

KARAKTERISTIK GEJALA PENYAKIT BERCAK ANTRAKNOS PADA TANAMAN ALPUKAT YANG DISEBABKAN OLEH JAMUR COLLETOTRICHUM SPP. DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER MENGGUNAKAN PRIMER UNIVERSAL ITS 1 DAN 4

CHARACTERIZATION OF ANTHRACNOSE SPOT DISEASE SYMPTOMS IN AVOCADO PLANTS CAUSED BY COLLETOTRICHUM SPP. FUNGI AND MOLECULAR IDENTIFICATION USING UNIVERSAL PRIMERS ITS 1 AND 4

Kris Winarsih Adi Safitri 1*

1 Master's in Phytopathology, Faculty of Agriculture, Universitas Gadjah Mada

* Penulis Korespondensi: E-mail: kriswinarsihadisafitri@mail.ugm.ac.id

ABSTRACT

Avocado is one of the horticultural commodities that has a very high economic value. In its cultivation practice, there are often brown spot pathogen attacks on leaves caused by the fungus Colletotrichum sp. Identification of pathogenic fungi can be done morphologically and molecularly. The results of observations showed that the spots that attacked avocado leaves were Colletotrichum sp. which caused symptoms of yellow spots then became blackish brown with further symptoms of spots turning white and causing necrosis, namely tissue death.

Keywords: *Avocado, Colletotrichum, anthracnose*

ABSTRAK

Alpukat merupakan salah satu komoditas tanaman hortikultura yang memiliki nilai ekonomis yang sangat tinggi. Dalam praktik budidayanya seringkali terdapat serangan patogen bercak coklat pada daun yang disebabkan oleh jamur *Colletotrichum* sp. Identifikasi jamur patogen dapat dilakukan secara morfologi maupun molekuler. Hasil pengamatan menunjukkan bercak yang menyerang daun alpukat merupakan jamur *Colletotrichum* sp. yang menyebabkan gejala bercak berwarna kuning kemudian menjadi berwarna coklat kehitaman dengan gejala lanjut bercak berubah menjadi putih dan menyebabkan nekrosis yaitu jaringan menjadi mati.

Kata Kunci: Alpukat, *Colletotrichum*, antraknosa

1. PENDAHULUAN

Alpukat merupakan salah satu komoditas tanaman hortikultura yang memiliki nilai ekonomis yang sangat tinggi dan menjadi salah satu buah-buahan yang memiliki pasar di dalam negeri maupun di luar negeri (Nasution, 2020). Kandungan buah alpukat yang

begitu banyak seperti karotenoid, asam lemak, mineral, protein, dan vitamin menjadikan buah ini digemari oleh Masyarakat. Selain itu buah ini mempunyai khasiat sebagai antioksidan, antidiabetik, dan efek hipolipidemik (Tabeshpour, 2017). Alpukat juga sangat bermanfaat bagi kesehatan antara lain dapat membantu menjaga berat badan, mengendalikan tekanan darah, membantu kesehatan mata, dan membantu kesehatan jantung (Rizal, 2022).

Dalam praktik budidaya tanaman alpukat mengalami berbagai kendala, salah satunya yaitu adanya serangan patogen bercak coklat pada daun yang disebabkan oleh jamur *Colletotrichum* sp. Patogen ini menyebabkan bercak pada daun dengan bentuk bulat hingga tidak teratur dengan ukuran kurang dari 5 mm yang lama-kelamaan akan menjadi besar. Pusat bercak sering pecah sehingga menyebabkan bercak berlubang. Serangan berat menyebabkan daun-daun yang terserang mudah gugur, sehingga ranting-ranting tanaman alpukat menjadi gundul (Syahnen dan Ekanitha, 2015).

Identifikasi jamur patogen dapat dilakukan secara morfologi maupun molekuler. Identifikasi secara morfologi dapat dilakukan dengan menumbuhkan patogen pada media PDA (Sandy et al. 2015). Kemudian dilakukan pengamatan secara makroskopis meliputi warna koloni, tekstur, miselium, dll. Sedangkan pengamatan morfologi secara mikroskopis dapat dilakukan dengan mengamati miselium menggunakan mikroskop untuk mengetahui bentuk hifa, spora, konidia, dll.

Identifikasi secara molekuler dapat dilakukan PCR dengan menggunakan amplifikasi DNA Fungi. Ekstraksi genom DNA fungi di amplifikasi menggunakan primer universal. Primer tersebut yaitu ITS1 dan ITS4. Primer ITS1 (5'-TCT GTA GGT GAA CCT GCG G-3') dan ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') (White et al., 1990 cit Sandy et al., 2015).

2. Bahan dan Metode Penelitian

2.1. Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada tanggal 28 Februari sampai 17 Mei 2024 di Klinik Penyakit Tumbuhan dan Laboratorium Mikologi, Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

2.2 Pelaksanaan Penelitian

2.2.1 Karakterisasi gejala

Pengambilan sampel dilakukan dengan mengamati gejala penyakit yang terdapat pada tanaman alpukat yang berada di lingkungan Fakultas Pertanian UGM. Gejala penyakit pada daun alpukat terlihat adanya bercak dengan warna kuning dan coklat kemerahan hingga kehitaman, dengan bentuk bulat. Jika gejala semakin parah bercak akan semakin besar dan tidak beraturan. Ciri-ciri gejala tersebut diindikasikan merupakan penyakit bercak yang disebabkan oleh *Colletotrichum* spp.

2.2.2 Isolasi dan pemurnian patogen

Persiapkan Sampel daun alpukat yang diindikasikan bercak jamur *Colletotrichum* spp. dilakukan sterilisasi permukaan menggunakan alkohol, kemudian dipotong berbentuk persegi dengan ukuran 0,5 x 0,5 cm. Daun alpukat kemudian direndam menggunakan larutan klorox 1% selama 3-5 menit, setelah itu dibilas menggunakan aquades steril selama 3-5 menit. Setelah itu potongan daun alpukat dikeringkan menggunakan kertas saring steril hingga kering. Lalu dilakukan isolasi secara aseptis di dalam Laminar Air Flow (LAF) yang sudah disterilkan menggunakan alkohol dan sinar UV. Daun alpukat diambil menggunakan pinset steril dan diisolasikan pada media PDA dengan 4 kuadran di masing-masing sisi media. Setelah selesai penanaman/isolasi, petridish dililit menggunakan plastik wrab untuk mencegah kontaminasi dari lingkungan kemudian diinkubasikan dalam suhu ruang selama 3-5 hari, dan dilakukan pengamatan setiap harinya untuk mengetahui isolat mulai tumbuh atau terjadi kontaminasi.

Setelah 3 hari isolate jamur yang sudah tumbuh dilakukan reculture dengan memotong miselium menggunakan scalpel steril pada media PDA yang baru untuk memperoleh kultur jamur yang murni. Setelah itu dilakukan inkubasi kembali pada suhu ruangan selama 3-5 hari. Setelah jamur tumbuh maksimal hingga memenuhi cawan petridish dan tidak terjadi kontaminasi, dilakukan pengamatan morfologi secara makroskopis meliputi warna koloni, bentuk koloni dan miselium. Setelah itu dilakukan pengamatan jamur secara mikroskopis dengan mengambil sebagian kecil miselium kemudian dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran yang diinginkan untuk mengamati hifa, konidia, acervulus, dan sebagainya.

2.2.3 Ekstraksi DNA

Miselium cendawan diambil menggunakan scalpel steril dan ditimbang sebanyak 0.2 g kemudian digerus dengan nitrogen cair hingga menjadi halus lalu dimasukkan ke dalam tabung eppendorf, selanjutnya ditambahi 1 mL bufer ekstrak dan 10 μ L β -mercapto ethanol dan dicampur hingga homogen menggunakan vorteks. Setelah itu dilakukan pemanasan untuk menghancurkan dinding sel di dalam penangas air dengan suhu 65 °C selama 30 menit dan didinginkan sampai mencapai suhu ruang. Sebanyak 750 μ L kloroform isoamilalkohol ditambahkan ke dalam tabung dan dicampur hingga homogen kemudian disentrifugasi pada kecepatan 11.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh dipindahkan ke tabung eppendorf baru dengan menambahkan 1.000 μ L kloroform dicampur hingga homogen dengan vorteks dan disentrifugasi kembali pada 11.000 rpm selama 10 menit. Supernatan kemudian dipindahkan ke tabung eppendorf yang baru dan ditambahkan 1000 μ L isopropanol dingin. Tabung dikocok perlahan untuk mengikat DNA dan diinkubasi pada suhu -20 °C selama 30 menit. Benang DNA yang diperoleh disentrifugasi selama 10 menit hingga mengendap. Supernatan dibuang dan pelet dicuci dengan etanol 70% lalu disentrifugasi lagi pada 11.000 rpm selama 10 menit. Etanol dibuang dan pelet dikeringvakumkan. Pelet diresuspensi dalam 100 μ L bufer TE dan disimpan pada suhu -20 °C untuk digunakan dalam proses amplifikasi DNA.

2.2.3 Amplifikasi DNA dengan PCR

Proses PCR digunakan untuk amplifikasi DNA jamur yang sudah diekstraksi dan diperoleh kemurnian dari konsentrasi DNA target. Proses amplifikasi dilakukan pada mesin Thermo Cycle PCR Gene Amp PCR System 9700 versi 3.12. Amplifikasi menggunakan primer universal yaitu forward primer ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') dan reverse primer ITS4 (5'-TCCTCCGCTTAT TGATATGC-3') dengan ukuran target hasil amplifikasi ialah kurang lebih 600 pb. Reaksi amplifikasi DNA dengan volume total 10 μ L terdiri atas PCR mix 5 μ L, primer forward 1 μ L, primer reverse 1 μ L, 2 μ L DNA template dan 1 μ L ddH₂O. Kondisi amplifikasi dibagi menjadi beberapa tahap, yaitu tahap pertama diawali dengan pradenaturasi suhu 95°C selama 5 menit, kemudian tahap kedua yaitu denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik. Proses ini berfungsi untuk memastikan apabila molekul

telah menjadi DNA untai tunggal. Tahap ketiga yaitu annealing pada suhu 55°C selama 2 menit dan final extension dilakukan pada suhu 68 °C selama 10 menit dilakukan 30 siklus amplifikasi yang masing-masing siklus terdiri atas pemisahan utas DNA pada suhu 94°C selama 1 menit, penempelan primer pada suhu 58 °C selama 1 menit, sintesis DNA pada suhu 72 °C selama 1 menit dan penyambungan DNA pada suhu 72 °C selama 7 menit.

2.2.3 Elektroforesis dan visualisasi DNA

Produk hasil amplifikasi DNA dianalisis menggunakan gel agarosa 1% (0.5x Tris-Borate EDTA/TBE). Elektroforesis dilakukan pada 5 volt selama 50 menit dan selanjutnya gel agarosa direndam dalam larutan pewarna yang berisi etidium bromida (1%) selama 15 menit, lalu dicuci dengan H₂O selama 10 menit. Hasil elektroforesis divisualisasikan dengan transilluminator ultraviolet (APOLLO portable light box: model LB101, 1 lamp unit, 110 volts 60 hz.). Fragmen DNA yang terbentuk pada hasil elektroforesis didokumentasi.

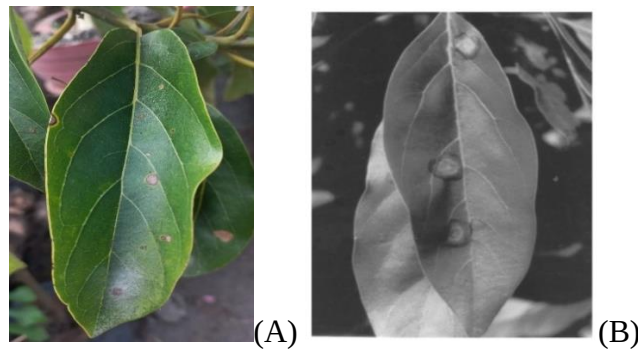
3. Hasil dan Pembahasan

Identifikasi penyebab penyakit pada tanaman perlu dilakukan untuk mengetahui patogen apa yang menyebabkan penyakit pada tanaman tersebut. Hal ini sangat diperlukan untuk mengetahui cara pengendalian penyakit dengan tepat. Proses identifikasi penyakit dilakukan dengan mengamati karakteristik gejala penyakit yang selanjutnya dilakukan isolasi patogen dan identifikasi secara molekuler untuk memastikan spesies jamur penyebab penyakit. Adapun proses identifikasi penyakit yang dilakukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

3.1 Karakteristik gejala

Karakteristik gejala penyakit bercak coklat pada daun alpukat diduga disebabkan oleh jamur *Colletotrichum* sp. yang menimbulkan gejala nekrotik pada daun alpukat. Dapat dilihat pada (Gambar 1) bahwa gejala daun alpukat yang terserang patogen ini mengalami bercak dengan warna coklat yang muncul di bagian tengah dan tepi daun. Gejala awalnya bercak berwarna kuning, kemudian menjadi coklat kehitaman dan lama-

kelamaan bercak berubah warna menjadi putih di tengah yang menandakan jaringan tanaman sudah mati atau nekrotik.

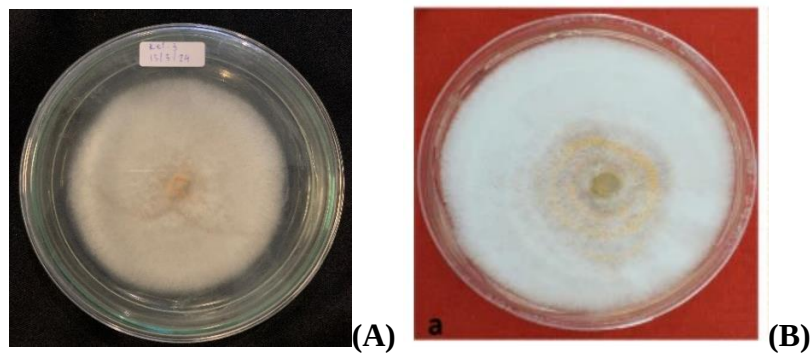


Gambar 1. Gejala penyakit bercak *Colletotrichum* sp. pada daun alpukat.
(A) Daun alpukat yang akan diisolasi (B) Bercak *Colletotrichum* daun alpukat literatur (Marais, 2007)

Hal ini sesuai dengan Martoredjo (2010), yang mengatakan bahwa gejala bercak antraknosa mula-mula berupa bercak kecil yang selanjutnya dapat berkembang menjadi lebih besar. Gejala tunggal cenderung berbentuk bulat, tetapi karena banyaknya gejala maka bercak akan bersatu hingga membentuk bercak yang lebih besar dengan bentuk tidak bulat. Pada gejala lanjut, bagian tepinya berwarna coklat dan di bagian tengahnya berwarna putih. Su'udi et al (2015) mengatakan pada daun umur lebih 10 hari terdapat bercak coklat dengan halo warna kuning dan permukaan menjadi kasar dan serangan lebih lanjut menyebabkan bercak menjadi berlubang. Patogen ini dapat menyerang daun yang dapat mengganggu proses pertumbuhan dan fotosintesis tanaman. Selain itu patogen juga dapat menyerang buah yang dapat menyebabkan kehilangan hasil dan kerugian yang besar.

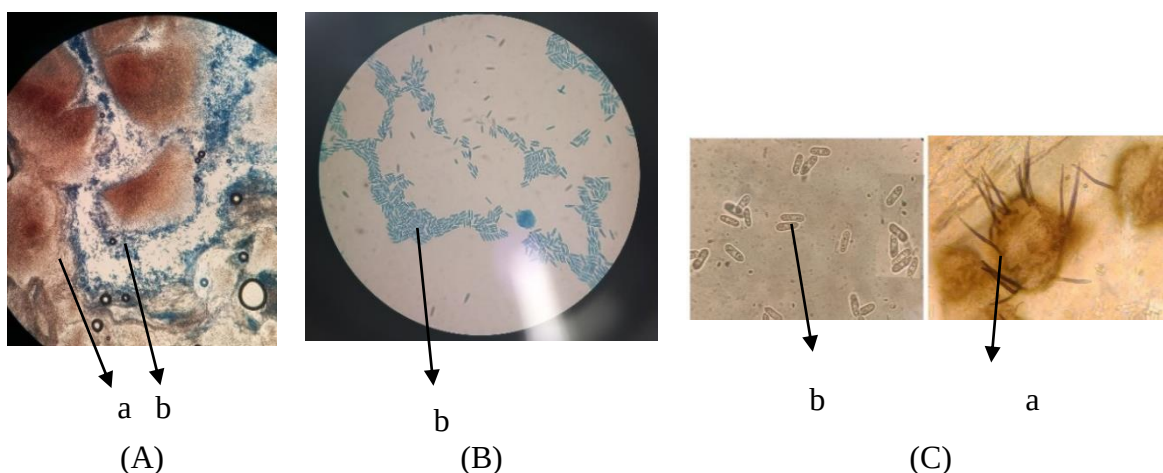
3.2 Hasil isolasi dan pemurnian patogen

Dari hasil penelitian isolat yang ditumbuhkan pada media PDA diperoleh (Gambar 2. (A)) terlihat bahwa miselium berwarna putih yang tumbuh dengan tebal seperti kapas dengan berbentuk bulat teratur hingga memenuhi petridish. Pada bagian tengah terdapat acervulus yang berwarna orange dengan bentuk bulat hingga lonjong. Hal ini sesuai dengan Ramirez-Gil and Morales (2019) yang mengatakan koloni *Colletotrichum* sp. pada media PDA mempunyai warna yang sangat bervariasi, putih agak orange hingga salmon, pertumbuhan cepat dengan miselia padat.



Gambar 2. Isolasi gejala penyakit bercak *Colletotrichum* sp. daun alpukat pada media PDA (A) Miselium dan acervulli *Colletotrichum* pada bagian tengah miselium (B) Miselium dan acervulli *Colletotrichum* daun alpukat literatur (Dutta *et al.* 2024).

Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Dutta *et al* (2024) *Colletotrichum* sp. mempunyai warna koloni putih sampai abu-abu dengan pigmen oranye kekuningan dan terdapat cervullus dengan massa konidia oranye. Pada pengamatan morfologi jamur *Colletotrichum* sp. secara mikroskopis dapat dilihat pada (Gambar 3) bahwa terdapat *acervullus* dengan bentuk tidak beraturan dengan warna orange dan terdapat konidia yang hialin. Konidia berbentuk lonjong dengan bagian ujung membulat, dan tidak bersepta. Hal ini sesuai dengan Ramirez-Gil and Morales (2019) yang mengatakan bahwa konidia *Colletotrichum* sp. berbentuk hialin, uniseluler, silindris, lonjong, dan ellipsoid-fusiform dengan satu sisi meruncing dan sisi lainnya membulat dan yang berukuran $3,6\text{--}5,4 \times 10,5\text{--}15,3 \mu\text{m}$ ($n = 50$).



Gambar 3. *Colletotrichum* sp. secara mikroskopis (A) Konidia dan acervulli *Colletotrichum* sp. (B) Konidia *Colletotrichum* (C) Konidia dan acervulli literatur (a. acervulli, b. konidia) (Dutta, *et al.* 2024)

Sedangkan menurut Bustamente et al. (2022) secara morfologi, *Colletotrichum* sp. termasuk spesies jamur yang mempunyai karakteristik dengan konidia melengkung, appressoria berbentuk bulat hingga lonjong, serta setae berwarna gelap dan kaku. Patogen ini dapat menyerang tanaman tropis dan subtropis dengan suhu optimal lebih tinggi (25–30 °C) terbukti tidak mampu menyebabkan penyakit di daerah yang lebih dingin. Berdasarkan hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis tersebut diatas, hasil identifikasi dan deskripsi dengan Pustaka diketahui bahwa fungi penyebab penyakit bercak daun pada bibit alpukat adalah dari genus *Colletotrichum*. Menurut Alexopoulos dan Mims (1979) *Colletotrichum* dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi	: Amastigomycota
Subdivisi	: Deuteromycotina
Kelas	: Deuteromycetes
Sub kelas	: Coelomycetidae
Ordo	: Melanconiales
Famili	: Melanconiaceae
Genus	: <i>Colletotrichum</i>
Spesies	: <i>Colletotrichum</i> sp.

3.3 Identifikasi molekuler

Tahapan terakhir pada penelitian ini adalah melakukan ekstraksi dan pengujian sampel DNA jamur dengan proses Polymerase Chain Reaction (PCR) dan elektroforesis. Ekstraksi DNA menjadi tahap awal yang harus dilakukan, ekstraksi jamur menggunakan 1 mL bufer ekstrak dan 10 µL β-mercapto ethanol bertujuan untuk menghancurkan dinding sel di dalam penangas air dengan suhu 65 °C selama 30 menit (Rangkuti, et al. 2017). Buffer ekstrak digunakan untuk menjaga pH dan stabilitas protein selama proses ekstraksi, sedangkan β-mercaptoethanol adalah agen pereduksi yang kuat yang digunakan untuk memutus ikatan disulfida (S-S) dalam protein yang dapat membantu dalam denaturasi protein, yang memungkinkan protein untuk berada dalam bentuk yang terurai.

Setelah itu dilakukan proses PCR untuk amplifikasi DNA jamur yang sudah diekstraksi dan diperoleh kemurnian dari konsentrasi DNA target. Proses amplifikasi dilakukan pada mesin Thermo Cycle PCR Gene Amp PCR System 9700 versi 3.12.

Amplifikasi menggunakan primer universal yaitu forward primer ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') dan reverse primer ITS4 (5'-TCCTCCGCTTAT TGATATGC-3') dengan ukuran target hasil amplifikasi ialah kurang lebih 600 pb. Adapun bahan yang digunakan untuk PCR sampel jamur antara lain: PCR mix 5 µL, primer forward 1 µL, primer reverse 1 µL, 2 µL DNA template dan 1 µL ddH₂O.

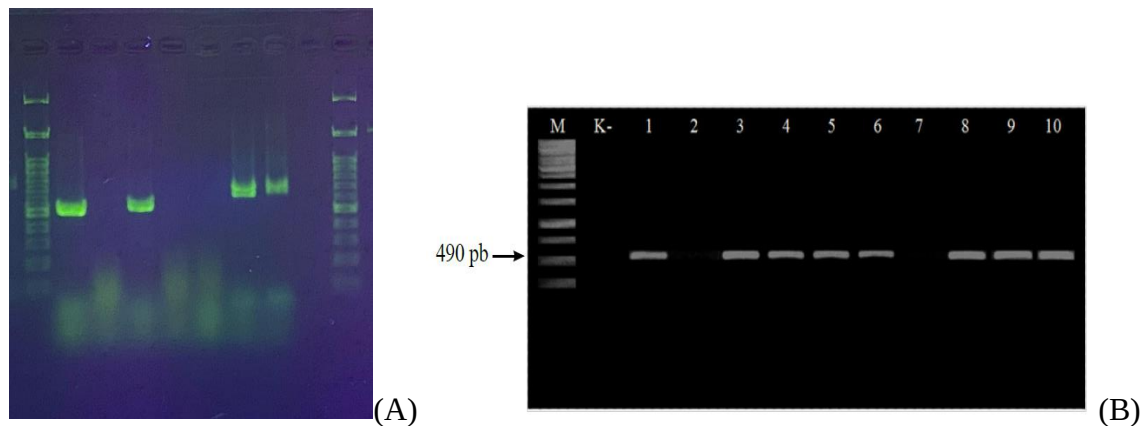
Primer forward ITS 1 dan reverse ITS 4 berfungsi sebagai pemicu untuk mengikat DNA template dan memulai proses amplifikasi. Sedangkan DNA template berfungsi sebagai cetakan awal dalam proses amplifikasi DNA. Kualitas DNA template sangat penting karena berpengaruh terhadap reaksi amplifikasi dan dapat menghambat kerja enzim DNA polymerase, sehingga proses amplifikasi sulit dilakukan. Sedangkan ddH₂O digunakan untuk mengencerkan PCR Mix agar DNA tidak berada dalam kondisi kering yang dapat mengganggu sintesis DNA oleh enzim Taq Polimerase (Sahetapy et al., 2020).

Identifikasi secara molekular adalah identifikasi dengan menggunakan DNA sebagai daerah yang diamati. Bagian DNA yang umumnya digunakan untuk mengidentifikasi jamur adalah pada fragmen ITS. Pada penelitian pengujian PCR jamur menggunakan primer forward ITS1 dan reverse ITS4 karena keduanya berfungsi sebagai penanda spesifik untuk mendeteksi DNA jamur. Primer ITS1 dan ITS4 digunakan untuk mengamplifikasi fragmen gen pengkode 28S rDNA, yang merupakan bagian dari DNA ribosom jamur. Kedua primer ini sangat spesifik dan dapat mengidentifikasi DNA jamur dengan akurasi tinggi (Hermansyah et al. 2018). Setelah itu produk hasil amplifikasi DNA dianalisis menggunakan gel agarosa 1% (0.5x Tris-Borate EDTA/TBE).

Perkembangan penyakit ini tergantung pada lingkungan, kondisi yang sesuai untuk perkembangan penyakit antraknosa adalah pada kelembaban relatif (RH) antara 95% - 100%. Suhu optimum untuk perkembangan *Colletotrichum* sp. adalah 28°C - 36 °C. Hal ini menyebabkan serangan penyakit di musim penghujan lebih tinggi daripada di musim kemarau (Anggraini dan Dendang, 2009).

Penyebaran patogen *Colletotrichum* sp. dapat melalui air, seperti hujan, irigasi, atau percikan air yang mengandung spora jamur. Selain itu juga bisa melalui inang alternatif seperti tanaman lain yang terinfeksi. Inang alternatif ini dapat menjadi reservoir spora

jamur dan memungkinkan penyebaran penyakit ke tanaman lain (Anggraini dan Dendang, 2009).



Gambar 4. Hasil Elektroforesis jamur (A) Visualisasi pita DNA hasil penelitian paling kiri dan paling kanan marker menunjukkan besaran bp, dan diikuti sampel isolat J1, J2a, J2b, J3, J.4, J40, J41 (B) Visualisasi pita DNA *Colletotrichum acutatum* (Ibrahim, *et al.* 2017).

Berdasarkan hasil elektroforesis yang dilakukan selama praktikum, visualisasi DNA total jamur menghasilkan pita DNA. Pita DNA yang muncul merupakan isolat jamur kelompok lain yaitu *Colletotrichum* sp. dari antraknosa cabai dan *Rhizoctonia* sp. dari buncis. Sedangkan isolat *Colletotrichum* sp. dari kelompok 3 tidak muncul. Pada hasil penelitian isolat J1 dan J2b berhasil teramplifikasi dengan ukuran pita DNA 500 bp. Dari hasil peruntutan DNA sampel memiliki kemiripan yang tinggi dan hasil elektroforesis sampel J1 dan J2b mempunyai kekerabatan sebagai spesies yang dekat.

Hal ini sesuai dengan Ibrahim et al (2017) yaitu penggunaan primer spesifik *Colletotrichum acutatum* CaInt2/ITS4 pada isolat yang diuji menunjukkan adanya amplifikasi DNA pada 40 isolat dengan ukuran pita DNA $\pm$ 490 bp. Sedangkan penelitian Benatar et al (2023) yang melakukan identifikasi molekuler berbasis PCR dan sekuensing terhadap DNA dari isolat *Colletotrichum* sp. dari isolat buah mangga yang teramplifikasi pada kisaran 600 bp untuk target penanda wilayah ITS. Kekerabatan isolat yang diperoleh menunjukkan kekerabatan yang dekat dengan *Colletotrichum asianum* yang diisolasi dari mangga. Dari ukuran target hasil amplifikasi yang sudah diuraikan sebelumnya yang menyatakan bahwa target band ITS 1 dan ITS 4 ialah kurang lebih 600 pb, jadi sampel J1 dan sampel J2b masih mempunyai kekerabatan yang dekat dengan *Colletotrichum acutatum* dan *Colletotrichum asianum*. Sedangkan sampel J3 dari kelompok 3 yang berasal dari *Colletotrichum* sp. bercak daun alpukat

tidak teramplifikasi diduga karena konsentrasi DNA terlalu rendah atau DNA terkontaminasi sehingga target band tidak terdeteksi pada saat elektroforesis. Konsentrasi DNA yang rendah juga menjadi faktor mengapa pita DNA tidak muncul selama proses elektroforesis karena dapat menghasilkan jalur yang lebih tipis. Hal ini disebabkan oleh jumlah fragmen DNA yang lebih sedikit dalam gel sehingga menyebabkan overloading yang mengaburkan pola elektroforesis (Murthi & Safni, 2021).

4. Kesimpulan

Dari hasil pengamatan, dapat disimpulkan bahwa bercak yang menyerang daun alpukat merupakan jamur *Colletotrichum* sp. yang menyebabkan gejala bercak cerwana kuning kemudian menjadi berwarna coklat kehitaman dengan gejala lanjut bercak berubah menjadi putih dan menyebabkan nekrosis yaitu jaringan menjadi mati. Setelah dilakukan analisis PCR menggunakan primer forward ITS 1 dan reverse ITS 4 sampel kelompok 3 tidak berhasil teramplifikasi. Hal ini diduga karena konsentrasi DNA terlalu rendah atau DNA terkontaminasi sehingga target band tidak terdeteksi pada elektroforesis.

Daftar Pustaka

- Alexopoulos, C. J. dan Mims, CW. 1979. *Introductory Mycology*. John Wiley & Sons.
- Anggraini, I. dan Dendang, B. 2009. Penyakit Bercak Daun Pada Semai Nyatoh (*Palaquium* sp.) di Persemaian Balai Penelitian Kehutanan Ciamis. *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*. Vol. 6 No.2, April 2009, 99-108.
- Benatar, G.V., Nurhayati, Y., Febryani, N. 2023. Identifikasi *Colletotrichum asianum* Penyebab Antraknosa Mangga Kultivar Golek di Indramayu. *Media Pertanian*. Vol. 8 No.1, Mei 2023, pp. 1-13. DOI: 10.37058/mp.v8i1.6900.
- Bustamente, M.I., Osorio-Navarro, C., Fernandez, Y., Bourret, T.B., Zamorano, A., and Henriquez-Saez, J.L. 2020. First Record of *Colletotrichum anthrisci* Causing Anthracnose on Avocado Fruits in Chile. *Pathogens* 2022, 11(10),1204; <https://doi.org/10.3390/pathogens11101204>
- Dutta, R., Jayalakshmi, K., Kumar, S., Radhakrishna, A., Manjunathagowda, D.C., Sharath, M.N., Gurav, V.S., dan Mahajan, V. 2024. Insights into the cumulative effect of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Fusarium acutatum* causing anthracnose-twister disease complex of onion. *Scientific Reports* (2024) 14:9374. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-59822-w>

- Hermansyah, Sutami, N., dan Miksusanti. 2018. Amplifikasi PCR Domain D1/D2 28S rDNA Menggunakan Primer ITS1 dan ITS4 Sampel DNA dari *Candida tropicalis* yang Diisolasi Dengan Metode Pendinginan. *Indo. J. Pure App. Chem.* 1 (1), pp. 1-9, 2018.
- Ibrahim, R., Hidayat, S. H., dan Widodo. 2017. Keragaman Morfologi, Genetika, dan Patogenisitas *Colletotrichum acutatum* Penyebab Antraknosa Cabai di Jawa dan Sumatera. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. Volume 13, Nomor 1, Januari 2017. Halaman 9–16. DOI: 10.14692/jfi.13.1.9–16
- Marais, L.J. 2007. Avocado Diseases of Major Importance Worldwide and their Management. *Diseases of Fruits and Vegetables*, Volume II, 1-36. DOI: 10.1007/1-4020-2607-2_1
- Martoredjo, T. 2010. Ilmu Penyakit Tanaman dan Pasca Panen. Bumi aksara. Jakarta.
- Murthi, R. S., & Safni, I. (2021, June). Isolation and selection specific bacteriophage from banana in north Sumatera to biologically control *Ralstonia syzygii* sub sp. *celebesensis* in vitro. In IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science* (Vol. 782, No. 4, p. 042018). IOP Publishing.
- Ramirez-Gil, J.G., and Morales, J. G. 2019. Polyphasic identification of preharvest pathologies and disorders in avocado cv. Hass. *Agronomía Colombiana*, vol. 37, no. 3, pp. 213-227, 2019.
- Rizal Fadli. 2022. Ini Manfaat Buah Alpukat untuk Kesehatan. <https://www.halodoc.com/artikel/ini-manfaat-buahalpukat-untuk-kesehatan>, diakses pada 16 Juni 2024.
- Sandy, Y.A., Djauhari, S. dan Sektiono, A.W. 2015. Identifikasi Molekuler Jamur Antagonis *Trichoderma harzianum* Diisolasi Dari Tanah Pertanian di Malang, Jawa Timur. *Jurnal HPT* Volume 3 Nomor 3, Agustus 2015. ISSN: 2338 – 4336
- Su'udi, M, Karosekali, M.I, Setyaningsih, R.B. 2015. Petunjuk Lapangan Pengendalian Hama Terpadu (SL-PHT) Karet. Direktorat Perlindungan Perkebunan. Direktorat Jenderal Perkebunan. Jakarta.
- Syahnén, M.S., dan Ekanitha, S.B.P. 2015. Ancaman Penyakit Antraknosa (*C. gloeosporioides*) pada Tanaman Kakao dan Pengendaliannya. Laboratorium Lapangan Balai Besar Perbenihan dan Proteksi Tanaman Perkebunan (BBPPTP) Medan. Hal:1-14.
- Tabeshpour, J., Razavi, B.M., dan Hosseinzadeh, H. (2017). Effects of avocado (*Persea americana*) on metabolic syndrome: a comprehensive systematic review. *Phyther Res*, 31(6), 819-837.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J. 1990. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. A Guide to Methods and applications. *Academic Press*. San Diego. Pg. 315-322.