Bentuk koloni <i>filamentous</i> , dan tepian <i>filiform</i>	-	(3.12-6.80)8.55
Miselial sterilia AM5	Permukaan atas berwarna coklat pucat (HSV 50:20:90). Bentuk koloni <i>filamentous</i> , dan tepian <i>filiform</i>	-	(2.88-3.99)(4.06-7.72)11.68
<i>Penicillium citrinum</i> AM6.1	Permukaan atas berwarna hijau (HSV 140:40:60), lingkaran hijau tua di tengah koloni (HSV 140:40:40), dan warna putih kehijauan dipinggir koloni (HSV 140:10:100)	Lebar 1 : (2.26-2.89) Lebar 2 : (2.04-2.54) 4.63	(1.52-2.49)(2.5-3.96)4.08

Tabel 2. Karakteristik morfologi koloni dan mikroskopis isolat cendawan yang diisolasi dari anggrek *Aerides odorata*

Spesies cendawan	Karakteristik morfologi koloni	Ukuran spora (μm)	Ukuran hifa (μm)
<i>Penicillium</i> sp. AE6.1	Permukaan atas berwarna coklat (HSV 50:40:70) dengan lingkaran coklat gelap di tengah koloni (HSV 50:40:50) dan putih di pinggir koloni (HSV 50:15:90). Koloni <i>filamentous</i> , dan tepian <i>filiform</i>	Lebar 1 : (2.34-2.5) Lebar 2 : (2.32-2.49)	(1.9-3.8)4.93
Miselial sterilia AE6.2	Permukaan atas berwarna abu-abu (HSV 45:10:50), coklat (HSV 45:50:70), dan putih kekuningan (HSV 45:5:100). Koloni <i>filamentous</i> , dan tepian <i>filiform</i>	-	(1.11-1.86)(2.15-2.97)4.35
Miselial sterilia AO1.1	Permukaan atas berwarna putih (HSV 60:0:100). Bentuk koloni <i>filamentous</i> , dan tepian <i>filiform</i>	-	(1.65-1.93)(2.04-2.95)6.68
AO1.2 Belum teridentifikasi	Permukaan atas kuning kecoklatan (HSV 45:40:100). Bentuk koloni <i>filamentous</i> , dan tepian <i>filiform</i>	Klamidospora : Panjang : (7.16-6.70) (7.43-10.87)11.76 Lebar : (5.62-6.41)(7.13-7.99)11.32	(1.12-1.99)2.43



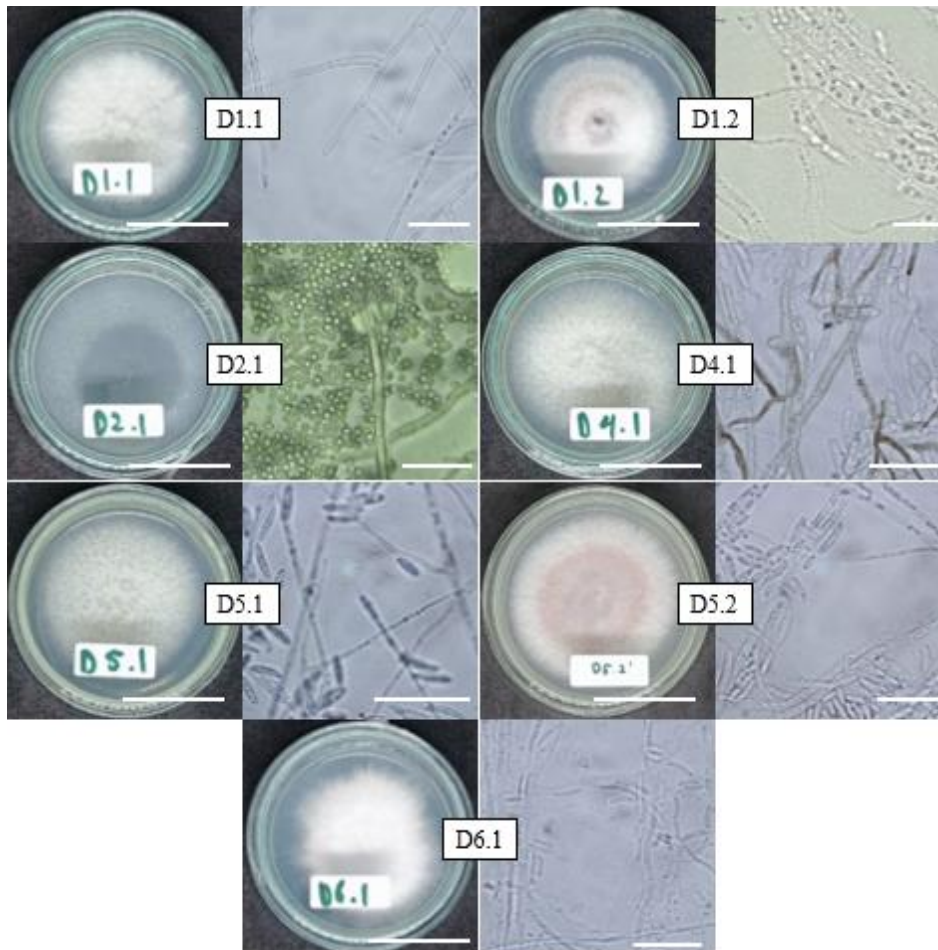
Gambar 3. Karakteristik struktur morfologi koloni dan struktur mikroskopis isolat cendawan miselia sterilia AM1, miselia sterilia AM2.1, miselia sterilia AM4, miselia sterilia AM5 dan *Penicillium* sp. AM6.1 yang diisolasi dari peloton akar anggrek *Phalaenopsis amabilis* pada media PDA hari ke-4. Skala = kultur cawan 3 cm, struktur mikroskopis 50 μm (AM1, AM2.1, AM4, AM5), 20 μm (AM6.1)

Tabel 3. Karakteristik morfologi koloni dan mikroskopis isolat cendawan yang diisolasi dari anggrek *Dipodium brevilabium*

Spesies cendawan	Karakteristik morfologi koloni	Ukuran spora (μm)	Ukuran hifa (μm)
<i>Fusarium</i> sp. D1.1	Permukaan atas berwarna putih (HSV 50:0:90). Bentuk koloni <i>filamentous</i> , dan tepian <i>filiform</i>	Makrokonidia: Panjang: (33.31-34.16)(35.56-39.45)55.52 Lebar tengah: (5.48-5.87)(6.13-6.97)7.45 Aksial 1: (4-4.98)(5.31-5.98)6.67 Aksial 2: (4.81-4.95)(5.03-5.94)6.39 Mikrokonidia: Panjang: (15.40-19.43)(20.61-24.74)29.23 Lebar tengah: (5.50-5.92)(6.01-6.81)7.00	(2.13-3.77)4.87
<i>Fusarium</i> sp. D1.2	Permukaan atas berwarna putih (HSV 50:0:90) dengan warna ungu pada titik tengah koloni (HSV 280:20:100). Bentuk koloni <i>filamentous</i> , dan tepian <i>filiform</i>	Makrokonidia: Panjang: 18.53(20.17-23.51)33.32 Lebar tengah: (2.52-2.89) (3.01-3.83)4.22 Aksial 1: (2.29-2.98)3.85 Aksial 2: (1.92-2.97)3.59 Mikrokonidia: Panjang: (6.98-7.71)(8.22-11.69)13.68 Lebar tengah: (2.41-3.95)	(0.92-1.96)(2.11-2.83)3.32
<i>Penicillium</i> sp. D2.1	Permukaan atas berwarna putih (HSV 50:0:90). Bentuk koloni <i>filamentous</i> , dan tepian <i>filiform</i>	Klamidospora: Panjang: (8.13-10.92)(11.33-11.92)13.52 Lebar: 6.48(7.61-9.93) Lebar 1: (2.1-2.7) Lebar 2: (1.86-2.52)	(1.5-2.99)3.58
<i>Fusarium</i> sp. D4.1	Permukaan atas berwarna putih (HSV 50:0:90). Bentuk koloni <i>filamentous</i> , dan tepian <i>filiform</i>	Makrokonidia: Panjang: (37.13-38.80)(40.42-44.60)55.44 Lebar tengah: (5.21-5.75)(6.00-6.98)7.98 Aksial 1: (4.04-4.93)(5.01-5.99) Aksial 2: (4.12-6.53) Mikrokonidia: Panjang: (10.47-14.77)(15.39-19.89)29.48 Lebar tengah: (3.69-4.87)(5.08-5.79)7.29 Klamidospora: Panjang: (7.12-9.77)(10.27-11.95)13.04 Lebar: (8.14-8.58)(9.33-10.99)15.73	(2.03-3.84)5.53

Tabel 3. Lanjutan

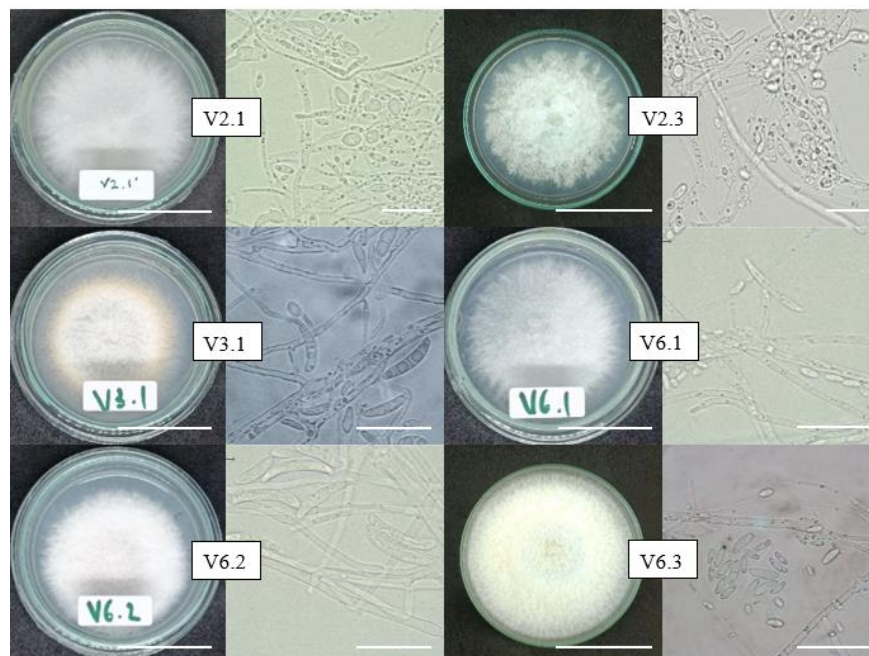
Spesies cendawan	Karakteristik morfologi koloni	Ukuran spora (µm)	Ukuran hifa (µm)
<i>Fusarium</i> sp. D5.1	Permukaan atas berwarna putih (HSV 50:0:90). Bentuk koloni <i>filamentous</i> , dan tepian <i>filiform</i>	Makrokonidia: Panjang: (33.17-44.48)47.19 Lebar tengah: (5.45-6.00) 7.37 Aksial 1: (4.01-6.41) Aksial 2: (4.12-6.41) Mikrokonidia: Panjang: (11.90-14.21)(15.33-29.39) Lebar tengah: (4.06-5.88)6.59 Klamidospora: Panjang: (7.33-10.89) Lebar: 5.55(3.37-9.74)	(1.68-1.79)
<i>Fusarium</i> sp. D5.2	Permukaan atas berwarna putih keunguan (HSV 280:5:100) dan lingkaran keunguan di tengah koloni (HSV 280:30:80). Bentuk koloni <i>circular</i> , dan tepian <i>entire</i> .	Makrokonidia: Panjang: (30.4-46.67) Lebar tengah: (4.16-5.93) Aksial 1: (3.07-5.62) Aksial 2: (3.27-5.60) Mikrokonidia : Panjang: (11.04-18.73)23.17 Lebar tengah: (3.25-4.71)5.61	(2.11-2.86)4.97
<i>Fusarium</i> sp. D6.1	Permukaan atas berwarna putih (HSV 50:5:100). Bentuk koloni <i>filamentous</i> , dan tepian <i>filiform</i>	Makrokonidia: Panjang: (23.71-28.42) Lebar tengah: (3.78-4.4) Aksial 1: (2.86-3.6) Aksial 2: (2.81-5.08) Mikrokonidia: Panjang: (10.99-12.68)(13.48-15.47)18.41 Lebar tengah: (2.552.90)(3.05-3.83)4.07	(1.31-1.97)(2.05-2.8)3.82 (1.47-1.92)(2.02-2.77)4.36

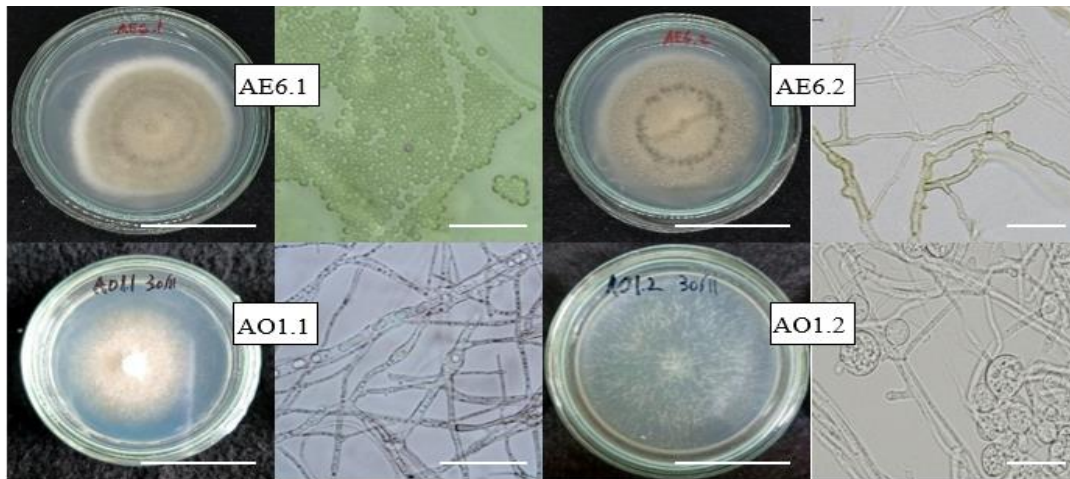


Gambar 4. Karakteristik struktur morfologi koloni dan struktur mikroskopis isolat *Fusarium* sp. D1.1, *Fusarium* sp. D1.2, *Fusarium* sp. D4.1, *Fusarium* sp. D5.1, *Fusarium* sp. D5.2, *Fusarium* sp. D6.1 dan *Penicillium* sp. D2.1 yang diisolasi dari peloton akar anggrek *Dipodium brevilabium* pada media PDA hari ke-4. Skala = kultur cawan 3 cm, struktur mikroskopis 50 µm (D1.1, D1.2, D4.1, D5.1, D5.2, D6.1), 20 µm (D2.1)

Tabel 4. Karakteristik morfologi koloni dan mikroskopis isolat cendawan yang diisolasi dari anggrek *Vanilla planifolia*

Spesies cendawan	Karakteristik morfologi koloni	Ukuran spora (μm)	Ukuran hifa (μm)
<i>Fusarium</i> sp. V2.1	Permukaan atas berwarna putih kekuningan (HSV 55:10:100). Bentuk koloni <i>filamentous</i> , dan tepian <i>filiform</i>	Mikrokonidia: Panjang: (5.10-6.97)(7.15-7.94)9.05 Lebar tengah: (2.30-2.99)3.41	1.75(2.01-2.91)4.77
<i>Fusarium</i> sp. V2.3	Permukaan atas berwarna putih kekuningan (HSV 55:10:100). Bentuk koloni <i>filamentous</i> , dan tepian <i>filiform</i>	Mikrokonidia: Panjang: (4.77-6.62)(7.28-7.94)10.98 Lebar tengah: (2.36-2.98)3.72	(1.74-1.87)(2.08-3.89)4.13
<i>Penicillium</i> sp. V3.1	Permukaan atas berwarna putih dengan warna kuning keemasan di pinggirnya (HSV 50:50:100). Bentuk koloni <i>filamentous</i> , dan tepian <i>filiform</i> .	Makrokonidia: Panjang: (30.16-38.81)(42.44-44.19)53.74 Lebar tengah: (5.64-5.89)(6.06-6.93)8.19 Aksial 1: (5.64-5.89)(6.06-6.93)8.19 Aksial 2: (4.55-4.83)(5.08-5.93)6.80	(1.69-2.66)(3.03-4.91)6.71
<i>Fusarium</i> sp. V6.1	Permukaan atas berwarna putih kekuningan (HSV 55:10:100). Bentuk koloni <i>filamentous</i> , dan tepian <i>filiform</i>	Mikrokonidia: Panjang: (4.32-5.84)(6.10-6.95)8.96 μm Lebar tengah: (2.41-2.95)3.43	(1.59-1.98)(2.1-2.95)3.92
<i>Fusarium</i> sp. V6.2	Permukaan atas berwarna putih keunguan (HSV 280:10:100). Bentuk koloni <i>filamentous</i> , dan tepian <i>filiform</i>	Makrokonidia: Panjang: 26.30(30.14-39.06)42.24 Lebar tengah: (4.07-4.97)(5.01-5.84) Aksial 1: (3.14-4.18) Aksial 2: (2.69-2.81)(3.20-3.91)4.43 Mikrokonidia: Panjang: 6.78(7.29-10.95)16.07 Lebar tengah: (3.23-4.66) Klamidospora: Panjang: (6.91-7.71) Lebar: (5.81-7.03)	(2.08-2.96)4.14
<i>Fusarium</i> sp. V6.3	Permukaan atas berwarna kuning pucat (HSV 55:15:100), putih (HSV 55:0:100), dan kuning (HSV 55:30:100). Bentuk koloni <i>filamentous</i> , dan tepian <i>filiform</i>	Mikrokonidia: Panjang: (9.33-10.43)(11.47-12.96)20.97 Lebar tengah: (2.93-3.60)(4.33-4.90)6.74 Klamidospora: Panjang: (7.16-7.99)12.41 Lebar: (6.94-7.69)(8.01-8.85)9.40	1.47(2.18-2.92)5.05

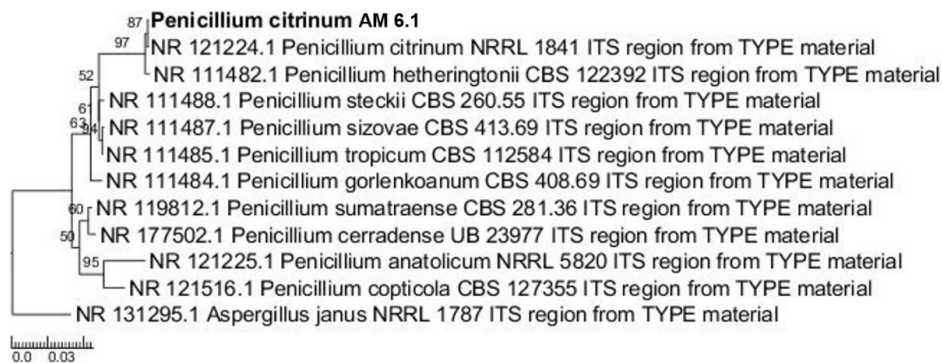
Gambar 5. Karakteristik struktur morfologi koloni dan struktur mikroskopis isolat *Fusarium* sp. V2.1, *Fusarium* sp. V2.3, *Fusarium* sp. V3.1, *Fusarium* sp. V6.1, *Fusarium* sp. V6.2, *Fusarium* sp. V6.3 yang diisolasi dari peloton akar anggrek *Vanilla planifolia* pada media PDA hari ke-4. Skala = kultur cawan 3 cm, struktur mikroskopis 50 μm (V2.1, V2.3, V3.1, V6.2, V6.3), 20 μm (V6.1)



Gambar 6. Karakteristik struktur morfologi koloni dan struktur mikroskopis cendawan miselia sterilia AE6.2, miselia sterilia AO1.1, *Penicillium* sp. AE6.1 dan isolat AO1.2 belum teridentifikasi yang diisolasi dari peloton akar anggrek *Aerides odorata* pada media PDA hari ke-4. Skala = kultur cawan 3 cm, struktur mikroskopis 50 µm (AE6.2, AO1.1, AO1.2), 20 µm (AE6.1)

Tabel 5. Hasil BLAST ITS region isolat *Penicillium* sp.

Kode isolat	Kemiripan di BLAST NCBI	Max score	Total score	Query cover	E value	% Identity	Access number
AM6.1	<i>Penicillium citrinum</i> NRRL1841	965	965	99%	0.0	100.00	NR121224.1



Gambar 7. Pohon filogenetik *Penicillium citrinum* AM 6.1 yang berasal dari sekuens rDNA ITS dianalisis berdasarkan metode Maximum likelihood (ML) dengan model Tamura-Nei menggunakan 1000 bootstrap dan *Aspergillus janus* NRRL 1787 sebagai outgroup. Nilai bootstrap ditunjukkan pada node

Cendawan endofit pada penelitian ini sebagian besar terdiri dari kelompok cendawan miselia sterilia. Keberadaan cendawan miselia sterilia lebih banyak ditemukan pada *P. amabilis* dibandingkan tiga sampel anggrek lainnya. Hal ini diduga karena perbedaan tipe substrat dan habitat tumbuh. Secara umum, cendawan endofit yang tumbuh di dalam jaringan anggrek berasal dari cendawan yang hidup di sekitar substrat atau media tumbuh anggrek seperti arang dan kayu pakis (Peterson & Farquhar 1994). Chen *et al.* 2011 melaporkan bahwa miselia sterilia dan *Fusarium* ialah kelompok cendawan yang paling sering ditemui pada anggrek *Dendrobium* yang tumbuh secara epifit pada habitat tropis. Sampel *D. brevilabium*, *V. planifolia*, dan *A. odorata* didominasi oleh kelompok cendawan yang membentuk konidia. Hasil ini diduga karena ketiga sampel anggrek yang tumbuh di rumah kaca Soedjana Kassin memiliki lingkungan yang lebih

sesuai untuk sporulasi dibandingkan *P. amabilis*. Sporulasi cendawan dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suplai nutrisi, cekaman osmotik, cekaman oksidatif, ketersediaan karbon, ketersediaan nitrogen, pH, sirkulasi udara, dan cahaya (Ajmal *et al.* 2023).

Sebanyak 6 isolat *Fusarium* berhasil diisolasi dari *D. brevilabium* dan *V. planifolia*. Kelimpahan *Fusarium* yang tinggi pada *D. brevilabium* dan *V. planifolia* diduga karena *Fusarium* mampu tumbuh pada berbagai jenis substrat dan memiliki persebaran spora yang sangat efektif. Berdasarkan Ajmal *et al.* 2023, *Fusarium* dapat memproduksi 3 spora aseksual yaitu makrokonidia, mikrokonidia, dan klamidospora sehingga memungkinkan persebaran spora lebih efektif. *Fusarium oxysporum* pernah dilaporkan juga sebagai endofit pada anggrek epifit *Epidendrum strangeanum* asal Puerto Rico dan *Fusarium*

sambucitrinum pada anggrek tanah *Maxillaria* sp. asal Colombia. Di perkebunan *Vanilla* di Puerto Rico, *Fusarium oxysporum* dan *Rhizoctonia solani* merupakan cendawan yang sangat umum ditemukan sebagai parasit namun juga memiliki peran sebagai mikoriza (Bayman & Otero 2006).

Anggrek yang dikonservasi di rumah kaca Soedjana Kassin ditempatkan pada pot dengan berbagai level ketinggian dan dikelilingi oleh kisi-kisi besi. Beberapa faktor abiotik yang diduga mendukung pertumbuhan dan penyebaran spora *Fusarium* dalam lingkungan rumah kaca Soedjana Kassin meliputi media tanam yang berasal dari tempat yang sama, air yang berpotensi sebagai vektor pembawa spora pada saat penyiraman, serta angin yang dapat berhembus dan menerbangkan spora menuju pot lainnya. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa seluruh isolat *Fusarium* dari *D. brevilabium* menghasilkan makrokonidia dan mikrokonidia. *Fusarium* dari *V. planifolia* terdiri dari 2 isolat yang menghasilkan makrokonidia dan mikrokonidia, sedangkan 4 isolat lainnya hanya menghasilkan mikrokonidia. Isolat *Fusarium* spp. tanpa makrokonidia juga pernah dilaporkan pada penelitian Niehaus *et al.* (2017). *Fusarium* merupakan genus cendawan yang telah dilaporkan mengolonisasi sebagian besar jenis tanaman anggrek, termasuk anggrek tanah dan epifit. Penelitian sebelumnya, melaporkan bahwa *Fusarium* ditemukan pada anggrek epifit *Dendrobium longicornu* Lindl. asal Nepal (Shah *et al.* 2022), *Stanhopea tigris* asal Meksiko (Salazar *et al.* 2020), *Bulbophyllum neilgherense*, dan *Vanda testacea* asal India (Sudheep & Sridhar 2012). Selain itu, hasil yang diperoleh juga sesuai dengan Sukarno *et al.* (2023) yang juga melaporkan adanya isolat cendawan dari genus *Fusarium*, yaitu *Fusarium solani species complex* (FSSC) pada anggrek *C. finlaysonianum* Lindl., *V. tricolor* Lindl., *C. triplicata* (Willemet) Ames, dan *P. tankervilleae* (Banks) Blume. Selain itu, cendawan *Fusarium* sebelumnya dilaporkan sebagai cendawan patogen penyebab busuk akar dan batang pada anggrek genus *Vanilla* (Koyyappurath *et al.* 2015). Akan tetapi pada penelitian ini, isolat *Fusarium* sp. yang diperoleh merupakan isolat cendawan endofit yang diisolasi dari akar anggrek yang sehat.

Cendawan *Penicillium* ditemukan pada 3 dari 4 anggrek yang diteliti. *Penicillium* sp. merupakan cendawan kosmopolitan dan umum ditemukan di berbagai ekosistem (Sahoo & Gupta 2018). Pernyataan tersebut didukung Yadav *et al.* 2018 bahwa *Penicillium* sp. diketahui merupakan salah satu cendawan yang paling umum ditemukan pada berbagai habitat termasuk tanah, udara, dan lingkungan ekstrem seperti suhu, salinitas, pH, cekaman air. Dalam sebuah penelitian *Penicillium* sp. pernah diisolasi sebagai

endofit non mikoriza dari anggrek epifit asal Puerto Rico *Lepanthes caritensis* (Bayman & Otero 2006). Selain itu, *Penicillium* sp. ditemukan pada akar, bulbus, dan daun anggrek *B. neilgherense* dan *V. testacea* dari Hutan Taiga, India (Sudheep & Sridhar 2012). Persebaran yang luas dari *Penicillium* sp. pada anggrek yang diteliti membuat spesies ini perlu diidentifikasi lebih akurat menggunakan karakteristik molekuler. Hasil identifikasi molekuler pada isolat *Penicillium* sp. (AM6.1) menunjukkan bahwa isolat tersebut memiliki kekerabatan yang dekat dengan *Penicillium citrinum*. Avila-Diaz *et al.* (2013) juga melaporkan bahwa *P. citrinum* juga ditemukan pada anggrek epifit *Laelia speciosa* (HBK) Schltr asal Meksiko. Beberapa peran *P. citrinum* diantaranya ialah menghasilkan giberelin dan sitokinin (Gu *et al.* 2023), meningkatkan penyerapan nutrisi dan pertumbuhan tanaman (Hakim & Yuwati 2020), memproteksi tanaman terhadap cekaman biotik (Waqas *et al.* 2015), serta memproduksi senyawa anticendawan dan antimikrob lainnya yang bermanfaat dalam bidang pertanian, farmasi, dan bioteknologi. *Penicillium citrinum* juga berpotensi sebagai antikanker, antivirus, antioksidan dan antiinflamasi (Toghueo & Boyom 2020).

Pemahaman mendasar akan cendawan endofit baik identitas, peran dan fungsinya dalam kehidupan anggrek dan dunia konservasinya masih sangat diperlukan. Namun masih menjadi tantangan yang sangat besar ketika menghadapi kesulitan teknis dalam hal identifikasi karena umumnya cendawan endofit bersifat steril (*non-sporulate*) dalam kondisi kultur. Disamping itu sifat cendawan endofit yang tidak menimbulkan gejala pada tumbuhan inang membuat penelitian tentang peran dan fungsinya terabaikan di bandingkan dengan penelitian mikoriza.

DAFTAR PUSTAKA

- Ai YY, Liu Q, Hu HX, Shen T, Mo YX, Wu XF, Li JL, Dossa GGO, Song L. 2023. Terrestrial and epiphytic orchids exhibit diversity and distribution patterns along an elevation gradient of Mt. Victoria, Myanmar. *Glob Ecol Conserv* 42:e02408. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2023.e02408>
- Ajmal M, Hussain A, Ali A, Chen H, Lin H. 2023. Strategies for controlling the sporulation in *Fusarium* spp. *J Fungi* 9:1-18. <https://doi.org/10.3390/jof9010010>
- Alghamdi SA. 2019. Influence of mycorrhizal fungi on seed germination and growth in terrestrial and epiphytic orchids. *Saudi J Biol Sci* 26:495-502. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.10.021>
- Avila-Diaz I, Garibay-Orijel R, Mahgana-Lemus RE, Oyama K. 2013. Molecular evidence reveals fungi associated within the epiphytic orchid *Laelia speciosa* (HBK) Schltr. *Bot Sci* 91:523-529. <https://doi.org/10.17129/botsci.429>
- Barnett HL, Hunter BB. 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Volume ke-64. Minneapolis (US): Burgess Publishing Company. <https://doi.org/10.2307/3757954>
- Bayman P, Otero T. 2006. Microbial endophyt of orchid roots. in: Soil Biology. Berlin (DE): Springer-Verlag.

- Calevo J, Duffy KJ. 2023. Interactions among mycorrhizal fungi enhance the early development of a Mediterranean orchid. *Mycorrhiza* 33:229-240. <https://doi.org/10.1007/s00572-023-01118-4>
- Chen J, Hu KX, Hou XQ, Guo SX. 2011. Endophytic fungi assemblages from 10 *Dendrobium* medicinal plants (Orchidaceae). *World J Microbiol Biotechnol* 27:1009-1016. <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0544-y>
- Ellestad P, Pérez-Farrera MA, Buerki S. 2022. Genomic insights into cultivated Mexican *Vanilla planifolia* reveal high levels of heterozygosity stemming from hybridization. *Plants* 11:2090. <https://doi.org/10.3390/plants11162090>
- Favre-Godal Q, Gourguillon L, Lordel-Madeleine S, Gindro K, Choisy P. 2020. Orchids and their mycorrhizal fungi: an insufficiently explored relationship. *Mycorrhiza* 30:5-22. <https://doi.org/10.1007/s00572-020-00934-2>
- Fritsche Y, Lopes ME, Selosse MA, Stefenon VM, Guerra MP. 2021. *Serendipita restingae* sp. nov. (Sebacinales): an orchid mycorrhizal agaricomycete with wide host range. *Mycorrhiza* 31:1-15. <https://doi.org/10.1007/s00572-020-01000-7>
- Gantiva ERA, Diez MGC, Moreno FHH. 2020. Light-water interaction effect on photosynthesis of the *Vanilla planifolia* (orchidaceae). *Rev Biol Trop* 68:1250-1261. <https://doi.org/10.15517/rbt.v68i4.41385>
- Gao X, Wang Y, Deng D, Luo Yinling, Shao S, Luo Yan. 2023. Morphogenesis changes in protocorm development during symbiotic seed germination of *Dendrobium chrysotoxum* (Orchidaceae) with its mycobiont, *Tulasnella* sp. *Horticulturae* 9:531. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9050531>
- Gu K, Chen CY, Selvaraj P, Pavagadhi S, Yeap YT, Swarup S, Zheng W, Naqvi NI. 2023. *Penicillium citrinum* provides transkingdom growth benefits in Choy Sum (*Brassica rapa* var. *parachinensis*). *J Fungi* 9:420. <https://doi.org/10.3390/jof9040420>
- Hakim SS, Yuwati TW. 2020. The use of fungal endophyte *Penicillium citrinum* on tree seedling: applicability and limitation. *BIO Web Conf* 20:03005. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20202003005>
- Herrera P, Suárez JP, Kottke I. 2010. Orchids keep the ascomycetes outside: a highly diverse group of ascomycetes colonizing the velamen of epiphytic orchids from a tropical mountain rainforest in Southern Ecuador. *Mycology* 1:262-268. <https://doi.org/10.1080/21501203.2010.526645>
- Hongthongkham J, Bunnag S. 2014. *In vitro* propagation and cryopreservation of *Aerides odorata* Lour. (Orchidaceae). *Pakistan J Biol Sci* 17:608-618. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2014.608.618>
- Hossain MM. 2022. Orchid mycorrhiza: Isolation, culture, characterization and application. *South African J Bot* 151:365-384. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.10.003>
- Jayanthi G, Karthikeyan K, Muthumary J. 2014. Pervasiveness of endophytic fungal diversity in *Anisomeles malabarica* from Aliyar, West Ghats, South India. *Mycosph* 5:830-840. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/5/6/13>
- Katta J, Rampilla V, Khasim SM. 2019. A Study on phytochemical and anticancer activities of epiphytic orchid *Aerides odorata* Lindl. *European J Med Plants* 28:1-21. <https://doi.org/10.9734/ejmp/2019/v28i330135>
- Koyyappurath S, Atuahiva T, Le Guen R, Batina H, Le Squin S, Gautheron N, Edel Hermann V, Peribe J, Jahiel M, Steinberg C, Liew ECY, Alabouvette C, Besse P, Dron M, Sache I, Laval V, Grisoni M. 2015. *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-vanillae* is the causal agent of root and stem rot of vanilla. *Plant Pathol* 65:612-625. <https://doi.org/10.1111/ppa.12445>
- Kurniawati J, Sugiyarto L, Yulianti E, Nurcahyo H, Mercuriani IS. 2019. Molecular identification of several orchid species based on OPA10 and OPA18 RAPD marker. *J Phys Conf Ser* 1397:1-5. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1397/1/012042>
- Langlois DK, Sutton DA, Swenson CL, Bailey CJ, Wiederhold NP, Nelson NC, Thompson EH, Wickes BL, French S, Fu J, Vilar-Saavedra P, Peterson SW. 2014. Clinical, morphological, and molecular characterization of *Penicillium canis* sp. nov., isolated from a dog with osteomyelitis. *J Clin Microbiol* 52:2447-2453. <https://doi.org/10.1128/JCM.03602-13>
- Maisch NA, Bereswill S, Heimesaat MM. 2022. Antibacterial effects of vanilla ingredients provide novel treatment options for infections with multidrug-resistant bacteria-A recent literature review. *Eur J Microbiol Immunol* 12:53-62. <https://doi.org/10.1556/1886.2022.00015>
- Malloch D. 2017. HSV Colour Plates for Mycology. Mushroom Colours. Tersedia di: http://website.nbmmnb.ca/mycologywebpages/EssaysOnFungi/Collecting_mushrooms_for_scientific_study/Colours.html. [Diakses tanggal: 29 Oktober 2023]
- Metusala D. 2011. *Dipodium brevilabium*; Spesies baru anggrek dari Papua. Blog LIPI. Tersedia di: <https://ipb.link/dipodiumbrevilabium>. [Diakses tanggal: 29 Oktober 2023]
- Mose W, Indrianto A, Purwanto A, Semiarti E. 2017. The influence of Thidiazuron on direct somatic embryo formation from various types of explant in *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume Orchid. *HAYATI J Biosci* 24:201-205. <https://doi.org/10.1016/j.hjb.2017.11.005>
- Mursyidin DH, Rubiansyah M, Badruzsaufari. 2022. Genetic relationship of several morphological and molecular characteristics of *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume Orchids from The Meratus Mountain of South Kalimantan, Indonesia. *Indones J For Res* 9:63-72. <https://doi.org/10.20886/ijfr.2022.9.1.63-72>
- Nguyen HC, Lin KH, Huang MY, Yang CM, Shih TH, Hsiung TC, Lin YC, Tsao FC. 2018. antioxidant activities of the methanol extracts of various parts of *Phalaenopsis* orchids with white, yellow, and purple flowers. *Not Bot Horti Agrobot Cluj-Napoca* 46:457-465. <https://doi.org/10.15835/nbha46211038>
- Niehaus EM, Kim HK, Münsterkötter M, Janevska S, Arndt B, Kalinina SA, Houterman PM, Ahn IP, Alberti I, Tonti S, Kim D, Sieber CMK, Humpf H, Yun S, Guldener U, Tudzynski B. 2017. Comparative genomics of geographically distant *Fusarium fujikuroi* isolates revealed two distinct pathotypes correlating with secondary metabolite profiles. *PLoS Pathog* 13:1-38. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006670>
- Nugraheni KA, Kurniawan FY, Riyadi ADR, Kinasih A, Ilmam HPL, Semiarti E. 2022. Cytological Analysis of *Aerides odorata* Lour. from Sleman, Special Region of Yogyakarta. *Proc 7th Int Conf Biol Sci (ICBS 2021)* 22:545-552. <https://doi.org/10.2991/absr.k.220406.077>
- Parthibhan S, Rao MV, Senthil Kumar T. 2017. Culturable fungal endophytes in shoots of *Dendrobium aqueum* Lindley - An imperiled orchid. *Ecol Genet Genomics* 3-5:18-24. <https://doi.org/10.1016/j.egg.2017.06.004>
- Pecoraro L, Caruso T, Cai L, Gupta VK, Liu ZJ. 2018. Fungal networks and orchid distribution: new insights from above- and below-ground analyses of fungal communities. *IMA Fungus* 9:1-11. <https://doi.org/10.5598/imafungus.2018.09.01.01>
- Peterson RL, Farquhar ML. 1994. Mycorrhizas-Integrated development between roots and fungi. *Mycologia* 86:311-326. <https://doi.org/10.1080/00275514.1994.12026415>
- Puspitaningtyas DM, Handini E. 2021. Seed germination evaluation of *Phalaenopsis amabilis* in various media for long-term conservation. *Biodiversitas* 22:5231-5238. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d221162>
- Riddell RW. 1950. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. *Mycologia* 42:265-270. <https://doi.org/10.1080/00275514.1950.12017830>

- Rahayu ND, Sukarno N, Listiyowati S, Rafi M, Mursidawati S, Sandra E. 2021. Flower endophytic fungi of *Geodorum densiflorum* endangered orchid. IOP Conf Ser: Earth Environ Sci 948:012037. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/948/1/012037>
- Sahoo H, Gupta N. 2018. Diversity of endophytic phosphate solubilising fungi associated with *Pomatocalpa decipiens* (Lindl.) J.J. Smith - an endangered orchid in Barbara forest of Odisha, India. *Stud Fungi*. 3:84-99. <https://doi.org/10.5943/sif/3/1/11>
- Salazar JM, Pomavilla M, Pollard AT, Chicca EJ, Peña DF. 2020. Endophytic fungi associated with roots of epiphytic orchids in two Andean forests in Southern Ecuador and their role in germination. *Lankesteriana* 20:37–47. <https://doi.org/10.15517/LANK.V20I1.41157>
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. 1989. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sandrasagaran UM, Subramaniam S, Murugaiyah V. 2014. New perspective of *Dendrobium crumenatum* orchid for antimicrobial activity against selected pathogenic bacteria. *Pakistan J Bot* 46:719-724.
- Santos IS dos, Silva MJ da. 2023. Anatomy and histochemistry of the vegetative system of *Brachystele guayanensis* (Lindl.) Schltr. (Orchidaceae), a potential medicinal species. *Plants* 12:2635. <https://doi.org/10.3390/plants12142635>
- Shah S, Shah B, Sharma R, Rekadwad B, Shouche YS, Sharma J, Pant B. 2022. Colonization with non-mycorrhizal culturable endophytic fungi enhances orchid growth and indole acetic acid production. *BMC Microbiol* 22:1-13. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02507-z>
- Sudheep NM, Sridhar KR. 2012. Non-mycorrhizal fungal endophytes in two orchids of Kaiga forest (Western Ghats), India. *J For Res* 23:453-460. <https://doi.org/10.1007/s11676-012-0284-y>
- Sukarno N, Mursidawati S, Listiyowati S, Nugraha NH, Fadillah WN, Waite M. 2023. Root associated *Fusarium solani* species complex (FSSC) in epiphytic and terrestrial orchids. *Biodiversitas* 24:2577-2586. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d240509>
- Toghueo RMK, Boyom FF. 2020. Endophytic *Penicillium* species and their agricultural, biotechnological, and pharmaceutical applications. 3 *Biotech* 10:107. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-2081-1>
- Waqas M, Khana AL, Hamayuna M, Shahzad R, Kang SM, Kim JG, Lee IJ. 2015. Endophytic fungi promote plant growth and mitigate the adverse effects of stem rot: an example of *Penicillium citrinum* and *Aspergillus terreus*. *J Plant Interact* 10:280-287. <https://doi.org/10.1080/17429145.2015.1079743>
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. 1990. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. San Diego (US): Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1s>
- Wiese J, Ohlendorf B, Blümel M, Schmaljohann R, Imhoff JF. 2011. Phylogenetic identification of fungi isolated from the marine sponge *Tethya aurantium* and identification of their secondary metabolites. *Mar Drugs* 9:561-585. <https://doi.org/10.3390/md9040561>
- Yadav AN, Verma P, Kumar V, Sangwan P, Mishra S, Panjar N, Gupta VK, Saxena AK. 2018. Biodiversity of the Genus *Penicillium* in Different Habitats. Sirmour (IN): Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63501-3.00001-6>
- Zhao YY, Cartabia A, Lalaymia I, Declerck S. 2022. Arbuscular mycorrhizal fungi and production of secondary metabolites in medicinal plants. *Mycorrhiza* 32:221-256. <https://doi.org/10.1007/s00572-022-01079-0>