

Exploration of Secondary Metabolite from Endophytic Microorganisms in Java Ginseng Root as Antifungals

Erviyana Windiastuti¹, Sri Wahyuni², Visi Tinta Manik¹, Yaya Sunarya², Elya Hartini²

¹Program Studi Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Siliwangi, Tasikmalaya, Indonesia;

²Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Siliwangi, Tasikmalaya, Indonesia;

Article History

Received : February 08th, 2025

Revised : March 15th, 2025

Accepted : April 10th, 2025

*Corresponding Author: **Visi Tinta Manik**, Program Studi Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Siliwangi, Tasikmalaya, Indonesia;
Email:

visitintamanik@unsil.ac.id

Abstract: The emergence and spread of pathogens is one of agriculture's problems. *Rhizopus stolonifer* is the pathogen to be on the lookout for because it causes rhizopus loose rot disease. The pathogen must be dealt with immediately because it can result in losses of up to 40%. The application of biological agents or biocontrol is one solution, that supports Integrated Plant Disease Management (IPDM), by producing secondary metabolites. The endophytic microorganisms found in Java ginseng (*Talinum triangulare*) are one source of secondary metabolites. Thus, the purpose of this study was to investigate whether endophytic microorganisms in javanese ginseng roots have ability to combat the pathogen *R. stolonifer*. The experimental method involved This result bring the endophytic microorganisms in javanese ginseng roots have potential against *R. stolonifer*. Nevertheless, further research is still needed to explore potential.analyzing the secondary metabolite from the endophytic microorganism in ginseng in vitro. Phytochemical and zone of inhibition were the two types of test that were being performed. The obtained result was a set of extract that contains triterpenoid and alkaloid. In addition, extract B (FN-1) had the strongest inhibition zone against *R. stolonifer*. This finding indicates endophytic microorganisms found in Javanese ginseng roots have potential against *R. stolonifer*. Nonetheless, more research is needed to investigate the potential.

Keywords: Biocontrol, endophytic, ginseng, rhizopus, secondary-metabolites.

Pendahuluan

Perkembangan dunia pertanian kini menghadapi banyak tantangan, salah satu yang menjadi isu global adalah muncul dan menyebarnya patogen yang menyerang komoditas pertanian. Salah satu penyakit pasca panen yang perlu diwaspadai adalah busuk lunak rhizopus. Penyakit ini disebabkan oleh jamur patogen *Rhizopus stolonifer* yang mampu menyebabkan kerugian hingga 30 – 40% dan dampak ekonomi mencapai \$220 juta (Gulzar et al., 2023). Pada tomat, *R. stolonifer* menginfeksi buah yang masih hijau dan bertahan sampai matang hingga membuat buah busuk secara total (Tijjani et al., 2020). Selain itu, dalam penelitian yang dilakukan oleh Mukhtar et al. (2020), ditemukan bahwa *Rhizopus* spp.

berpengaruh paling banyak pada pasca panen jeruk manis. Salah satu cara yang kini digalakkan adalah dengan penggunaan agen hayati demi mengurangi penggunaan senyawa kimia.

Penggunaan agen biologis yang telah dilakukan, salah satunya seperti yang dilakukan oleh Shamsullah et al. (2024) dengan menguji beberapa minyak atsiri dan ekstrak tanaman untuk menghambat proses pembusukan pada pasca panen oleh *R. stolonifer*. Ditemukan bahwa kayu manis dan cengkeh dengan dosis 2000ppm mengalami pembusukan sebesar 12,22% dan 6,74%. Selain itu, banyak penelitian lain yang mengungkap peran dari metabolit sekunder, kelas steroid, terpenoid, poliketida, alkaloid, dan lainnya, sebagai antifungal. Baazeem et al. (2021) melakukan investigasi terkait potensial bioaktivitas dari *Trichoderma hamatum* (strain

FB10) yang diisolasi dari akar tumbuhan tomat. Hasilnya adalah mikroorganisme tersebut memiliki potensi antimikrobal dengan kandungan hidrokarbon (heksadesana dan butyrolakton) dan asam lemak (asam butanoat, asam heksadesonoat, dan etanolik).

Potensi lainnya dapat diamati pada akar ginseng dengan komunitas mikroorganisme endofit yang dapat memproduksi metabolit sekunder untuk melawan patogen, salah satunya adalah saponin (Ye et al., 2023). Endofit memiliki potensi untuk menghasilkan produk-produk baru dan unik yang dapat dimanfaatkan dalam bidang medis, pertanian, dan industri modern (Ameri and Shahrokh Shahraki, 2024). Bakteri Endofit dari *Allium jesdianum*, seperti *Staphylococcus succinus* AJB2, *Acinetobacter lwoffii* AJB5, dan *Pantoea brenneri* AJB6, telah menunjukkan aktivitas antagonistik terhadap *Rhizopus stolonifera* (Ameri and Shahrokh Shahraki, 2024).

Kemampuan mikroba endofit sebagai antimikroba juga diperkuat dengan hasil pengamatan dari Ali & Rante (2018) bahwa bakteri endofit pada akar ginseng jawa (*Talinum triangulare*) dapat menghambat pertumbuhan fungi, dengan terdeteksinya gen PKS-1 dan NRPS yang berperan dalam produksi metabolit sekunder, khususnya kelas poliketida. Namun demikian, belum banyak eksplorasi yang dilakukan terkait potensi mikroorganisme endofit sebagai antifungal. Maka dari itu, perlu dilakukan investigasi terkait potensi metabolit sekunder yang didapat dari mikroorganisme endofit akar ginseng jawa, sebagai tanaman lokal Indonesia, demi melawan *Rhizopus stolonifera*. Eksplorasi ini perlu dilakukan dengan segera untuk dapat menangani kasus busuk lunak rhizopus. Dewasa ini, penanganan berbagai kasus pertanian dilakukan dengan agen biologis demi mengurangi penggunaan senyawa kimia. Melalui eksplorasi ini, akan didapat informasi terkait kandungan metabolit sekunder yang terdapat di mikroorganisme endofit akar ginseng jawa dan potensinya dalam menghambat pertumbuhan *R. stolonifera*.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat

Eksplorasi ini dilakukan dari bulan Mei hingga Juli 2024 di Laboratorium Fakultas

Pertanian Universitas Siliwangi.

Desain penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian deskripsi dan eksperimen. Pada penelitian ini, dilakukan pengujian karakteristik potensi metabolit sekunder yang didapat dari akar ginseng jawa. Pengujian tersebut dilakukan menggunakan uji fitokimia secara kualitatif. Kandungan metabolit sekunder yang diujikan adalah alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Selanjutnya dilakukan eksperimen terkait zona hambat dari ekstrak metabolit sekunder terhadap *R. stolonifera*.

Populasi dan sampel penelitian

Mikroorganisme endofit ini didapat dari koleksi yang didapat dari penelitian sebelumnya oleh Visi Tinta Manik et al. (2023). Pada penelitian sebelumnya yang menggunakan beberapa pelarut, hanya pelarut etil asetat yang menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan fungi. Berdasarkan hal tersebut, pada penelitian ini, ekstrak metabolit sekunder didapat menggunakan 86% pelarut etil asetat (Ali & Rante, 2018). Ekstrak metabolit sekunder didapat dari mikroorganisme endofit dengan kode berikut.

A= Kontrol (tanpa ekstrak)

B = Dengan metabolit sekunder dari mikroorganisme endofit FN-1

C = Dengan metabolit sekunder dari mikroorganisme endofit GJ-3

D = Dengan metabolit sekunder dari mikroorganisme endofit GJ-9

E = Dengan metabolit sekunder dari mikroorganisme endofit GJ-12

Kandungan metabolit sekunder yang diujikan adalah alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Kemudian uji zona hambat dilakukan menggunakan metode difusi untuk mengamati kemampuan metabolit sekunder dari mikroorganisme endofit pada akar ginseng jawa dalam melawan *R. stolonifera*. Uji ini dilakukan menggunakan petridish dengan media PDA. Pada medium tersebut, diinokulasikan *R. stolonifera*. Kemudian kertas cakram ukuran 6mm yang telah direndam dalam ekstrak metabolit sekunder (A-E) diletakkan di atas petridish dengan *R. stolonifera*. Perlakuan tersebut didiamkan selama 24 jam dan diukur serta diukur

zona hambatnya.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat mikroorganisme endofit pada akar ginseng jawa dari koleksi laboratorium, isolat patogen *R. stolonifer*, Media Potato Dextrose Agar (PDA), media Nutrient Agar (NA), media Nutrient Broth (NB), media Potato Dextrose Broth (PDB), etil asetat 86%, aquadest, alkohol 96%, dan DMSO 10%. Sedangkan alat-alat yang digunakan antara lain cawan petri, gelas ukur, timbangan analitik, tabung reaksi, jarum ose, pipet, mikropipet, tabung mikropipet, Erlenmeyer, gelas objek, autoklaf, magnetik stirrer, spreader, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), mikroskop, plastik wrap, aluminium foil, kertas stensil, *hotplate stirrer*, *shaker*, sentrifus, api bunsen, inkubator, pinset, label, vernier, dan *vacuum rotary evaporator*.

Prosedur penelitian

Ekstraksi metabolit sekunder dilakukan melalui prosedur ekstraksi pelarut dengan menggunakan etil-asetat yang ditambahkan ke dalam filtrat bakteri dan jamur endofit. Kemudian didiamkan hingga terbentuk dua lapisan bening yang tidak dapat tercampur. Lapisan atas etil asetat yang mengandung senyawa hasil ekstraksi dipisahkan dengan menggunakan corong pisah. Ekstrak filtrat tersebut diuapkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 35-40°C untuk menghilangkan pelarutnya dan diuapkan Kembali untuk mendapatkan ekstrak kasar. Ekstrak kasar dilarutkan menggunakan dimetil sulfoksida (DMSO).

Identifikasi kandungan ekstrak metabolit sekunder mikroba endofit asal akar ginseng jawa secara kualitatif dilakukan dengan metode pelat tetes. Sementara itu, pengujian kemampuan metabolit sekunder dalam menghambat pertumbuhan patogen *Rhizopus stolonifera* dilakukan dengan menggunakan metode difusi menggunakan cakram. Cakram yang digunakan berlaku sebagai bahan antimikroba dan *R. stolonifer* diinokulasikan kedalamnya. Setelah diinkubasi selama 24 jam, diamati zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram.

Analisis data penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan, yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5

perlakuan ekstrak metabolit isolat mikroba endofit dan 5 ulangan.

Hasil dan Pembahasan

Uji fitokimia

Uji fitokimia ini dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang dikandung oleh ekstrak metabolit sekunder dari mikroorganisme endofit pada akar ginseng jawa. Metabolit sekunder yang diujikan adalah alkaloid, tanin, steroid dan triterpenoid, dan flavonoid. Hasil dan reagen yang digunakan pada uji fitokimia ini terlampir pada Tabel 1. Pengujian ini dilakukan dengan mengacu pada metode yang dilakukan dalam penelitian (Mailuhu et al., 2017). Pengujian alkaloid dilakukan menggunakan reagen dragendroff. Ekstrak yang positif mengandung alkaloid menunjukkan endapan kuning sampai merah bata. Seperti yang terlampir pada Tabel 1, keempat ekstrak mengandung alkaloid.

Pengujian steroid dan triterpenoid dilakukan menggunakan reagen asam asetat anhidrat dan H₂SO₄. Hasil positif untuk steroid ditandai dengan terbentuknya warna biru, ungu, atau hijau. Sementara itu, untuk triterpenoid terbentuk warna merah atau cokelat. Pada pengujian ini, pada ekstrak B dan C menunjukkan warna keunguan sementara pada D dan E menunjukkan warna merah kecokelatan. Pengujian flavonoid dilakukan menggunakan reagen logam Mg dan HCl untuk memecah struktur flavonoid yang memiliki inti benzopiron, sehingga terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga. Hasil positif tersebut tidak terbentuk pada hasil uji fitokimia dalam penelitian ini (Tabel 1).

Berdasarkan Tabel 1 ditunjukkan bahwa ekstrak dari keempat jenis mikroorganisme endofit pada akar ginseng jawa mengandung senyawa alkaloid. Sementara steroid dimiliki oleh ekstrak B (FN-1) dan C (GJ-3), serta triterpenoid dimiliki oleh ekstrak D (GJ-9) dan E (GJ-12). Namun demikian, keempat ekstrak tersebut tidak mengandung senyawa flavonoid. Kehadiran metabolit sekunder dapat dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan dalam penelitian ini. Perbedaan pelarut akan berpengaruh pada jumlah metabolit sekunder yang diidentifikasi. Hal ini dapat dilihat pada hasil uji fitokimia dari *Costus lucanusianus* yang menggunakan beberapa

pelarut. Hasil yang didapatkan bahwa kehadiran metabolit sekunder yang berbeda-beda pada tiap pelarutnya (Onanuga & Oloyede, 2022).

Tabel 1. Hasil Kandungan Metabolit Sekunder

Pengujian Metabolit Sekunder	Hasil Metabolit Sekunder (Reagen)				
	Alkaloid (Dragendorff)	Tanin (FeCl ₃)	Steroid (Asam asetat anhidrat dan H ₂ SO ₄)	Triterpenoid (Asam asetat anhidrat dan H ₂ SO ₄)	Flavonoid (Mg dan HCl)
FN-1 (B)	+	-	+	-	-
Gj-3 (C)	++	-	+	-	-
Gj-9 (D)	+	-	-	+	-
Gj-12 (E)	++	-	-	+	-

Keterangan: (+) = Sedikit, (++) = Sedang, (+++) = Banyak

Alkaloid ini berperan sebagai antifungal yang telah diuji dalam penelitian Al-Nafie et al. (2024). Dalam penelitiannya, ditemukan bahwa alkaloid yang didapat dari ekstrak *Saussurea costus* mampu menghambat pertumbuhan *Aspergillus* spp. secara signifikan. Selain itu, alkaloid juga berperan dalam mekanisme pertahanan terhadap perlawanan patogen, seperti *Colletotrichum gloeosporioides* dan *Rhizopus stolonifer*. Dalam penelitian tersebut, dianalisis kandungan alkaloid sebelum dan sesudah inokulasi dengan patogen tersebut. Dihasilkan bahwa adanya peningkatan alkaloid yang di ekstraksi dari *Annona muricata* setelah inokulasi dengan patogen. *C. gloeosporioides* meningkatkan produksi anonain, retikulin, dan nornusiferin sebanyak 10 – 1200%. Sementara itu, *R. stolonifera* meningkatkan sebanyak 10% nornusiferin dan anonain (Riley-Saldaña et al., 2022).

Flavonoid diketahui mampu menekan pertumbuhan miselium. Namun, pada hasil pengujian dalam penelitian ini, tidak ditemukan senyawa tersebut. Senyawa lain yang juga ditemukan dalam penelitian ini adalah triterpenoid (terpenoid). Senyawa ini memiliki tingkat menghambat pertumbuhan fungi yang paling rendah dibanding dengan alkaloid dan flavonoid. Mekanisme alkaloid sebagai antifungal dilakukan secara pleiotropik yang melibatkan sintesis protein dan interkalasi ke dalam DNA jamur. Sementara terpenoid, melakukannya dengan menurunkan jumlah mitokondria sehingga produksi ATP pada patogen menjadi turun (Al-Nafie et al., 2024).

Penelitian lain menunjukkan bahwa perbedaan jenis alkaloid akan menghasilkan perbedaan efek. Begitu pula pada jenis patogen

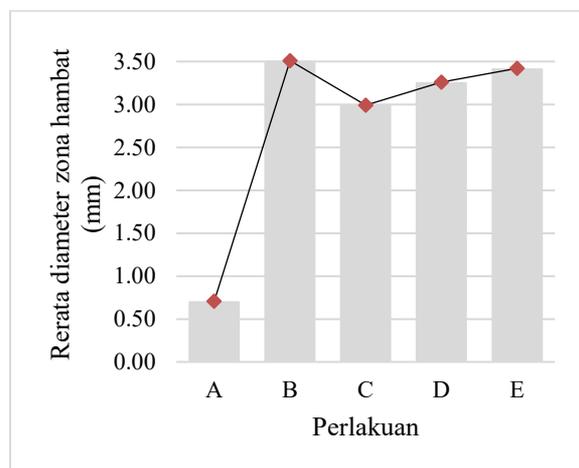
yang dilawannya. Dalam penelitian lainnya, mereka mengujikan ekstrak dari *Picrasma quassioides* kepada 10 jenis patogen. Ditemukan bahwa dalam ekstrak tersebut mengandung 5 macam senyawa alkaloid yang memiliki kemampuan berbeda-beda sebagai antifungal (Wang et al., 2022). Selain spesifikasi alkaloid, dosis yang diberikan pun akan berpengaruh pada mekanisme penyerangannya, seperti lycorine akan menyerang blastopore dari *Candida albicans* dengan dosis 130µM, RNA dari *Saccharomyces cerevisiae* dengan dosis 100µM, DNA dari *S. cerevisiae* dengan dosis 50µM, dan lainnya. Senyawa alkaloid lainnya, narciclasine, juga memiliki pengaruh yang berbeda, yaitu merusak protein *S. cerevisiae* pada konsentrasi 10µM, ribosom pada konsentrasi 10µM – 100µM dan vakuola pada konsentrasi 0,5µM.

Spesifikasi tersebut tidak hanya terjadi pada kelas alkaloid, namun terjadi juga pada metabolit sekunder kelas lainnya. Sideroxylin, merupakan senyawa kelas flavonoid yang merusak dinding sel *C. albicans* dengan dosis 50µg/ml. Dari kelas yang sama, Ferrerol merusak dinding sel *C. albicans* dengan dosis 8µg/ml. Berdasarkan hal tersebut, eksplorasi ini butuh untuk ditindaklanjuti terkait spesifikasi senyawa dan pengaruhnya terhadap patogen ((Nair & van Staden, 2020).

Zona hambat

Zona hambat dilakukan untuk menguji daya hambat ekstrak mikroorganisme endofit pada akar ginseng jawa terhadap *R. stolonifer*. Konsentrasi ekstrak yang digunakan untuk pengujian sebanyak 20% dan suspensi *R. stolonifer* yang digunakan sebanyak 10⁶ sel. Hasil pengujian menunjukkan bahwa keempat

ekstrak, bukan kontrol (A), memiliki potensi sebagai agen biokontrol. Keempat ekstrak tersebut memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *R. stolonifer* yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Dari keempat ekstrak tersebut, yang paling tinggi daya hambat terhadap *R. stolonifer* dimiliki oleh ekstrak FN-1 (B). FN-1 ini merupakan mikroorganisme fungi endofit pada akar ginseng jawa.



Gambar 1. Zona Hambat Ekstrak Metabolit Sekunder dari Mikroorganisme Endofit pada Akar Ginseng Jawa.

Zona hambat atau yang dikenal dengan *Zone of Inhibition* (ZOI) merupakan metode lama yang masih dipakai hingga kini. ZOI dilakukan dengan metode uji difusi cakram yang merupakan metode sederhana dan efektif. Diameter dari zona bersih disekitar cakram yang telah diberi antibiotik ataupun antifungal merupakan potensi daya hambat dari antibiotik tersebut (Barnard, 2019).

Berdasarkan Gambar 2 dan Tabel 1 memunculkan korelasi antara kemampuan menghambat pertumbuhan *R. stolonifer* yang dimunculkan dalam zona hambat (Gambar 2) dengan kesamaan senyawa metabolit sekunder yang dikandung, yaitu alkaloid dan triterpenoid (Tabel 1). Alkaloid dan triterpenoid dapat menyebabkan perubahan morfologi pada hifa patogen, seperti deformasi dan pembesaran vakuola, yang menghambat pertumbuhan dan virulensinya (Komeil and Saad, 2021). Namun hasil pada **Error! Reference source not found.**, menunjukkan adanya daya hambat paling kuat terhadap *R. stolonifer*, yaitu pada perlakuan B dengan mikroorganisme endofit FN-1. Zona

hambat atau zona bening yang terbentuk sebesar 3,51mm. Daya hambat kuat selanjutnya adalah perlakuan E, D, dan C dengan ukuran zona bening sebesar 3,42; 3,26; dan 2,99mm. Sementara kontrol yang tidak diberi ekstrak metabolit sekunder tidak memiliki daya hambat terhadap *R. stolonifer* dengan zona bening yang terbentuk 0,71mm.

Penelitian lain sebelumnya memiliki hasil yang berbeda, yaitu baik senyawa alkaloid, tanin, steroid, maupun flavonoid yang di ekstrak dari daun *Anacardium occidentale* tidak memberikan kemampuan dalam menghambat *R. stolonifer*, namun mampu menghambat pertumbuhan *Aspergillus niger*. Ketidakmampuan tersebut, dilihat dari zona hambat yang sama sekali tidak terbentuk (Tafinta et al., 2020). Adanya perbedaan senyawa turunan dari senyawa-senyawa tersebut dapat memberikan kemampuan yang berbeda terhadap daya hambatnya.

Diketahui kingdom dari mikroorganisme endofit tersebut bahwa perlakuan B merupakan fungi sementara perlakuan C, D, dan E merupakan bakteri. Kemampuan daya hambat terhadap *R. stolonifer* dari kedua kingdom tersebut dimungkinkan karena memiliki senyawa metabolit yang sama, yaitu alkaloid. Seperti yang telah diungkap sebelumnya bahwa alkaloid memiliki jenis-jenisnya lagi dalam kandungannya. Hal ini perlu ditelisik lebih lanjut, perlu adanya pengujian senyawa kandungan turunan kelas-kelas tersebut sehingga senyawa yang didapat bisa lebih spesifik. Begitu halnya dengan steroid dan terpenoid pun perlu diketahui senyawa turunannya lagi sehingga dapat diperjelas pengaruhnya terhadap penghambatan pertumbuhan *R. stolonifer*. Penelitian serupa juga dilakukan dengan melihat ZOI dari madu terhadap *R. stolonifer*. Hasilnya adalah semakin kuat konsentrasi madunya maka ZOI-nya akan semakin tinggi (Johnecheck et al., 2023).

Komposisi kehadiran metabolit sekunder ini mungkin berpengaruh terhadap pertahanannya melawan *R. stolonifer*. Hal ini terungkap bahwa adanya pengaktifan gen bertingkat, yaitu metil jasmonat (kelas terpenoid) memicu ekspresi PpWRKY70 yang memiliki kemampuan mengikat promotor PpPAL dan Pp4CL. Setelah pengenalan *R. stolonifer*, PpPAL dan Pp4CL diaktifkan dengan cepat oleh PpWRKY70, dan kemudian aktivitas PAL dan 4CL bersama dengan kandungan fenolik

total, flavonoid total serta senyawa fenolik individu ditingkatkan. Hal ini memberikan peningkatan resistensi dan menyebabkan penurunan kasus infeksi *R. stolonifer* (Ji et al., 2021). Berdasarkan temuan ini, maka perlu adanya analisis lebih lanjut terkait eksplorasi metabolit sekunder pada mikroorganisme endofit akar ginseng jawa

Kesimpulan

Berdasarkan hasil eksplorasi ekstrak metabolit sekunder dari mikroorganisme endofit pada akar ginseng jawa mendapatkan bahwa ekstrak ini memiliki potensi sebagai antifungal *Rhizopus stolonifer*. Potensi tersebut didukung dengan kandungan metabolit sekunder berupa senyawa alkaloid dan triterpenoid. Namun demikian, penelitian lebih lanjut sangat diperlukan untuk menguatkan hasil eksplorasi ini.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada semua yang telah memberikan kontribusi penting dalam penelitian ini, baik secara langsung maupun tidak langsung. Selain itu, ucapan terima kasih juga kami sampaikan kepada LPPM Universitas Siliwangi yang telah mendanai penelitian ini.

Referensi

- Ali, A., & Rante, H. (2018). Screening of Endophytic Bacteria Producing Antifungal Isolated From Indonesia Medicinal Plant, Java Ginseng (*Talinum Triangulare*) (Jacq.) Willd. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 10(6), 152. <https://doi.org/10.22159/ijpps.2018v10i6.26037>
- Al-Nafie, F. S., Hussein, H. J., & Al-Rubaye, A. F. (2024). Antifungal Efficacy of the crude Alkaloid, Flavonoid, and Terpenoid of *Saussurea costus* (Falc.) Lipschitz Roots against *Aspergillus* species isolated from Rice Seeds. *Advancements in Life Sciences*, 11(2), 392–397.
- Ameri, R. and Shahrokh Shahraki, S. (2024) 'Evaluation of Antifungal Effect of *Allium jesdianum* Bacterial Endophytes on *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium*, *Cladosporium*, and *Trichophyton mentagrophytes*', *Journal of Microbiota*, 1(1), pp. 1–7. <https://doi.org/10.5812/jmb-144397>.
- Baazeem, A., Almanea, A., Manikandan, P., Alorabi, M., Vijayaraghavan, P., & Abdel-Hadi, A. (2021). In vitro antibacterial, antifungal, nematocidal and growth promoting activities of *trichoderma hamatum* fb10 and its secondary metabolites. *Journal of Fungi*, 7(5), 1–13. <https://doi.org/10.3390/jof7050331>
- Barnard, R. T. (2019). The zone of inhibition. *Clinical Chemistry*, 65(6), 819. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2018.299800>
- Gulzar, R. M. A., Javed, I., Abbas, M., Fatima, M., Rehman, T. u, Khan, R. N., Jahangir, M. S., & Nasar, S. (2023). Emerging Trends In Plant Disease Management: A Review Of Sustainable And Innovative Approaches. *Journal of Survey in Fisheries Sciences, February*, 504–509. <https://doi.org/10.53555/sfs.v10i3.1855>
- Ji, N., Wang, J., Li, Y., Li, M., Jin, P., & Zheng, Y. (2021). Involvement of PpWRKY70 in the methyl jasmonate primed disease resistance against *Rhizopus stolonifer* of peaches via activating phenylpropanoid pathway. *Postharvest Biology and Technology*, 174(111466), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2021.111466>
- Johnecheck, C., Petersburg, A., & Rasmus, J. (2023). Analyzing honey's ability to inhibit the growth of *Rhizopus stolonifer*. *Journal of Emerging Investigators*, 6(2), 1–5. <https://doi.org/10.59720/22-125>
- Komeil, D.A. and Saad, M.M.G. (2021) 'The antagonistic activity of certain fungal endophytes against some phytopathogenic fungi through their metabolites and extracellular enzymes', *Phytoprotection*, 101(1), 21–30. <https://doi.org/10.7202/1082602ar>
- Mailuhu, M., Runtuwene, M. R. J., & Koleangan, H. S. J. (2017). Skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak metanol kulit batang soyogik (*Saurauia bracteosa* DC). *Chem. Prog.*, 10(1), 6. <https://doi.org/10.35799/jis.17.1.2017.15614>

- Manik, V. T., Nurcahya, I., Suhardjadinata, & Setiaramdani, S. (2023). Isolasi dan Karakterisasi Mikroorganisme Endofit Akar Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.) Yang Diberi Perlakuan Perbedaan Ketersediaan Air. *Biotropic : The Journal of Tropical Biology*, 7(1), 1–10. <https://doi.org/10.29080/biotropic.v7i1.1694>
- Mukhtar, Y., Muhammad, M. A., Zubairu, S. M., Galalain, A. M., & Ahmad, U. M. (2020). Isolation, identification and pathogenicity of fungal organisms causing postharvest rot of sweet oranges, cucumber and lettuce in Sharada Market, Kano State-Nigeria. *Asian Journal of Medical and Biological Research*, 5(4), 286–291. <https://doi.org/10.3329/ajmbr.v5i4.45266>
- Nair, J. J., & van Staden, J. (2020). Insight to the antifungal properties of Amaryllidaceae constituents. *Phytomedicine*, 73(152753), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.11.013>
- Onanuga, A. O., & Oloyede, G. K. (2022). Phytochemical analysis and antifungal activity of *Costus lucanusianus* J. Braun & K. Schum aerial and rhizome crude extracts. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 18(2), 215–223. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2022.18.2.0068>
- Riley-Saldaña, C. A., De-La-Cruz-Chacón, I., Cruz-Ortega, M. D. R., Castro-Moreno, M., & González-Esquinca, A. R. (2022). Do *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* induce alkaloidal and antifungal responses in *Annona muricata* seedlings? *Zeitschrift Fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 78(1–2), 57–63. <https://doi.org/10.1515/znc-2021-0297>
- Tafinta, I. Y., Okoye, N. H., Batagarawa, U. S., Hamma, I. I., & Abubakar, M. (2020). Phytochemical Screening and Antifungal Activities of Cashew (*Anacardium occidentale* Linn.) Leaves Extract on Some Fungal Isolates. *Asian Plant Research Journal*, 5(3), 30–37. <https://doi.org/10.9734/aprj/2020/v5i330108>
- Tijjani, A., Usman, G. U., Gurama, A. U., Babura, S. R., Aliyu, M., & Adamu, A. D. (2020). Fungicidal activity of crude extracts from some indigenous medicinal plants against *Aspergillus niger* and *Rhizopus stolonifer* causing wet rot disease on tomato (*Solanum lycopersicum*) fruits. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 12(1), 12–18. <https://doi.org/10.4314/bajopas.v12i1.3>
- Wang, H., Tian, R., Chen, Y., Li, W., Wei, S., Ji, Z., & Aioub, A. A. A. (2022). In vivo and in vitro antifungal activities of five alkaloid compounds isolated from *Picrasma quassioides* (D. Don) Benn against plant pathogenic fungi. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 188(105246), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2022.105246>
- Ye, X. W., Li, C. S., Zhang, H. X., Li, Q., Cheng, S. Q., Wen, J., Wang, X., Ren, H. M., Xia, L. J., Wang, X. X., Xu, X. F., & Li, X. R. (2023). Saponins of ginseng products: a review of their transformation in processing. *Frontiers in Pharmacology*, 14(1177819), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1177819>