

Identifikasi *Colletotrichum* spp. Asal Tanaman Pepaya

Identification of *Colletotrichum* spp. Originated from Papaya Plant

Eryna Elfasari Rangkuti, Suryo Wiyono, Widodo*
Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

ABSTRAK

Colletotrichum spp. sebagai penyebab penyakit antraknosa merupakan salah satu faktor pembatas produksi pepaya (*Carica papaya*). Tujuan penelitian ini ialah mengidentifikasi spesies *Colletotrichum* spp. dari berbagai bagian tanaman pepaya yang menunjukkan gejala antraknosa. Sebanyak 20 galur *Colletotrichum* spp. berhasil diisolasi, selanjutnya dilakukan pengelompokan menjadi 3 tipe morfologi berdasarkan kemiripan koloni dan bentuk konidia. Sebanyak 12 galur dari kelompok I dan 3 galur dari kelompok II diidentifikasi sebagai *C. gloeosporioides sensu lato* berdasarkan morfologi koloni dan bentuk konidia silinder yang kedua ujungnya membulat. Sementara itu 1 galur dari kelompok II secara molekuler diidentifikasi sebagai *C. magnum*. Empat galur dari kelompok III dengan bentuk konidia melengkung dan berujung runcing, serta membentuk setae pada medium buatan diidentifikasi secara molekuler sebagai *C. truncatum*. *C. gloeosporioides* ditemukan pada batang, tangkai daun, dan buah. *C. magnum* dan *C. truncatum* masing-masing ditemukan pada tangkai daun dan buah. Selain karakter morfologi dan molekuler, perbedaan respons pertumbuhan koloni terhadap suhu dapat digunakan untuk mengonfirmasi spesies *Colletotrichum* tersebut. Keberadaan *Colletotrichum* yang menginfeksi pada bagian batang dan tangkai daun pepaya di pertanaman dan temuan spesies *C. magnum* dan *C. truncatum* pada tanaman ini merupakan laporan pertama di Indonesia.

Kata kunci: *C. gloeosporioides*, *C. magnum*, *C. truncatum*, morfologi, molekuler

ABSTRACT

Colletotrichum spp. is known as the causal agent of anthracnose and considered as an important limiting factors on papaya production. The objective of this study was to determine the species of *Colletotrichum* spp. from various plant parts of papaya (*Carica papaya*) showing anthracnose symptom. Twenty isolates of *Colletotrichum* spp. was isolated and were grouped into 3 morphological groups based on colony similarity, conidial morphology, and setae formation. A total of 12 isolates of group I and 3 isolates of group II were identified morphologically as *C. gloeosporioides sensu lato* based on cylindrical conidia with rounded on both ends and colony morphology. Meanwhile, 1 isolate of group II was molecularly identified as *C. magnum*. Four isolates of group III with a curved and pointed-end conidia, and produced setae on artificial medium were identified molecularly as *C. truncatum*. *C. gloeosporioides* was obtained on stem, leaf petiole, and fruit. *C. magnum* and *C. truncatum* were only obtained on leaf petiole and fruit, respectively. In addition to morphological and molecular characters, differences in colony growth responses to temperature can be used to distinguish the species of *Colletotrichum*. To our knowledge the existence of anthracnose symptom on the stems and leaf petioles of papaya in the fields and the discovery of *C. magnum* and *C. truncatum* isolated from papaya was the first report in Indonesia.

Key words: *C. gloeosporioides*, *C. magnum*, *C. truncatum*, molecular, morphology

*Alamat penulis korespondensi: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Jalan Kamper, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680
Tel: 0251-8629364, Faks: 0251-8629362, Surel: widodo@apps.ipb.ac.id

PENDAHULUAN

Pepaya (*Carica papaya*) merupakan salah satu buah yang banyak dikonsumsi di Indonesia. Salah satu faktor pembatas dalam peningkatan produksi, baik kualitas maupun kuantitas buah pepaya ialah infeksi *Colletotrichum* sp. penyebab antraknosa ketika buah masih di pertanaman maupun saat pascapanen.

Pada umumnya antraknosa pada pepaya lebih dikenal sebagai penyakit pascapanen (Rahman *et al.* 2008), akan tetapi Haggag dan Singer (2013) melaporkan *C. capsici* dapat menyebabkan antraknosa sebelum dan sesudah pascapanen. Antraknosa dapat menyerang batang, tangkai, dan buah pepaya di pertanaman berdasarkan pengamatan di berbagai daerah di Indonesia. Bahkan dari hasil pengamatan di lahan, buah yang masih hijau juga sudah mulai terserang, terutama pada kultivar pepaya tipe ukuran medium (1–2 kg). Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengoleksi spesies *Colletotrichum* pada berbagai bagian tanaman pepaya dan mengidentifikasinya berdasarkan pada ciri morfologi, molekuler, dan respons suhu. Pengetahuan dasar ini diharapkan berguna dalam menyusun strategi pengendalian penyakit antraknosa pada pepaya.

BAHAN DAN METODE

Isolasi *Colletotrichum* spp.

Cendawan diisolasi dari batang, tangkai, dan buah pepaya yang menunjukkan gejala khas antraknosa. Buah pepaya tersebut berasal dari kebun percobaan Pusat Kajian Hortikultura Tropika Pasir Kuda, Bogor dan kebun pepaya milik petani di Desa Tambak Mulyo, Kabupaten Kebumen, Jawa Tengah. Isolasi cendawan dilakukan dengan menanam jaringan tanaman pada medium agar-agar dekstrosa kentang (ADK) dan diinkubasi pada suhu 28 °C. Cendawan yang tumbuh dengan ciri-ciri sebagai cendawan *Colletotrichum* dimurnikan mengikuti metode yang dikemukakan oleh Choi *et al.* (1999).

Identifikasi Morfologi

Colletotrichum diidentifikasi mengikuti Watanabe (2002), serta pustaka acuan lainnya, yaitu Smith dan Black (1990), Zakaria dan Bailey (2000), Photita *et al.* (2005), dan Weir *et al.* (2012). Pengamatan dilakukan terhadap warna koloni, pembentukan seta, dan bentuk konidium.

Identifikasi Molekuler *Colletotrichum* spp.

Isolasi DNA Total. Sebanyak 3 potong (diameter ± 5 mm) biakan *Colletotrichum* spp. berumur 10 hari dibiakkan ke dalam erlenmeyer berisi 100 mL *potato dextrose broth* (PDB) dan diinkubasikan selama 7 hari pada suhu kamar. Miselium cendawan dipanen dengan filtrasi vakum dan dicuci menggunakan akuades steril, selanjutnya dikeringkan. DNA diekstraksi dan dimurnikan menurut metode Sambrook *et al.* (1989) yang dimodifikasi pada tahap ekstraksi DNA, yaitu suhu dan waktu pemanasannya. Sebanyak 0.2 g miselium cendawan digerus dengan nitrogen cair hingga menjadi serbuk lalu dimasukkan ke dalam tabung eppendorf, selanjutnya ditambahi 1 mL bufer ekstrak dan 10 µL β-mercapto ethanol dan dicampur hingga homogen menggunakan vorteks. Pemanasan dilakukan untuk menghancurkan dinding sel di dalam penangas air dengan suhu 65 °C selama 30 menit dan didinginkan sampai mencapai suhu ruang. Sebanyak 750 µL kloroform isoamilalkohol (24:1) ditambahkan ke dalam tabung dan dicampur hingga homogen lalu disentrifugasi pada kecepatan 11 000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh dipindahkan ke tabung eppendorf baru dengan menambahkan 1000 µL kloroform dicampur hingga homogen dengan vorteks dan disentrifugasi kembali pada 11 000 rpm selama 10 menit.

Supernatan dipindahkan ke tabung eppendorf yang baru dan ditambahkan 1000 µL 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 pada 11 000 rpm selama 10 menit. Etanol dibuang dan pelet dikeringkan di vakum. Pelet diresuspensi dalam 100 µL bufer TE dan disimpan pada suhu -20 °C untuk digunakan dalam proses amplifikasi DNA.

Amplifikasi DNA. Proses amplifikasi dilakukan pada mesin *Thermo Cycle PCR Gene Amp PCR System 9700* versi 3.12. Amplifikasi menggunakan primer universal untuk spesies *Colletotrichum*, yaitu *forward primer* ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') dan *reverse primer* ITS4 (5'-TCCTCCGCTTAT TGATATGC-3') dengan ukuran target hasil amplifikasi ialah 580 pb. Reaksi amplifikasi DNA dengan volume total 25 µL terdiri atas 2 µL DNA, 2.5 µL bufer 10x dan Mg²⁺, 0.5 µL dNTP 10 mM, 1 µL masing-masing primer, 0.2 µL Taq DNA (5 unit µL⁻¹), dan 17.8 µL H₂O. Kondisi amplifikasi dibagi menjadi beberapa tahap, yaitu pradenaturasi suhu 95 °C selama 1 menit, diikuti 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 (White *et al.* 1990).

Elektroforesis DNA. Produk hasil amplifikasi dianalisis menggunakan gel agarosa 1% (0.5x *Tris-Borate* EDTA/TBE). Elektroforesis dilakukan pada 50 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.

Analisis Runutan DNA *Colletotrichum* spp. Produk amplifikasi dikirim ke First Base (Malaysia) untuk perunutan nukleotida. Hasil perunutan dianalisis menggunakan program *basic local alignment search tool* (BLAST) dengan program optimasi untuk memperoleh urutan basa DNA yang memiliki homologi dengan sikuen DNA yang terdapat dalam situs

national center for biotechnology information (NCBI). Runutan nukleotida yang diperoleh dianalisis menggunakan penyejajaran berganda *ClustalW* pada perangkat lunak Bioedit *sequence alignment editor versi 7.1.3*. Hubungan kekerabatan antarisolat dikonstruksi menggunakan perangkat lunak *molecular evolutionary genetic analysis versi 6.06* (MEGA6) dengan *bootstrap* 1000 kali ulangan.

Amplifikasi dengan Primer Spesifik. Sebanyak 8 isolat *Colletotrichum* yang mewakili warna koloni dan bagian tanaman yang diisolasi dilakukan amplifikasi menggunakan primer spesifik CaInt2/ITS4 dan CcInt/ITS4, masing-masing untuk mengidentifikasi *C. acutatum* dan *C. capsici*. Penggunaan primer spesifik CaInt2/ITS4 dilakukan untuk memastikan beberapa isolat dari beberapa tipe morfologi yang ditemukan dalam penelitian ini dan diduga sebagai *C. gloeosporioides* berdasarkan karakter morfologi, tetapi bentuk konidianya sering mirip dengan *C. acutatum*. Sementara itu penggunaan primer spesifik CcInt/ITS4 untuk memastikan bentuk konidia isolat yang berbentuk melengkung sebagai *C. capsici*.

Respons Suhu *Colletotrichum* spp. asal Berbagai Bagian Tanaman

Percobaan ini dilakukan mengikuti metode Smith dan Black (1990) untuk membedakan beberapa spesies *Colletotrichum* berdasar respons suhu terhadap pertumbuhan radialnya pada medium buatan. Biakan *Colletotrichum* spp. dengan diameter 5 mm diletakkan pada medium ADK dan diinkubasi pada suhu 16, 24, dan 32 °C. Percobaan disusun dalam rancangan acak lengkap faktorial dengan 2 faktor, yaitu biakan *Colletotrichum* spp. dan suhu. Diameter koloni pertumbuhan cendawan diamati pada hari ke-10 setelah inkubasi.

HASIL

Identifikasi secara Morfologi

Sebanyak 20 isolat diperoleh dari beberapa bagian tanaman yang menunjukkan gejala antraknosa. Seluruhnya merupakan

Colletotrichum spp. Berdasarkan pada karakter morfologi, *Colletotrichum* yang ditemukan dalam penelitian ini secara umum dibagi menjadi 3 kelompok tipe morfologi (Gambar 1). Kelompok I, warna koloni tampak atas yang bervariasi mulai abu-abu, krem, atau hijau tua dengan koloni tampak bawah abu-abu; aservulus berwarna oranye yang berisi massa konidia terlihat jelas pada pusat koloni; konidium silinder dengan kedua ujungnya membulat, membentuk 2 gelembung minyak; dan seta tidak ada, baik pada medium maupun pada jaringan tanaman. Kelompok II, warna koloni seragam, yaitu tampak atas berwarna abu-abu dan tampak bawah berwarna abu-abu kehitaman; konidium silinder dengan ujung membulat, tidak membentuk gelembung minyak; seta tidak ada, baik pada medium maupun jaringan tanaman inang. Tipe morfologi kelompok III ialah warna koloni tampak atas krem atau abu-abu, dengan warna koloni tampak bawah cokelat dengan cincin konsentris, konidium melengkung dengan kedua ujung meruncing dan membentuk 2 gelembung minyak; seta dihasilkan hanya pada medium ADK (Gambar 2).

Colletotrichum tipe morfologi kelompok I ditemukan pada semua bagian tanaman (batang: BT1, BT14, BT1, BT16; buah: B17, B24, B24, B50; dan tangkai daun: TP, T2, T3, T20). Tipe morfologi kelompok II ditemukan pada bagian batang dan tangkai daun (batang: B17; tangkai daun: T15, T21, T26), dan kelompok III hanya ditemukan pada bagian buah (B4, B7, B8, dan B19). Jika hanya didasarkan pada warna koloni dan bentuk konidium, kelompok I dan II (16 galur) diidentifikasi sebagai *C. gloeosporioides sensu lato*. Meskipun bentuk konidia pada kelompok I dan II sama, akan tetapi pada kelompok II konidianya tidak membentuk gelembung minyak. Dengan adanya perbedaan ini, salah satu galur yang mewakili tipe morfologi kelompok II (T15) diuji lebih lanjut secara molekuler dengan primer universal untuk memastikan spesiesnya. Isolat-isolat dari tipe morfologi III dengan bentuk konidia melengkung dengan kedua ujung meruncing yang oleh beberapa peneliti (Haggag dan

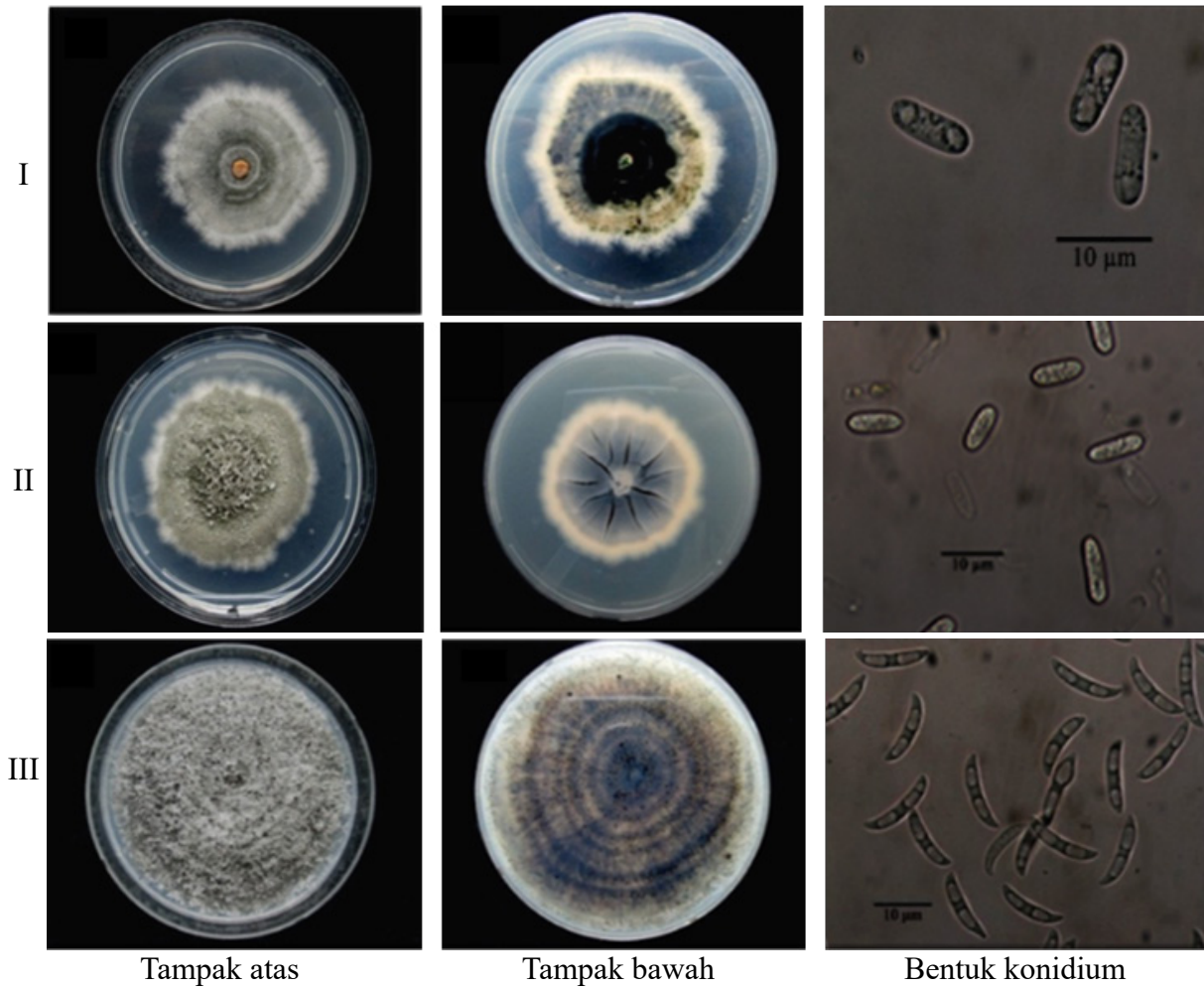
Singer 2013; Rahman *et al.* 2008; Sato *et al.* 2015) diidentifikasi secara morfologi sebagai *C. capsici*, diidentifikasi lebih lanjut secara molekuler untuk lebih memastikan spesiesnya seperti yang disarankan oleh Cannon *et al.* (2012).

Identifikasi Molekuler *Colletotrichum* spp.

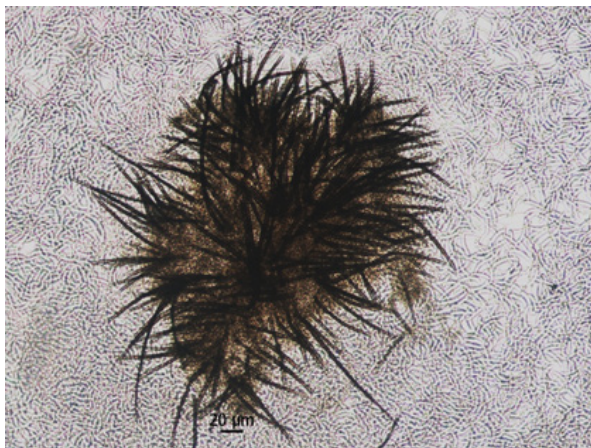
Amplifikasi DNA. Sebanyak 8 galur yang mewakili bagian tanaman dan tipe morfologi, yaitu BT 15 dan BT16 (tipe I dari batang), T15 dan T26 (tipe II dari tangkai daun), serta B4, B7, B8, dan B9 (tipe III dari buah) tidak teramplifikasi fragmen DNA-nya, baik dengan primer spesifik *C. acutatum* maupun *C. capsici*. Dengan hasil tersebut, ketiga kelompok tipe morfologi *Colletotrichum* yang ditemukan bukan spesies *C. acutatum* maupun *C. capsici*. Akan tetapi 5 dari 8 galur yang diuji, yaitu T15 (tipe morfologi II), B4, B7, B8, dan B19 (tipe morfologi III) berhasil diamplifikasi dengan ukuran ± 600 pb menggunakan primer universal ITS1/ITS4 (Gambar 3). Berdasarkan hasil sikuensing, 4 galur (B4, B7, B8 dan B9) dinyatakan sebagai *C. truncatum*, dan 1 galur (T15) dinyatakan sebagai *C. magnum*.

Filogenetika *Colletotrichum* dari bagian pepaya. Berdasarkan analisis filogenetika yang disejajarkan dengan database di NCBI galur *C. truncatum* dari hasil penelitian ini memiliki kekerabatan yang lebih dekat dengan galur dari Malaysia dibandingkan dengan galur yang berasal dari negara Asia lainnya (China, Taiwan dan Thailand). Sementara itu *C. magnum* yang diisolasi dari tangkai daun (T15) berkerabat dekat dengan galur yang berasal dari Brazil (Gambar 4).

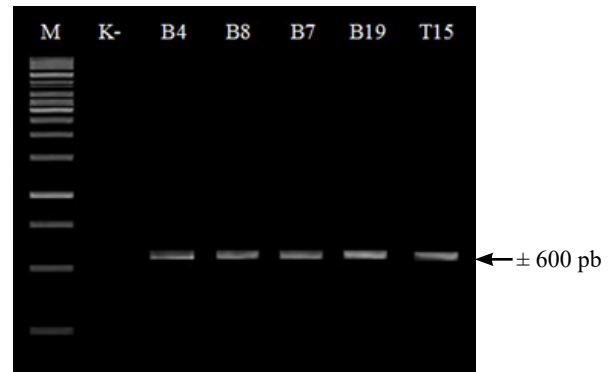
Respons Pertumbuhan *Colletotrichum* spp. terhadap Suhu. Pertumbuhan koloni (diameter) *Colletotrichum* yang diisolasi dari tanaman pepaya dipengaruhi oleh suhu dan spesiesnya. Dari uji statistik, baik spesies maupun suhu secara tunggal dan interaksinya menunjukkan perbedaan yang nyata. Ketiga spesies yang diuji, *C. gloeosporioides*, *C. magnum*, dan *C. truncatum*, secara umum tumbuh optimum pada suhu 24 °C. Pada suhu 16 °C, *C. gloeosporioides* cenderung tumbuh lebih cepat dibandingkan 2 spesies lainnya,



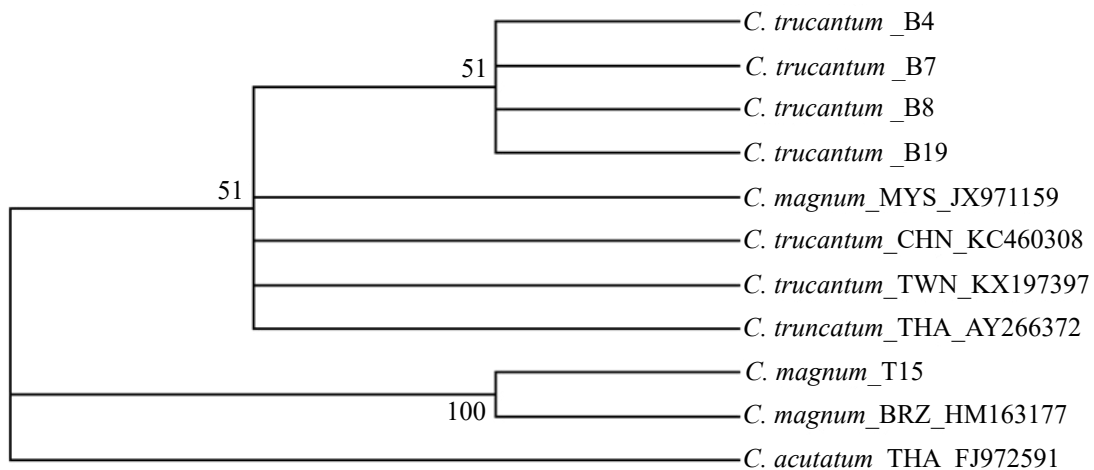
Gambar 1 Karakter morfologi *Colletotrichum* spp. kelompok I, II, dan III asal pepaya pada medium agar-agar dekstrosa kentang.



Gambar 2 Seta yang terbentuk oleh *Colletotrichum* isolat kelompok ke-III pada medium agar-agar dekstrosa kentang.



Gambar 3 Amplifikasi DNA 5 isolat *Colletotrichum* spp. asal pepaya, menggunakan pasangan primer universal ITS1/ITS4. M, Penanda DNA 1 kb ladder; K-, Kontrol negatif; B4, B8, B7, B19, Isolat asal buah dan; T15, isolat asal tangkai.



Gambar 4 Pohon filogenetika spesies *Colletotrichum* spp. yang berasal dari buah dan tangkai pepaya di Kebumen, Indonesia. *C. acutatum_THA_FJ972591* digunakan sebagai pembanding di luar group.

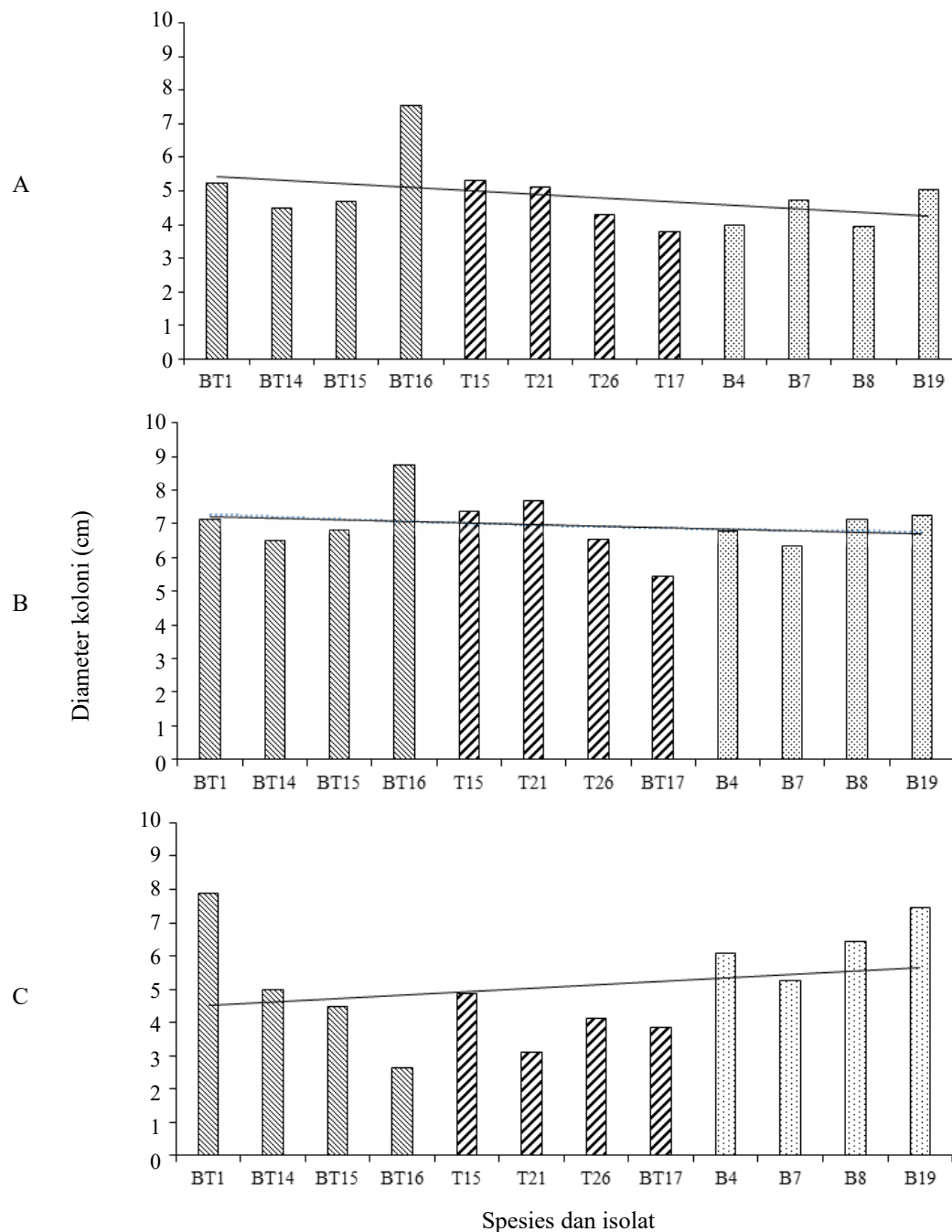
sementara itu pada suhu 32 °C *C. truncatum* tumbuh paling cepat dibandingkan dengan lainnya (Gambar 5).

PEMBAHASAN

Gejala awal antraknosa pada buah yang disebabkan oleh *C. gloeosporioides* ditandai dengan bercak oval, sedikit berair, membentuk lesio cekung pada permukaan buah yang akan berkembang menjadi nekrosis, dan kematian pada jaringan (Patel *et al.* 2005). Selama ini *Colletotrichum* sebagai penyebab penyakit antraknosa pada pepaya lebih dikenal sebagai penyakit pascapanen, akan tetapi proses infeksi sudah dimulai sejak di pertanaman dan bersifat laten (Maeda dan Nelson 2014). Hasil survei lapangan menunjukkan bahwa akhir-akhir ini mulai banyak muncul gejala penyakit di pertanaman pepaya di sebagian wilayah Indonesia. Gejala penyakit antraknosa tersebut ditemukan selain pada bagian buah, juga terjadi pada tangkai daun dan batang. Berdasarkan pustaka standar (Semangun 2007) serangan patogen ini pada bagian buah hanya terjadi ketika buah menjelang matang di lapangan dan diteruskan sampai pascapanen, akan tetapi dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa cendawan tersebut juga ditemukan menyerang pada buah yang masih hijau. Selain di Indonesia, peneliti lain sudah pernah melaporkan adanya

infeksi antraknosa di lapangan, tetapi hanya melaporkan kejadiannya pada buah (Haggag dan Singer 2013).

Hasil identifikasi secara morfologi dan/atau molekuler ditentukan tiga spesies *Colletotrichum* pada pepaya di pertanaman, yaitu *C. gloeosporioides*, *C. magnum*, dan *C. truncatum*. Berdasarkan warna koloni yang bervariasi, *Colletotrichum* dalam kelompok I ini diidentifikasi sebagai *C. gloeosporioides* seperti yang dikemukakan oleh Rampersad (2011). Tipe morfologi kelompok I yang dicirikan dengan koloni berwarna abu-abu sampai abu-abu kehijauan (*olive*) dan terbentuknya aservulus dengan massa konidia berwarna oranye juga dikuatkan oleh peneliti lain sebagai *C. gloeosporioides* (Molina-Chaves *et al.* 2017; Torres-Calzada *et al.* 2013). Mengingat *C. gloeosporioides* oleh Weir *et al.* (2012) diketahui sebagai kompleks spesies (*species complex*), maka *Colletotrichum* tipe morfologi I yang dalam penelitian ini baru diidentifikasi secara morfologi masih perlu diklarifikasi lebih lanjut secara molekuler. Kelompok morfologi III dengan konidium melengkung (kurva) dan ujung meruncing pernah dilaporkan di Mesir (Haggag dan Singer 2013) dan Malaysia (Rahman *et al.* 2008) pada pepaya pascapanen. Kedua laporan tersebut berhasil mengidentifikasi *Colletotrichum* dengan tipe konidia ini sebagai *C. capsici*. Akan tetapi di dalam penelitian



Gambar 5 Respons pertumbuhan beberapa spesies *Colletotrichum* pada medium agar-agar dekstrosa kentang pada tiga tingkat suhu inkubasi. A, Suhu 16 °C; B, Suhu 24 °C; C, Suhu 32 °C. ▨, *C. gloeosporioides*; ▩, *C. magnum*; ▤, *C. truncatum*.

ini, galur *Colletotrichum* dengan tipe konidia seperti tersebut ternyata tidak teramplifikasi dengan primer spesifik CcInt/ITS4 untuk *C. capsici*. Berdasarkan hasil sikuensing spesies ini diidentifikasi sebagai *C. truncatum*. Spesies ini juga pernah dilaporkan menyerang pertanaman pepaya di Trinidad (Rampersad 2011) dan Costa Rica (Molina-Chaves *et al.* 2017). Sampai saat ini *C. gloeosporioides*

paling sering dilaporkan menyerang pada pepaya pascapanen di Indonesia (Semangun 2007) dan di negara lain (Rahman *et al.* 2008). Dari ketiga spesies yang berhasil diidentifikasi tersebut, *C. magnum* (dari tangkai) dan *C. truncatum* (dari buah pepaya) merupakan laporan pertama di Indonesia.

C. magnum cenderung memiliki warna koloni yang seragam, yaitu abu-abu (tampak

atas) dan abu-abu kehitamaan (tampak bawah). Dari bentuk konidium, *C. gloeosporioides* dan *C. magnum* memiliki bentuk yang sama, yaitu silinder dengan kedua ujung membulat. Keduanya dapat dibedakan dari ada tidaknya gelembung minyak pada konidium. *C. truncatum* yang ditemukan dalam penelitian ini mudah dibedakan dari dua spesies lainnya. Koloni spesies ini membentuk cincin konsentris, konidium melengkung dan membentuk seta pada medium ADK.

Colletotrichum yang diisolasi dari buah, tangkai daun dan batang di lapangan ialah *C. truncatum*, *C. magnum* dan *C. gloeosporioides*. Dari penelitian ini, *C. truncatum* hanya ditemukan di lapangan pada bagian buah, sedangkan *C. magnum* sebagian besar (3 dari 4 isolat) ditemukan pada tangkai daun. Sementara itu *C. gloeosporioides* merupakan spesies yang dominan dan ditemukan pada semua bagian tanaman. Berdasarkan hasil identifikasi molekuler, isolat asal buah dengan konidium melengkung (isolat kelompok III) menunjukkan hubungan kekerabatan yang paling dekat dengan spesies *C. truncatum* asal Malaysia, sedangkan salah satu galur (T15) asal tangkai dengan konidium silindris dan tanpa gelembung minyak (tipe morfologi II) yang diperoleh dalam penelitian ini memiliki hubungan kekerabatan dengan *C. magnum* asal Brazil. Keberadaan *C. magnum* sebagai patogen antraknosa pada tanaman pepaya juga pernah dilaporkan oleh peneliti lain di Meksiko (Tapia-Tussell *et al.* 2016) dan Costa Rica (Molina-Chaves *et al.* 2017).

Dari percobaan pengaruh suhu, pertumbuhan *Colletotrichum* asal pepaya dipengaruhi oleh spesies dan suhu. Secara umum, ketiga spesies *Colletotrichum* tumbuh optimum pada suhu 24°C dan relatif sama, tetapi menunjukkan perbedaan ketika ditumbuhkan pada suhu yang lebih rendah (16 °C) dan suhu lebih tinggi (32 °C). Pada suhu yang lebih rendah (16 °C), *C. gloeosporioides* cenderung tumbuh lebih cepat dibandingkan dua spesies lainnya. Sementara itu *C. truncatum* tumbuh lebih cepat pada suhu yang lebih tinggi (32 °C) dibandingkan dua spesies lainnya. Sangeetha dan Rawal (2010) melaporkan

bahwa konidium *C. gloeosporioides* belum mampu berkecambah pada suhu 15–20 °C dan 30 °C. Penelitian Smith dan Black (1990) juga menunjukkan adanya perbedaan respons pertumbuhan koloni tiga spesies *Colletotrichum* pada stroberi terhadap suhu, dimana salah satu spesies tumbuh lebih lambat dibandingkan dua spesies lainnya pada semua kisaran suhu yang diujikan. Dengan demikian, perbedaan respons pertumbuhan koloni terhadap suhu dapat digunakan sebagai salah satu faktor dalam membedakan tiga spesies *Colletotrichum* pada tanaman pepaya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penghargaan dan terima kasih disampaikan kepada Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP), Kementerian Keuangan Republik Indonesia melalui Beasiswa Tesis Batch II Tahun 2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Cannon PF, Damm U, Johnston PR, Weir BS. 2012. *Colletotrichum*-current status and future directions. *Stud Mycol.* 73:181–213. DOI: <https://doi.org/10.3114/sim0014>.
- Choi YW, Hyde KD, Ho WH. 1999. Single spore isolation of fungi. *Fungal Divers.* 3:29–38.
- Haggag WM, Singer S. 2013. First report of *Colletotrichum capsici* causing pre and postharvest anthracnose on papaya in Egypt. *Int J Engineer Innov Technol.* 3(6):151–152.
- Maeda C, Nelson S. 2014. Anthracnose of papaya in Hawai'i. Mānoa (US): College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawai'i.
- Molina-Chaves A, Gómez-Alpizar L, Umaña-Rojas G. 2017. Identificación de especies del género *Colletotrichum* asociadas a la antracnosis en papaya (*Carica papaya* L.) en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 41(1): 69-80. DOI: <https://doi.org/10.15517/rac.v41i1.29752>.
- Patel RV, Joshi KR, Solanky KU, Sabalpara AN. 2005. *Colletotrichum gloeosporioides*:

- a new leaf spot pathogen of turmeric in Gujarat. *Ind J Phytopathol.* 58 (1):125.
- Photita W, Taylor PWJ, Ford R, Hyde KD, Lumyong S. 2005. Morphological and molecular characterization of *Colletotrichum* species from herbaceous plants in Thailand. *Fungal Divers.* 18:117–133.
- Rahman MA, Mahmud TMM, Kadir J, Abdul Rahman R, Begum MM. 2008. Major postharvest fungal diseases of papaya cv. Sekaki in Selangor, Malaysia. *Pertanika J Trop Agric Sci.* 31(1):27–34.
- Rampersad SN. 2011. Molecular and phenotypic characterization of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease of papaya in Trinidad. *Plant Dis.* (95): 1244–1254. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-11-0080>.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. 1989. *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. Ed ke-2. New York (US): Cold Spring Harbor.
- Sangeetha CG, Rawal RD. 2010. Temperature requirement of different isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from mango. *Afr J Biotechnol.* 9(21):3086–3090.
- Sato T, Moriwaki I, Kaneko S. 2015. Anthracnose fungi with curved conidia *Colletotrichum* spp. belonging to ribosomal groups 9-13, and their host ranges in Japan. *JARQ.* 49(4):351–362. DOI: <https://doi.org/10.6090/jarq.49.351>.
- Semangun H. 2007. *Penyakit-penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Yogyakarta (ID): Gadjah Mada University Press.
- Smith BJ, Black LL. 1990. Morphological, cultural, and pathogenic variation among *Colletotrichum* species isolated from strawberry. *Plant Dis.* 74:69–76. DOI: <https://doi.org/10.1094/PD-74-0069>.
- Tapia-Tussell R, Cortes-Velazquez A, Valencia-Yah T. 2016. First report of *Colletotrichum magnum* causing anthracnose in papaya in Mexico. *Plant Dis.* 100(11):2323. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-16-0324-PDN>.
- Torres-Calzada C, Tapia-Tussell R, Higuera-Ciapara I, Perez-Brito D. 2013. Morphological, pathological and genetic diversity of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose in papaya (*Carica papaya* L.). *Eur J Plant Pathol.* 135(1):67-79. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10658-012-0065-7>.
- Watanabe T. 2002. *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species*. Ed ke-2. Boca Raton (US). CRC Pr. DOI: <https://doi.org/10.1201/9781420040821>.
- Weir BS, Johnston PR, Damm U. 2012. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Stud Mycol.* 73:115–180. DOI: <https://doi.org/10.3114/sim0011>.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Di dalam: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, editor. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. San Diego (US): Academic Pr. hlm 315–322. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>.
- Zakaria M, Bailey JA. 2000. Morphology and cultural variation among *Colletotrichum* isolates obtained from tropical forest nurseries. *J Trop For Sci.* 12(1):1–20.