

**PENGUJIAN PRIMER SPESIFIK UNTUK DETEKSI  
BERBASIS PCR SPESIES *Colletotrichum* sp., PATOGEN  
PENYEBAB PENYAKIT ANTRAKNOSA PADA  
PERTANAMAN CABAI (*Capsicum* sp.)**

**OLEH**

**FITRA HIDAYAT  
04 112 011**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2010**

**PENGUJIAN PRIMER SPESIFIK UNTUK DETEKSI  
BERBASIS PCR SPESIES *Colletotrichum* sp., PATOGEN  
PENYEBAB PENYAKIT ANTRAKNOSA PADA  
PERTANAMAN CABAI (*Capsicum* sp.)**

**ABSTRAK**

Penelitian dengan judul "Pengujian Primer Spesifik untuk Deteksi Berbasis PCR Spesies *Colletotrichum* sp., Patogen Penyebab Penyakit Antraknosa pada Pertanaman Cabai (*Capsicum* sp.)" telah dilaksanakan dari bulan Februari sampai dengan bulan Oktober 2009. Kegiatan didahului dengan pengambilan sampel buah cabai yang terindikasi terserang penyakit antraknosa. Sampel diambil dari beberapa lokasi berbeda yaitu Kota Padang, Kabupaten 50 Kota, Kabupaten Agam dan Kabupaten Solok. Tahapan selanjutnya dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang.

Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan umur isolat yang paling baik untuk dilakukan isolasi DNA pada jamur dan pengujian primer spesifik yang telah didesain untuk mendeteksi keberadaan jamur patogen penyebab penyakit antraknosa pada pertanaman cabai. Isolasi DNA dilakukan terhadap biakan yang berumur 2 dan 3 hari. Metode yang digunakan dalam isolasi DNA yaitu metode Saghai-Marooif *et al.* (1984) yang telah dimodifikasi. Jumlah primer yang akan diujikan pada penelitian ini berjumlah enam kombinasi primer yang terdiri dari 6 primer *forward* dan 6 primer *reverse*. Suhu *annealing* yang dicobakan ada beberapa tingkatan, diantaranya 55° C, 57° C dan 62° C.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa umur biakan yang menghasilkan produk DNA dengan kualitas dan kuantitas yang baik adalah biakan yang berumur tidak lebih dari 2 hari. Primer yang spesifik untuk mengamplifikasi DNA jamur dari spesies *Colletotrichum gloeosporoides* dikode dengan Cg 1A1-FR sedangkan *Colletotrichum capsici* dikode dengan Cc 7BP1-FR. Suhu *annealing* yang sesuai untuk masing-masing primer yaitu Cg 1A1-FR dengan suhu 57° C dan untuk Cc 7BP1-FR dengan suhu 62° C.



## BAB I. PENDAHULUAN

Tanaman cabai (*Capsicum*, sp.) merupakan salah satu tanaman sayuran penting bernilai ekonomi tinggi. Permintaan akan cabai selalu meningkat dari waktu ke waktu terutama cabai merah. Peningkatan ini seiring dengan peningkatan jumlah penduduk dan makin berkembangnya industri bahan makanan yang menggunakan komoditi ini sebagai bahan baku utamanya.

Sayangnya, peningkatan permintaan tidak diiringi oleh peningkatan produksi baik pada tingkat lokal maupun secara nasional. Produksi rata-rata buah cabai di Sumatera Barat tahun 2005 hanya 15.650 ton dengan rata-rata pertumbuhan produksi sekitar 60,18 % dan rata-rata pertumbuhan tingkat nasional hanya sekitar 3,86 % (Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jendral Bina Produksi, 2007).

Produksi tanaman cabai sangat berfluktuasi dari musim ke musim sehingga harga cabai pasaran tidak stabil. Fluktuasi produksi dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya adanya kendala fisik seperti faktor tanah, iklim yang tidak mendukung dan faktor biologis. Salah satu faktor biologis tersebut adalah infeksi penyakit tanaman. Salah satu penyakit penting pada tanaman cabai adalah penyakit antraknosa yang disebabkan oleh jamur dari genus *Colletotrichum* (Semangun, 1989).

Penyakit antraknosa merupakan salah satu penyakit yang sangat berbahaya pada pertanaman cabai di Indonesia dan di beberapa negara Asia termasuk Cina bagian Selatan, Thailand, dan India (Shin, Chen, Hwang & Lee, 1999). Kerusakan yang disebabkan penyakit ini dapat menurunkan produktifitas sampai 65 % bahkan pada kondisi tertentu dapat menyebabkan kegagalan panen (puso).

Pengendalian dan penanganan penyakit sangat ditentukan keberhasilannya oleh kemampuan identifikasi dini keberadaan patogen penyebabnya. Oleh sebab itu ketersediaan sistem diagnosa yang akurat dan cepat merupakan suatu prasyarat penting keberhasilan penanganan pengendalian serangan penyakit antraknosa pada pertanaman cabai.

Sistem deteksi patogen penyebab antraknosa yang tersedia saat ini berbasis kepada analisis *bioassay* yang membutuhkan waktu paling tidak 2 minggu. Lebih



jauh, teknik ini sering tidak mampu secara pasti mengidentifikasi spesies bahkan *strain* ataupun isolat patogen yang diamati. Disamping itu, teknologi tersebut biasanya diterapkan pada saat tanaman telah berbuah dan hampir menghasilkan, sehingga identifikasi sering sudah terlambat. Oleh karena itu, dalam rangka meningkatkan keberhasilan penanganan penyakit antraknosa maka dibutuhkan suatu sistem identifikasi yang lebih cepat dan akurat. Alternatif yang bisa ditawarkan untuk kebutuhan tersebut adalah penggunaan teknik molekuler seperti yang telah diaplikasikan pada beberapa jenis tanaman maupun patogen dan organisme lainnya (Jamsari, 2004)

Cara pendeteksian penyakit yang dilakukan selama ini masih bertumpu kepada karakter morfologis dan fisiologis patogen yang berhasil diisolasi. Isolasi dan penetapan karakter morfologis dan fisiologis sulit dilakukan karena memerlukan keahlian khusus, dan hanya seorang taksonomis yang mampu melakukannya secara baik (Ristaino, Madritch, Trout & Parra, 1998). Disamping itu karakter fenotipik taksonomi bisa saling tumpang tindih diantara spesies dan perubahan-perubahan yang nyata dapat terjadi antara isolat dari spesies yang sama (Erwin & Ribeiro, 1996; Ristaino *et al.*, 1998). Perkembangan teknik molekuler yang sedemikian pesat pada tiga dasawarsa terakhir memberikan peluang yang besar bagi dikembangkannya perangkat deteksi yang sensitif dan spesifik dan dapat dilakukan dalam waktu yang relatif singkat. Pendekatan molekuler pada berbagai bidang penelitian semakin dipermudah dengan ditemukannya metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) untuk mengamplifikasi DNA secara *in vitro*. Perbedaan profil fragmen DNA hasil amplifikasi dengan PCR dapat digunakan sebagai alat untuk membedakan mikroba pada tingkat genus, spesies bahkan genotipe spesifik dari patogen (Edel, 1998).

Dalam proses PCR terjadi perbanyakan molekul-molekul spesifik DNA dengan bantuan primer-primer yang berupa oligonukleotid secara *in vitro*. Oligonukleotid merupakan sekuen nukleotida yang biasanya terdiri dari 15-35 basa nukleotida dan disintesis secara buatan. Dalam proses amplifikasi ini primer merupakan titik awal (*starting point*) dalam pembentukan rantai polinukleotida sintetik. Kemampuan dari suatu primer untuk berikatan pada sebuah templet DNA merupakan kunci utama dalam keberhasilan proses amplifikasi PCR

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Dari serangkaian penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan hal-hal sebagai berikut :

1. Umur biakan yang paling baik untuk dilakukan isolasi DNA adalah isolat yang berumur tidak lebih dari 2 hari pada media PDB (*Potato Dextrose Broth*).
2. Dari 6 kombinasi primer yang telah diuji, kombinasi primer dengan kode Cg 1A1-FR bersifat spesifik terhadap jamur spesies *Colletotrichum gloeosporoides* dan kombinasi primer dengan kode Cc 7BP1-FR bersifat spesifik untuk jamur spesies *Colletotrichum capsici*.

### 5.2 Saran

Disarankan agar dilakukan pengujian akurasi lebih lanjut terhadap primer yang telah diperoleh menggunakan sampel dengan latar belakang genetik yang lebih luas.





## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, Chainulfiffah dan Retroningrum, Debbie S. 2003. Deteksi Bakteri Patogen *Streptococcus pyogenes* dengan Teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Jurnal Natur Indonesia*. 6(1):1-4.
- Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jenderal Bina Produksi. Produksi Cabai Menurut Provinsi Tahun 2001 – 2005. <http://www.deptan.go.id/infoksekutif/horti/2006/Prod.Cabe4.htm> [25 Maret 2007 23:44]
- Bank Indonesia. 1998. Aspek Pemasaran Cabai Merah. *Online Tersedia pada* : [http://www.bi.go.id/sipok/lm/ind/cabai\\_merah/keuangan.htm](http://www.bi.go.id/sipok/lm/ind/cabai_merah/keuangan.htm)
- Barlow, Jim. *Scientists develop better way to detect presence of soybean fungus*, *Life Sciences Editor*, University of Illinois at Urbana-Champaign. [http://www.deptan.go.id/buletin/infomutu/juni\\_04.pdf](http://www.deptan.go.id/buletin/infomutu/juni_04.pdf) [6 November 2009 17:16]
- Bosland, P. W. 1996. *Capsicum: Innovative Uses of an Ancient Crop*. p. 479-487. In J. Janick (Ed.) *Progress in New Crops*. ASHS-Press, New York.
- Chen, X. M. 1998. Genome Scanning for RGA in Rice, Barley, and Wheat by High-Resolution Electrophoresis. *TAG* 97:345-355.
- David Ng. 2005. *Molecular Technique Lecture Note 2005*. <http://www.biotech.ubc.ca>. [3 Maret 2007 21:19]
- Erwin, D.C. & O.K. Ribeiro (1996). *Phytophthora Disease Worldwide*. St. Paul, Minnesota, APS Press.
- Edel, V. (1998). Polymerase Chain Reaction in Mycology: An Overview. In Bridge PD *et al.* (editor). *Applications of PCR in Mycology*. United Kingdom: CAB International. p. 1-20.
- Halliday, P. 1980. *Fungus Disease of Tropical Crops*. Cambridge. San Fransisco. 607 hal.
- Hartono, Sedyo. 2008. Identifikasi Molekuler Begomovirus Penyebab Penyakit Keriting Kuning pada Tanaman Tomat di Jawa Tengah. *Jurnal Akta Agrosia*. Vol 11 No. 1. Hal 69-74.
- Heiser, C. B. and P. G. Smith. 1953. *The Cultivated Capsicum Peppers*. *Econ. Bot.* 7: 214-226.
- Herison, Catur, Rustikawati dan Eliyanti. 2003. Penentuan Protokol yang Tepat untuk Menyiapkan DNA Genom Cabai (*Capsicum* sp.). *Jurnal Akta Agrosia* vol (6) : 38-43