



IDENTIFIKASI *Colletotrichum asianum* PENYEBAB ANTRAKNOSA MANGGA KULTIVAR GOLEK DI INDRAMAYU

IDENTIFICATION OF Colletotrichum asianum CAUSING ANTHRACNOSE DISEASE IN MANGO CULTIVAR GOLEK IN INDRAMAYU

Gilang Vaza Benatar^{1*}, Yeyet Nurhayati², Noor Febryani¹

¹Program Studi Agroteknologi,Fakultas Pertanian, Universitas Siliwangi Kampus II Mugarsari Jalan Tamansari Kota Tasikmalaya Jawa Barat 46196

²Magister Fitopatologi, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada Jalan Flora Bulak Sumur Kabupaten Sleman D.I. Yogyakarta 55281

*Korespondensi : benatargv@unsil.ac.id

Received April 9, 2023; Revised May 18, 2023; Accepted May 28, 2023

ABSTRAK

Penyakit antraknosa merupakan salah satu kendala utama dalam budidaya mangga. Penyakit ini sangat merugikan produksi mangga terutama pada saat lepas panen. Gejala antraknosa teramati pada mangga kultivar Golek di gudang simpan petani di Kabupaten Indramayu. Penelitian ini ditujukan untuk mengidentifikasi jenis cendawan fitopatogen penyebab penyakit antraknosa mangga sebagai langkah awal menyusun pengendalian yang efektif. Morfologi cendawan fitopatogen dikarakterisasi secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi patogen dilakukan dengan teknik molekuler berbasis multilokus dengan penanda wilayah ITS dan gen *actin*. Cendawan fitopatogen teridentifikasi sebagai *Colletotrichum asianum* berdasarkan karakterisasi morfologis dan identifikasi molekul.

Kata kunci: Actin, Filogenetik, ITS, Molekuler, Fitopatogen

ABSTRACT

*Anthracnose disease is one of the major obstacles in mango cultivation. This disease is highly detrimental to mango production, especially during the post-harvest period. Symptoms of anthracnose disease were observed on the Golek mango cultivar in the farmer's warehouse in Indramayu District. The aim of this study was to identify the phytopathogenic fungi that cause mango anthracnose disease as the first step in developing effective control measures. The morphology of the phytopathogenic fungi was characterized both macroscopically and microscopically. Pathogen identification was performed using multilocus molecular techniques with ITS and actin gene region markers. The phytopathogenic fungi were identified as *Colletotrichum asianum* based on morphological characterization and molecular identification. Koch's postulates of the species were confirmed through a pathogenicity test.*

Key words : Actin, ITS, Molecular, Phylogenetic, Phytopathogen

PENDAHULUAN

Mangga (*Mangifera indica* L.) merupakan salah satu komoditas yang mendominasi produksi buah tropis dunia dan banyak ditanam di Asia, Amerika Selatan, Amerika Tengah, Karibia, dan Afrika. Buah tanaman famili Anacardiaceae ini mengandung banyak senyawa kimia bermanfaat sehingga digemari masyarakat (Altendorf, 2019; FAO, 2018).

Mangga, di Indonesia, menjadi komoditas utama hortikultura yang memberikan sumbangan ekspor terbesar untuk komoditas buah senilai USD 72,8 juta. Produksi mangga di Indonesia 73,19% berada di Pulau Jawa, diikuti 7,5% di Nusa Tenggara Barat, 4,40% di Sulawesi Selatan, dan 14,91% di wilayah lain (BPS, 2017). Mangga Golek, Arumanis, Manalagi dan Gedong merupakan kultivar lokal yang sangat potensial bagi pengembangan ekspor karena memiliki cita rasa unik dan tidak dimiliki oleh negara pengekspor lainnya (Altendorf, 2018; Budirokhman, 2014). Namun, Badan Pusat Statistik mencatat bahwa produksi mangga nasional antara 2013-2017 mengalami fluktuasi. Pada 2013, produksi mencapai 2,2 juta ton. Peningkatan hingga 2,4 juta ton terjadi pada 2014, kemudian berturut-turut mengalami penurunan 2,1 hingga 1,8 juta ton pada 2015 dan 2016. Produksi kembali menjadi 2,2 juta ton pada 2017 (BPS, 2017; BPS Indramayu, 2016).

Fluktuasi produksi mangga di Indonesia disebabkan oleh berbagai kendala baik pada saat tanam maupun pascapanen. Salah satu kendala yang mempengaruhi kuantitas dan kualitas mangga di dunia tidak terkecuali di Indonesia adalah penyakit antraknosa

yang disebabkan oleh cendawan fitopatogen *Colletotrichum* sp. Antraknosa merupakan penyakit utama yang membatasi produksi mangga, khususnya wilayah budidaya dengan kelembaban tinggi sebelum musim panen. Fase lepas panen menjadi fase *Colletotrichum* sp. paling merusak dan memiliki dampak ekonomi signifikan. Fase ini bertalian dengan fase lapangan di mana infeksi awal *Colletotrichum* sp. terjadi pada daun muda, menyebar melalui ranting, kemudian merusak bunga dan buah. Estimasi kehilangan hasil mangga disebabkan oleh antraknosa dilaporkan di seluruh dunia mencapai 60% bahkan hingga 100% pada musim hujan (Budirokhman, 2014; Nasir Uddin et al., 2018).

Antraknosa pada mangga lepas panen memiliki gejala luka cokelat hingga hitam dengan batas tidak jelas pada permukaan buah. Cendawan penyebab antraknosa memiliki kemampuan untuk menembus buah yang masih hijau, berasosiasi dengan luka pecah dangkal pada permukaan buah, dan menyisakan hifa sub-kutikula sampai akhir fase klimakterik. Setelah inisiasi pada buah, cendawan menetap dalam bentuk dorman atau latent sampai buah memulai pemasakan. Cendawan kemudian mengalami reaktivasi akibat respon perubahan fisiologis pada buah yang mengalami pemasakan. Luka cekung sirkular yang gelap terbentuk pada buah masak dengan besaran 2 cm dan bertambah lebar secara cepat hingga menutupi seluruh permukaan buah. Cendawan pada beberapa kasus mampu menembus daging buah. Pada infeksi lebih lanjut, cendawan membentuk badan buah aservulus dan konidia berwarna

orange atau pink salmon yang melimpah di sekitar luka (Nasir Uddin et al., 2018).

Penelitian terkait patogen penyebab antraknosa mangga jarang dilakukan sehingga laporan penelitian terkait jenis patogen ini sulit ditemukan di Indonesia. Padahal, informasi mengenai jenis patogen penyebab penyakit tanaman sangat penting dalam menyusun strategi pengendalian yang tepat dan efektif. Penelitian ini mengkaji karakterisasi morfologi dan identifikasi molekuler cendawan patogen yang diduga sebagai penyebab antraknosa mangga kultivar Golek di Indramayu.

BAHAN DAN METODE

Koleksi Sampel

Koleksi sampel dilakukan pada Desember 2019. Buah mangga kultivar Golek yang diduga bergejala antraknosa dikoleksi secara purposif dari gudang simpan pengepul mangga di Desa Segeran, Kecamatan Juntinyuat, Kabupaten Indramayu, Jawa Barat (*latitude* -6,4445811; *longitude* 108,38654; *altitude* 10 m dpl). Sampel kemudian dipreservasi menggunakan amplop kertas kering dan dibawa menuju Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan bagian Mikologi, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, untuk dilakukan isolasi, karakterisasi, dan identifikasi spesies.

Isolasi Cendawan Patogen

Isolasi cendawan patogen mula-mula dilakukan dengan memotong sampel bagian buah mangga terinfeksi (ukuran ± 1 cm²) dengan *scalpel* steril di dalam *Laminar Air Flow*. Potongan sampel didisinfeksi dengan mencelupkannya ke

dalam natrium hipoklorit 1% selama 5 detik, kemudian dicuci dengan air steril, dan dikeringkan di atas tisu steril. Teknik *direct planting* digunakan untuk mengisolasi *Colletotrichum* sp. yakni dengan meletakkan potongan sampel menggunakan pinset steril ke dalam cawan Petri yang berisi medium PDA ditambah asam laktat, kemudian diberi label dan diinkubasi pada suhu ruang (± 28°C) selama 3 hari (Moore et al., 2020).

Karakterisasi Morfologi dengan Mikroskop

Cendawan yang tumbuh dengan ciri *Colletotrichum* sp. dimurnikan dengan mengisolasi konidia tunggal menurut metode Choi et al. (1999), yakni mengencerkan koloni sampai tingkat 10⁻⁵. Suspensi sebanyak 1 ml diambil dengan mikropipet dan disebar pada media PDA serta kembali diinkubasi pada suhu ruang (± 28°C) selama 3 hari. Karakteristik makroskopis dan mikroskopis meliputi warna koloni, pembentukan seta, appressorium, dan bentuk konidia dari isolat murni (10 hari setelah inkubasi) diidentifikasi berdasarkan Weir et al. (2012) melalui pengamatan dengan mikroskop cahaya binokuler Olympus CKX53 (Olympus Corporation, Tokyo, Jepang). Diameter miselium pada 3 plat kultur dihitung setiap hari menggunakan penggaris pada sisi-baliknya, dan rerata tumbuh harian dihitung selama 7 hari. Observasi bentuk dan ukuran konidia dilakukan dengan mengamati suspensi konidia pada mikroskop, kemudian dipilih 50 konidia secara acak untuk diamati dengan perangkat lunak Image Raster. Pembentukan apresorium diobservasi dengan menumbuhkan koloni isolat

murni pada medium agar oat dengan teknik *Slide Culture* (Siddiquee, 2017).

Identifikasi Molekuler Cendawan Patogen

Isolasi DNA isolat cendawan patogen murni dilakukan sesuai prosedur standar Kit Ekstraksi DNA (gSYNC™). Amplifikasi DNA dilakukan dengan analisis *Polymerase Chain Reaction* (PCR) terhadap penanda molekuler ITS dan gen *actin* (ACT) dengan rincian primer pada Tabel 2. Amplifikasi dengan mesin PCR dilakukan dengan mencampur template DNA isolat sampel sebanyak 1 μ l dengan konsentrasi 5 ng dengan *Mega Mix Royal* (MMR) 10 μ l, akuabides 7 μ l, dan sepasang primer masing-masing 2 μ l, sehingga diperoleh

volume total campuran sebanyak 20 μ l per masing-masing *template*. Campuran ditempatkan di dalam tabung mikro 0,2 ml dan dimasukkan ke dalam mesin PCR (*Automated Thermal Cycler*, Biorad, California). Program PCR untuk ITS dijalankan dengan fase denaturasi pada 95°C selama 4 menit diikuti dengan *annealing* 35 siklus pada 95°C selama 30 detik, 52°C selama 20 detik, *extension* 72°C selama 45 detik, dan siklus final pada 72°C selama 7 menit. Pita DNA hasil amplifikasi dilakukan elektroforesis dengan gel agarosa 2% pada tegangan 100 volt selama 25 menit. Pita DNA diwarnai dengan etidium bromida kemudian diamati pada UV transilluminator.

Tabel 1. Isolat/strain *ex-type* yang digunakan dalam konstruksi pohon filogenetik

Nama spesies	Isolat/Strain	Inang	Asal	Nomor aksesi
<i>C. asianum</i>	VN4-1	<i>Mangifera indica</i>	Vietnam	MN272368
<i>C. asianum</i>	ZHKUCC	<i>M. indica</i>	Cina	OL708418
<i>C. asianum</i>	CPO 27.299	<i>M. indica</i>	Meksiko	MK955381
<i>C. asianum</i>	LC0037	<i>M. indica</i>	India	KC790939
<i>C. asianum</i>	CMM3793	<i>M. indica</i>	Brazil	KC702964
<i>C. siamense</i>	PCSCLZ9	<i>Carya illinoiensis</i>	Cina	ON793132
<i>C. siamense</i>	LF165	<i>M. indica</i>	Cina	KP703372
<i>C. henanense</i>	PCZJJD18	<i>Carya illinoiensis</i>	Cina	ON793152
<i>C. gloeosporioides</i>	BGCG1	<i>Bottle gourd</i>	India	MW603454
<i>C. gloeosporioides</i>	C18	<i>Cymbidium sinensis</i>	Cina	KC010549
<i>Fusarium oxysporum</i> *	hnxyzj1	<i>Polygonatum odoratum</i>	Cina	OP071248

Keterangan: *Outgroup

Produk amplifikasi dikirim ke PT. Genetika Sains Indonesia untuk dilakukan pemurnian dan sekuensing. Data hasil sekuensing untuk ITS

dilakukan *alignment* dengan metode ClustalW. Hasil *alignment* digunakan untuk data input dalam pembuatan filogenetika dengan menggunakan metode algoritma *Maximum Likelihood*

dengan bootstrap 1000 kali. Penyusunan filogenetika ini menggunakan *software* Mega-X (Tamura et al., 2011). Data sekuensing gen *actin* (ACT) berupa urutan DNA (Tabel 1) digunakan untuk analisis identitas kemiripan atau kekerabatan isolat *Colletotrichum* sp. dengan data yang ada pada GenBank menggunakan program NCBI BLAST-N (*Basic Local Alignment Search Tool*) pada situs www.ncbi.nih.gov. Sekuen ITS isolat *Colletotrichum* kemudian disubmit ke GenBank untuk memperoleh nomor aksesi.

Tabel 2. Primer yang digunakan dalam identifikasi molekuler cendawan patogen

Primer	Urutan nukleutida	Referensi
ITS-1F ^a	TCCGTAGG TGAACCTG CGG	(White et al., 1990)
ITS-4R ^a	TCCTCCGCT TATTGATAT GC	(White et al., 1990)
ACT-512F ^b	ATGTGCAA GGCCGGTT TCGC	(Introns et al., 2016)
ACT-783R ^b	TACGAGTC CTTCTGGCC CAT	(Introns et al., 2016)

Keterangan: F: *forward*; R: *reverse*.

Uji Patogenisitas

Uji patogenisitas isolat murni cendawan patogen dilakukan dengan menggunakan buah mangga masak dengan bobot ± 200 gram berdasarkan teknik yang dilakukan oleh Dong et al. (2021) dengan modifikasi. Sterilisasi permukaan buah dilakukan dengan cara mengusapkan alkohol 70% menggunakan kapas steril pada permukaannya selama 1 menit lalu dibilas sebanyak tiga kali menggunakan akuades steril. Buah

kemudian diletakkan pada wadah plastik tertutup beralaskan tisu steril lembab. Inokulasi cendawan dilakukan dengan cara menaruh cakram hifa aktif dari kultur PDA berdiameter 5 mm pada permukaan buah yang telah dilukai dengan tusukan jarum steril. Buah kontrol diberikan cakram agar steril pada buah dengan pelukaan yang sama. Ulang sebanyak 3 kali diterapkan pada setiap perlakuan. Buah yang telah diberi perlakuan lalu diinkubasi pada suhu 25°C dan kondisi gelap. Panjang luka diukur menggunakan jangka sorong digital pada 10 HSI (hari setelah inokulasi). Patogen direisolasi untuk memenuhi postulat Koch.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan lapangan di Gudang simpan petani mangga diperoleh buah mangga kultivar Golek yang terkena penyakit dengan gejala khas antraknosa, yakni luka cekung melingkar cokelat kehitaman (Gambar 2a). Gejala serupa diamati oleh Bincader et al. (2022) pada mangga kultivar Nam Dork Mai See Tong yang masak di Thailand Tengah. Kumari (2017) menemukan gejala khas antraknosa mangga berupa titik-titik cekung pada *epicarp* diikuti terbentuknya masa spora berwarna salmon dan akan meluas ke seluruh permukaan buah.

Isolasi yang dilakukan terhadap buah mangga kultivar Golek bergejala antraknosa diperoleh cendawan dengan karakteristik morfologi genus *Colletotrichum*. Secara umum, isolat memiliki koloni *aerial* bertekstur *cottony* dan berwarna putih kusam (Gambar 1a). Pada permukaan koloni *reverse* didapatkan zona konsentrasi putih kekuningan dengan

tengah hijau gelap (Gambar 1b). Adapun hifa memiliki ciri bersepta, bercabang, dan hialin (Gambar 1e). Wu et al. (2020) menguraikan bahwa koloni *Colletotrichum* yang diisolasi dari mangga pada saat satu hingga tiga hari setelah inkubasi berwarna putih kemudian berwarna keabuan. Adapun menurut Alvarez et al. (2020), koloni *Colletotrichum* spp. asal mangga membentuk cincin konsentris dengan miselium *aerial* bertekstur *cottony*.

Isolat diketahui memiliki rerata laju pertumbuhan koloni 7,6 mm per hari. Sharma et al. (2013) mengidentifikasi pertumbuhan miselium *Colletotrichum* spp. penyebab antraknosa mangga dengan rerata pertumbuhan 9,6 mm per hari, sedangkan Li et al. (2019) mengidentifikasi rerata tumbuh koloni *Colletotrichum* spp. penyebab antraknosa mangga antara 3,8 hingga 15,9 mm. Masa konidia salmon hingga oranye gelap berbentuk *acervular* dijumpai pada koloni *aerial*, menyebar sesuai dengan zona konsentris, dan teramat pada 10 hingga 20 hari setelah inkubasi (Gambar 1d). Sejalan dengan yang dikemukakan Alvarez et al. (2020), masa konidia berwarna oranye terbentuk dari konidia tunggal pada 10 hari setelah inkubasi dan menyebar atau membentuk cincin konsentris di permukaan koloni. Masa konidia merupakan jaringan badan buah aseksual *Colletotrichum* spp. yang tersusun atas sekumpulan konidiofor dimana konidia diproduksi (Moore et al., 2020). Kumari (2017) menyebutkan bahwa masa konidia atau konidiomata *Colletotrichum* spp. memiliki ciri *acervular*.

Karakteristik mikroskopik isolat yang diperoleh yakni memiliki konidia silindris dengan kedua ujung tumpul.

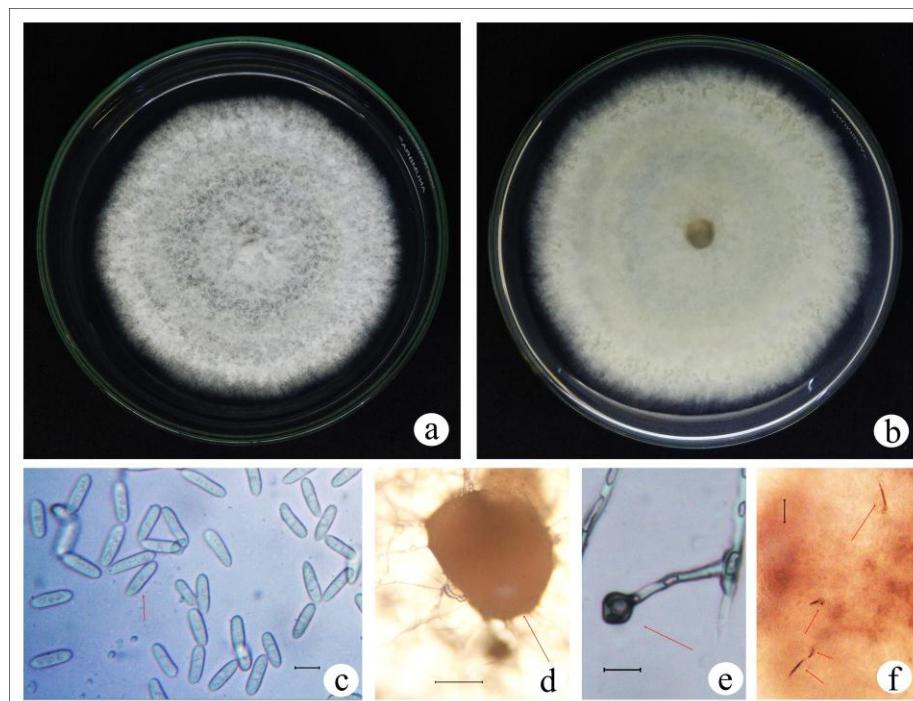
Konidia nampak tidak bersepta, hialin, dan *guttulate*. Panjang konidia diketahui berada pada rentang 13,21 – 23,37 µm dan lebar 4,33 – 6,03 µm (Gambar 1c). Ciri konidia hasil studi ini terkonfirmasi oleh hasil identifikasi Zainudin & Sattar, (2019) terhadap *Colletotrichum* spp. yang diisolasi dari mangga yakni memiliki ciri uniseluler, hialin, tidak bersepta, berbentuk lurus dengan kedua ujung membulat, dan berukuran panjang 7,5 – 15 µm dan lebar 2,5 – 7,5 µm.

Apresoria teramat pada ujung hifa dengan warna cokelat kehitaman dengan bentuk *ovoid* dengan tepi tidak beraturan (Gambar 1e). Apresoria menurut Kumari (2017) berfungsi sebagai alat penetrasi jaringan inang. Apresoria memudahkan *Colletotrichum* spp. menembus kutikula dan dinding sel epidermis secara langsung dengan memancangkan pasak penetrasi tipis yang berada di dasarnya. Pada studi ini, seta teramat pada konidiomata yang dipecah dengan jarum steril. Seta memiliki bentuk tegak lurus dengan ujung semakin meruncing ke puncaknya dan berwarna cokelat gelap. Seta *Colletotrichum* spp. yang diisolasi dari buah mangga menurut Kumari (2017) dan Zainudin & Sattar (2019) memiliki ciri kecokelatan dan panjang 66 µm.

Berdasarkan uraian di atas terkait karakteristik morfologi dari isolat yang diperoleh memiliki kesamaan ciri dengan kompleks spesies *Colletotrichum gloeosporioides*. Dari kompleks spesies ini, secara spesifik karakteristik morfologi yang teramat sesuai dengan karakteristik morfologi *Colletotrichum asianum*. Namun demikian, pada studi ini, seta teramat. Sedangkan studi mengenai *C. asianum* sebagaimana yang dilakukan oleh Alvarez et al., (2020) seta

tidak teramat. Menurut Frost (1964) pembentukan seta *Colletotrichum* spp. dalam media kultur sangat dipengaruhi oleh kondisi udara yakni membutuhkan kelembapan relatif yang stabil berikisar

40%. *C. asianum* yang menginfeksi mangga juga tidak dilaporkan membentuk seta oleh Zainudin & Sattar, (2019).



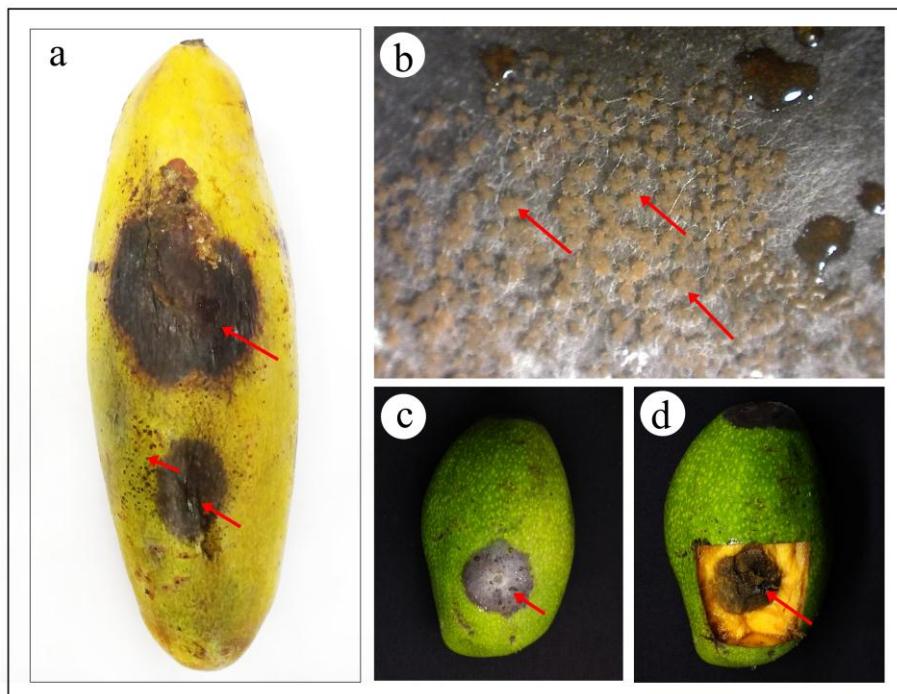
Gambar 1. Karakteristik morfologi mikroskopis dan makroskopis isolat yang diperoleh: a) koloni *aerial*; b) koloni *reverse*; c) konidia; d) konidiomata; e) hifa dan apresoria; f) seta. Garis bar hitam merupakan skala berukuran 10 μm berdasarkan kalibrasi lensa okuler dan kamera OptiLab Advance (PT. Miconos Indonesia, Yogyakarta, Indonesia).

Hasil uji patogenisitas menunjukkan luka cokelat kehitaman nampak melingkar dan cekung disertai masa konidia atau konidiomata di permukaan buah mangga (Gambar 2c). Luka muncul pada 1 hari setelah inokulasi. Diameter luka pada akhir pengamatan diketahui 25,2 mm. Daging buah juga teramat membusuk dengan warna kehitaman (Gambar 2d). Reisolasi patogen dari buah mangga bergejala antraknosa dalam uji ini menunjukkan konsistensi karakteristik *C. asianum* sehingga Postulat Koch terpenuhi. Lima et al. (2013) menemukan

Colletotrichum spp. menyebabkan gejala antraknosa pada buah mangga berdiameter 20 mm pada 10 hari setelah inokulasi. Adapun Wu et al. (2020) melaporkan luka antraknosa mangga berdiameter 22,6 hingga 25,1 mm. Berdasarkan kajian Parthasarathy et al. (2015), *Colletotrichum* spp. mengeluarkan senyawa toksin berupa *spiro-1-(cyclohex-2-ene-2'-(5'-oxabicyclo[2.1.0]pentane)*, *1',4',2,6,6-pentamethyl*, dan asam oksalat pada saat menginfeksi jaringan inang sehingga menyebabkan luka. Luka ini menurut

Kumari (2017) dapat menembus daging buah disertai pelunakan dan pembusukan buah. Abera et al. (2017) mengemukakan bahwa pada infeksi lebih lanjut,

Colletotrichum spp. memproduksi banyak masa konidia berwarna oranye atau salmon kehitaman di sekitar area nekrotik.



Gambar 2. Gejala antraknosa pada buah mangga sampel dan uji patogenisitas (ditunjukkan oleh panah merah): a) gejala pada sampel mangga kultivar Golek; b) masa konidia di sekitar buah bergejala pada uji patogenisitas; c-d) gejala antraknosa buah mangga pada uji patogenisitas.

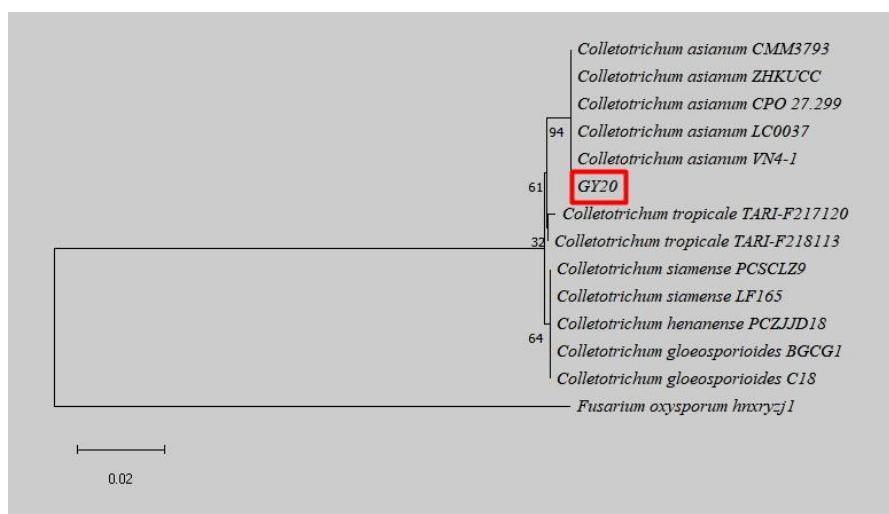
Identifikasi molekuler berbasis PCR dan sekuensing terhadap DNA dari isolat yang diperoleh teramplifikasi pada kisaran 600 bp untuk target penanda wilayah ITS dan 300 bp untuk target penanda gen *actin*. Kekerabatan isolat yang diperoleh dapat dilihat pada pohon filogenetik Gambar 3. Isolat menunjukkan kekerabatan yang dekat dengan *Colletotrichum asianum* yang diisolasi dari mangga (*Mangifera indica* L.) di Vietnam, Cina, Meksiko, India, dan Brazil. Kekerabatan ini dipertegas dengan nilai bootstrap yang mencapai 94. Zainudin & Sattar (2019) dan Alvarez et al., 2020) menunjukkan sekuen wilayah

ITS dapat mengidentifikasi *Colletotrichum* spp. yang diisolasi dari mangga sebagai *C. asianum* dengan tingkat kemiripan hingga 100%.

Identifikasi menggunakan penanda gen *actin* pada hasil BLAST (Gambar 4 dan Tabel 3) menunjukkan bahwa sekuen isolat yang diperoleh memiliki kemiripan dengan *Colletotrichum asianum* yang diisolasi dari *Mangifera indica* (Filipina, Brazil, Cina, dan Vietnam), *Citrus maxima* (Cina), dan *Coffea arabica* (Thailand) dengan persen identitas atau kemiripan 97,9 hingga 98,25%. Hasil ini mengkonfirmasi bahwa berdasarkan identifikasi molekuler berbasis

multilokus, isolat yang diperoleh secara konsisten identik dengan *Colletotrichum asianum*. Hasil ini juga mempertegas karakterisasi morfologi isolat yang diperoleh yang memiliki kemiripan dengan *C. asianum*. Di Indonesia, *C. asianum* pertama kali dilaporkan menginfeksi buah mangga oleh Benatar et al. (2021). Patogen ini juga dilaporkan Zhafarina et al. (2021) menginfeksi alpukat di Indonesia, serta memiliki

kemampuan infeksi silang terhadap komoditas buah lainnya seperti pepaya, apel, dan jeruk. *C. asianum* juga baru-baru ini dilaporkan menginfeksi mangga kultivar Nam Dork Mai See Thong di Thailand Tengah (Rattanakreetakul et al., 2023). Sekuen isolat yang diperoleh dideposit di GenBank dengan nama *Colletotrichum asianum* isolat GY20 dan nomor aksesi OQ179693.



Gambar 3. Pohon filogenetik hasil identifikasi molekuler berdasarkan penanda wilayah ITS. Nilai bootstrap lebih dari 70% dengan *Maximum Likelihood* 1000 kali replikasi ditunjukkan pada node sampel GY20 dengan tanda kotak merah. *Fusarium oxysporum* dipilih sebagai *outgroup*. Skala bar mengindikasikan substitusi setiap posisi nukleotida.

Tabel 3. Hasil *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) nukleotida sekuen gen *actin* sampel pada NCBI.

Nama spesies	Isolat	Inang	Asal	Similaritas (%)
<i>C. asianum</i>	MUCC 2603	<i>M. indica</i>	Filipina	97,9
<i>C. asianum</i>	CMM 3789	<i>M. indica</i>	Brazil	98,24
<i>C. asianum</i>	ZHKUCC 21-0095	<i>Citrus maxima</i>	Cina	97,93
<i>C. asianum</i>	TL107	<i>M. indica</i>	Cina	97,93
<i>C. asianum</i>	MUCC 2600	<i>M. indica</i>	Filipina	98,25
<i>C. asianum</i>	VN4-2	<i>M. indica</i>	Vietnam	97,93
<i>C. asianum</i>	BPDI4	<i>Coffea arabica</i>	Thailand	97,94

Query: None Query ID: 1c1|Query_65179 Length: 293

>Colletotrichum asianum MUCC 2600 ACT gene for actin, partial cds
Sequence ID: LC474436.1 Length: 288
Range 1: 4 to 288

Score:503 bits(272), Expect:8e-138,
Identities:281/286(98%), Gaps:2/286(0%), Strand: Plus/Plus

Query	Sbjct	Start	End	Length
9	4	4	288	284
68	64	64	288	284
128	123	123	288	284
188	183	183	288	284
248	243	243	288	284

```

GCAAGGCCGGTTCGCCGG-GACGATGCGCCAGAGCTTCCGTAAGTCCCTCACC
||||||||||||||||||| |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
GCAAGGCCGGTTCGCCGGTGA CGATGCGCCAGAGCTTCCGTAAGTCCCTCACC
||||||||||||||||||| |||||||||||||||||||||||||||||||||||||
CGCAAGACCGCAKACCGAATCGCCCTTCAGGGGGTACTCASATTGCGGTCAATCAAT
||||||||||||||||||| |||||||||||||||||||||||||||||||||||||
CGC -AGACCGCAGACCGCAATCGCCCTTCAGGGGGTACTCAGATTGCGGTCAAT
||||||||||||||||||| |||||||||||||||||||||||||||||||||
CGGC GTGTGCTGATGCTAACACCAACCGTAGGCCCTCATCGTCGGTCGCCCTCGCCACC
||||||||||||||||||| |||||||||||||||||||||||||||||||||
CGGC GTGTGCTGATGCTAACACCAACCGTAGGCCCTCATCGTCGGTCGCCCTCGCCACC
||||||||||||||||||| |||||||||||||||||||||||||||||
ATGGGTATGCTGCTTCGCCCTCGCTGGTAATTCGCCCTCCGCCGCGCGATCTA
||||||||||||||||||| |||||||||||||||||||||||||
ATGGGTATGCTGCTTCGCCCTCGCTGGTAATTCGCCCTCCGCCGCGCGATCTA
||||||||||||||||||| |||||||||||||||||||||
ACATGTGAATCAGTATCATGATTGGTATGGCAAGAAGGACTCGTA 293
||||||||||||||||||| |||||||||||||||||
ACATGTGAATCAGTATCATGATTGGTATGGCAAGAAGGACTCGTA 288

```

Gambar 4. Penjajaran sekuen sampel isolat GY20 (Sbjct) dengan isolat *ex-type* GenBank *Colletotrichum asianum* (Query) berdasarkan penanda gen *actin*.

SIMPULAN

Penelitian ini menemukan bahwa jenis cendawan fitopatogen yang diisolasi dari mangga kultivar Golek teridentifikasi sebagai *Colletotrichum asianum* berdasarkan karakteristik morfologi dan identifikasi molekuler berbasis multilokus ITS dan gen *actin*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menghaturkan terimakasih yang tiada terhingga kepada Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) Republik Indonesia yang telah menyediakan bantuan pendanaan melalui skema beasiswa Afirmasi Prestasi Nasional - Internasional sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

DAFTAR PUSTAKA

- Abera, A., Lemessa, F., & Adugna, G. (2017). Prevalence and Intensity of Mango (*Mangifera indica* L.) Anthracnose Caused by *Colletotrichum* Species in South-western of Ethiopia. *Ethiopian Journal of Applied Science and Technology*, 8(1), 1–10.

Altendorf, S. (2018). *Developments in Bananas and NOVEMBER*, 2017–2018.

Altendorf, S. (2019). Major tropical fruits market review 2017. *FAO Food And Agriculture Organization of the United Nations*, 10.

Alvarez, L. V., Hattori, Y., Deocaris, C. C., Mapanao, C. P., Bautista, A. B., Cano, M. J. B., Naito, K., Kitabata, S., Motohashi, K., & Nakashima, C. (2020). *Colletotrichum asianum* causes anthracnose in Philippine

- mango cv. Carabao. *Australasian Plant Disease Notes*, 15(1), 1–5. <https://doi.org/10.1007/s13314-020-00384-x>
- Benatar, G. V., Wibowo, A., & Suryanti. (2021). First report of *Colletotrichum asianum* associated with mango fruit anthracnose in Indonesia. *Crop Protection*, 141(July 2020), 105432. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105432>
- Bincader, S., Pongpisutta, R., & Rattanakreetakul, C. (2022). Diversity of *Colletotrichum* Species causing Anthracnose Disease from Mango cv. Nam Dork Mai See Tong based on ISSR-PCR. *Indian Journal of Agricultural Research*, 56(1), 81–90. <https://doi.org/10.18805/IJARe.AF-691>
- Budirokhman, D. (2014). Pengaruh Penggunaan Pupuk Organik Chitosan dan Dosis Pupuk Kandang Terhadap Produktivitas Tanaman Mangga (*Mangifera indica L.*) Kultivar Gedong Gincu. *Jurnal Logika*, XII(3), 13–22.
- BPS. (2017). Statistik Tanaman Buah-buahan dan Sayuran Tahunan 2017. Jakarta: Badan Pusat Statistik Indonesia.
- BPS Indramayu. (2016). *Kabupaten Indramayu Dalam Angka 2016*. Indramayu: Badan Pusat Statistik Kabupaten Indramayu.
- BPS Indramayu. (2018). *Kabupaten Indramayu Dalam Angka 2018*. Indramayu: Badan Pusat Statistik Kabupaten Indramayu.
- Choi, Y. W., Hyde, K. D., & Ho, W. W. H. (1999). Single spore isolation of fungi. *Fungal Diversity*, 3, 29–38.
- Dong, Z., Manawasinghe, I. S., Huang, Y., Shu, Y., Phillips, A. J. L., Dissanayake, A. J., Hyde, K. D., Xiang, M., & Luo, M. (2021). Endophytic Diaporthe Associated With Citrus grandis cv. Tomentosa in China. *Frontiers in Microbiology*, 11(February), 1–20. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.609387>
- FAO. (2018). Post-harvest management of mango for quality and safety assurance. *Guidance for Horticultural Supply Chain Stakeholders*, 21. <http://www.fao.org/3/i8239en/I8239EN.pdf%0Ahttp://www.fao.org/documents/card/en/c/I8239EN/>
- Frost, R. R. (1964). © 1964 Nature Publishing Group. *Nature*, 201, 730–731.
- Introns, T. G., Rflps, I., Compatibility, M., Guerber, J. C., Liu, B., Correll, J. C., Johnston, P. R., Liu, B., & Johnston, P. R. (2016). *Mycological Society of America Characterization of Diversity in Colletotrichum acutatum sensu lato by Sequence Analysis of Published by : Mycological Society of America Stable URL : http://www.jstor.org/stable/3762016 Linked references are available on JS. 95(5), 872–895.*
- Kumari, P. (2017). Anthracnose of Mango Incited by *Colletotrichum gloeosporioides*: A Comprehensive Review. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, 5(1), 48–56. <https://doi.org/10.18782/2320-7051.2478>
- Li, Q., Bu, J., Shu, J., Yu, Z., Tang, L., Huang, S., Guo, T., Mo, J., Luo, S., Solangi, G. S., & Hsiang, T. (2019). *Colletotrichum* species associated

- with mango in southern China. *Scientific Reports*, 9(1), 18891. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54809-4>
- Lima, N. B., Marcus, M. V., De Morais, M. A., Barbosa, M. A. G., Michereff, S. J., Hyde, K. D., & Câmara, M. P. S. (2013). Five *Colletotrichum* species are responsible for mango anthracnose in northeastern Brazil. *Fungal Diversity*, 61(1), 75–88. <https://doi.org/10.1007/s13225-013-0237-6>
- Moore, D., Robson, G. D., & Trinci, A. P. J. (2020). 21st Century Guidebook to Fungi. *21st Century Guidebook to Fungi*, June. <https://doi.org/10.1017/9781108776387>
- Nasir Uddin, M., Hossain, S., Shefat, T., Afroz, M., Moon, N. J., & Uddin, M. N. (2018). *ACTA SCIENTIFIC AGRICULTURE* (ISSN: 2581-365X) *Colletotrichum gloeosporioides: A Review*. 2(10), 169–177.
- Parthasarathy, S., Nagendran, K., Narayanan, P., Rajalakshmi, J., Thiribhuvanamala, G., & Prabakar, K. (2015). Novel insights into the phytotoxins production of *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose of mango. *Trends in Biosciences*, 8(15), 3924–3927. <http://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:tbs&volume=8&issue=15&article=036%0Ahttps://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20173059739>
- Rattanakreetakul, C., Keawmanee, P., Bincader, S., Mongkolporn, O., Phuntumart, V., Chiba, S., & Pongpisutta, R. (2023). Two Newly Identified *Colletotrichum* Species Associated with Mango Anthracnose in Central Thailand. *Plants*, 12(5). <https://doi.org/10.3390/plants12051130>
- Sharma, G., Kumar, N., Weir, B. S., Hyde, K. D., & Shenoy, B. D. (2013). The ApMat marker can resolve *Colletotrichum* species: A case study with *Mangifera indica*. *Fungal Diversity*, 61(1), 117–138. <https://doi.org/10.1007/s13225-013-0247-4>
- Siddiquee, S. (2017). *Practical Handbook of the Biology and Molecular Diversity of Trichoderma Species from Tropical Regions, Fungal Biology*.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., & Kumar, S. (2011). MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28(10), 2731–2739. <https://doi.org/10.1093/molbev/msr121>
- Weir, B. S., Johnston, P. R., & Damm, U. (2012). The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Studies in Mycology*, 73, 115–180. <https://doi.org/10.3114/sim0011>
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. *PCR Protocols, December 2015*, 315–322. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-372180-8.50042-1>
- Wu, C. J., Chen, H. K., & Ni, H. F. (2020). Identification and characterization of *Colletotrichum* species associated with mango anthracnose in Taiwan. *European*

-
- Journal of Plant Pathology*, 157(1).
<https://doi.org/10.1007/s10658-020-01964-4>
- Zainudin, N. A. I. M., & Sattar, M. M. (2019). Characterization and pathological diversity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease on mango in Peninsular Malaysia. *Asian Journal of Agriculture and Biology*, 7(Special Issue), 261–270.
- Zhafarina, S., Wibowo, A., & Widiastuti, A. (2021). Multi-genetic analysis of *colletotrichum* spp. Associated with postharvest disease of fruits anthracnose in special region of yogyakarta, Indonesia. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 24(1), 53–65.
<https://doi.org/10.3923/pjbs.2021.53.65>