

Identifikasi Patogen Penyebab Penyakit Busuk Batang Cabai di Desa Sindangjaya, Cipanas, Cianjur, Jawa Barat Berdasarkan Analisis Morfologi dan Molekuler (Identification of the Pathogen Causing Stem Blight Disease on Chili in Sindangjaya Village, Cipanas, Cianjur, West Java Based on Morphological and Molecular Analyses)

Wartono

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111, Indonesia
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; *E-mail: war.tono@yahoo.com

Diajukan: 10 Februari 2021; Direvisi: 7 Juni 2021; Diterima: 20 Juni 2021

ABSTRACT

Chili (*Capsicum annuum* L.) is a vegetable commodity with high economic value which is widely cultivated by farmers in Indonesia. One of the obstacles faced in chili cultivation is stem rot disease. This study aimed to identify the pathogens that caused stem rot in chili plants obtained from one location in Sindangjaya Village, Cipanas District, Cianjur Regency, West Java Province based on morphological and molecular analyses. Pathogen identification was performed with morphological and molecular approaches. The morphological characters observed included colony shape, sporangium diameter, and mating type. The pathogenicity of the isolates was assayed by inoculating chili stems aged 40 days. Molecular identification was carried out using two pairs of primers for ITS regions and *TEF-1 α* gene. Based on the results of morphological and molecular identification, as well as pathogenicity tests, it was confirmed that *Phytophthora capsici* pathogen was the causal agent of stem rot in chili plants collected from Sindangjaya Village. Further study is needed to determine the spread of the disease, damage, and yield loss caused by stem rot disease, as well as how to prevent and control the disease.

Keywords: Chili pepper, morphological character, molecular analysis, stem rot disease.

ABSTRAK

Cabai (*Capsicum annuum* L.) merupakan komoditas bernilai ekonomi cukup tinggi yang banyak dibudidayakan oleh petani di Indonesia. Salah satu kendala yang dihadapi pada budi daya cabai adalah serangan penyakit busuk batang. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi patogen penyebab penyakit busuk batang pada tanaman cabai yang diperoleh dari satu lokasi di Desa Sindangjaya, Kecamatan Cipanas, Kabupaten Cianjur, Provinsi Jawa Barat berdasarkan analisis morfologi dan molekuler. Identifikasi patogen dilakukan dengan pendekatan morfologi dan molekuler. Karakter morfologi yang diamati ialah bentuk koloni, ukuran sporangium, dan tipe kawin. Patogenisitas isolat diuji dengan menginokulasi batang cabai umur 40 hari. Identifikasi secara molekuler dilakukan dengan menggunakan dua pasang primer untuk daerah ITS dan gen *TEF-1 α* . Berdasarkan hasil identifikasi morfologi dan molekuler, serta uji patogenisitas, dipastikan bahwa *Phytophthora capsici* merupakan patogen penyebab penyakit busuk batang pada tanaman cabai yang dikoleksi dari Desa Sindangjaya tersebut. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui sebaran penyakit, kerusakan, dan kehilangan hasil akibat penyakit busuk batang, serta cara pencegahan dan pengendaliannya.

Kata kunci: Cabai, karakter morfologi, analisis molekuler, penyakit busuk batang.

PENDAHULUAN

Cabai (*Capsicum annum* L.) merupakan komoditas sayuran yang banyak dibudidayakan di berbagai wilayah di Indonesia. Produktivitas cabai di Indonesia masih tergolong rendah yaitu hanya mencapai 8,5 t/ha, jauh di bawah potensi hasilnya yang dapat mencapai 20 t/ha (Syukur et al. 2010; Ditjen Hortikultura 2019). Rendahnya produktivitas cabai salah satunya disebabkan oleh serangan patogen. Penyakit dapat menyerang pada seluruh fase pertumbuhan dan jaringan tanaman, seperti akar, batang, daun, bunga, dan buah. Patogen yang menyebabkan penyakit pada tanaman cabai dapat berupa virus, bakteri, cendawan, nematoda, dan oomycetes (Majid et al. 2016).

Salah satu penyakit penting yang sering dijumpai menyerang tanaman cabai adalah busuk batang. Patogen ini menyebabkan seluruh batang menghitam, mengering, dan akhirnya mati. Serangan pada buku batang terkadang menyebabkan batang menjadi patah. Penyakit busuk batang dapat disebabkan oleh *Colletotrichum* atau *Phytophthora* (Erwin dan Ribeiro 1996; Hausbeck dan Lamour 2004; Simi et al. 2019) yang berbeda secara taksonomi. *Colletotrichum* termasuk dalam kelompok cendawan (fungi), sedangkan *Phytophthora* termasuk dalam kelompok oomycetes (alga). Perbedaan yang mencolok dari keduanya terletak pada materi penyusun dinding selnya. Dinding sel fungi tersusun dari kitin, sedangkan oomycetes tersusun dari selulosa dan glukukan (Rossmann dan Palm 2006; Samanthi 2020). Kedua mikroorganisme ini berkembang cepat terutama pada kondisi lingkungan dengan kelembapan dan curah hujan tinggi (Erwin dan Ribeiro 1996; Hausbeck dan Lamour 2004; Simi et al. 2019). Perbedaan dinding sel menyebabkan pengendalian kedua mikroorganisme tersebut berbeda.

Hingga kini penyakit busuk batang masih menjadi kendala pada tanaman cabai. Hal ini terbukti dengan masih sering ditemukannya gejala busuk batang di beberapa daerah pertanaman cabai terutama pada musim penghujan. Untuk dapat mengendalikan penyakit busuk batang, hal penting yang perlu diketahui adalah patogen penyebabnya. Informasi mengenai patogen ini diperlukan untuk menentukan tindakan pengendalian yang seharusnya dilakukan, seperti dalam menentukan bahan aktif pestisida sintetik yang tepat untuk mengendalikan patogen. *Mode of action* suatu bahan aktif terkadang hanya efektif terhadap patogen tertentu, tetapi tidak untuk yang lain. Contohnya, fungisida dengan bahan aktif *benomyl*, *hymexazol*, dan

pentachloronitrobenzene efektif terhadap sebagian besar cendawan patogen, tetapi tidak atau kurang efektif terhadap *Phytophthora* (Castro-Rocha et al. 2014). Oleh karena itu, untuk mengetahui patogen penyebab penyakit perlu dilakukan identifikasi secara akurat sehingga tindakan pengendaliannya dapat dilakukan dengan tepat.

Identifikasi secara morfologi merupakan cara yang paling mudah untuk mengetahui patogen penyebab penyakit. Namun demikian, identifikasi secara morfologi memerlukan waktu yang cukup lama dan keterampilan khusus. Selain itu, untuk menentukan patogen penyebab penyakit hingga level spesies sulit dilakukan bila hanya berdasarkan karakter morfologi. Hal ini disebabkan sering ditemukannya persamaan karakter pada beberapa spesies (Mounde et al. 2012). Seiring dengan kemajuan teknologi, dewasa ini identifikasi pada level spesies umumnya dilakukan secara molekuler yang terbukti lebih akurat dalam menentukan spesies *Phytophthora* (White et al. 1990; Cooke et al. 2000; Kroon et al. 2004; Rahman et al. 2014).

Cabai merupakan tanaman yang cukup banyak dibudidayakan di Kabupaten Cianjur termasuk Desa Sindangjaya yang berada pada elevasi sekitar 900 m dpl. Budi daya cabai di lokasi ini dilakukan baik secara tumpang sari maupun monokultur, dengan atau tanpa mulsa. Data empiris menunjukkan bahwa penyakit busuk batang merupakan salah satu penyakit yang banyak dijumpai pada pertanaman cabai di lokasi ini. Sejauh ini informasi mengenai penyebab penyakit busuk batang di lokasi ini belum pernah dilaporkan sehingga perlu dilakukan identifikasi patogen penyebabnya. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi patogen penyebab penyakit busuk batang pada tanaman cabai yang diperoleh dari satu lokasi di Desa Sindangjaya, Kecamatan Cipanas, Kabupaten Cianjur, Provinsi Jawa Barat berdasarkan analisis morfologi dan molekuler.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BB Biogen) pada bulan September 2020 sampai dengan Februari 2021.

Pengambilan Sampel

Sampel tanaman bergejala busuk batang diperoleh dari pertanaman cabai merah keriting di Desa

Sindangjaya, Kecamatan Cipanas, Kabupaten Cianjur, Provinsi Jawa Barat yang berada pada elevasi sekitar 900 m dpl. Jaringan tanaman yang menunjukkan gejala busuk batang dipotong dan dimasukkan ke dalam kantong plastik steril dan dibawa ke laboratorium untuk diisolasi dan diidentifikasi tipe patogennya.

Isolasi Patogen

Isolasi patogen dilakukan dengan metode Li et al. (2007) yang dimodifikasi. Jaringan tanaman dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringanginkan di atas kertas tisu. Selanjutnya, jaringan tanaman dipotong seukuran 5 cm dan disterilisasi permukaannya dengan cara dicelup di dalam alkohol 70% selama 30 detik, kemudian dibilas dengan air steril satu kali dan dikeringkan di atas kertas saring steril. Potongan antara jaringan sakit dan sehat sepanjang 0,5 cm ditumbuhkan pada media *corn meal agar* (CMA). Biakan diinkubasi pada kondisi gelap dengan suhu 25°C selama 2 hari untuk menstimulasi pertumbuhan miselia. Ujung miselia koloni dipotong dan ditumbuhkan pada media CMA sehingga diperoleh isolat murni.

Karakterisasi Morfologi

Pengamatan koloni dilakukan dengan menumbuhkan potongan biakan isolat murni (0,5 cm²) yang berasal dari biakan CMA umur 8 hari pada media *potato dextrose agar* (PDA). Selanjutnya, biakan diinkubasi pada kondisi gelap dengan suhu 25°C. Pada 7 hari setelah inkubasi (hsi) biakan diamati bentuk koloni dan hifanya. Untuk mengetahui sporulasi isolat, pengujian diawali dengan menumbuhkan potongan biakan (0,5 cm²) yang diletakkan di tengah-tengah media CMA pada cawan Petri berdiameter 9 cm dan diinkubasi pada kondisi gelap dengan suhu 25°C. Pada 3 hsi biakan diinkubasi di bawah lampu pendar CFL 15 watt. Pengamatan dilakukan dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 200× pada 7–10 hsi.

Karakterisasi Tipe Kawin

Uji tipe kawin dilakukan dengan metode Manohara dan Sato (1992) yang dimodifikasi, yaitu dengan menumbuhkan isolat standar dengan isolat koleksi pada satu cawan Petri berisi media CMA. Isolat standar ialah isolat yang telah diketahui tipe kawinnya, yaitu isolat K2 (tipe kawin A1) dan isolat S1 (tipe kawin A2). Kedua isolat standar tersebut merupakan koleksi Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) yang diperoleh dari Dr. Diah Manohara. Potongan biakan isolat koleksi dan isolat pasangannya sebesar 0,5 cm² diletakkan saling ber-

hadapan dengan jarak 5 cm. Selanjutnya, biakan diinkubasi pada kondisi gelap dengan suhu 25°C. Pengamatan oospora dilakukan dengan mikroskop cahaya pada 5 hsi.

Karakterisasi Molekuler

Penyiapan miselia untuk isolasi DNA genomik

Miselial patogen uji diproduksi dengan metode Farhana et al. (2013). Potongan miselia sebesar 0,5 cm² dibiakkan pada 50 ml media *potato dextrose broth* (PDB) di dalam botol 200 ml dan diinkubasi pada kondisi gelap dengan suhu 25°C selama 6 hari. Panen miselia dilakukan dengan memisahkan miselia dari media dengan cara disaring menggunakan kertas saring. Miselia dibilas dengan akuades steril dan dikeringbekukan pada suhu -20°C.

Isolasi DNA genomik

Sebanyak 0,5 g DNA miselia diekstraksi dengan menggunakan *Quick-DNA™ Fungal Miniprep Kit* (Zymo Research, AS) sesuai dengan protokol kit. DNA hasil isolasi diukur kuantitas dan kualitasnya. Pengukuran kuantitas DNA dilakukan dengan spektrofotometer *NanoDrop™ 2000* (Thermo Scientific, AS). Pengukuran kualitas DNA genomik dilakukan dengan teknik elektroforesis pada gel agarosa 1%.

Primer untuk *polymerase chain reaction* (PCR)

Amplifikasi PCR dilakukan dengan menggunakan primer *internal transcribe sequences* (ITS; ITS6F: GAAGGTGAAGTCGTAACAAGG dan ITS4R: TCCTCCGCTTATTGATATGC) (White et al. 1990; Cooke et al. 2000; Grünwald et al. 2011) dan *translation elongation factor 1 alpha* (*TEF-1α*; EF1F: TCACGATCGACATTGCCCTG dan EF1R: ACGGCTCGAGGATGACCATG) (Kroon et al. 2004). Primer ITS6F/ITS4R yang digunakan mengamplifikasi daerah 18S, ITS1, 5,8S, ITS2, dan 28S (White et al. 1990), sedangkan primer EF1F/EF1R mengamplifikasi fragmen gen *TEF-1α* (Pakshir et al. 2020).

PCR, elektroforesis, visualisasi, dan sekuensing produk PCR

DNA genomik patogen uji diamplifikasi PCR dengan volume total 40 µl. Reaksi PCR terdiri atas 1 µl cetakan DNA (10 ng/µl), primer *forward* dan *reverse* (0,5 µM) masing-masing sebanyak 2 µl, 20 µl *MyTaq™ HS Red Mix* (Bioline, UK), dan ddH₂O steril hingga 40 µl. Program PCR yang digunakan adalah denaturasi awal pada suhu 95°C selama 5 menit, diikuti 35 siklus yang terdiri atas denaturasi pada suhu

94°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 55°C selama 1 menit untuk primer ITS dan 62°C selama 1 menit untuk primer *TEF-1α*, dan ekstensi pada suhu 72°C selama 1 menit. Reaksi PCR diakhiri dengan tahap ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 7 menit.

Produk PCR patogen uji dielektroforesis pada gel agarosa 1% dan diwarnai dengan menggunakan etidium bromida. Gel divisualisasi dengan *UV Transilluminator* (Bio-Rad, UK). Selanjutnya, produk PCR dikirim ke *1st BASE*, Malaysia untuk di-*sekuensing*.

Analisis homologi data sekuens

Analisis homologi data sekuens patogen uji dilakukan dengan membandingkan sekuens isolat koleksi dengan basis data *GenBank*® menggunakan program *Basic Local Alignment Search Tool for Nucleotide* (BLASTn) (Altschul et al. 1990). Keragaman genetik ditentukan berdasarkan analisis filogeni dengan melakukan *multiple sequence alignment* menggunakan program ClustalX2 (Larkin et al. 2007). Pohon filogeni ditentukan berdasarkan metode *maximum likelihood* dengan *bootstrap* 1.000× menggunakan program MEGA 6 (Tamura 1992).

Uji Patogenisitas

Pengujian dilakukan di rumah kaca, BB Biogen dengan metode Candole et al. (2012) yang dimodifikasi, yaitu dengan menginokulasikan suspensi zoospora pada tanaman cabai umur 40 hari setelah tanam. Tanaman yang digunakan adalah cabai merah keriting varietas Vitra yang diketahui rentan terhadap *P. capsici* (Wartono et al. 2019). Inokulasi dilakukan dengan menyiramkan 5 ml suspensi zoospora (2.000 zoospora/ml) pada batang bawah tanaman, sebagai kontrol tanaman disiram dengan 5 ml air steril. Pengamatan dilakukan mulai 2 hsi dengan mengamati gejala busuk yang muncul pada

batang. Batang yang bergejala dipotong dan patogennya diisolasi ulang (*reisolasi*) pada media CMA.

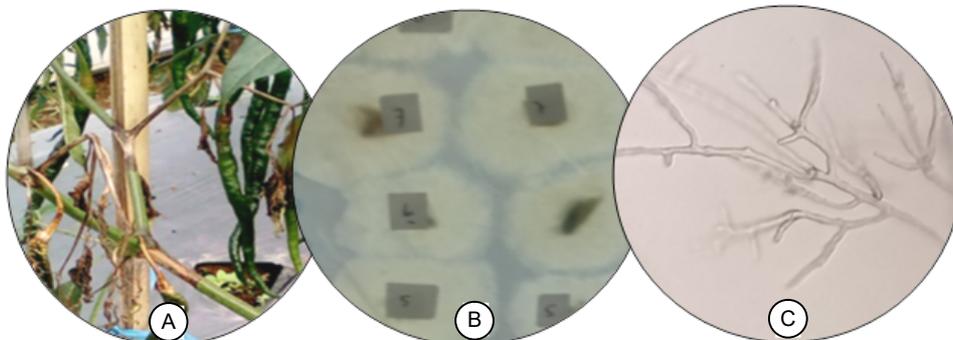
HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Patogen

Sampel tanaman yang diperoleh dari lapangan menunjukkan bercak berwarna cokelat gelap, memanjang, dan menyebar pada beberapa cabang (Gambar 1A). Perlakuan *praisolasi* dengan sterilisasi permukaan potongan batang sakit menggunakan alkohol 70% selama 30 detik dan penggunaan CMA sebagai media tumbuh menghasilkan miselia berwarna putih yang seragam dan tidak teramati adanya koloni mikroba lain (Gambar 1B). Bentuk miselia yang seragam pada semua potongan batang yang ditumbuhkan pada media CMA menunjukkan bahwa penyakit busuk batang di lokasi pengambilan sampel disebabkan oleh satu patogen. Hasil pengamatan dengan mikroskop pada pembesaran 200× menunjukkan bahwa koloni miselia memiliki hifa *torulose* dan bercabang (Gambar 1C).

Karakterisasi Morfologi

Dari hasil isolasi diperoleh tiga isolat yang selanjutnya ditentukan dengan kode isolat Cipanas-1, Cipanas-2, dan Cipanas-3. Pengamatan dengan mikroskop memperlihatkan bahwa ketiga isolat tersebut menunjukkan hifa dengan pola tidak beraturan, tidak bersekat, dan bercabang (Gambar 2). Pada biakan CMA 8 hsi, ketiga isolat menghasilkan sporangia dengan bentuk ovoid, lemonoid, sferik, dan subsferik, serta terdapat papila di ujungnya (Gambar 2). Bentuk koloni dan kemampuan produksi sporangia mengindikasikan bahwa patogen penyebab penyakit busuk batang pada tanaman cabai yang dikoleksi dari Desa Sindangjaya, Cipanas, Cianjur adalah *Phytophthora*.



Gambar 1. Sampel tanaman sakit dan hasil isolasi patogen dari pertanaman cabai merah keriting di Desa Sindangjaya, Cipanas, Cianjur. (A) Gejala penyakit busuk batang. (B) Koloni miselium. (C) Hifa patogen hasil isolasi yang ditumbuhkan pada media CMA.

Ketiga isolat yang diuji memiliki bentuk koloni miselia, ukuran sporangia, dan sporangiofor yang beragam (Tabel 1). Koloni miselia isolat Cipanas-1 berbentuk petal berkapas, sementara Cipanas-2 dan Cipanas-3 berbentuk bintang. Panjang sporangia berkisar 25,0–60,0 μm , lebar 19,0–47,5 μm , dan rasio panjang/lebar (p/l) 1,0–2,5, serta panjang sporangiofor berkisar 20,0–552,0 μm . Berdasarkan hasil pengamatan karakter morfologi, ketiga isolat mempunyai kemiripan dengan *P. capsici*. Hasil penelitian sebelumnya melaporkan bahwa *P. capsici* mempunyai ukuran sporangiofor dengan panjang berkisar 35,0–138,0 μm , panjang sporangia 30,0–100,0 μm , lebar sporangia 25,0–90,0 μm , rasio p/l berkisar 1,3–2,1, berpapila, dengan bentuk sporangium beragam (Erwin dan Ribeiro 1996; Li et al. 2007; Wahyuno et al. 2007).

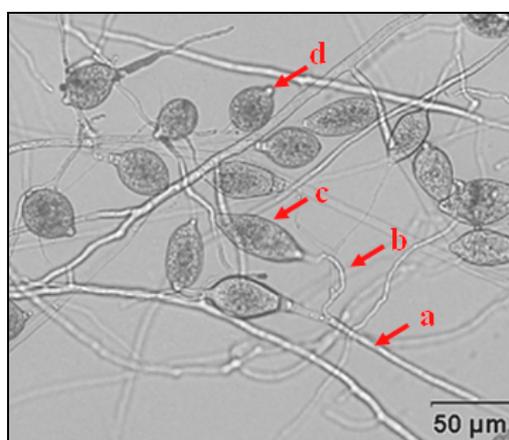
Analisis Tipe Kawin

Hasil uji tipe kawin menunjukkan bahwa isolat *Phytophthora* yang diisolasi dari pertanaman cabai merah keriting di Desa Sindangjaya, Cipanas, Cianjur memiliki tipe kawin yang berbeda. Isolat Cipanas-1 dan Cipanas-3 bertipe kawin A2, sedangkan isolat Cipanas-2 bertipe kawin A1. Informasi mengenai tipe

kawin ini berguna untuk mengetahui keragaman populasi *Phytophthora* di lokasi tersebut.

Phytophthora merupakan mikroorganisme yang selain bereproduksi secara aseksual, juga secara seksual. *Phytophthora* yang memiliki dua tipe kawin (A1 dan A2) yang berasal dari individu yang sama disebut homotalik, sedangkan bila kedua tipe kawin tersebut berasal dari individu yang berbeda disebut heterotalik. Perpaduan dua tipe kawin tersebut dapat membentuk oospora yang berkembang menjadi individu yang memiliki sifat dari kedua individu tetuanya (Erwin dan Ribeiro 1996).

Oospora ialah bentuk struktur bertahan *Phytophthora* yang dapat hidup di dalam tanah hingga beberapa tahun tanpa adanya inang. Pada kondisi lingkungan yang mendukung, seperti adanya substrat dari inang dan lapisan air, oospora akan berkecambah membentuk hifa dan sporangia. Perkembangan oospora memungkinkan terbentuknya individu baru yang lebih virulen, toleran terhadap fungisida dan cekaman lingkungan lain (Hermann dan Gisi 2012; Reyes-Tena et al. 2019). Ciri morfologi untuk membedakan antarspesies relatif sedikit atau terdapat keragaman yang tinggi sehingga terjadi tumpang tindih karakter intraspesies dan antarspesies (Mounde et al. 2012).



Gambar 2. Karakter morfologi isolat hasil isolasi dari tanaman bergejala penyakit busuk batang dari pertanaman cabai merah keriting di Desa Sindangjaya, Cipanas, Cianjur. a = hifa, b = sporangiofor, c = sporangium, d = papila.

Tabel 1. Karakter morfologi isolat patogen penyebab penyakit busuk batang dari pertanaman cabai merah keriting di Desa Sindangjaya, Cipanas, Cianjur.

Isolat	Bentuk koloni	Tipe kawin	Ukuran sporangia*			Panjang sporangiofor (μm)
			Lebar (l; μm)	Panjang (p; μm)	Rasio p/l	
Cipanas-1	Petal berkapas	A2	31,5 (19,0–45,0)	42,9 (30,0–55,0)	1,4 (1,0–2,3)	125,3 (31,0–422,0)
Cipanas-2	Bintang	A1	32,6 (21,0–47,5)	42,3 (25,0–59,0)	1,3 (1,0–2,0)	108,0 (21,0–552,0)
Cipanas-3	Bintang	A2	31,9 (19,0–42,5)	46,5 (26,0–60,0)	1,5 (1,0–2,5)	108,0 (20,0–324,0)

*Rataan dari 25 sporangia. Angka di dalam kurung merupakan nilai minimal–maksimal.

Analisis Molekuler

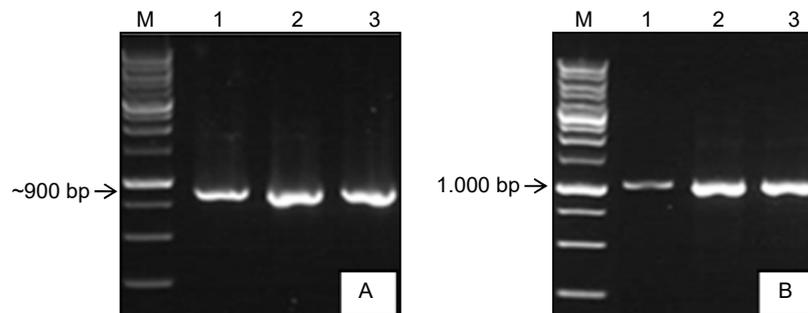
Amplifikasi DNA menggunakan primer ITS6F/ITS4R dan EF1F/EF1R menghasilkan produk PCR masing-masing berukuran sekitar 900 bp dan 1.000 bp pada ketiga isolat koleksi (Gambar 3). Ukuran produk PCR yang diperoleh dengan menggunakan pasangan primer tersebut identik dengan ukuran fragmen *Phytophthora* (Cooke et al. 2000; Kroon et al. 2004).

Hasil analisis BLASTn pada urutan DNA produk PCR ketiga patogen uji menunjukkan bahwa ketiga isolat patogen uji identik dengan *P. capsici* dengan nilai *query cover* yang mencapai 100%, *E-value* 0,0, dan nilai *identity* pada sekuens ITS dan gen *TEF-1 α* berturut-turut berkisar 98,5–99,3% dan 99,6–99,8% (Tabel 2). Menurut Claverie dan Notredame (2003), nilai *query* yang tinggi mendekati 100%, *E-value* yang rendah mendekati 0,0, dan nilai *identity* mendekati 100% menunjukkan bahwa urutan DNA *query* memiliki tingkat kemiripan atau homologi yang tinggi dengan urutan DNA pada basis data.

Analisis filogeni *Phytophthora* pertama kali dilakukan oleh Cooke et al. (2000) menggunakan daerah *noncoding* ITS. Analisis filogeni lainnya dilakukan oleh Kroon et al. (2004) dan Blair et al. (2008) yang masing-masing menggunakan empat

dan tujuh daerah berkode (*coding region*), di antaranya gen *TEF-1 α* . Pada penelitian ini, hasil analisis filogeni terhadap daerah ITS dan gen *TEF-1 α* menunjukkan bahwa ketiga isolat *Phytophthora* berada dalam satu grup dengan *P. capsici* yang berasal dari beberapa negara dan terpisah dari *outgroup* (Gambar 4 dan 5). Menurut Cooke et al. (2000) dan Kroon et al. (2004), berdasarkan analisis filogeni terhadap daerah ITS dan gen *TEF-1 α* , *P. capsici* berada dalam *clade* yang sama dengan *P. tropicalis* dan *P. citricola* yaitu *clade* 2. Sementara, *P. tropicalis* berada dalam *clade* 4. Pendekatan molekuler dengan lebih dari satu lokus telah dilakukan pada identifikasi *Phytophthora* sebelumnya. Rahman et al. (2014) menggunakan lokus ITS dan nLSU, serta gen *cox1* untuk mengidentifikasi kembali koleksi *Phytophthora*. Identifikasi molekuler dengan menggunakan lebih dari satu lokus akan lebih meyakinkan dalam mengidentifikasi spesies *Phytophthora*.

Hasil identifikasi ketiga patogen uji secara molekuler ini mengonfirmasi hasil karakterisasi morfologinya. Pada pengamatan sebelumnya diketahui bahwa identifikasi berdasarkan karakter morfologi sulit dalam menentukan level spesies karena *Phytophthora* memiliki keragaman bentuk koloni, sporangia, dan sporangiofor.



Gambar 3. Hasil amplifikasi DNA isolat patogen uji menggunakan dua pasang primer berbeda. (A) Produk PCR dengan pasangan primer ITS6F/ITS4R. (B) Produk PCR dengan pasangan primer EF1F/EF1R. M = *marker* 1 kb, 1 = isolat Cipanas-1, 2 = isolat Cipanas-2, dan 3 = isolat Cipanas-3.

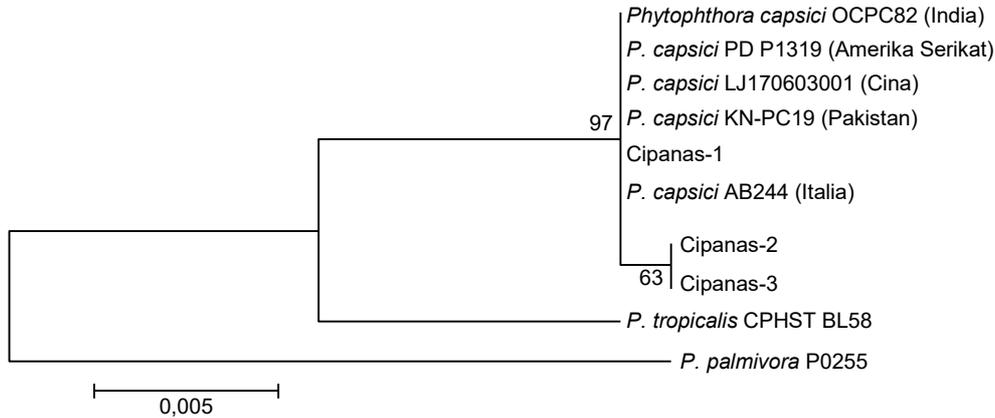
Tabel 2. Homologi tiga isolat patogen uji dengan koleksi isolat pada basis data *GenBank*® berdasarkan urutan DNA ITS dan gen *TEF-1 α* .

No.	Kode isolat	Spesies <i>GenBank</i> ®	Nomor akses	<i>Query cover</i> (%)	<i>E-value</i>	<i>Identity</i> (%)
ITS						
1.	Cipanas-1	<i>Phytophthora capsici</i>	KM288420.1	100	0,0	99,3
2.	Cipanas-2	<i>P. capsici</i>	DQ464024.1	100	0,0	98,5
3.	Cipanas-3	<i>P. capsici</i>	DQ464024.1	100	0,0	98,5
<i>TEF-1α</i>						
1.	Cipanas-1	<i>P. capsici</i>	MF489239.1	100	0,0	99,8
2.	Cipanas-2	<i>P. capsici</i>	LN908260.1	100	0,0	99,8
3.	Cipanas-3	<i>P. capsici</i>	MF489239.1	100	0,0	99,6

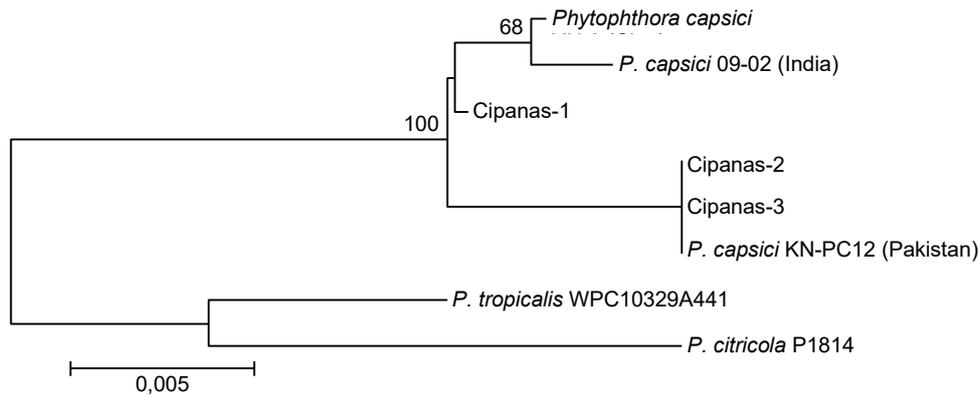
Patogenisitas Isolat *Phytophthora*

Hasil pengujian menunjukkan bahwa ketiga isolat *Phytophthora* patogenik menyebabkan gejala penyakit busuk batang pada tanaman cabai uji.

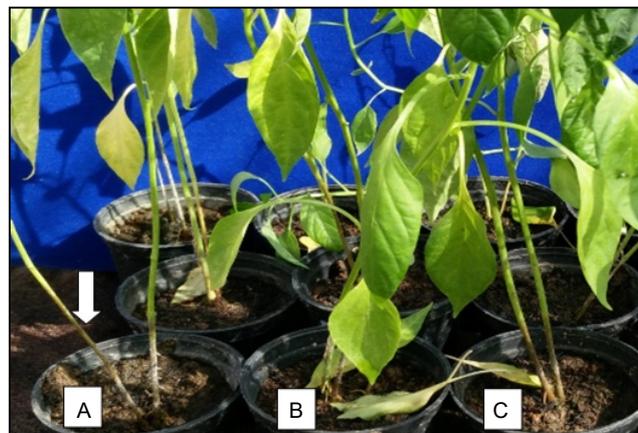
Secara umum, gejala mulai terlihat pada 2 hsi yang ditandai dengan munculnya lesio/bercak kecil kehitaman pada pangkal batang bagian bawah, kemudian berkembang memanjang dan menyebabkan batang menjadi keriput (Gambar 6). Hasil reisolasi



Gambar 4. Pohon filogeni tiga patogen uji yang dikonstruksi berdasarkan sekuens daerah ITS dengan metode *maximum likelihood* menggunakan model Hasegawa-Kishino-Yano (Hasegawa et al. 1985) dengan *bootstrap* 1.000×.



Gambar 5. Pohon filogeni tiga patogen uji yang dikonstruksi berdasarkan sekuens gen *TEF-1α* dengan metode *maximum likelihood* menggunakan model Tamura-3 (Tamura 1992) dengan *bootstrap* 1.000×.



Gambar 6. Gejala penyakit busuk batang (tanda panah) pada uji patogenisitas isolat *Phytophthora* sp. dari pertanaman cabai merah keriting di Desa Sindangjaya, Cipanas, Cianjur. A = isolat Cipanas-1, B = isolat Cipanas-2, C = isolat Cipanas-3.

patogen dari jaringan tanaman yang bergejala menunjukkan bahwa patogen penyebab busuk batang tumbuh baik pada media CMA dengan menghasilkan hifa yang tidak bersekat dan memproduksi sporangia dengan papila di ujungnya. Karakter mikromorfologi patogen yang direisolasi tersebut sama dengan karakter isolat asalnya dari tanaman cabai sakit.

Penelitian ini memberikan informasi tentang patogen penyebab penyakit busuk batang pada pertanaman cabai merah keriting di Desa Sindangjaya, Cipanas, Cianjur, Jawa Barat. Informasi ini dapat digunakan untuk menentukan tindakan yang harus dilakukan untuk mencegah dan mengendalikan *P. capsici*, penyebab penyakit tersebut. Pengendalian penyakit dengan menggunakan fungisida merupakan alternatif yang sering dilakukan oleh petani. Pengendalian penyakit yang disebabkan oleh *P. capsici* memerlukan fungisida dengan bahan aktif yang tepat. Beberapa bahan aktif yang dianjurkan untuk mengendalikan patogen ini, di antaranya mefenoksam, *fluopicolide*, mandipropamid, *oxathiapiprolin*, *ethaboxam*, dimetomorf, *mancozeb*, dan *cyazofamid* (Hausbeck dan Linderman 2018).

Cakupan lokasi pengambilan sampel pada penelitian ini masih terbatas sehingga diperlukan studi lebih lanjut untuk mengetahui sebaran penyakit, kerusakan, dan kehilangan hasil yang ditimbulkan oleh penyakit busuk batang. Selain itu, perlu penelitian lanjutan untuk menentukan ras isolat *P. capsici* yang menyebabkan penyakit busuk batang di lokasi tempat isolat diperoleh. Penentuan ras diperlukan untuk menentukan patogenisitas dan sensitivitas isolat terhadap fungisida tertentu.

KESIMPULAN

Ketiga isolat *Phytophthora* yang dikoleksi dari lokasi pertanaman cabai merah keriting di Desa Sindangjaya, Cipanas, Cianjur, Jawa Barat memiliki karakter morfologi yang beragam dengan panjang sporangia berkisar 25,0–60,0 μm , lebar 19,0–47,5 μm , rasio p/l 1,0–2,5, serta panjang sporangiofor berkisar 20,0–552,0 μm . Identifikasi molekuler dengan primer ITS dan gen *TEF-1 α* mengonfirmasi kedekatan genetik ketiga isolat *Phytophthora* dengan spesies *P. capsici* dari basis data *GenBank*®. Patogen penyebab penyakit busuk batang cabai di Desa Sindangjaya tersebut adalah *P. capsici*. Penelitian lanjutan diperlukan untuk mengetahui variasi ras *P. capsici* dan sebaran penyakit yang disebabkan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Bapak Dadang yang telah membantu mengoleksi sampel tanaman sakit di lapangan dan Dr. Alina Akhdiya, Ketua Kelompok Peneliti Biokimia, BB Biogen yang telah memberi izin penggunaan laboratorium. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Dr. Diah Manohara atas bantuannya dalam menyediakan isolat standar untuk uji tipe kawin.

KONTRIBUTOR PENULISAN

WTN: kontributor utama, penanggung jawab, pelaksana kegiatan penelitian, dan analisis data.

DAFTAR PUSTAKA

- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. & Lipman, D.J. (1990) Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215, 403–410.
- Blair, J.E., Coffey, M.D., Park, S.Y., Geiser, D.M. & Kang, S. (2008) A multi-locus phylogeny for *Phytophthora* utilizing markers derived from complete genome sequences. *Fungal Genetics and Biology*. [Online] 45, 266–277. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2007.10.010> [Diakses 1 Januari 2019].
- Candole, B.L., Conner, P.J. & Ji, P. (2012) Evaluation of *Phytophthora* root rot-resistant *Capsicum annum* accessions for resistance to *Phytophthora* foliar blight and *Phytophthora* stem blight. *Agricultural Sciences*. [Online] 3 (5), 732–737. Tersedia pada: <http://dx.doi.org/10.4236/as.2012.35088> [Diakses 4 Januari 2019].
- Castro-Rocha, A., Flores-Márquez, J.P., Aguirre-Ramírez, M., Fernández-Pavía, S.P., Rodríguez-Alvarado, G. & Osuna-Ávila, P. (2014) Traditional and molecular studies of the plant pathogen *Phytophthora capsici*: a review. *Journal of Plant Pathology and Microbiology*. [Online] 5 (6), 1–8. Tersedia pada: <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7471.1000245> [Diakses 7 Februari 2019].
- Claverie, J.M. & Notredame, C. (2003) *Bioinformatics for dummies*. Indianapolis, Wiley Publishing.
- Cooke, D.E.L., Drenth, A., Duncan, J.M., Wagels, G. & Brasier, C.M. (2000) A molecular phylogeny of *Phytophthora* and related oomycetes. *Fungal Genetics and Biology*. [Online] 30, 17–23. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1006/fgbi.2000.1202> [Diakses 5 Desember 2018].
- Ditjen Hortikultura (2019) *Data produksi sayuran*. [Online] Tersedia pada: <http://hortikultura2.pertanian.go.id> [Diakses 3 Januari 2021].
- Erwin, D.C. & Ribeiro, O.K. (1996) *Phytophthora diseases worldwide*. St. Paul, American Phytopathological Society.

- Farhana, S.N.M.D., Bivi, M.R., Khairulmazmi, A., Wong, S.K. & Sariah, M. (2013) Morphological and molecular characterization of *Phytophthora capsici*, the causal agent of foot rot disease of black pepper in Sarawak, Malaysia. *International Journal of Agriculture and Biology*, 15, 1083–1090.
- Grünwald, N.J., Martin, F.N., Larsen, M.M., Sullivan, C.M., Press, C.M., Coffey, M.D., Hansen, E.M. & Parke, J.L. (2011) Phytophthora-ID.org: a sequence-based *Phytophthora* identification tool. *Plant Disease*. [Online] 95 (3), 337–342. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-10-0609> [Diakses 15 Juni 2020].
- Hasegawa, M., Kishino, H. & Yano, T. (1985) Dating the human-ape split by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution*, 22, 160–174.
- Hausbeck, M.K. & Lamour, K.H. (2004) *Phytophthora capsici* on vegetable crops: research progress and management challenges. *Plant Disease*. [Online] 88, 1292–1303. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.12.1292> [Diakses 26 April 2019].
- Hausbeck, M.K. & Linderman, S.D. (2018) *Managing Phytophthora on cucumber*. [Online] Tersedia pada: <https://veggies.msu.edu> [Diakses 28 April 2019].
- Hermann, D. & Gisi, U. (2012) Fungicide resistance in oomycetes with special reference to *Phytophthora infestans* and phenylamides. Dalam: Thind, T.S. (editor) *Fungicide resistance in crop protection risk and management*. Oxfordshire, CABI Publishing, hlm. 133–140.
- Kroon, L.P.N.M., Bakker, F.T., van den Bosch, G.B.M., Bonants, P.J.M. & Flier, W.G. (2004) Phylogenetic analysis of *Phytophthora* species based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Fungal Genetics and Biology*. [Online] 41, 766–782. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2004.03.007> [Diakses 17 April 2019].
- Larkin, M.A., Blackshields, G., Brown, N.P., Chenna, R., McGettigan, P.A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I.M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J., Gibson, J., Toby & Higgins, G.D. (2007) Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*. [Online] 23, 2947–2948. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm404> [Diakses 13 April 2019].
- Li, Z., Long, W., Zheng, J. & Jianjun, L. (2007) Isolation and identification of *Phytophthora capsici* in Guangdong Province and measurement of their pathogenicity and physiological race differentiation. *Frontiers of Agriculture in China*, 1, 377–381.
- Majid, M.U., Awan, M.F., Fatima, K., Tahir, M.S., Ali, Q., Rashid, B., Rao, A.Q., Nasir, I.A. & Husnain, T. (2016) *Phytophthora capsici* on chilli pepper (*Capsicum annuum* L.) and its management through genetic and bio-control: a review. *Zemdirbyste*. [Online] 103, 419–430. Tersedia pada: <https://doi.org/10.13080/z-a.2016.103.054> [Diakses 21 Juni 2019].
- Manohara, D. & Sato, N. (1992) Morphological and physiological observation on the *Phytophthora* isolates from black pepper. *Industrial Crops Research Journal*, 4, 14–19.
- Mounde, L.G., Ateka, E.M., Kihurani, A.W. & Wasilwa, L. (2012) Morphological characterization and identification of *Phytophthora* species causing citrus gummosis in Kenya. *AJFAND*, 12 (7), 7073–7087.
- Pakshir, K., Farazmand, F., Ghasemi, F., Mirhendi, H., Zomorodian, K., Kharazi, M., Pour, R.M., Golestani, H. & Motamedi, M. (2020) *Translation elongation factor 1-alpha* gene as a marker for diagnosing of candidal onychomycosis. *Current Medical Mycology*. [Online] 6 (1), 15–21. Tersedia pada: <https://doi.org/10.18502/cmm.6.1.2503> [Diakses 6 Januari 2021].
- Rahman, M.Z., Uematsu, S., Coffey, M.D., Uzuhashi, S., Suga, H. & Kageyama, K. (2014) Re-evaluation of Japanese *Phytophthora* isolates based on molecular phylogenetic analyses. *Mycoscience*. [Online] 55, 314–327. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1016/j.myc.2013.11.005> [Diakses 23 April 2019].
- Reyes-Tena, A., Castro-Rocha, A., Rodriguez-Alvarado, G., Vázquez-Marrufo, G., Pedraza-Santos, M.E., Lamour, K., Larsen, J. & Fernández-Pavía, S.P. (2019) Virulence phenotypes on chili pepper for *Phytophthora capsici* isolates from Michoacán, Mexico. *HortScience*. [Online] 54 (9), 1526–1531. Tersedia pada: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI13964-19> [Diakses 12 Mei 2020].
- Rossmann, A.Y. & Palm, M.E. (2006) *Why are Phytophthora and other oomycota not true fungi?* [Online] Tersedia pada: <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/oomycete/introduction/Pages/Oomycetes.aspx> [Diakses 16 Maret 2019].
- Samanthi (2020) *Difference between oomycetes and true fungi*. [Online] Tersedia pada: <https://www.differencebetween.com/difference-between-oomycetes-and-true-fungi> [Diakses 4 Januari 2021].
- Simi, S.A., Jannat, R., Rubayet, M.T. & Bhuiyan, M.K.A. (2019) Efficacy of bio-fertilizer compost in controlling anthracnose disease of chilli caused by *Colletotrichum capsici* and improvement the crop production. *Scholars Academic Journal of Biosciences*. [Online] Tersedia pada: <https://doi.org/10.36347/SAJB.2019.v07i12.005> [Diakses 5 Januari 2021].
- Syukur, M., Sujiprihati, S., Yuniarti, R. & Kusumah, D.A. (2010) Evaluasi daya hasil cabai hibrida dan daya adaptasinya di empat lokasi dalam dua tahun. *Jurnal Agronomi Indonesia*, 38 (1), 43–51.
- Tamura, K. (1992) Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G+C-content biases. *Molecular Biology and Evolution*. [Online] 9, 678–687. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040752> [Diakses 4 Januari 2019].

- Wahyuno, D., Manohara, D. & Susilowati, D.N. (2007) Variasi morfologi dan virulensi *Phytophthora capsici* asal lada. *Buletin Plasma Nutfah*, 13 (2), 70–81.
- Wartono, Wiyono, S., Syukur, M., Giyanto & Lestari, P. (2019) Resistance of *Capsicum annuum* genotypes against various isolates of *Phytophthora capsici* from Java, Indonesia. *Biodiversitas*. [Online] 20 (12), 3723–3730. Tersedia pada: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d201235> [Diakses 8 Februari 2020].
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. & Taylor, J. (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for Phylogenetics. Dalam: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J. & White, T.J. (editor) *PCR protocols: a guide to methods and applications*. San Diego, Academic Press, hlm. 315–322.
-