

# Keterpautan Marka *Amplified Fragment Length Polymorphism* dengan Sifat Resisten Penyakit Antraknos pada Cabai Berdasarkan Metode *Bulk Segregant Analysis*

Sanjaya L.

Balai Penelitian Tanaman Hias, Jl. Raya Ciherang – Pacet, Cianjur, Jawa Barat 43253

Penggunaan varietas resisten merupakan cara yang potensial untuk mengendalikan penyakit antraknos. Untuk mendapatkan varietas yang resisten perlu penerapan teknik seleksi yang efektif. Marka molekuler sebagai alat seleksi dalam program pemuliaan telah terbukti sangat handal dalam mempercepat perakitan varietas unggul. Di dalam penelitian ini marka *amplified fragment length polymorphism* (AFLP) yang terpaut erat dengan sifat tahan antraknos telah diidentifikasi berdasarkan metode *bulk segregant analysis*. Penelitian menggunakan populasi F<sub>2</sub> hasil persilangan interspesifik antara jatilaba, *C. annuum* sebagai tetua rentan dan sebagai tetua resisten adalah PI 315023, *C. chinense*. Teknik molekuler AFLP memungkinkan menganalisis ribuan marka dalam waktu relatif singkat. Analisis *bulk segregant* adalah metode yang memfasilitasi identifikasi marka yang terpaut erat dengan gen yang dimaksud. Dari penelitian ini diperoleh satu marka AFLP yang terpaut erat dengan sifat tahan antraknos (*Colletotrichum capsici* dan *C. gloeosporioides*) berdasarkan analisis fragmen yang teramplifikasi secara selektif menggunakan 96 kombinasi primer EcoRI/MseI. Marka E<sub>37</sub>M<sub>51</sub>184 dapat digunakan sebagai *marker assisted selection* dalam program pemuliaan tanaman cabai dan merupakan dasar untuk mengkloning gen resisten.

Kata kunci: *Capsicum annuum*; *Amplified fragment length polymorphism*; Analisis *bulk segregant*; Antraknos; *Colletotrichum capsici*; *Colletotrichum gloeosporioides*.

**ABSTRACT.** Sanjaya, L. 2003. **Amplified fragment length polymorphism marker linked to antracnose resistance traits on hot-pepper based on bulk segregant analysis.** The use of resistant varieties is recommended to be as the most reliable method to control the antracnose disease on hot-pepper. To produce those varieties, effective selection technique must be applied. Molecular marker technologies have eased and potentiated for genetic analysis of plants and have become an extremely useful tool in plant breeding. Using F<sub>2</sub>, an intercross Jatilaba as susceptible parent and PI 315023 as resistance parent for segregation population as a model, this paper was aimed to show and discuss the possibility of applying amplified fragment length polymorphism to assess the disease resistance against antracnose, *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum capsici*, using bulk segregant analysis. A marker was identified linked to antracnose resistance based on selective amplified fragments using 96 EcoRI/MseI primer combination. Marker E<sub>37</sub>M<sub>51</sub>184 can be used for hot-pepper breeding program as marker assisted selection and cloning of resistance gene.

Keywords: *Capsicum annuum*; Amplified fragment length polymorphism; Bulk segregant analysis; Antracnose; *Colletotrichum capsici*; *Colletotrichum gloeosporioides*.

Cabai merupakan tanaman sayuran penting di Indonesia dari segi luas areal maupun produksinya (Direktorat Bina Produksi Hortikultura 2001). Cabai yang dibudidayakan umumnya rentan terhadap penyakit antraknos (Hadden & Black 1989). Sementara itu sifat resisten terhadap antraknos tersedia dari spesies lainnya dalam genus *capsicum*. Introduksi gen resisten dari cabai liar kepada cabai terbudidaya sangat dimungkinkan dan tanpa teknik khusus (Pickersgill 1989; Zijlstra *et al.* 1991), kecuali persilangan antara *C. annuum* x *C. baccatum* yang hanya berhasil dengan menerapkan penyelamatan embrio (Pickersgill 1991). Program pemuliaan resistensi pada cabai telah dilakukan sejak puluhan tahun silam, namun hingga saat ini keberadaan varietas unggul yang tahan terhadap antraknos masih relatif sedikit.

Sifat resisten terhadap antraknos adalah salah satu parameter metrik yang dicirikan dengan pola variasi yang kontinyu (kuantitatif), dan dikendalikan oleh banyak gen (poligen). Gen-gen pengendali resistensi terhadap antraknos dapat bersifat aditif, dominan, atau epistasi (Cheema *et al.* 1984; Park *et al.* 1990; Rawal *et al.* 1983). Ekspresi gen pembawa sifat resisten antraknos selalu berubah tergantung keadaan lingkungan. Hal ini menyebabkan sulitnya melakukan seleksi secara konvensional.

Sebelum peta genetik tanaman tersedia, sifat kuantitatif dianalisis menggunakan model-model biometrika. Pendekatan biometrik, walaupun penurunannya secara deskriptif, ternyata tidak menerangkan pengaruh setiap gen yang terlibat dalam pengendalian sifat kuantitatif (Livingstone *et al.* 1999; Ben Chaim *et al.* 2000).

Oleh karena itu dilakukan pendekatan dengan penanda molekuler. Penanda molekuler memiliki kelebihan dibandingkan penanda morfologi, di antaranya meningkatkan efisiensi seleksi dalam pemuliaan tanaman dengan cara seleksi tidak langsung terhadap karakter yang dituju melainkan seleksi langsung kepada DNA tanaman, mempercepat deteksi introgresi gen asing atau bagian-bagian kromosom dari spesies liar ke dalam kultivar budidaya melalui silang balik. Selain itu penanda molekuler tidak diatur oleh lingkungan sehingga tidak dipengaruhi oleh kondisi di mana tumbuhan berada dan dapat terdeteksi pada semua tahap perkembangan tanaman (Mohan *et al.* 1997).

Efisiensi penyeleksian tidak langsung melalui marka tergantung pada kemudahan mendeteksi marka dan derajat keterpautannya dengan gen yang dituju. Pada penelitian sebelumnya diduga gen pengendali sifat resisten antraknos terpaut dengan penanda *microsatellite* dari *Capsicum* CAMS<sub>12</sub> (Finkers komunikasi pribadi). Namun ditemukan berbagai kendala apabila menggunakan CAMS<sub>12</sub> sebagai MAS (*marker assisted selection*), di antaranya (1) sukar memperoleh primer tersebut untuk keperluan analisis lebih lanjut, (2) sinyal yang muncul dari penanda tersebut relatif lemah, (3) setelah dilakukan reaksi PCR berulang kali, hanya 60 dari 145 DNA yang dianalisis menunjukkan sinyal yang relatif jelas. Oleh karena itu perlu dicari alternatif teknik penanda molekuler lainnya. Salah satu teknologi marka densitas tinggi dan dapat dipertimbangkan sebagai teknik yang paling sensitif mendeteksi Qtl adalah penanda AFLP (*amplified fragment length polymorphism*) yang dikembangkan oleh Vos *et al.* (1995). Suatu Qtl didefinisikan sebagai suatu daerah pada genom yang berhubungan dengan suatu efek pada sifat kuantitatif. Secara teori, Qtl dapat berupa satu gen (monogenik) atau kelompok pautan gen (poligenik) yang mengendalikan suatu karakter (Prasanna 2002). Gen-gen mayor mempunyai kontribusi yang besar dalam mengendalikan suatu karakter kuantitatif serta mudah direkombinasikan dengan karakter-karakter lainnya di dalam satu individu. Sifat ketahanan penuh terhadap penyakit pada tanaman umumnya dikendalikan oleh gen-gen mayor (Brown 1980). Sebaliknya pada gen-gen minor, sumbangannya kecil

terhadap suatu karakter, tetapi karena jumlahnya banyak dan bersifat aditif maka dapat terekspresikan secara fenotipik, sehingga mudah dibedakan dengan individu atau populasi lain (Baihaki 2000).

Analisis *bulk segregant* (BSA) yang dikembangkan Michelmores *et al.* (1991) merupakan metode skrining marka yang didasarkan atas pengelompokan DNA dari individu-individu tanaman pada populasi segregasi. Metode ini dapat menyeleksi marka-marka molekuler yang terpaut erat dengan lokus yang dituju secara lebih cepat dan tepat.

Pendekatan molekuler untuk mengidentifikasi gen-gen yang mengendalikan sifat tahan antraknos dapat dilakukan sebagai berikut (1) hasil skoring yang paling tahan dan rentan pada populasi F<sub>2</sub> dijadikan dua kelompok dan terhadap masing-masing individu dalam kelompok tersebut dilakukan amplifikasi DNA berdasarkan hasil seleksi primer yang memenuhi syarat (2) dapat juga dilakukan analisis BSA terlebih dahulu, kemudian diidentifikasi marka-marka yang polimorfik (ada pada kelompok individu tahan dan tidak ada pada kelompok individu rentan), (3) selanjutnya dilakukan analisis keterpautan dengan metode tertentu yang akhirnya dapat dipastikan marka-marka molekuler yang terkait dengan sifat ketahanan terhadap antraknos. Pada tulisan ini kegiatan penelitian dilakukan hingga tahapan ke dua, yaitu identifikasi penanda AFLP yang terpaut erat dengan gen pengendali sifat resisten antraknos di dalam *capsicum* menggunakan metode BSA. Strategi ini menggabungkan keunggulan AFLP yang mampu menganalisis jumlah lokus yang banyak per eksperimen dengan pendekatan skrining yang cepat dari BSA.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan tanaman

Populasi yang bergegasi (F<sub>2</sub>) dibentuk dari persilangan interspesifik jatilaba (*C. annuum*) X PI 315023 (*C. chinense*). Jatilaba sebagai tetua rentan dan PI 315023 sebagai tetua tahan terhadap penyakit antraknos diseleksi dari serangkaian pengujian skrining terhadap aksesi-aksesi cabai selama periode tahun 1996-1997 dalam skala laboratorium maupun

lapangan. Autopolinasi (*selfing*) dilakukan pada satu tanaman F<sub>1</sub> dan diperoleh 365 individu dalam populasi F<sub>2</sub>. Pada tahun 1998 dilakukan skrining terhadap penyakit antraknos (*C. gloeosporioides* dan *C. capsici*) pada 365 individu populasi F<sub>2</sub>. Skrining dilakukan dengan cara menusukkan buah cabai dengan penusuk kayu yang telah dicelup ke dalam larutan inokulum pada konsentrasi 10<sup>6</sup> konidia/ml. Data fenotipik berupa ketahanan cabai terhadap antraknos diperoleh berdasarkan penilaian ukuran diameter lesio yang ditimbulkan setelah buah cabai diinokulasi. Sebanyak 145 individu dalam populasi F<sub>2</sub> dikoleksi daunnya untuk keperluan analisis genetik. Jumlah individu yang digunakan untuk analisis keterpautan genetik dirasa mencukupi. Hal ini didasarkan pada pola sebaran frekuensi karakter yang dituju dari individu-individu yang terpilih bersifat normal, sehingga dianggap telah memenuhi persyaratan dalam pengolahan data untuk identifikasi Qtl. Analisis genetik dilakukan di laboratorium Pemuliaan Tanaman Plant Research International, The Netherlands. Minimal tujuh DNA tanaman dalam populasi F<sub>2</sub> dikelompokkan untuk membentuk *bulk*. Dalam penelitian ini terdapat empat populasi *bulk*, yaitu (1) *bulk-R* (gabungan DNA dari tujuh tanaman tahan antraknos), (2) *bulk-S* (gabungan DNA dari 10 tanaman rentan antraknos), (3) *bulk-A* (gabungan DNA dari 10 tanaman yang terpaut dengan marka resesif CAMS<sub>12</sub>), dan (4) *bulk-B* (gabungan DNA dari 10 tanaman yang terpaut dengan marka dominan CAMS<sub>12</sub>). Selain itu digunakan pula DNA dari jatilaba (tetua rentan antraknos) dan PI 315023 (tetua tahan antraknos) untuk menelusuri pola pewarisan sinyalnya.

### Isolasi DNA

DNA diisolasi dari jaringan daun muda dengan prosedur metode miniprep yang dikembangkan oleh Heusden *et al.* (2000). Sebanyak 0,5 g jaringan daun muda dikoleksi ke dalam tabung ependorf. Contoh daun dibekukan dan digerus dalam nitrogen cair. Ke dalam jaringan daun ditambahkan 750 µl isolasi buffer yang terdiri dari lisis buffer: ekstraksi buffer: sarcosyl (2½:2½:1) dengan penambahan 0,02 M NaBisulfite. Campuran ini diinkubasikan selama 60 menit pada suhu 65°C, kemudian tabung dibalikkan beberapa kali. DNA dimurnikan

dengan menambahkan 750 µl kloroform/isoamilalkohol (24:1). Tabung dibalikkan beberapa kali (10-20 kali) dan disentrifugasi selama lima menit pada 14 000 rpm. Supernatan ditransfer kedalam tabung baru dan DNA diendapkan dengan penambahan 400 µl isopropanol dingin (-20C). DNA segera dikeluarkan dari tabung apabila pelet sudah terlihat. Jika pelet DNA belum terlihat, maka proses sentrifugasi diulang lagi selama 5 menit pada 14 000 rpm. Selanjutnya DNA dicuci dalam 500 µl etanol 70% dan dikeringkan pada suhu kamar. Sebagai stok, DNA dilarutkan lagi kedalam 100 µl TE dan diukur konsentrasinya. Sebanyak 10 µl dari 100 µl larutan DNA secara rutin digunakan untuk reaksi AFLP atau SSRs/SSLP.

### Analisis AFLP

Reaksi AFLP dilakukan mengikuti prosedur dari Vos *et al.* (1995) dengan 96 kombinasi enzim restriksi EcoRI/MseI. Enzim restriksi, adaptor, dan primer yang digunakan tersaji dalam Tabel 1. Untuk setiap kombinasi enzim, prosedur amplifikasi terdiri atas dua tahap. Pada tahap praamplifikasi, masing-masing primer ditambahkan satu nukleotida selektif. Setelah amplifikasi, campuran reaksi diencerkan 20 kali. Sebanyak 12,5 µl campuran reaksi praamplifikasi digunakan pada amplifikasi final. Fragmen amplifikasi dipisahkan pada gel poliakrilamid. Pada awal program PCR tahap praamplifikasi, DNA diupayakan tidak terdenaturasi. Oleh karena itu suhu diatur pada 72°C selama 2 menit. Selanjutnya denaturasi DNA pada 94°C selama 20 detik, *annealing* pada 56°C selama 30 detik, dan sintesis pada 72°C selama 2 menit. Proses amplifikasi dilakukan sebanyak 19 siklus. Sedangkan profil reaksi pada amplifikasi final dilakukan dua tahap. Tahap pertama sebanyak delapan siklus, yaitu 5 detik denaturasi pada 94°C, 30 detik *annealing* pada 65°C, dan sintesis selama dua menit pada 72°C. Tahap ke dua sebanyak 22 siklus, yaitu 5 detik denaturasi pada 94°C, 30 detik *annealing* pada 56°C, dan sintesis selama 2 menit pada 72°C.

Proses PCR berlangsung dengan menggunakan mesin MJ PTC-200. Selanjutnya produk PCR dituangkan ke dalam poliakrilamid gel. Proses elektroforesis dengan poliakrilamid

**Tabel 1. Daftar adapter dan primer EcoRI/MseI yang digunakan dalam analisis AFLP (List of adaptors and EcoRI/MseI primers used in AFLP analysis)**

Adapter/Primer		Sekuen*)
EcoRI adapter	5'-CTCGTAGACTGCGTACC-3'	
	CTGACGCATGGTTAA-5'	
E00 (primer universal)		GACTGCGTACCAATTC
EcoRI + 1 primer	E01	E00 + A
E01 E00 + A	E32	E01 + AC
EcoRI + 3 primer	E36	E01 + CC
	E37	E01 + CG
	E40	E01 + GC
	E41	E01 + GG
	E45	E01 + TG
MseI adapter	5'-GACGATGAGTCTGAG-3'	
	3'- TACTCAGGACTCAT-5'	
M00 (primer universal)		GATGAGTCTGAGTAA
MseI + 1 primer	M02	MOO + C
MseI + 3 primer	M47	M02 + AA
	M48	M02 + AC
	M49	M02 + AG
	M50	M02 + AT
	M51	M02 + TG
	M52	M02 + CC
	M53	M02 + CG
	M54	M02 + CT
	M55	M02 + GA
	M56	M02 + GC
	M57	M02 + GG
	M58	M02 + GT
	M59	M02 + TA
	M60	M02 + TC
	M61	M02 + TG
	M62	M02 + TT

\* Orientasi DNA selalu dari 5' ke 3'

berlangsung pada mesin ABI-377 analizer genetik. Untuk visualisasi reaksi digunakan label fluorescen pada primer EcoRI dalam reaksi amplifikasi final.

Fragmen AFLP (30-500 bp) diskor sebagai dominan (alel homozigot aa atau cc) atau kodominan (alel heterozigot CD) dengan menggunakan *software AFLP image analysis* yang dikembangkan oleh *Keygene, The Netherlands*. Marka AFLP diberi nama sesuai dengan nama kedua primer diikuti dengan posisi fragmen pada gel.

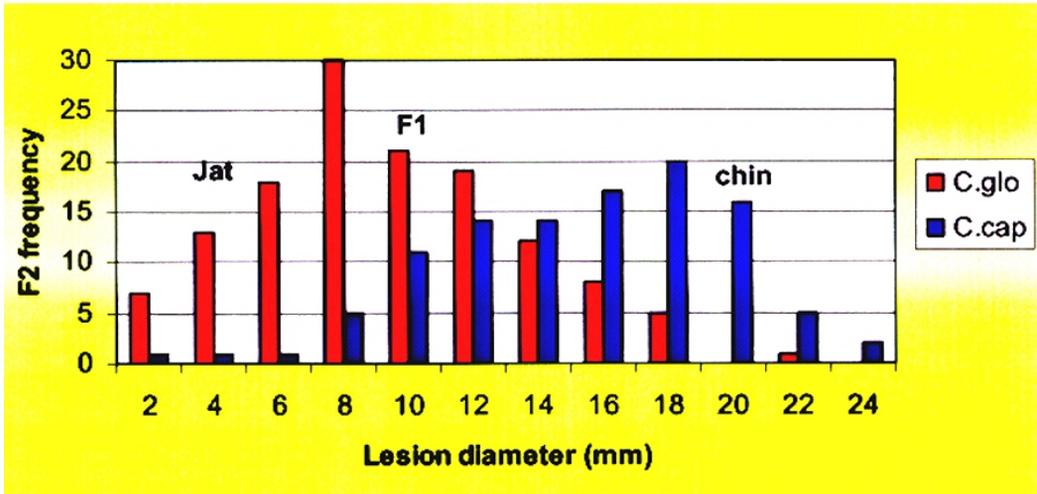
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Fenotip ketahanan antraknos pada tetua F<sub>1</sub> dan F<sub>2</sub>

Hasil pengujian ketahanan terhadap antraknos di laboratorium dan lapangan pada kedua tetua persilangan dapat dilihat dalam Tabel 2. Pada pengamatan di laboratorium kultivar jatilaba (*C. annuum*) sebagai tetua peka antraknos menunjukkan diameter lesio lebih dari 22 mm, sedangkan diameter lesio PI 315023 (*C. chinense*) sebagai tetua tahan kurang dari 4 mm.

Tabel 2. Fenotip penyakit antraknos pada jatilaba dan PI 315023 pada pengujian di laboratorium dan lapangan (*Phenotype of antracnose disease of jatilaba and PI 315023 on laboratorium and field tests*)

Tetua (Parents)	Pengujian Lab (Lab. Test) Diameter lesio (Lesion diameter) .....mm.....		Pengujian lapangan (Field test) Buah terinfeksi (Infected fruits) .....%		
	<i>C. capsici</i>	<i>C. gloeosporioides</i>	400 m dpl <i>C. capsici</i>	400 m dpl <i>C. gloeo.</i>	900 m dpl <i>C. capsici</i> + <i>C. gloeo</i>
Jatilaba	22,2	23,0	60	100	100
PI 315023	3,5	3,1	0	0	0



Gambar 1. Kurva frekuensi diameter lesio F<sub>2</sub> akibat infeksi *C. gloeosporioides* dan *C. capsici* pada populasi F<sub>2</sub> (jatilaba X PI 315023). (*F<sub>2</sub> frequency curve of lesion diameter of the fruits after infected by C. gloeosporioides and C. capsici*).  
Diam. lesio tetua PI315023 < 4 mm; tetua jatilaba >20 mm; dan tanaman F<sub>1</sub> ± 10 mm.

Pada pengujian di lapangan, serangan antraknos pada buah-buah kultivar jatilaba berkisar 60–100% tergantung spesies *Colletotrichum*. Sementara itu buah-buah PI 315023 (*C. chinense*) tidak menunjukkan gejala infeksi pada lahan yang terinfestasi oleh *C. capsici*, *C. gloeosporioides* ataupun keduanya. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa gen pengendali sifat tahan antraknos dari PI 315023 (*C. chinense*) tidak spesifik terhadap spesies *Colletotrichum* (*non-race-specific*) dan sangat efektif pada berbagai kondisi lingkungan.

Dari Tabel 2 terlihat bahwa kedua tetua persilangan memiliki perbedaan ekspresi gen pengendali sifat tahan antraknos yang sangat kontras. Hasil konfirmasi survei polimorfisme amplifikasi PCR terhadap DNA genom (RAPD) disimpulkan bahwa jatilaba (*C. annuum*) sebagai tetua peka dan PI 315023 (*C. chinense*) sebagai

tetua tahan antraknos untuk pembentukan populasi segregasi sangat dianjurkan (Sanjaya *et al.* 2002).

Rataan diameter lesio tanaman F<sub>1</sub> 11,62 mm ( $\sigma^2$  11,59), sedangkan rata-rata diameter lesio populasi F<sub>2</sub> adalah 8,40 mm ( $\sigma^2$  16,76). Ragam tetua peka jatilaba dan tetua tahan PI 315023 masing-masing sebesar 12,33 dan 16,76. Berdasarkan pada data tersebut, maka diperoleh nilai potensi rasio 0,04 dan heritabilitas dalam arti luas sebesar 0,20 (Sanjaya *et al.* 2001).

Nilai potensi rasio mendekati 0 menunjukkan tidak terdapat dominansi, jadi aksi gen pada populasi F<sub>2</sub> tersebut bersifat aditif. Dengan demikian program pemuliaan resistensi akan memberikan peluang keberhasilan yang cukup tinggi untuk pembentukan varietas unggul tahan antraknos. Nilai heritabilitas dalam arti luas

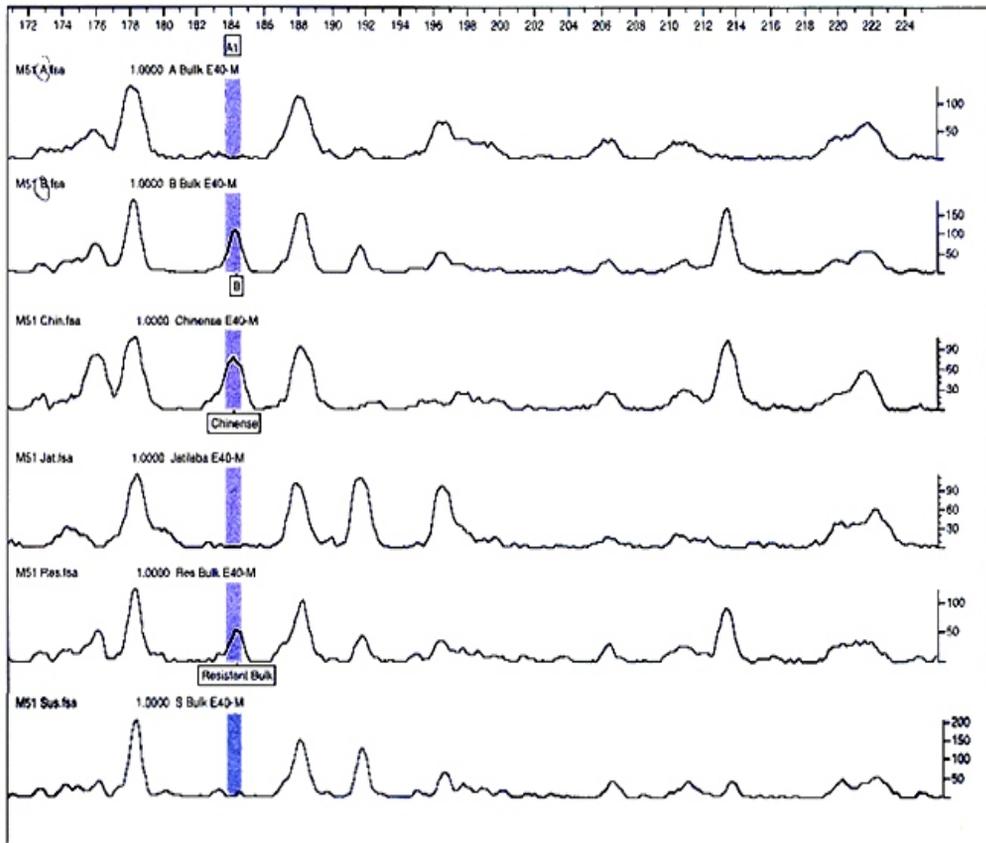
relatif rendah (0,20), hal ini mempertegas bahwa ketahanan terhadap antraknos pada populasi F<sub>2</sub> tersebut dikendalikan secara poligenik. Pola segregasi populasi F<sub>2</sub> berdasarkan kriteria diameter lesio akibat infeksi *C. gloeosporioides* dan *C. capsici* disajikan dalam Gambar 1.

Dari Gambar 1 terlihat adanya kecenderungan bentuk kurva yang condong ke kiri, namun secara statistik tidak signifikan. Hal ini didasarkan atas uji Kosmogorov-Smirnov (P.0.061), Liliefors, maupun Shapiro-Wilke, yang memastikan bahwa pola sebaran frekuensi F<sub>2</sub> tersebut adalah normal. Hasil penghitungan terhadap jumlah gen yang terlibat, disimpulkan bahwa sekurang-kurangnya ada tujuh gen yang mengendalikan karakter ketahanan terhadap antraknos pada populasi F<sub>2</sub> tersebut. Namun demikian besarnya pengaruh masing-masing gen dan posisinya pada kromosom tidak dapat diterangkan lebih lanjut. Oleh karena itu pendekatan dengan penanda molekuler sangat

diperlukan untuk mengetahui pengaruh setiap gen yang terlibat dalam pengendalian sifat tahan antraknos.

**Identifikasi marka AFLP yang terpaut sifat tahan antraknos**

*Amplified fragment length polymorphism image analysis* mampu membedakan segmen DNA dari *bulk-R*, *bulk-S*, *bulk-A* dan *bulk-B* melalui sinyal *fluorescen*. Sinyal pembeda muncul pada hampir setiap pasang basa. Sebanyak 14-50 sinyal polimorfik muncul pada setiap kombinasi primer yang digunakan di antara kedua tetua dan keempat *bulk* DNA. Dari 96 kombinasi primer EcoRI/MseI diperoleh dua marka yaitu E<sub>37</sub>M<sub>51</sub>184bp dan E<sub>45</sub>M<sub>54</sub>484bp yang memberikan sinyal pada tetua tahan, *bulk-R* dan *bulk-B* tetapi tidak ada sinyal pada tetua rentan, *bulk-S* dan *bulk-A*. Gambar 2 menyajikan sinyal polimorfisme dari marka E<sub>37</sub>M<sub>51</sub>184 pada kedua tetua, *bulk* DNA tahan/rentan dan *bulk* A/B.



**Gambar 2.** Grafik sinyal polimorfisme dari marka E<sub>37</sub>M<sub>51</sub>184bp pada kedua tetua, *bulk* R/S dan *bulk* A/B (*Polymorphism signal of E<sub>37</sub>M<sub>51</sub>184bp marker on both parents, R/S bulk, and A/B bulk.*)

Selanjutnya analisis genetik terhadap seluruh individu dalam populasi F<sub>2</sub> dilakukan dengan menggunakan kombinasi primer E<sub>37</sub>/M<sub>51</sub> untuk memperjelas keterkaitan antara marka E<sub>37</sub>M<sub>51</sub>184bp dengan gen pengendali sifat resisten. Data genetik berdasarkan sinyal polimorfisme dari marka E<sub>37</sub>M<sub>51</sub>184 pada setiap individu dalam populasi F<sub>2</sub> adalah 46% bersifat heterozigot, 35% berasosiasi dengan karakter homozigot resisten, dan 15% terkait dengan karakter homozigot rentan.

Dengan demikian marka E<sub>37</sub>M<sub>51</sub> pada 184 pasang basa dapat digunakan untuk menyeleksi individu-individu yang berasal dari turunan yang sama atau dari persilangan tetua tahan dengan tetua betina lainnya, apabila marka dari tetua betina bersifat resesif.

Oleh karena teknik AFLP relatif mahal dan rumit, maka perlu dicari suatu teknik PCR yang lebih sederhana. Tahapan yang perlu dilakukan adalah kloning dan sekuensing marka AFLP untuk menunjukkan kembali marka-marka tersebut ke dalam satu daerah SCAR atau *sequence characterized amplified region* (Paran & Michelmore 1993) yang selanjutnya dapat memfasilitasi suatu turunan dengan satu uji PCR yang praktis dan murah. SCAR dapat dikembangkan untuk menyeleksi turunan-turunan yang diperoleh dari spesies lain yang menyumbang lokus resisten yang sama.

## KESIMPULAN

Telah teridentifikasi marka yang terpaut dengan lokus sifat resisten antraknos, yaitu E<sub>37</sub>M<sub>51</sub>184. Marka E<sub>37</sub>M<sub>51</sub>184 dapat digunakan untuk seleksi tidak langsung dalam program pemuliaan tanaman cabai yang resisten antraknos ataupun mengkloning gen resisten.

## PUSTAKA

1. Baihaki, A. 2000. Teknik rancangan dan analisis penelitian pemuliaan. *Diktat kuliah program pengembangan kemampuan peneliti tingkat S1 non-pemuliaan*. Fakultas Pertanian Universitas Pajajaran.

2. Ben Chaim A, I. Paran, R.C. Grube, M. Jahn, R. van Wijk and J. Peleman. 2001. Qtl mapping of fruit-related traits in pepper (*Capsicum annuum*). *Theor. Appl. Genet.* 102:1016-1028.
3. Brown, J.F. 1980. The genetics of resistance in plants to infection by pathogens. In: *A course manual in plant protection*. AAVCS. P:267-275
4. Cheema, D.S., D.P. Singh, R.D. Rawal, and A.A. Deshpande. 1984. *Inheritance of resistance to anthracnose disease in chillies*. *Capsicum Newsletter* 3, 44p.
5. Direktorat Jenderal Bina Produksi Hortikultura. 2001. *Produksi tanaman sayuran, buah-buahan, hias, dan obat di Indonesia*. P:1&12.
6. Hadden, J.F. and L.L. Black. 1989. Anthracnose of pepper caused by *Colletotrichum* spp. In. Green SK, TD Griggs, & BT Mclean (eds) *Tomato and peper production in the tropics. Proceedings of the International symposium on intergrated management practices, Tainan, Taiwan, 21-26 March 1988*. AVRDC Publ. No. 89-317, pp19.
7. Heusden van A.W., J.W. Van Ooijen, R.V. Van Ginkel, W.H.J. Verbeek, W.A. Wietsma, and C. Kik. 2000. A genetic map of an interspecific cross in *Allium* based on amplified fragment length polymorphism (AFLP™) markers. *Theor. App. genet.* 100:118-126.
8. Michelmore R.W., I. Paran, and R.V. Kesseli. 1991. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis : A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proc. Natl. acad. Sci. USA.* 88: 9828-9832.
9. Mohan, M., S. Nair, T.G. Krishna, M. Yano, C.R. Bhatia and T. Sasaki. 1997. Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. *Molecular Breeding.* 3:87-103.
10. Livingstone, K.D., V.K. Lackney, J.R. Blauth, R. van Wijk, and M.K. Jahn. 1999. Genome Mapping in *Capsicum* and the evolution of genome structure in the *Solanaceae*. *Genetics*:1183-1202.
11. Paran, I. and R.W. Michelmore. 1993. Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. *Theor. Appl. Genet.* 85:985-993.
12. Park, H.K., B.S. Kim, and W.S. Lee. 1990. Inheritance of resistance to anthracnose (*Colletotrichum* spp) in pepper (*Capsicum annuum* L.) I. Genetic analysis of anthracnose resistance by diallel crosses. *J. Korean Soc. For Hort. Sci.* 31:91-105.
13. Pickersgill, B. 1989. Genetic resources of *Capsicum* spp. for tropical regions. In. Green SK, TD Griggs, & BT Mclean (eds). *Tomato and peper production in the tropics. Proceedings of the International symposium on intergrated management practices, Tainan, Taiwan, 21-26 March 1988*. P:12-15

14. \_\_\_\_\_. 1991. Cytogenetic and evolution of *Capsicum* L. In Tsuchiya T & PK Gupta (eds.) *Chromosom engineering in plants; genetics, breeding evolution*. Part B. Elsevier, Amsterdam.
15. Prasanna, B.M. 2002. Qtl mapping in crop plants : principle and methodology. Part of manual KAR short-term Training Course: *Molecular marker application in plant breeding, September 26-October 5, 2002*. Division of Genetics Indian Agric. Res. Ins. New Delhi.
16. Rawal, R.D., A.A. Deshpande, D.P. Singh, and C.S. Pathak. 1983. Resistant sources for anthracnose fruit rot (*Colletotrichum capsici*) in chilli peppers (*Capsicum* spp.). *Capsicum Nesletter*. 2:126-127.
17. Sanjaya L., C. Herison, and B. Suryotomo. 2001. Pewarisan sifat ketahanan terhadap antraknose pada persilangan interspesifik *C. annuum* v. *Jatilaba* X *C. chinense*. *Prosiding Kongres IV dan Simposium Nasional PERIPI, Yogyakarta, 23-24 Oktober 2001*.
18. \_\_\_\_\_, G.A. Wattimena, E. Guharja, M. Yusuf, H. Aswidinnoor, dan Piet Stam. 2002. Keragaan ketahanan aksesi *Capsicum* terhadap antraknose (*Colletotrichum capsici*) berdasarkan penanda RAPD. *J. Biotek. Pert.* 7(2):37-42.
19. Vos P, R. Hogers, R. Bleeker, M. van de Reijjans, T. Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper, and M. Zabeau. 1995. AFLP a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23:4407-4414.
20. Zijlstra, S., C. Purimahua, and P. Linhout. 1991. Pollen tube growth in interspecific crosses between *Capsicums* pecies. *Hort. Sci.*26:585-586.