

**ISOLASI DAN ANALISIS FILOGENETIK FUNGI *Colletotrichum* sp.  
PATOGEN BUAH CABAI (*Capsicum annuum* L.) DARI PASAR  
TRADISIONAL DI BANDAR LAMPUNG**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**WAHYU WIDIANNINGRUM  
NPM 1617021037**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2022**

**ISOLASI DAN ANALISIS FILOGENETIK FUNGI *Colletotrichum* sp.  
PATOGEN BUAH CABAI (*Capsicum annuum* L.) DARI PASAR  
TRADISIONAL DI BANDAR LAMPUNG**

**Oleh**

**WAHYU WIDIANNINGRUM**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA SAINS**

**Pada**

**Jurusan Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2022**

## ABSTRAK

### ISOLASI DAN ANALISIS FILOGENETIK FUNGI *Colletotrichum* sp. PATOGEN BUAH CABAI (*Capsicum annuum* L.) DARI PASAR TRADISIONAL DI BANDAR LAMPUNG

Oleh

WAHYU WIDIANNINGRUM

Tanaman cabai merupakan salah satu sayuran yang mempunyai prospek pemasaran yang cerah. Penyakit yang sering ditemukan pada tanaman cabai adalah antraknosa. Penyakit antraknosa biasanya disebabkan oleh fungi *Colletotrichum* sp. yang dapat menyerang dari masa pertumbuhan atau pada saat panen. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan menganalisis filogenetik fungi *Colletotrichum* sp. patogen buah cabai (*Capsicum annuum* L.) yang diambil di pasar di Bandar Lampung. Penelitian yang digunakan yaitu ekstraksi DNA dengan menggunakan sekuen ITS-rDNA untuk mengetahui hubungan kekerabatan. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Lampung dan Laboratorium Terpadu Sentra Inovasi dan Teknologi (UPT LTSIT) Universitas Lampung, pada bulan Maret – Mei 2020. Sampel yang digunakan berupa buah cabai yang menunjukkan gejala terkena penyakit antraknosa. Fungi *Colletotrichum* sp. diisolasi, kemudian dilakukan ekstraksi DNA, analisis kemurnian dan konsentrasi DNA total, amplifikasi dengan PCR, elektroforesis, dan dilanjutkan dengan sekuensing DNA. Hasil sekuensing DNA tersebut dianalisis menggunakan perangkat lunak *Molecular Evolution Genetics Analysis* (MEGA) versi X. Hasil analisis filogenetik menunjukkan bahwa sampel W1 diketahui sebagai *Colletotrichum scovillei* karena memiliki nilai identitas 100% dengan sekuen *Colletotrichum scovillei* LD351 dengan kode akses LC488857.1. Sampel W1 telah didaftarkan di *GeneBank* dengan kode akses LC577889.1.

Kata Kunci : Buah Cabai, Antraknosa, Filogenetik, *Colletotrichum scovillei*

## ABSTRACT

### ISOLATION AND PHYLOGENETIC ANALYSIS OF FUNGI *Colletotrichum* sp. PATHOGEN CHILI (*Capsicum annuum* L.) FROM TRADITIONAL MARKET IN BANDAR LAMPUNG

By

WAHYU WIDIANNINGRUM

Chilies were one of the vegetables that have good marketing prospects. The disease that was often found in chili plants is anthracnose. Anthracnose disease is usually caused by the fungus *Colletotrichum* sp. which can attack from the growing period until harvest. The purpose of this study was to isolate and analyze the phylogenetic fungi of *Colletotrichum* sp. pathogenic chili fruit (*Capsicum annuum* L.) taken at the market in Bandar Lampung. The research used was DNA extraction using ITS-rDNA sequences to determine phylogenetic relationship. This research was conducted at the Microbiology Laboratory of the Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Lampung and the Integrated Laboratory of the Center for Innovation and Technology (UPT LTSIT), University of Lampung, from March to May 2020. The samples used were chilies that showed symptoms of anthracnose disease. Fungi of *Colletotrichum* sp. isolated, then carried out DNA extraction, analysis of purity and total DNA concentration, amplification by PCR, electrophoresis, and continued with DNA sequencing. The results of the DNA sequencing were analyzed using Molecular Evolution Genetics Analysis (MEGA) software version X. The results of phylogenetic analysis showed that sample W1 was known as *Colletotrichum scovillei* because it had a 100% identity value with the sequence *Colletotrichum scovillei* LD351 with accession code LC488857.1. Sample W1 was registered with GeneBank with accession code LC577889.1.

Keywords : Chili, Anthracnose, Phylogenetic, *Colletotrichum scovillei*

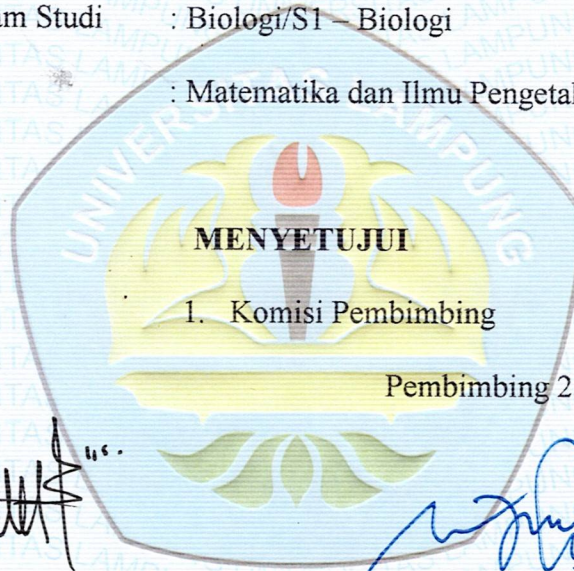
Judul Skripsi : **ISOLASI DAN ANALISIS FILOGENETIK FUNGI *Colletotrichum* sp. PATOGEN BUAH CABAI (*Capsicum annuum* L.) DARI PASAR TRADISIONAL DI BANDAR LAMPUNG**

Nama Mahasiswa : **Wahyu Widianningrum**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1617021037

Jurusan/Program Studi : Biologi/S1 – Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**MENYETUJUI**

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing 1

Pembimbing 2

**Dra. Yulianty, M.Si.**  
NIP. 196507131991032002

**Wawan A. Setiawan, S.Si., M.Si.**  
NIP. 197912302008121001

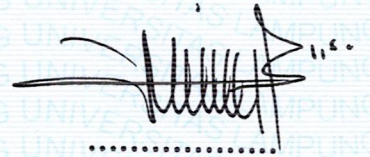
2. Ketua Jurusan Biologi  
FMIPA Universitas Lampung

**Drs. M. Kanedi, M.Si.**  
NIP. 196101121991031002

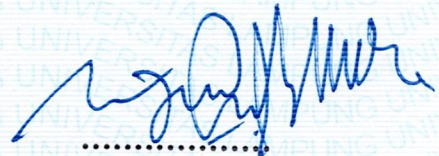
**MENGESAHKAN**

1. Tim Penguji

Ketua : **Dra. Yulianty, M.Si.**



Sekretaris : **Wawan A. Setiawan, S.Si., M.Si.**



Anggota : **Dr. Kusuma Handayani, S.Si., M.Si.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**Dr. Eng. Surtoto Dwi Yuwono, M.T.**  
NIP. 197407052000031001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **27 Januari 2022**

**SURAT PERNYATAAN  
KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Wahyu Widianningrum  
NPM : 1617021037  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa skripsi saya berjudul:

**“Isolasi dan Analisis Filogenetik Fungi *Colletotrichum* sp. Patogen Buah Cabai (*Capsicum annuum* L.) dari Pasar Tradisional di Bandar Lampung”**

Baik gagasan, data, maupun pembahasannya adalah **benar** karya saya sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika akademik yang berlaku dan saya memastikan bahwa tingkat similaritas proposal ini tidak lebih dari 20%. Selanjutnya saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data dari skripsi saya digunakan oleh dosen untuk kepentingan penelitian sepanjang nama saya dicantumkan.

Jika di kemudian hari terbukti pernyataan saya ini tidak benar, saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bandar Lampung, 27 Januari 2022  
Yang menyatakan,



(Wahyu Widianningrum)  
NPM. 1617021037

## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Jakarta pada tanggal 11 September 1998, sebagai putri pertama dari pasangan Bapak Purnomo (Alm.) dan Ibu Winnani Roniyus Putri. Mempunyai dua orang adik yaitu Harjuno Saputro dan Tri Anggoro Seno.

Penulis menempuh pendidikan Taman Kanak – kanak (TK) di Taman Kanak – kanak Barunawati II Jakarta pada tahun 2002 – 2004. Setelah itu penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Dasar (SD) di SD Barunawati II Jakarta pada tahun 2004 – 2010. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP Negeri 111 Jakarta pada tahun 2010 – 2012, setelah itu penulis melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 29 Bandar Lampung pada tahun 2012 – 2013. Selanjutnya penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMA Negeri 5 Bandar Lampung pada tahun 2013 – 2014, selanjutnya penulis melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 10 Kota Bogor pada tahun 2014 – 2016. Tahun 2016 penulis resmi terdaftar sebagai Mahasiswi Biologi, Fakultas



Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Lampung melalui jalur SNMPTN.

Selama menjadi mahasiswi Jurusan Biologi FMIPA UNILA, penulis aktif dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO FMIPA UNILA) sebagai Anggota Bidang Komunikasi, Informasi, dan Hubungan Masyarakat pada periode 2017-2018. Pada tahun 2017 penulis melakukan Karya Wisata Ilmiah di Desa Margosari, Kecamatan Pagelaran Utara, Kabupaten Pringsewu selama 7 hari. Pada tahun 2019 penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Lampung selama 40 hari dengan judul “Persentase Uji Air Minum Menggunakan Parameter *Coliform* dan *Colitinja* dengan Metode MPN (*Most Probable Number*) di UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Lampung”. Pada bulan Juli – Agustus 2019 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di desa Margomulyo, Kecamatan Air Naningan, Kabupaten Tanggamus selama 40 hari. Kini akhirnya penulis dapat menyelesaikan pendidikan Strata 1 (satu) di Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung pada tahun 2022.

## **MOTTO**

**“Ubah pikiranmu dan kau dapat mengubah duniamu.”**

**(Norman Vincent Peale)**

**“Waktu bagaikan pedang. Jika kamu tidak memanfaatkannya dengan baik,  
maka ia akan memanfaatkanmu.”**

**(HR. Muslim)**

**“Seseorang bertindak tanpa ilmu ibarat bepergian tanpa petunjuk. Dan  
sudah banyak yang tahu kalau orang seperti itu kiranya akan hancur, bukan  
selamat.”**

**(Hasan Al Bashri)**

**“Percaya dan yakinlah pada diri sendiri karena kamu pasti bisa menghadapi  
segala cobaan dan rintangan yang Allah SWT Berikan.”**

**(Penulis)**

**“Janganlah cepat menyerah dan berkecil hati, karena kita ibaratkan bunga  
yang memiliki waktu untuk mekar masing – masing.”**

**(Penulis)**

## PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*Alhamdulillah dengan mengucap rasa syukur  
Kepada Allah SWT yang Maha Pengasih dan  
Penyayang, akhirnya penulis dapat menyelesaikan  
karya ilmiah ini. Karya ilmiah ini kupersembahkan  
untuk ayah, bunda dan adik - adikku yang selalu  
mendo'akan dan mendukungku. Bapak dan Ibu  
Dosen yang telah memberikan Ilmu dengan tulus  
Ikhlas dan sabar dalam membimbingku serta  
sahabat - sahabatku yang selalu mendukung dan  
menemaniku saat senang maupun sedih. Terima  
kasih karena telah membantuku untuk  
menyelesaikan studi ini.*

*Almamaterku tercinta*

*Universitas Lampung*

## SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan kehadirat Allah SWT., yang telah memberikan Rahmat dan Hidayah serta cinta dan kemurahanNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Isolasi dan Analisis Filogenetik Fungi *Colletotrichum* sp. Patogen Buah Cabai (*Capsicum annuum* L.) dari Pasar Tradisional di Bandar Lampung**” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Ilmu Sains Bidang Biologi di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) di Universitas Lampung.

Penyusunan skripsi ini penulis mendapatkan bantuan dari berbagai pihak yang telah memberikan dukungan agar skripsi ini dapat diselesaikan. Untuk itu penulis ingin mengucapkan rasa terimakasih yang tulus kepada :

1. Kepada orang tuaku tercinta, Ayah Purnomo (Alm.), Muchlas Ardianto, S.H., M.M. dan Bunda Winnani Roniyus Putri, M.M. yang selalu memberikan do'a, semangat, nasihat, kasih sayang serta cinta kalian yang tulus dan luar biasa kepadaku.
2. Kedua adikku tersayang Harjuno Saputro, S.IP. dan Tri Anggoro Seno terima kasih karena selalu memberikan perhatian dan semangat kepadaku.
3. Ibu Dra. Yulianty, M.Si. selaku Pembimbing I dan Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan ide, saran, motivasi kepada penulis dan membimbing dengan sabar dan ikhlas serta banyak memberikan nasihat.

4. Bapak Wawan Abdullah Setiawan, S.Si., M. Si. yang telah banyak meluangkan waktu untuk membimbing dengan sabar, memberikan ide, saran, memberikan ilmu dan juga memberikan semangat.
5. Ibu Dr. Kusuma Handayani, S.Si., M.Si. selaku Pembahas dan Ketua Program Studi S1 Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung yang telah memberikan ide dan saran kepada penulis serta banyak memberikan nasihat.
6. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
7. Bapak Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, M.T., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
8. Bapak Dr. Paul Benyamin Timotiwu selaku Kepala UPT LTSIT Universitas Lampung, dan seluruh staff UPT LTSIT Universitas Lampung yang sudah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian.
9. Sahabat – sahabat ku Yona Eka Oktavia, Sayidati Hanifah, Risa Suryani Ws, Ismi Ariyati Kamal, Putu Arita, Noni Amelia S. terima kasih karena selalu memberikan do'a, nasihat, semangat dan membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi.
10. Teman – teman seperjuanganku dalam penelitian, Chetrine Della Crysta dan Aryani Refiliya yang telah banyak memberikan do'a, nasihat, semangat kritik dan saran, dan saling membantu satu sama lain sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
11. Teman - teman Angkatan 2016 yang sudah banyak memberikan dukungan selama penulis menyelesaikan skripsi.

12. Almamaterku tercinta Universitas Lampung, serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang sudah sangat membantu penulis dalam pelaksanaan penelitian dan menyelesaikan studi program sarjana.

Hanya Allah SWT. yang dapat membalas kebaikan kalian semua. Penulis berterima kasih atas segala dukungan yang telah kalian berikan selama penulis menyelesaikan skripsi ini. Akhir kata, penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan di dalam penyusunan skripsi ini. Oleh sebab itu, saran dan kritik yang membangun sangat diperlukan dalam penulisan di kemudian hari. Semoga skripsi yang sederhana ini dapat berguna dan bermanfaat bagi semua orang. Amin.

Bandar Lampung, 27 Januari 2022

Penulis,

Wahyu Widianningrum

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN DEPAN (COVER)</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL DALAM</b> .....	ii
<b>ABSTRAK</b> .....	iii
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	v
<b>SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI</b> .....	vii
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	viii
<b>MOTTO</b> .....	x
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	xi
<b>SANWACANA</b> .....	xii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xv
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xviii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xix
<b>I. PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang dan Masalah.....	1
1.2. Tujuan .....	3
1.3. Kerangka Teoritis.....	3
1.4. Hipotesis .....	4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1. Sejarah Tanaman Cabai .....	5

2.2. Klasifikasi Tanaman Cabai .....	5
2.3. Morfologi Tanaman Cabai .....	5
2.3.1. Akar .....	6
2.3.2. Batang .....	6
2.3.3. Daun .....	7
2.3.4. Bunga .....	7
2.3.5. Buah dan Biji.....	8
2.4. Syarat Tumbuh Tanaman Cabai.....	9
2.4.1. Ketinggian Tempat.....	9
2.4.2. Keadaan Tanah.....	9
2.4.3. Iklim .....	10
2.5. Penyakit Antraknosa pada Cabai .....	10
2.6. Klasifikasi <i>Colletotrichum</i> sp. ....	12
2.7. Morfologi <i>Colletotrichum</i> sp. ....	12
2.8. Fisiologi <i>Colletotrichum</i> sp.....	13
2.9. Analisis Filogenetik <i>Colletotrichum</i> sp. Menggunakan Sekuen ITS .....	14
2.10. Ekstraksi DNA.....	15
2.11. Analisis Kemurnian dan Konsentrasi DNA.....	15
2.12. <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR) .....	15
2.12.1. Denaturasi .....	16
2.12.2. <i>Annealing</i> (Penempelan Primer).....	16
2.12.3. Pemanjangan Primer ( <i>Extension</i> ).....	16
2.13. Elektroforesis DNA .....	17
2.14. Sekuensing DNA dengan Metode Sanger .....	17
2.15. Pohon Filogenetik.....	18

### III. METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu .....	19
3.2. Alat dan Bahan.....	19
3.3. Prosedur Kerja .....	20
3.3.1. Pembuatan Media <i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA).....	20



3.3.2. Pembuatan Biakan Murni <i>Colletotrichum</i> sp.....	21
3.3.3. Identifikasi Makroskopik dan Mikroskopik <i>Colletotrichum</i> sp.....	22
3.3.4. Ekstraksi DNA Fungi.....	22
3.3.5. Analisis Kemurnian dan Konsentrasi DNA Hasil Ekstraksi.....	23
3.3.6. Amplifikasi Sekuen ITS dengan PCR .....	24
3.3.7. Elektroforesis Hasil PCR.....	25
3.3.8. Sekuensing DNA .....	25
3.3.9. Analisis Filogenetik Data Hasil Sekuensing.....	25
3.4. Diagram Alir Penelitian .....	26
 <b>IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1. Isolasi <i>Colletotrichum</i> sp. dari Pasar Tradisional di Bandar Lampung .....	27
4.2. Ekstraksi DNA <i>Colletotrichum</i> sp. ....	30
4.3. Elektroforesis Hasil PCR Sekuen ITS .....	31
4.4. Hasil Sekuensing Daerah ITS .....	34
4.5. Analisis Filogenetik Hasil Sekuensing .....	37
 <b>V. SIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1. Simpulan .....	39
5.2. Saran .....	39
 <b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	40
 <b>LAMPIRAN</b> .....	49

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil kemurnian dan konsentrasi DNA <i>Colletotrichum</i> sp.....	30
2. Komposisi Perekasi PCR .....	31
3. Program pada alat <i>thermocycler</i> Sensoquest Sensodirect.....	32

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi <i>Capsicum annuum</i> L.....	8
2. Penyakit antraknosa pada <i>Capsicum annuum</i> L. ....	11
3. Fungi <i>Colletotrichum</i> sp. ....	13
4. Sekuen yang teramplifikasi ITS.....	14
5. Diagram alir penelitian.....	26
6. Cabai dari pasar tradisional di Bandar Lampung yang diduga terserang penyakit antraknosa .....	28
7. Isolat murni <i>Colletotrichum</i> sp. pada media PDA.....	29
8. Struktur <i>Colletotrichum</i> sp. secara mikroskopik .....	29
9. Visualisasi Hasil amplifikasi DNA sampel W1 .....	33
10. Elektroferogram sekuen ITS <i>Colletotrichum</i> sp. ....	34
11. Hasil BLAST di website NCBI.....	36
12. Pohon Filogenetik Sampel Fungi W1 .....	37
13. Biakan murni fungi <i>Colletotrichum</i> sp. di media PDB.....	50
14. Ekstraksi DNA Sampel Fungi W1 .....	50
15. Hasil uji kemurnian dan konsentrasi DNA Sampel Fungi W1 .....	51
16. PCR Sampel Fungi W1 .....	51
17. Elektroforesis Sampel Fungi W1 .....	51

## I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang dan Masalah

Indonesia memiliki kondisi tanah yang mengandung berbagai macam unsur hara yang sangat baik bagi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Berbagai macam produk hortikultura telah dihasilkan dan salah satu komoditas yang memiliki nilai ekonomi yang tinggi dan banyak dibutuhkan oleh masyarakat adalah cabai (Devi, 2010). Cabai termasuk dalam marga *Capsicum* dan juga masuk ke dalam suku Solanaceae. Di berbagai negara di dunia, cabai memiliki nama yang berbeda - beda, seperti *chili* umumnya untuk cabai pedas seperti rawit dan *pepper* umumnya digunakan pada jenis cabai besar, cabai manis, atau paprika (Warisno dan Kres, 2010).

Harga cabai di Indonesia dapat melambung tinggi pada waktu tertentu. Hal tersebut disebabkan oleh tingginya permintaan masyarakat akan kebutuhan cabai (Andoko, 2004). Namun dibalik harganya yang tidak menentu cabai tetap menjadi salah satu komoditi sayuran yang sangat penting. Hal itu disebabkan oleh berbagai kandungan dalam cabai yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh. Selain itu manfaat dan kegunaan dari cabai adalah memberikan rasa pedas yang dapat meningkatkan selera makan bagi pecinta masakan pedas dan juga memberikan warna merah yang alami terhadap masakan (Setiadi, 2005).

Berbagai faktor dapat mempengaruhi kualitas hasil panen tanaman cabai, salah satunya adalah serangan penyakit. Penyakit yang umum ditemukan

pada tanaman cabai di Indonesia adalah penyakit antraknosa. Penyakit antraknosa ini secara umum menyerang buah cabai pada semua tahap pertumbuhan atau pada saat panen dan juga saat masa penyimpanan. Tanda-tanda yang ditimbulkan dari penyakit ini adalah pada buah cabai terdapat bintik-bintik hitam kecil dan pada tanaman dewasa dapat menyebabkan mati pucuk dan berlanjut ke bagian bawah tanaman (Efri, 2010). Penyakit antraknosa ini disebabkan oleh fungi *Colletotrichum* sp. yang dapat menurunkan produksi dan kualitas dari cabai merah sebanyak 45-60% (Hidayat dkk., 2004). Beberapa spesies *Colletotrichum* sebelumnya sudah ditemukan di Bandar Lampung, seperti *Colletotrichum capsici* dan *Colletotrichum gloeosporioides* (Yulianty dkk., 2019). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah ditemukan spesies lain dari *Colletotrichum* selain kedua spesies tersebut di Bandar Lampung. Pemilihan penggunaan bagian buah cabai daripada ujung atau pucuk yang terserang antraknosa karena buah cabai adalah bagian yang paling mudah ditemukan di Bandar Lampung dibandingkan dengan tanaman cabai.

Hal yang dilakukan untuk mengetahui bentuk serta ukuran dari konidia fungi *Colletotrichum* sp. dengan pengamatan secara makroskopis (seperti warna dan bentuk koloni) dan mikroskopis (seperti hifa dan spora) (Sutton, 1980). Pengamatan seperti di atas untuk fungi *Colletotrichum* sp. saat ini tidak dapat diandalkan (Cannon *et al.*, 2012). Marga *Colletotrichum* memiliki banyak spesies sehingga perbedaan perlu diketahui dari tiap spesies (Cannon *et al.*, 2000). Morfologi marga *Colletotrichum* memiliki variasi genetik yang cukup luas. Untuk mengetahui spesies marga tersebut, saat ini sudah diketahui metode analisis filogenetik berbasis PCR pada sekuen *barcoding* di DNA genom. Analisis filogenetik merupakan analisis penentuan hubungan kekerabatan suatu makhluk hidup berdasarkan sekuen DNA (Subari dkk., 2021). Sekuen *barcoding* pada fungi salah satunya adalah sekuen Internal Transcribed Spacer (ITS) (Gazis *et al.*, 2011; Ghost *et al.*, 2016).

## 1.2. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menganalisis secara filogenetik fungi *Colletotrichum* sp. patogen buah cabai (*Capsicum annuum* L.) dari pasar tradisional di Bandar Lampung.

## 1.3. Kerangka Teoritis

Cabai merupakan salah satu sayuran yang mempunyai prospek pemasaran yang cerah. Cabai dapat digunakan dalam berbagai macam olahan makanan maupun obat-obatan selain ditambahkan sebagai bumbu masakan. Pertumbuhan dan produktivitas tanaman cabai sangat dipengaruhi oleh keadaan lingkungan dan juga serangan penyakit. Penyakit yang sering ditemukan pada tanaman cabai adalah antraknosa. Penyakit antraknosa biasanya disebabkan oleh fungi *Colletotrichum* sp. yang dapat menyerang dari masa pertumbuhan atau pada saat panen. Pemilihan buah cabai yang ada di pasar disebabkan karena buah cabai lebih mudah ditemukan di pasar dibandingkan dengan buah cabai yang masih berada di kebunnya di Bandar Lampung dan juga ingin mengetahui bagaimana sampel yang ada di pasar.

Selama ini untuk mengetahui jenis fungi *Colletotrichum* sp. yang menyerang cabai biasanya diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis. Namun, tingkat keakuratan dalam identifikasi jenisnya masih kurang. Saat ini sudah diketahui metode analisis filogenetik berbasis PCR pada sekuen *barcoding* di DNA genom. Sekuen *barcoding* yang banyak digunakan pada fungi adalah sekuen *Internal Transcribed Spacer* (ITS). Dengan melakukan identifikasi spesies menggunakan metode analisis filogenetik, akan meningkatkan ketelitian dalam menentukan spesies fungi yang pada akhirnya dapat meningkatkan efisiensi dalam penanganan patogen *Colletotrichum* sp. pada cabai.

#### 1.4. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah teridentifikasinya spesies fungi *Colletotrichum* sp. patogen buah cabai (*Capsicum annuum* L.) asal pasar tradisional di Bandar Lampung penyebab penyakit antraknosa melalui analisis filogenetik.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Sejarah Tanaman Cabai

Tanaman cabai tersebar sangat luas di Indonesia, namun waktu yang tepat masuknya cabai ke Indonesia belum dapat dipastikan. Sejak dahulu di Indonesia cabai sudah ditanam dan dibudidayakan, sebab dapat tumbuh di dataran rendah, di dataran menengah, maupun di dataran tinggi. Beberapa daerah pusat persebaran cabai di Indonesia adalah di Purworejo, Kebumen, Tegal, Pekalongan, Pati, Padang, Bengkulu, dsb. (Prajnanta, 2007).

### 2.2. Klasifikasi Tanaman Cabai

Beberapa ciri atau deskripsi tanaman cabai adalah termasuk ke dalam tumbuhan spermatophyta karena dapat menghasilkan biji, tanaman semusim (*annual*), tumbuh tegak dengan memiliki batang yang berkayu dan bercabang. Klasifikasi tanaman cabai menurut Sistem Klasifikasi Conquist (1981), adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Solanaless
Suku	: Solanaceae
Marga	: <i>Capsicum</i>
Jenis	: <i>Capsicum annuum</i> L.



## **2.3. Morfologi Tanaman Cabai**

### **2.3.1 Akar**

Tanaman cabai mempunyai perakaran tunggang yang sangat kuat serta membentuk percabangan ke arah samping (Setiadi, 2006). Perakaran tanaman cabai terbagi menjadi dua, yaitu akar utama atau primer dan akar lateral atau sekunder (Prajnanta, 2007). Akar memiliki warna cokelat, serta pada akar utama tumbuh akar – akar cabang yang tumbuh ke arah horizontal di dalam tanah, lalu dari akar cabang atau akar sekunder tumbuh akar serabut yang memiliki bentuk kecil – kecil dan tersusun rapat. Akar memiliki fungsi sebagai penyerap air dan zat hara dari dalam tanah dan juga untuk menguatkan berdirinya batang tanaman (Harpenas dan Dermawan, 2010).

### **2.3.2. Batang**

Tanaman cabai dapat tumbuh mencapai 50 sampai 150 cm, sehingga masuk ke dalam golongan tanaman perdu. Warna yang dimiliki oleh batang tanaman cabai adalah hijau dan beruas – ruas yang dibatasi oleh buku – buku yang memiliki panjang setiap ruasnya 5 sampai 10 cm. Batang tanaman cabai memiliki percabangan berwarna hijau panjangnya 5 sampai 7 cm, dengan diameter percabangan mencapai 0,5 sampai 1 cm. Percabangan tersebut memiliki sifat dikotomi (menggarpu), dimana tumbuhnya cabang beraturan secara berkesinambungan (Hewindati, 2006). Salah satu faktor pertambahan panjang tanaman cabai adalah

pertumbuhan simpodial, yaitu pertumbuhan kuncup ketiak daun secara terus – menerus (Prajnanta, 2007).

### **2.3.3. Daun**

Daun yang dimiliki oleh tanaman cabai berwarna hijau muda hingga hijau gelap dimana memiliki panjang sekitar 4 sampai 10 cm dengan lebar 1,5 sampai 4 cm (Hadiyanto, 2005). Bentuk daun dapat berbentuk hati, lonjong, atau agak bulat telur dengan posisi berselang – seling (Harpenas dan Dermawan, 2010). Tulang daun menyirip yang dilengkapi dengan urat daun, tepi daun rata, pangkal daunnya meruncing, serta termasuk daun tunggal dan memiliki tangkai serta terletak secara tersebar. Permukaan atas daun cabai berwarna hijau tua, sedangkan permukaan bawahnya memiliki warna hijau muda atau hijau terang (Hewindati, 2006).

### **2.3.4. Bunga**

Tanaman cabai memiliki bunga dengan posisi yang terletak secara menggantung. Bunga cabai memiliki mahkota bunga berwarna putih serta memiliki 5 sampai 6 kelopak bunga dan panjang bunga 1 sampai 1,5 cm, dengan lebar 0,5 cm, serta panjang tangkainya 1 sampai 2 cm. Tangkai sari pada bunga cabai memiliki panjang 0,5 cm dengan kepala sari berwarna biru atau ungu dan tangkai sarinya berwarna putih. Tangkai putik memiliki warna putih dengan panjang  $\pm 0,5$  cm, kepala putiknya memiliki warna kuning kehijauan (Hadiyanto, 2005). Bentuk bunga pada tanaman cabai seperti terompet kecil. Benang sari tidak berlekatan atau lepas. Bunga cabai disebut bunga sempurna dikarenakan memiliki dasar

bunga, mahkota bunga, tangkai bunga, kelopak bunga, serta alat kelamin jantan dan alat kelamin betina. (Hewindati, 2006; Tjahjadi, 1991).

### 2.3.5. Buah dan Biji

Cabai merah keriting buahnya memiliki panjang hingga 3,7 - 5,3 cm dari ujung buah hingga ujung tangkainya. Biji pada buah cabai pada saat muda biasanya berwarna kuning, tetapi pada saat tua bijinya memiliki warna cokelat. Bijinya memiliki bentuk pipih dengan diameter  $\pm 4$  mm. Capsaicin adalah kandungan dalam cabai yang membuat buah cabai terasa pedas (Setiadi, 2006). Buah pada tanaman cabai memiliki bentuk kerucut memanjang, lurus atau bengkok, meruncing di ujungnya, menggantung, permukaan licin mengkilap, dengan diameter 1 – 2 cm, memiliki panjang 4 – 17 cm, bertangkai pendek dan rasanya pedas. Saat masih muda buahnya berwarna hijau tua, lalu setelah matang warnanya menjadi merah cerah (Prajnanta, 2007).



**Gambar 1.** Morfologi *Capsicum annuum* L. (Swastika dkk., 2017).

## **2.4. Syarat Tumbuh Tanaman Cabai**

### **2.4.1. Ketinggian Tempat**

Tanaman cabai dapat tumbuh hampir di seluruh tempat, seperti sawah, daerah kering (tegalan), atau juga pegunungan (dataran tinggi). Tanaman cabai dapat tumbuh pada ketinggian hingga 1.300 m di atas permukaan laut. Pada dataran tinggi tanaman cabai dapat tumbuh namun tidak mampu bereproduksi secara maksimal dan pembentukan buahnya lambat. Ketinggian yang optimum untuk pertumbuhan tanaman cabai adalah di dataran rendah sampai menengah pada ketinggian 1.300 m di atas permukaan laut. Daya adaptasi pada tanaman cabai sangat luas, sehingga dapat tumbuh dengan optimum sampai pada ketinggian 2.000 m di atas permukaan laut (Harpenas dan Dermawan, 2010; Kusandriani, 1996; Intara dkk., 2011).

### **2.4.2. Keadaan Tanah**

Tanaman cabai merah dapat tumbuh di berbagai keadaan tanah, seperti berpasir sampai tanah liat. Keadaan tanah yang baik untuk menanam tanaman cabai adalah tanah lempung berpasir ataupun tanah ringan yang memiliki banyak kandungan bahan organik serta unsur hara ataupun di daerah pasang surut atau bergambut (Harpenas dan Dermawan, 2010). Persyaratan pada tanah yang akan digunakan untuk menanam tanaman cabai adalah memiliki drainase serta aerasi tanah yang baik dengan pH tanah 5,5 sampai 7,0. Bila menginginkan tanaman cabai lebih cepat untuk dipanen maka dapat ditanam di tanah lempung berpasir (Intara dkk., 2011).

Selain bentuk atau jenis tanah yang digunakan, kemiringan tanah juga merupakan salah satu faktor atau syarat tumbuh tanaman cabai, yaitu kemiringan sekitar 0 – 10 derajat (Harpenas dan Dermawan, 2010). pH 6 – 7 adalah pH yang optimum untuk pertumbuhan tanaman cabai (Sunaryono dan Rismunandar, 1984). Tanah yang sangat cocok dan baik untuk pertumbuhan cabai adalah tanah yang mengandung unsur – unsur pokok yaitu unsur N dan K, serta tanaman cabai tidak suka dengan air yang menggenang (Tjahjadi, 1991).

### **2.4.3. Iklim**

Suhu yang diinginkan oleh tanaman cabai untuk tumbuh adalah 16° C - 32° C. Curah hujan yang mencapai 1.500 – 2.500 mm pertahun dengan distribusi yang merata dibutuhkan tanaman cabai agar tidak kekurangan air. Sinar matahari sangat dibutuhkan oleh tanaman cabai untuk melakukan fotosintesis. Sinar matahari yang baik untuk tanaman cabai adalah 10 – 12 jam sehari dengan kelembaban udara mencapai 80%. Waktu yang dibutuhkan untuk berkecambah ± selama 8,5 hari (Hanum, 2008).

## **2.5. Penyakit Antraknosa pada Cabai**

Penyakit antraknosa merupakan penyakit yang menyerang buah cabai merah dan membuat produktivitasnya terganggu secara kualitas maupun kuantitasnya. Penyakit ini biasanya disebabkan oleh *Colletotrichum* sp. yang menyebabkan terganggunya proses pertumbuhan tanaman cabai yang berakibat pada menurunnya jumlah produksi hingga mencapai 65% (Hersanti dkk., 2001). *Colletotrichum* sp. sangat menyukai keadaan yang

lembab dan suhu yang relatif tinggi (AVRDC, 1988). Tiga spesies yang umumnya ditemui sebagai penyebab penyakit antraknosa pada tanaman cabai adalah *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum gloeosporioides* dan *Colletotrichum capsici* (AVRDC, 2003).

Bagian tanaman cabai yang umumnya diserang oleh fungi *Colletotrichum* sp. adalah bagian buahnya. Infeksi yang terjadi pada buah cabai umumnya memiliki tanda seperti pada bagian permukaan dan tepi buah terdapat bercak berwarna coklat kehitaman yang kemudian meluas menjadi busuk lunak, membesar dan memanjang, kumpulan titik -titik hitam tersebut terdiri dari sekelompok seta dan konidia jamur serta dapat berubah warna menjadi kuning seperti terkena sinar matahari (Anggraeni dkk., 2019; Purwanti, 2017). Efek dari penyakit ini yang lebih parah seperti buah menjadi berkerut, kering, serta membusuk (Syamsudin, 2007).

Proses tahapan yang terjadi dalam penyakit antraknosa ini adalah pada permukaan kulit buah cabai merah, konidia dari fungi *Colletotrichum* sp. berkecambah dan membentuk tabung perkecambahan. Tabung perkecambahan tersebut melakukan penetrasi terhadap lapisan epidermis kulit buah cabai merah lalu akan membentuk jaringan hifa. Hifa intraseluler dan interseluler mulai menyebar ke seluruh jaringan buah cabai merah (Photita *et al.*, 2005).



**Gambar 2.** Penyakit antraknosa pada *Capsicum annuum* L. (Dok. Pribadi, 2020).

## 2.6. **Klasifikasi *Colletotrichum* sp.**

Menurut Alexopoulos *et al.* (1996), klasifikasi fungi *Colletotrichum* sp. adalah:

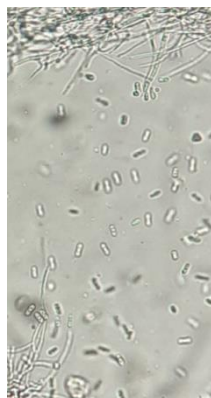
Kerajaan	: Fungi
Filum	: Ascomycota
Kelas	: Pyrenomycetes
Bangsa	: Sphaeriales
Suku	: Polystigmataceae
Marga	: <i>Colletotrichum</i>
Jenis	: <i>Colletotrichum</i> sp.

## 2.7. **Morfologi *Colletotrichum* sp.**

Ciri – ciri dari penyakit antraknosa yang menyerang buah cabai adalah terdapat bercak yang berbentuk bundar atau cekung (bentuknya beragam pada satu buah cabai). Saat penyakit ini mulai mengalami pengerasan, bercak akan menyatu. Massa spora fungi berwarna merah jambu ke orange terbentuk dalam cincin yang konsentris pada permukaan bercak. Pada bercak yang sudah mengalami penuaan, aservulinya akan mulai terlihat. Bercak pada buah cabai dapat menyebar menuju ke tangkai dan membentuk bintik yang tidak teratur dan memiliki warna merah tua serta tepinya memiliki warna merah tua gelap (Ivey *and* Miller, 2004).

Miselium fungi terdiri dari beberapa septa, inter dan intraseluler hifa. Pada batang aservulus dan stromanya memiliki bentuk hemispirakel dan berukuran 70 - 120  $\mu\text{m}$ . Seta mulai menyebar dan memiliki warna cokelat gelas sampai dengan cokelat muda, serta terdiri dari beberapa septa yang memiliki ukuran  $\pm$  150  $\mu\text{m}$ . Konidiofor tidak memiliki cabang, serta massa konidianya memiliki warna kemerah – merahan. Di ujung konidiofor

terdapat konidia, yang berbentuk hialin, uniseluler serta memiliki ukuran  $17 - 18 \times 3 - 4 \mu\text{m}$ . konidia tersebut dapat berkecambah di permukaan buah cabai yang masih hijau atau merah tua. Tabung kecambahnya akan membentuk appresorium (Singh, 1998).



**Gambar 3.** Fungi *Colletotrichum* sp. (Dok. Pribadi, 2020).

## **2.8. Fisiologi *Colletotrichum* sp.**

Faktor – faktor lingkungan sangat mempengaruhi pertumbuhan fungi *Colletotrichum* sp., salah satu faktor tersebut adalah pH. Peran pH dalam pertumbuhan fungi *Colletotrichum* sp. sangat banyak, seperti sebagai pengatur dalam metabolisme dan sistem – sistem enzimnya. pH optimum yang digunakan untuk pertumbuhan fungi *Colletotrichum* sp. adalah pH 5 – 7 (Yulianty, 2006). Selanjutnya, faktor yang berpengaruh dalam pertumbuhan fungi *Colletotrichum* sp. adalah suhu dan kelembaban. Suhu yang optimum untuk pertumbuhan fungi ini adalah 24 sampai 30°C, sedangkan kelembaban relatifnya adalah berkisar dari 80 – 92 % (Rompas, 2001). Pada lahan yang memiliki drainase yang sangat baik apabila pada musim kemarau akan menurunkan resiko tanaman cabai terserang penyakit antraknosa oleh fungi *Colletotrichum* sp. karena konidia fungi disebarkan menggunakan hujan dan angin (Semangun, 1991).



Menurut Rusli dkk. (1997), fungi *Colletotrichum* sp. biasanya menginfeksi bagian cabang, ranting, daun, dan buah pada tanaman cabai. Untuk infeksi pada buah cabai, umumnya terjadi saat buah menjelang tua atau sesudah tua. Tanda – tanda dari terserang fungi *Colletotrichum* sp. adalah terdapat bintik – bintik kecil yang memiliki warna kehitaman dan sedikit melekek. Dampak yang lebih parah dapat membuat buah mengkerut, kering, membusuk, dan jatuh.

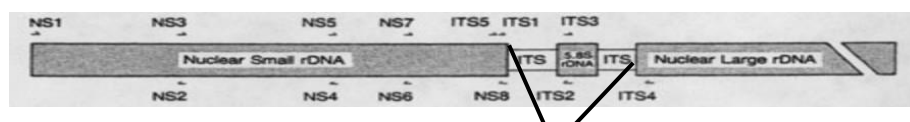
## 2.9. Analisis Filogenetik *Colletotrichum* sp. Menggunakan Sekuen ITS

Salah satu manfaat yang diperoleh melalui penggunaan DNA penanda molekuler adalah dapat mengetahui keragaman genetik dari tiap isolat yang sama maupun berbeda. Analisis filogenetik merupakan analisis penentuan hubungan kekerabatan suatu makhluk hidup berdasarkan sekuen DNA (Subari dkk., 2021). Filogenetik dari suatu spesies dapat diketahui dengan rDNA, dimana pohon filogenetik tersebut dapat menunjukkan sejarah evolusi dan hubungan keturunan dari suatu spesies (Giaretta *et al.*, 2010).

ITS (*Internal Transcribed Spacer*) merupakan suatu wilayah atau jarak dalam proses transkrip ribosom yang dihilangkan dan terdegradasi saat pematangan (Mulyatni dkk., 2011). Daerah 5.8S-ITS dari rDNA isolat diamplifikasi menggunakan primer ITS1

(5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG3') dan ITS4

(5'TCCTCCGCTTATTGATATGC3') (White *et al.*, 1990).



Batas daerah yang teramplifikasi oleh primer ITS1 dan ITS4

**Gambar 4.** Sekuen yang teramplifikasi ITS (White *et al.*, 1990).

## 2.10. Ekstraksi DNA

Genetika serta molekuler suatu spesies dapat dipelajari melalui langkah awal yaitu berupa isolasi DNA genom. Isolasi DNA genom memerlukan preparasi sampel yang digunakan untuk memperoleh DNA untuk analisis molekuler maupun manipulasi genetiknya. Analisis genom diperlukan untuk berbagai sampel dan perlu untuk dioptimasi agar DNA yang didapat dalam kondisi yang baik dan diperoleh dalam jumlah yang banyak. Tahapan yang diperlukan untuk isolasi DNA adalah penghancuran sel, penghilangan RNA dan protein serta pemurnian dan pengendapan DNA (Sambrook *et al.*, 1989).

## 2.11. Analisis Kemurnian dan Konsentrasi DNA

Pengecekan kuantitas dan kualitas DNA perlu dilakukan untuk mengetahui konsentrasi dan kemurniannya dengan menggunakan spektrofotometer. Pengukuran konsentrasi DNA dengan spektrofotometer harus dilakukan dengan panjang gelombang sebesar 260 nm dan untuk proteinnya perlu diukur dengan panjang gelombang 280 nm. Perbandingan A260 nm dengan A280 nm digunakan untuk menghitung kemurnian dari larutan DNA. Pada umumnya batas dari nilai kemurnian dari rasio A260/A280 adalah 1,8 - 2,0 (Sambrook *et al.*, 1989).

## 2.12. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Yusuf (2010) menjelaskan bahwa *Polymerase Chain Reaction (PCR)* merupakan metode enzimatik yang digunakan untuk amplifikasi DNA secara *in vitro*. PCR dapat memungkinkan terjadinya pelipatgandaan suatu

fragmen DNA. DNA template (cetakan) berasal dari patogen spesimen klinik yang akan dilipatgandakan fragmen DNA-nya. Terdapat 3 tahap penting dalam proses PCR, yaitu :

#### **2.12.1. *Denaturation* (Denaturasi)**

Denaturasi DNA adalah proses pembukaan DNA untai ganda menjadi DNA untai tunggal. Secara umum terjadi selama 3 menit pada suhu  $90^{\circ} - 95^{\circ}\text{C}$ . Proses ini berfungsi untuk memastikan apabila molekul DNA telah benar – benar terdenaturasi menjadi DNA untai tunggal.

#### **2.12.2. *Annealing* (Penempelan Primer)**

Kriteria dari primer yang baik yaitu primer sebaiknya berukuran 18 – 25 basa, mengandung 50 – 60 % G + C serta untuk kedua primer tersebut sebaiknya sama. Proses ini biasanya berlangsung selama 30 – 45 detik dengan suhu berkisar antara  $36^{\circ}\text{C}$  sampai dengan  $72^{\circ}\text{C}$ .

#### **2.12.3. *Extension* (Pemanjangan Primer)**

Proses ini merupakan proses pemanjangan DNA primer dari ujung 3'. Proses ini dilakukan pada suhu  $72^{\circ}\text{C}$ . Hal ini disebabkan oleh enzim DNA polimerase diperoleh dengan mengisolasi bakteri termofilik atau hipertermofilik menyebabkan enzim DNA polimerase bersifat termostabil hingga mencapai suhu  $95^{\circ}\text{C}$

dimana umumnya dapat bekerja secara optimum pada suhu 72°C. Aktivitas polimerase DNA dipengaruhi oleh jenis dan asal bakteri itu diperoleh (Handoyo dan Ari, 2000). Kecepatan penyusunan nukleotida oleh enzim dipengaruhi oleh berbagai hal, seperti buffer, pH, konsentrasi garam dan molekul DNA target. Pada tahap ini diharapkan benar – benar terbentuk DNA untai ganda.

### **2.13. Elektroforesis DNA**

Teknik elektroforesis dibedakan menjadi dua, yaitu elektroforesis larutan dan elektroforesis daerah. Elektroforesis larutan (*moving boundary electrophoresis*), yaitu dimana larutan penyangga yang memiliki kandungan makro-molekul diletakkan di suatu ruang tertutup serta dialiri dengan arus listrik. Sementara itu, elektroforesis daerah (*zone electrophoresis*) yaitu dimana membutuhkan suatu bahan yang padat yang memiliki fungsi sebagai media penunjang yang berisi (diberi) larutan penyangga (Titrawani, 1996). DNA diketahui bermuatan negatif. Dalam elektroforesis DNA, DNA akan berpindah ke arah kutub positif (anode) dan lajunya dipengaruhi oleh ukuran molekulnya. Berat molekul DNA dapat digunakan untuk memperkirakan perbedaan laju migrasi DNA dengan laju migrasi fragmen molekul DNA pada umumnya (marker) yang sebelumnya sudah diketahui ukurannya. Setelah DNA dimigrasikan, dilakukan visualisasi DNA dengan menggunakan sinar ultraviolet (Utami dkk., 2013).

### **2.14. Sekuensing DNA dengan Metode Sanger**

Sekuensing DNA adalah proses penentuan urutan basa nukleotida dari suatu segmen molekul DNA. Urutan basa nukleotida itu umumnya dikenal

dengan sekuens DNA, merupakan informasi paling mendasar dari suatu gen atau genom dikarenakan mengandung instruksi yang diperlukan dalam pembentukan tubuh makhluk hidup. Proses ini dapat berfungsi untuk mengetahui kode genetik dari molekul DNA, lalu menentukan identitas dan fungsi gen atau fragmen DNA melalui perbandingan sekuensnya dan sekuens DNA lain yang sudah diketahui (Glick *et al.*, 2010; Rogers, 2011).

Metode Sanger memiliki ekstensi rantai DNA yang menggunakan primer spesifik untuk DNA cetakan. DNA polimerase digunakan sebagai pemanjang primer. Persaingan yang terjadi antara dNTP dan ddNTP menyebabkan terjadi penghambatan sintesis nukleotida tetapi hal tersebut merupakan dasar dari metode Sanger (Lilian *et al.*, 2002).

### **2.15. Pohon Filogenetik**

Hasil yang diperoleh dari sekuensing selanjutnya dilakukan *alignment* (penjajaran) yang bertujuan untuk menentukan hasil sekuen homolog dengan lainnya atau tidak. Pohon filogenetik dibuat dengan menggunakan *software* MEGA X. Pohon filogenetik merupakan suatu pendekatan yang memiliki fungsi sebagai penunjuk hubungan evolusi atau kekerabatan yang dimiliki oleh berbagai organisme. Jarak genetik adalah ukuran perbedaan genetik antar populasi yang disebabkan oleh adanya mutasi gen, seleksi dan persilangan acak yang memiliki dampak terjadinya evolusi. Data sekuen untuk spesies *outgroup* diperoleh dari GenBank NCBI (Wulansari dkk., 2015; Dharmayanti, 2011).

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung dan Laboratorium Terpadu Sentra Inovasi dan Teknologi (UPT LTSIT) Universitas Lampung pada bulan Maret sampai Mei 2020.

#### 3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *aluminium foil*, *autoclave*, *beaker glass* (ukuran 100 ml dan 500 ml), cawan petri, *freezer*, gelas ukur, gelas benda, gelas penutup, *hot plate*, inkubator, jarum ose, kapas, kertas saring, erlenmeyer (ukuran 100 ml dan 500 ml), bunsen, mikroskop, *oven*, mikropipet (ukuran 10  $\mu$ L, 200  $\mu$ L dan 1.000  $\mu$ L), tisu, timbangan analitik, pisau, *laminar air flow*, plastik, label, tabung reaksi, gunting, tip (ukuran 10  $\mu$ L, 200  $\mu$ L dan 1.000  $\mu$ L), plastik *wrap*, kassa, corong kaca, karet gelang, *shaker*, tube 1,5 ml, gotri (bola besi), *Tissue Lyzer* LT Qiagen, *Cooling – Heating* Thermoskal Biosan CH-100, *Sentrifuge* TOMY CAX – 370, *Bio Vortex* V1 Biosan, *NanoPhotometer<sup>TM</sup> Pearl*, *submicroliter cell*, lid 10, *PCR machine Sensoquest*, primer ITS1 (forward): 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3', primer ITS4 (reverse) (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'(White dkk., 1990). *DNA template*, elektroforesis *Qiaxcel Advanced*, *Kit DNA QIAxcel*, komputer, perangkat

lunak *ScreenGel QIAxcel* dan perangkat lunak *Molecular Evolution Genetics Analysis* (MEGA) versi X.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah buah cabai yang terserang fungi *Colletotrichum* sp., aquades, dextrose, media PDA, alkohol 70%, kentang, laktofenol, DNA *Rehydration Solution*, NEXpro<sup>TM</sup> e PCR 2X *Master Mix*, ddH<sub>2</sub>O, Proteinase-K Nex Pro, *Nuclei Lysis Solution*, *Protein Precipitation Solution*, es, isopropanol dan etanol 75 %.

### 3.3. Prosedur Kerja

#### 3.3.1. Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Media PDA sintetik atau media siap pakai disiapkan dan ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik sebanyak 19,5 gram untuk 500 ml aquades. Media yang sudah ditimbang tersebut Dimasukkan ke dalam *beaker glass* 500 ml, untuk selanjutnya dihomogenkan dengan *hot plate magnetic stirrer* pada suhu 120°C. Setelah terjadi perubahan warna menjadi bening, *hot plate* dimatikan. Media tersebut dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml yang sudah disterilkan sebelumnya. Media disterilkan dengan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm. Setelah selesai disterilisasi, erlenmeyer dipindahkan ke *laminar air flow*. Pada saat media suhunya mulai menurun ditambahkan antibiotik chloramphenicol sebanyak 50 mg/500 ml secara aseptis di dalam *laminar air flow*. Media dituang ke cawan petri yang sudah steril kemudian ditunggu hingga menjadi padat. Media yang sudah padat siap digunakan (Basarang dkk., 2018).

### 3.3.2. Pembuatan Biakan Murni *Colletotrichum* sp.

Sampel buah cabai yang akan digunakan diperoleh dari pasar di Bandar Lampung, yaitu pasar Way Kandis, pasar Tengah, pasar, Rajabasa, pasar Tamin, dan pasar Pasir Gintung. Penulis mencari sampel di pasar-pasar tersebut, namun sampel yang diduga terserang antraknosa oleh fungi *Colletotrichum* sp. hanya sampel yang berasal dari pasar Way Kandis setelah dilakukan pengecekan secara mikroskopis.

Metode yang digunakan untuk isolasi fungi *Colletotrichum* sp. yaitu metode langsung. Metode langsung dilakukan dengan mengambil bagian yang sakit dan sehat pada buah cabai, lalu diletakkan dalam cawan petri berisi media PDA yang sudah padat. Fungi tersebut diinkubasi selama 7 hari (Hadad dan Agus, 1988; Ilyas, 2007; Panjaitan, 2012).

Tahap pemurnian dilakukan dengan mengecek keberadaan kontaminan ataupun tidak terhadap fungi target yang kita inginkan dapat dipastikan dengan dilihat menggunakan mikroskop. Pemurnian fungi dilakukan dengan menggunakan metode titik dari fungi target yang mengalami kontaminasi ataupun tidak, lalu dipindahkan ke dalam cawan petri yang berisi media PDA padat. Diinkubasi selama 7 hari, untuk selanjutnya dilakukan pengamatan mikroskopik dan makroskopik (Panjaitan, 2012).

Inokulum dipindahkan ke dalam media cair, yaitu PDB (*Potato Dextrose Broth*) untuk keperluan ekstraksi DNA. Cara pembuatan dari media PDB adalah dengan mengupas kentang, lalu ditimbang sebanyak 125 gram kemudian dipotong dadu kecil. Kentang direbus dalam 500 ml aquades selama 2 jam. Air rebusan disaring dari potongan kentang. Potongan kentang dibuang dan air rebusan kentang



dipanaskan kembali. Selanjutnya ditambahkan 10 gram dextrose untuk setiap pembuatan media PDB sebanyak 500 ml. Ditambahkan aquades hingga  $\pm$  500 ml, diaduk hingga homogen. Media dipindahkan sebanyak 50 ml ke dalam erlenmeyer 100 ml yang sudah steril, tutup disumbat kapas dan *aluminium foil* (kertas). Media disterilkan dengan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm. Sampel dimasukkan dengan metode titik dari inokulum murni. Dishaker selama 5 hari dengan erlenmeyer dalam keadaan tertutup menggunakan kertas atau *aluminium foil* (Noviati, 2007).

### 3.3.3. Identifikasi Makroskopik dan Mikroskopik *Colletotrichum* sp.

Hal yang diamati dalam proses identifikasi secara makroskopik adalah warna dan bentuk koloni yang terdapat pada media PDA. Identifikasi secara mikroskopik dilakukan dengan menggunakan mikroskop perbesaran 400x. Identifikasi secara mikroskopik dilakukan dengan mengamati hifa dan konidia (Sudirga, 2016).

### 3.3.4. Ekstraksi DNA Fungi

Ekstraksi DNA dilakukan menggunakan *Wizard Genomic DNA Purification Kit* dari Promega, USA sesuai protokolnya. Biakan cair fungi didiamkan di suhu ruang selama beberapa saat. Biakan fungi (miselium) dipindahkan sebanyak 1000  $\mu$ L (1 ml) ke dalam tube ukuran 1,5 ml. Disentrifugasikan dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 20°C, selama 10 menit. Supernatan dibuang, ditambah 300  $\mu$ L *DNA Rehydration Solution*. Ditambahkan 20  $\mu$ L Proteinase-K Nex Pro dan dua buah gotri (bola besi). Divortex dengan menggunakan *Tissue Lyzer LT* Qiagen dengan osilasi 50 kali/detik selama 3 menit.

Sampel diinkubasi dengan *Cooling – Heating* Thermoskal Biosan CH-100 dengan suhu 55°C selama 20 menit (tiap 5 menit dibolak – balik). Semua cairan dipindahkan ke dalam tube ukuran 1,5 ml yang baru. Disentrifugasikan pada 13.000 xg selama 5 menit pada suhu 20°C, setelah itu supernatan dibuang. Ditambahkan 350 µl *Nuclei Lysis Solution*, lalu diinversikan dan diamkan selama 2 menit. Ditambahkan 125 µl *Protein Precipitation Solution*. Untuk selanjutnya dihomogenkan dengan Bio Vortex V1 Biosan selama 30 detik dan diamkan selama 5 menit. Diinkubasikan di es selama 5 menit. Disentrifugasikan selama 5 menit pada 13.000 xg. Supernatan dipindahkan ke tube ukuran 1,5 ml baru yang sudah berisi 500 µl isopropanol. Disentrifugasikan pada 13.000 xg selama 5 menit pada suhu 20°C. Supernatan dibuang, ditambahkan 500 µl etanol 75 %. Tube dibolak – balik perlahan. Disentrifugasikan pada 13.000 xg selama 2 menit pada suhu 20°C. Etanol dibuang dengan cara membalikkan tube dengan hati – hati, didiamkan selama 15 menit. Ditambahkan 20 µl *DNA Rehydration Solution*. DNA dilarutkan dengan *DNA Rehydration Solution* lalu diinkubasi dengan *Cooling – Heating* Thermoskal Biosan CH-100 dengan suhu 65°C selama 15 menit (setiap 5 menit di *tapping* perlahan, setelah itu dispin sebentar). Simpan DNA pada suhu 2 – 8°C. DNA siap untuk dicek kemurnian dan konsentrasinya (Promega, 2010).

### 3.3.5. Analisis Kemurnian dan Konsentrasi DNA Hasil Ekstraksi

Pertama – tama dinyalakan *NanoPhotometer<sup>TM</sup> Pearl submicroliter cell* dan lid 10. Setelah itu ditetaskan *DNA Rehydration Solution* sebanyak 1 µl pada *submicroliter cell* kemudian tutup dengan lid 10 lalu dibersihkan secara hati – hati menggunakan tisu. Ditetaskan kembali *DNA Rehydration Solution* sebanyak 1 µl pada *submicroliter cell* kemudian ditutup dengan lid 10. Dipasang *submicroliter cell* pada

*NanoPhotometer<sup>TM</sup> Pearl* untuk digunakan sebagai blanko. *Submicroliter cell* dilepas, dibersihkan bagian dalamnya dengan menggunakan tisu. Diteteskan DNA hasil ekstraksi dengan DNA *Rehydration Solution* sebanyak 1 µl pada *submicroliter cell*, ditutup kembali dengan lid 10. Dipasang kembali *submicroliter cell* pada *NanoPhotometer<sup>TM</sup> Pearl*. Hasil yang diperoleh seperti konsentrasi dan kemurnian DNA dicatat (Implen, 2011).

### 3.3.6. Amplifikasi Sekuen ITS dengan PCR

Alat yang digunakan untuk melakukan proses amplifikasi adalah PCR *machine Sensoquest*. Volume reaksi tiap PCR tube sebanyak ± 20 µL dengan komponen sebagai berikut: NEXpro<sup>TM</sup> e PCR 2X Master Mix sebanyak 10 µL, ddH<sub>2</sub>O sebanyak 9 µL, primer ITS1 (forward) (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') sebanyak 0,25 µL, primer ITS4 (reverse) (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') sebanyak 0,25 µL dan DNA template sebanyak 1 µL untuk setiap tube.

Setelah dilakukan pencampuran pereaksi PCR ke dalam tube PCR, dilakukan pengaturan alat PCR. Pertama – tama pada tahap predenaturasi suhu yang digunakan adalah 95°C selama 5 menit. Tahap yang kedua adalah *denaturation* atau denaturasi, suhu yang digunakan adalah 95°C selama 30 detik. Tahap yang ketiga adalah proses *annealing* atau penempelan primer dilakukan pada suhu 54°C selama 1 menit. Tahap yang keempat adalah *extension* atau pemanjangan dilakukan pada suhu 72°C selama 1 menit. Tahap kelima merupakan *final extension* atau pemanjangan akhir dilakukan pada suhu 72°C selama 5 menit. Tahap yang keenam adalah pendinginan atau *cooling* dilakukan pada suhu 20°C selama 10 menit. Tahap kedua, ketiga, dan keempat siklusnya diulang sebanyak 35 siklus (Yuenleni, 2019).

### 3.3.7. Elektroforesis Hasil PCR

Sampel DNA yang diperoleh dari hasil PCR kemudian dielektroforesis. Alat yang digunakan untuk melakukan elektroforesis adalah produk dari QIAGEN yaitu *Qiaxcel Advanced* dengan *High Resolution Kit*. Alat ini digunakan untuk melakukan elektroforesis secara digital dan juga alat ini menggunakan *Kit DNA QIAxcel* dimana memiliki fungsi untuk menganalisis fragmen DNA secara otomatis. Alat ini perlu tersambung dengan komputer agar hasilnya dapat langsung dilihat dengan menggunakan perangkat lunak *ScreenGel QIAxcel*. Penggunaan dari alat *Qiaxcel Advanced* ini digunakan sesuai petunjuk penggunaan alat (Qiagen, 2017).

### 3.3.8. Sekuensing DNA

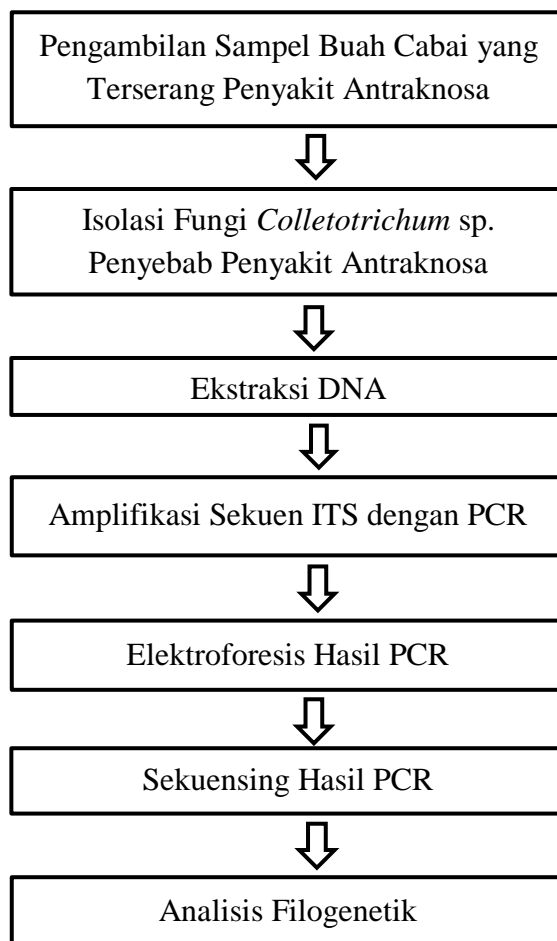
Hasil PCR yang menunjukkan adanya pita pada elektroforesis kemudian dikirim ke perusahaan jasa sekuensing PT. Genetika Science untuk dilakukan sekuensing menggunakan metode Sanger.

### 3.3.9. Analisis Filogenetik Data Hasil Sekuensing

Perangkat lunak *Molecular Evolution Genetics Analysis* (MEGA) versi X digunakan untuk menganalisis data hasil sekuensing. Bagian yang digunakan dari perangkat lunak tersebut adalah *multiple alignment* dengan *clustal W* dan *phylogenic tree analysis*. Kemudian untuk melakukan konstruksi pohon filogenetik dianalisis dengan metode *Maximum Likelihood Tree* (Kumar *et al.*, 2018).

### 3.4. Diagram Alir Penelitian

Secara garis besar, penelitian ini dibagi dalam 7 tahapan. Tahapan proses penelitian ini digambarkan dalam diagram alir seperti tercantum dalam Gambar 5. adalah sebagai berikut :



**Gambar 5.** Diagram alir penelitian.

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Simpulan

Berdasarkan analisis filogenetik berbasis PCR menggunakan sekuen ITS, fungi *Colletotrichum* sp. yang diisolasi dari buah cabai dari pasar tradisional di Bandar Lampung adalah *Colletotrichum scovillei*.

### 5.2. Saran

Saran dalam penelitian ini yaitu perlu dilakukan pengendalian fungi *Colletotrichum scovillei* secara alami.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alexopoulos, C. J., Mims W. C., and Blackwell M. 1996. *Introductory Mycology Ed ke-4*. John Wiley and Sons Inc. Canada.
- Anggraeni, Widya, Elvi Rusmiyanto P. Wardoyo, dan Rahmawati. 2019. Isolasi dan Identifikasi Jamur Pada Buah Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.) Yang Bergejala Antraknosa Dari Lahan Pertanian Di Dusun Jeruk. *Protobiont*. Vol. 8 (2) : 94 – 100.
- Annisa. 2012. Isolasi RNA dan Pengklonaan Gen Tripsin Kation dari Pankreas Sapi ke *Escherichia coli* DH5 $\alpha$ . [Skripsi]. Dep. Biologi, Fak. MIPA, Universitas Indonesia. Depok.
- Apriyani, Fransiska. 2015. Potensi Ekstrak Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* var *Hahnii medio picta*) Untuk Mengendalikan Pertumbuhan Jamur (*Colletotrichum capsici*) Penyebab Antraknosa pada Cabai Merah. [Skripsi]. Prodi. Pendidikan Biologi, Jurusan Pendidikan MIPA, FKIP, Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.
- AVRDC. 1988. *Growth Characters and Inoculation Methods of Antrachnose Pathogens*. AVRDC Progress Report 1988. Taiwan. page : 67- 70.
- AVRDC. 2003. *Evaluation of Phenotypic and Moleculer Criteria for the Identification for Colletotrichum spesies Causing Pepper Antrachnose in Taiwan*. AVRDC Report 2003. Taiwan. page: 58-59.
- Basarang, Mujahidah, Nurlia Naim, dan Rahmawati. 2018. Perbandingan Pertumbuhan Jamur pada Media Bekatul Dextrose Agar (BKA) dan Potato Dextrose Agar (PDA). *Prosiding Seminar Hasil Penelitian (SNP2M) 2018* (pp. 121 - 125).

- Cannon, P. F., U. Damm, P. R. Johnston, and B. S. Weir. 2012. *Colletotrichum* – Current Status and Future Directions. *Studies in Mycology* 73: 181–213.
- Cannon, P. F., Bridge P.D., and Monte E. 2000. Linking The Past, Present, and Future of *Colletotrichum* Systematics. In: *Colletotrichum: Host specificity, Pathology, and Host-Pathogen Interaction*. (Prusky D, Freeman S, Dickman, M, eds). APS Press. St Paul. page: 1–20.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press. New York. page: 477.
- Devi, R. N. 2010. *Budidaya Tanaman Cabai Merah*. Tugas Akhir. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Dewi, Chintya Lestari Hertianti. Analisis Biomolekuler Gen Internal Transcribed Spacer (ITS) dalam Studi Filogenetik *Zingiber loerzingii* Valetton (Zingiberaceae). 2012. [Skripsi]. Dep. Biokimia, Fak. MIPA, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Dharmayanti, N. L. P. Indi. 2011. Filogenetika Molekuler : Metode Taksonomi Organisme Berdasarkan Sejarah Evolusi. *WARTAZOA* Vol. 21 No. 1.
- Dickman, M. W. 1993. *The Fungi*. Academic Press. New York.
- Efri. 2010. Pengaruh Ekstrak Berbagai Bagian Tanaman Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Terhadap Perkembangan Penyakit Antraknosa pada Tanaman Cabai (*Capsicum annum* L.). *J HPT Tropika* 10 (1) : 52-58.
- Fatchiyah, Estri, L.A., Sri, W., dan Sri, R. 2011. *Biologi Molekular. Prinsip Dasar Analisis*. Erlangga. Jakarta.
- Gazis, R., Rehner S., and Chaverri P. .2011. Species Delimitation In Fungal Endophyte Diversity Studies and Its Implications In Ecological and Biogeographic Inferences. *Molecular Ecology* 20: 3001–3013.
- Ghost, R., Sreetama Bhadra, and Maumita Bandyopadhyay. 2016. Morphological and Molecular Characterization of *Colletotrichum capsici* Causing Leaf-Spot of Soybean. *Tropical Plant Research* 3(3) : 481-490.



- Giaretta, Diorvania Ribeiro, Amauri Bogo, Cileide Maria Medeiros Coelho, Altamir Frederico Guidolin, Adriana Cibele de Mesquita Dantas, and Eliane Aparecida Gomes. 2010. ITS-rDNA Phylogeny of *Colletotrichum* spp. Causal Agent of Apple Glomerella Leaf Spot. *Ciência Rural*, v.40, n.4, p.806-812, abr, 2010 ISSN 0103-8478.
- Glick, B. R., Pasternak J. J., and Patten C. L.. 2010. *Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA (4 ed.)*. ASM Press. Washington DC. Hlm. 117– 118.
- Hadad, E. A. dan Agus Nurawan. 1988. Pengujian Beberapa Metode Isolasi Mikroorganisme Rimpang Jahe. *Bul. Litro*. Vol. III No. 1.
- Hadiyanto, I. 2005. *Bertanam cabai*. PT. Musi perkasa utama. Jakarta.
- Handoyo, Darmo dan Ari Rudiretna. 2000. Prinsip Umum dan Pelaksanaan *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. *Unitas*, Vol. 9, No. 1, September 2000 - Februari 2001, 17-29.
- Hanum, Chairani. 2008. *Teknik Budidaya Tanaman Jilid 2 Untuk SMK*. Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan, Direktorat Jenderal Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah, Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta.
- Harpenas, A. dan Dermawan R. 2010. *Budidaya Cabai Unggul*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Hersanti, Fei L. dan Zulkarnaen. 2001. Pengujian Kemampuan Campuran Senyawa Benzothiadiazol 1% - Mankozeb 48% dalam Meningkatkan Ketahanan Cabai Merah Terhadap Penyakit Antraknosa. *Prosiding Kongres Nasional XVI dan Seminar Hasil PFI*, Bogor, 22 – 24 Agustus 2001.
- Hewindati, Yuni Tri. 2006. *Hortikultura*. Universitas Terbuka. Jakarta.
- Hidayat, I. M., I. Sulastrini, Y. Kusandriani, dan A. H. Permadi. 2004. Lesio Sebagai Komponen Tanggap Buah 20 Galur dan atau Varietas Cabai

terhadap inokulasi *Colletotrichum capsici* dan *Colletotrichum gloeosporioides*. *Jurnal Hortikultura*. 14(3):161- 162.

- Ilyas, Muhammad. 2007. Isolasi dan Identifikasi Mikoflora Kapang pada Sampel Serasah Daun Tumbuhan di Kawasan Gunung Lawu, Surakarta, Jawa Tengah. *Biodiversitas*. Volume 8, Nomor 2. Halaman: 105 – 110.
- Implen. 2011. NanoPhotometer® P-Class User Manual P 300/P 330/P 360 Version 2.1. <https://www.implen.de/wp-content/uploads/2015/04/NanoPhotometer-P-Class-User-Manual-2.1.pdf>. Diakses pada tanggal 25 Juli 2020 pukul 21.14 WIB.
- Intara, Y. I., A. Sapei., Erizal., N. Sembiring, dan M. H. B. Djoefrie. 2011. Mempelajari Pengaruh Pengolahan Tanah Dan Cara Pemberian Air Terhadap Pertumbuhan Tanaman Cabai (*Capsicum annuum* L.). *Jurnal Embryo* 1 (8): 32-39.
- Irawan, Presticilla D., Trina E. Tallei, dan Beivy J. Kolondam. 2016. Analisis Sekuens Dan Filogenetik Beberapa Tumbuhan *Syzygium* (Myrtaceae) di Sulawesi Utara Berdasarkan Gen matK. *Jurnal Ilmiah Sains* Vol. 16 No. 2.
- Ivey, M. L. L. and Miller S. A. 2004. *Anthracoze Fruit Rot of Pepper*. Ohio State University Extension Fact Sheet Plant Pathology. Columbus. hlm: 127-132.
- Khalimi, Khamdan, Anak Agung Ketut Darmadi, and Dewa Ngurah Suprpta. 2019. First Report on the Prevalence of *Colletotrichum scovillei* Associated with Anthracnose on Chili Pepper in Bali, Indonesia. *Intl. J. Agric. Biol.* Vol. 22. No. 2.
- Kimura, M. 1980. A Simple Method for Estimating Evolutionary Rate of Base Substitutions Through Comparative Studies of Nucleotide Sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16:111-120.
- Komalasari, K. 2009. Pengaruh Perbandingan Volume Darah dan Lisis Buffer Serta Kecepatan Sentrifugasi Terhadap Kualitas Produk DNA pada Sapi Frensian Holstein (FH). [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor. PP. 16-20.

- Kumar, Sudhir, Glen Stecher, Michael Li, Christina Knyaz, and Koichiro Tamura. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Across Computing Platforms. *Mol. Biol. Evol.* 35(6):1547–1549.
- Kusandriani. 1996. *Botani Tanaman Cabai Merah*. Balai Tahap Sayuran. Bandung.
- Lilian, Franca C., Carrilho E., and Kist T. B. L. 2002. A Review of DNA Sequencing Techniques. *Quarterly Reviews of Biophysics*. 35( 2) 169 – 200.
- Liu, Fangling, Guiting Tang, Xiaojuan Zheng, Ying Li, Xiaofang Sun, Xiaobo Qi, You Zhou, Jing Xu, Huabao Chen, Xiaoli Chang, Sirong Zhang, and Guoshu Gong. 2016. Molecular and Phenotypic Characterization of *Colletotrichum* Species Associated With Anthracnose Disease In Peppers From Sichuan Province, China. *Scientific Reports*. 6:32761. DOI: 10.1038/srep32761.
- Muhammad, S. A. dan Praseno. 1991. *Pengantar Kloning Gen*. Yayasan Essentia Medica. Yogyakarta. Hal 31-33.
- Mulyatni, A. S., Priyatmojo, A., dan Purwantara, A. 2011. Sequence *Internal Transcribed Spacer* (ITS) DNA ribosomal *Oncobasidium theobromae* dan Jamur Sekerabat Pembanding. *Menara Perkebunan*, 79(1), 1 – 5.
- Muzzazinah. 2017. Metode Filogenetik pada *Indigofera*. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi dan Biologi Jurusan Pendidikan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta 2017*.
- NCBI. 2020. *Basic Local Alignment Search Tool*. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. Diakses Diakses pada tanggal 25 Agustus 2020 pukul 14.04 WIB.
- Noviati, Mutia. 2007. Optimasi Kadar Molase dalam Medium Ekstrak Ubi Jalar untuk Pertumbuhan Isolat Khamir R1 dan R2 pada Fermentor Air-Lift 18 Liter. [*Skripsi*]. Program Studi Biologi, Fak. Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.

- Panjaitan, Hisar. 2012. Identifikasi Fungi yang Berkembang pada Batang Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) Pasca Penebangan. [Skripsi]. Program Studi Kehutanan, Fak. Pertanian, Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Photita, W., Taylor, P. W. J., Ford, R., Lumyong, P. McKenzie, H. C., and Hyde, K. D. 2005. Morphological and Molecular Characterization of *Colletotrichum* Species From Herbaceous Plants In Thailand. *Fungal Divers.* 18, 117 - 133.
- Prajnanta, F. 2007. *Kiat Sukses Bertanam Cabai di Musim Hujan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Promega. 2010. Wizard® Genomic DNA Purification Kit. <https://ita.promega.com/-/media/files/resources/protocols/technical-manuals/0/wizard-genomic-dna-purification-kit-protocol.pdf>. Diakses pada tanggal 25 Juli 2020 pukul 21.31 WIB.
- Purwanti, Dewi. 2017. Studi Anti Fungi dari *Trichoderma harzianum* Terhadap Fungi *Colletotrichum capsici* dan *Fusarium Oxyforum* secara In-Vitro. [Skripsi]. Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Qiagen. 2017. Qiaxcel Advanced User Manual. [https://www.pipety.cz/data/machines/hb-0804010\\_1108754\\_um\\_ias\\_qx\\_advanced\\_1117\\_ww.pdf](https://www.pipety.cz/data/machines/hb-0804010_1108754_um_ias_qx_advanced_1117_ww.pdf). Diakses pada tanggal 25 Juli 2020 pukul 21.08 WIB.
- Ramdhani, Muhammad Jauhari. 2017. Perbandingan Dua Metode Isolasi DNA pada 49 Jenis Kayu Tropis. [Skripsi]. Dep. Silvikultur, Fak. Kehutanan, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rogers, K. 2011. *New Thinking About Genetics*. Britannica Educational Publishing. New York. Hlm. 132.
- Rompas, J. P. 2001. Efek Isolasi Bertingkat *Colletotrichum capsici* Terhadap Penyakit Antraknosa Pada Buah Cabai. *Prosiding Kongres Nasional XVI dan Seminar Ilmiah*. Bogor, 22 - 24 Agustus 2001. Perhimpunan Fitopatologi Indonesia. 163.

- Rusli, I., Mardinus, dan Zulpadli, 1997. Penyakit Antraknosa pada Buah Cabai di Sumatera Barat. *Prosiding Kongres Nasional XIV dan Seminar Ilmiah Perhimpunan Fitopatologi Indonesia*. Palembang. hlm: 187-190.
- Sambrook, J., Fritsch, E. R., and Maniatis T. 1989. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual. Second Edition*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York.
- Saitou, N. and Nei M. 1987. The Neighbor - Joining Method: A New Method For Reconstructing Phylogenetic Trees. *Molecular Biology and Evolution* 4:406-425.
- Semangun, H. 1991. *Penyakit-Penyakit Tanaman Pangan di Indonesia*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. Hal 42- 48.
- Setiadi. 2005. *Bertanam Cabai*. Penebar Swadaya. Jakarta. 183 hlm.
- Setiadi. 2006. *Jenis dan Budidaya Cabai Keriting*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Singh, R. S. 1998. *Plant Diseases Seventh Edition*. Oxford & IBH Publishing CO. PVT. LTD. New Delhi. Hal 640.
- Sudirga, Sang Ketut. 2016. Isolasi dan Identifikasi Jamur *Colletotrichum* spp. Isolat PCS Penyebab Penyakit Antraknosa pada Buah Cabai Besar (*Capsicum annuum* L.) di Bali. *Jurnal Metamorfosa* III (1): 23-30.
- Sunaryono, H.dan Rismunandar. 1984. *Kunci Bercocok Tanam Sayur-sayuran Penting Di Indonesia*. CV. Sinar Baru. Bandung.
- Sutton, B. C. 1980. *The Coleomycetes Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acervulus, and Stromata*. Commonwealth Mycological Institute. Kew.
- Swastika, Sri, Dian Pratama, Taufik Hidayat, dan Kuntoro Boga Andri. 2017. *Buku Petunjuk Teknis Teknologi Budidaya Cabai Merah*. Badan Penerbit Universitas Riau UR Press. Riau.

- Syamsudin. 2007. Pengendalian Penyakit Terbawa Benih (*seed born diseases*) pada Tanaman Cabai (*Capsicum annuum* L.) Menggunakan Agen Biokontrol dan Ekstrak Botani. *Jurnal Agrobio* 2 (2).
- Tingey, S. V., J. A. Rafalski, and M. K. Hanafey. 1994. *Genetic Analysis With RAPD Markers*. In: Coruzzi, C. and P. Puidormenech. *Plant Molecular Biology*. Springer-Verlag. Berlin.
- Titrawani. 1996. *Biodiversiti Kodok Genus Rana Ditinjau dari Morfologi, Kariotip dan Pola Protein di Kodya Sawahlunto*. Program Pasca Sarjana Institute Pertanian Bogor. Bogor. 76 hal.
- Tjahjadi, Nur. 1991. *Bertanam Cabai*. Kanisius. Yogyakarta.
- Utami, Sefrita Tri, Dyah Fitri Kusharyati, dan Hendro Pramono. Pemeriksaan Bakteri *Leptospira* pada Sampel Darah Manusia *Suspect* Leptospirosis Menggunakan Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*). *BALABA* Vol. 9, No. 02, Desember 2013 : 74-81.
- Warisno dan Kres Dahana. 2010. *Peluang Usaha dan Budidaya Cabai*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Watt, Bruce. 2021. Antrachnose (*Colletotrichum* sp.). <https://www.invasive.org/browse/detail.cfm?imgnum=5507117>. Diakses pada tanggal 26 Februari 2021 pukul 21.35 WIB.
- White, T. J., Bruns T., Lee S., and Taylor J. 1990. *Amplification and Direct Sequencing Of Fungal Ribosomal RNA Genes For Phylogenetics*. In: Innis M. A., Gelfand D. H., Sninsky J. J. and White T. J.(eds) *PCR Protocols. A Guide To Methods and applications*. Academic Press. San Diego. Pg. 315-322.
- Wulansari, N., M. Nurilmala, dan Nurjanah. 2015. Deteksi Ikan Tuna dan Produk Olahannya Berbasis Protein dan DNA Barcoding. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 18(2):119–127.
- Yuenleni. 2019. Langkah – Langkah Optimasi PCR. *Indonesian Journal of Laboratoty*. Vol. 1 (3) 2019, 51-56.

Yulianty. 2006. Pengaruh pH Terhadap Pertumbuhan Jamur *Colletotrichum capsici* Penyebab Penyakit Antraknosa pada Cabai (*Capsicum annum* L.) Asal Lampung. LAPTUNILAPP.

[http://digilib.unila.ac.id/go.php?id=laptunilapp-gdl-res-2006-yulianti\\_ms328&node=19&start=33](http://digilib.unila.ac.id/go.php?id=laptunilapp-gdl-res-2006-yulianti_ms328&node=19&start=33). Diakses pada tanggal 28 September 2019 pukul 20.15 WIB.

Yulianty, Endang Nurcahyani, dan Wawan A. S. 2019. Karakteristik Morfologi dan Molekuler Jamur *Colletotrichum* spp. Penyebab Penyakit Antraknosa Pada Buah Cabai di Lampung. *In: Seminar Hasil-hasil Penelitian BLU Unila* 2019, 13 November 2019.

Yusuf, Zuhriana K. 2010. Polymerase Chain Reaction. *Jurnal Saintek*. Vol. 5, No. 6.