

Eksresi Gen Penyandi Peroksidase Cabai Merah (*Capsicum Annuum* L.) (*CaPer*) sebagai Respons terhadap *Fusarium Oxysporum*

Athried Elsim¹, Rejeki Siti Ferniah², Hermin Pancasakti Kusumaningrum²

^{1,2} Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Semarang
Jl. Prof. Soedarto, SH., Tembalang, Semarang 50275

Email: ferniahmikro@gmail.com

Abstract

Chili pepper (*Capsicum annuum* L.) is an important agricultural commodity in Indonesia that is susceptible to some plant-disturbing organism infection such as *Fusarium oxysporum*. The chili pepper plant itself has an active chemical defense by expressing peroxidase as a defense mechanism to prevent pathogenic infection. This research is aimed to comprehend the expression of peroxidase-encoding gene in chili plant as a response to *F. oxysporum* infection. This research was started by fungi inoculation in chili pepper plant body using root-soaking method. The peroxidase gene expression is analyzed using qRT-PCR on *CaPer* gene, using 18S rRNA gene as housekeeping gene on 6, 48, dan 96 hours interval after inoculation. The observation result shows that the *CaPer* gene is expressed highest in the first 6 hours after inoculation.

Keywords: *resistance, chili pepper, Fusarium oxysporum, peroxidase, qRT-PCR*

Abstrak

Cabai merah (*Capsicum annuum* L.) merupakan komoditas pertanian penting di Indonesia yang sering terkena serangan OPT (organisme pengganggu tanaman) misalnya *Fusarium oxysporum*. Tanaman cabai merah memiliki sifat ketahanan kimiawi aktif yaitu mengekspresikan peroksidase sebagai respons terhadap infeksi patogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ekspresi gen penyandi peroksidase pada tanaman cabai merah sebagai respons terhadap jamur *F. oxysporum*. Penelitian ini diawali dengan inokulasi jamur pada tanaman cabai merah dilakukan dengan metode rendaman akar. Analisis ekspresi gen penyandi peroksidase menggunakan qRT-PCR dilakukan pada gen *CaPer* dengan gen 18s rRNA sebagai gen pembaku, pada interval 6, 48, dan 96 jam setelah inokulasi. Hasil penelitian gen *CaPer* terekspresi paling tinggi pada 6 jam setelah inokulasi.

Kata kunci: *ketahanan, cabai merah, Fusarium oxysporum, peroksidase, qRT-PCR*

PENDAHULUAN

Cabai merah (*Capsicum annuum* L.) adalah salah satu komoditas hortikultura yang banyak dibudidayakan oleh petani Indonesia karena harga jualnya yang tinggi dan memiliki beberapa manfaat. Beberapa manfaat cabai merah antara lain dapat mengendalikan kanker dan kandungan vitamin C nya cukup tinggi (Prajnanta, 2001). Cabai merah banyak digunakan sebagai bumbu masakan, buah cabai merah juga banyak digunakan sebagai bahan campuran pada industri makanan dan untuk peternakan (Setiadi, 2000).

Budidaya cabai merah memiliki masalah, di antaranya teknis budidaya, kekurangan nutrisi, serta serangan penyakit. Salah satu penyakit yang menyerang cabai merah adalah layu *Fusarium*.

Famili Solanaceae (tomat, kentang, cabai merah dan tanaman lainnya) diinfeksi oleh jamur yang dapat menyebabkan layu *Fusarium*. Organisme penyebab penyakit masuk melalui akar muda dan menyebar pada pembuluh dari akar dan batang, bagian pembuluh batang tersumbat dan gagal menyalurkan air ke daun (Nugraheni, 2010). Berdasarkan laporan UPT Proteksi Tanaman Pangan dan Hortikultura (PTPH) Sumatera Utara (Sumut) periode tanggal 1 - 15 Oktober 2018, terdapat sekitar 28,5 hektar tanaman cabai merah di Sumatera Utara terserang layu *Fusarium*. Luasan itu antara lain berada di Kabupaten Simalungun berkisar 10 hektar, Deliserang 1,6 hektar, Langkat 1,5 hektar, Dairi 4,7 hektar, dan Karo 1,8 hektar. Patogen ini dapat menyerang dari masa perkecambahan hingga

dewasa dan dapat menyebabkan kerugian mencapai 50% (Rostini, 2011).

Tanaman memiliki sistem pertahanan diri yang berkaitan dengan proses fisiologis ketika menghadapi suatu cekaman. Cekaman tertentu yang menyerang sistem pertahanan diri tanaman dapat menginduksi ekspresi gen, salah satunya adalah gen penyandi enzim peroksidase. Enzim peroksidase adalah senyawa yang mengkatalis reaksi oksidasi hidrogen peroksida dengan monomer-monomer lignin seperti: r-kumaril alkohol, koniferil alkohol dan sinapsisi alkohol menjadi polimer berupa lignin. Adanya keberadaan lignin maka dinding sel tumbuhan menjadi lebih tebal sehingga sulit untuk dipenetrasi patogen. Enzim peroksidase memiliki kemampuan mengurai hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air (Vicuna *et al.* 2011). Pentingnya keberadaan enzim peroksidase tersebut di dalam tanaman digunakan sebagai dasar untuk studi gen penyandi *Peroksidase*. Beberapa peneliti menemukan terjadinya peristiwa peningkatan aktivitas enzim dan ekspresi gen penyandi peroksidase pada berbagai macam tanaman sesaat setelah terinfeksi oleh jamur patogen (Do *et al.*, 2003; Gayoso *et al.*, 2004; Choi *et al.*, 2007; Mdanal *et al.*, 2008; Fernández-Hererra *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2013).

Hasil dari studi genetik tersebut dapat dijadikan sebagai sumber informasi sekaligus sebagai sumber genetik dalam pembuatan atau pengembangan varietas-varietas tanaman baru yang mempunyai resistensi atau toleransi yang luas terhadap stress atau cekaman lingkungan.

METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika (FSM) Universitas Diponegoro (UNDIP) dan Laboratorium Terpadu UNDIP. Waktu pelaksanaan penelitian adalah bulan Januari – Maret 2019.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang perlu digunakan yaitu rumah kaca, *polybag*, sekop, penyiram, alat tulis, alat dokumentasi (*camera*), cawan petri, gelas ukur, rak mikrotube, parafilm, gunting, *cutter*, tabung reaksi, erlenmeyer, lampu bunsen, ose tanam tajam, korek api, *tissue*, mikroskop, inkubator, mikropipet, tip biru,

tip kuning, tip putih, *microcentrifuge*, spektrofotometer-UV, *thermocycler (Eppendorf mastercycler personal)*, mesin *real time PCR (Rotor Gene Q 5 Plex, Qiagen)*, dan UV *transilluminator*.

Bahan yang digunakan adalah benih tanaman cabai merah Lembang-1 dari Balai Penelitian Sayuran (Balitsa, Lembang Kabupaten Bandung Barat, Indonesia). Media tanam cabai merah berupa tanah humus, pupuk NPK, pupuk solusi, dan air untuk perawatan tanaman cabai merah. Jamur *F. oxysporum* merupakan koleksi Laboratorium Bioteknologi Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro. Medium PDA (*Potato Dextrose Agar*) dan PDB (*Potato Dextrose Broth*) yang berfungsi sebagai medium pertumbuhan untuk jamur *Fusarium oxysporum*. Isolasi RNA cabai merah menggunakan *Plant RNA Mini Kit* (Geneaid), qRT-PCR menggunakan *Bioline BIO-72001 SensiFAST SYBR No-ROX One-Step Kit, 100 rxns-1 Qty*, primer *forward* dan *reverse* gen peroksidase, dan primer gen 18S rRNA untuk PCR (FBCO), tisu, aluminium foil, masker, dan lateks.

Cara Kerja

A. Penanaman Cabai Merah

Erlenmeyer atau wadah diisi cabai merah Lembang-1 dan dipilih benih cabai merah yang baik. Benih cabai merah direndam dalam air hangat selama 15 menit. Setelah itu dilanjutkan dengan direndam dalam air kelapa selama 15 menit dilakukan karena untuk menunjang perkecambahan pada biji cabai merah. Benih cabai merah yang telah muncul tunas disemai dalam plastik kecil ukuran 5x8 cm yang berisi media tanam, masing-masing berisi 1 tanaman. Penyemaian dilakukan selama 7 hari.

Penanaman benih cabai merah dilakukan setelah benih berumur 7 hari. Penanaman dilakukan dengan memindahkan kecambah cabai merah ke dalam *polybag*. Kemudian kecambah ditanam dengan kedalaman kurang lebih 1 cm. Tanaman cabai merah disiram dua kali setiap hari yaitu pada pagi hari dan sore hari untuk menjaga ketersediaan air dan kelembaban tanah, kecuali bila hari hujan. Penyiangian dilakukan dengan mengambil gulma yang tumbuh secara liar di sekitar tanaman cabai merah. Penyiangian dilakukan selama penelitian berlangsung.

B. Peremajaan isolat *F. oxysporum*

Isolat murni *F. oxysporum* diinokulasikan dalam media PDA. Cawan petri yang berisi isolat murni *F. oxysporum* diletakkan dalam inkubator, diamati pertumbuhan jamur 5–7 hari kemudian. Media PDB adalah media yang digunakan untuk peremajaan jamur *F. oxysporum* sampai mencapai kepadatan jamur $10^5 - 10^6$ konidia/mL (Herman dan Perl-Treves, 2007). Perhitungan kepadatan spora menurut Alqaisi (2018) *F. oxysporum* menggunakan rumus :

$$\text{Kepadatan spora (spora/mL)} = \frac{x}{L \times T \times d} \times 10^3$$

C. Inokulasi Tanaman Cabai Merah dengan *Fusarium oxysporum*

Inokulasi *F. oxysporum* ke tanaman cabai merah dilakukan dengan metode rendaman akar (Karimi *et al.* 2010). Tanaman cabai merah setelah perendaman dengan disinfektan, tanaman cabai merah dibilas dengan cara mencelupkan ke dalam *aquades* steril. Tanaman cabai merah kemudian diletakkan dalam Erlenmeyer dan direndam dalam larutan konidia jamur kepadatan $10^5 - 10^6$ konidia/mL selama 30 menit. Tanaman ditanam kembali dalam medium tanam steril dalam *polybag*. Tanaman cabai merah dipindahkan ke dalam *polybag* yang diisi dengan tanah steril.

D. Ekpresi Gen Penyandi Peroksidase dengan qRT-PCR

Daun tanaman cabai merah diambil dan ditimbang dengan menggunakan neraca analitik sebanyak 0,1 gram kemudian didinginkan selama 1 malam pada suhu -20°C sebelum melakukan isolasi RNA. Isolasi RNA dilakukan dengan menggunakan *Plant RNA Mini Kit* (Geneid) sesuai protokol.

Reaksi qRT-PCR dilakukan satu tahap (*one step real time PCR*). Pasangan primer gen peroksidase yang digunakan dalam qRT-PCR adalah F: '5-AAG GTA TTA GGG CTC AGG GGA-3' dan R: '5-CGA ACC TAT GTA AAA AGA GTG TAA-3' (Zhang, 2013). Campuran qRT-PCR dibuat dengan *BIOLINE BIO-72001 SensiFAST SYBR No-ROX One-Step Kit, 100 rxns-1 Qty* dengan total volume yaitu 20 μl /reaksi. Komposisi campuran adalah 10,0 μl 2x SensiFAST SYBR[®] No-ROX One-Step Mix), 0,8 μl 10 μM primer *forward*, 0,8 μl 10 μM

primer *reverse*, 0,2 μl *reverse transcriptase*, 0,4 μl *RiboSafe* RNAse inhibitor, 3,8 μl H_2O dan 4 μl *template*. Program pada qRT-PCR diatur pada suhu 42°C selama 5 menit untuk sintesis cDNA, dilanjutkan dengan suhu 95°C selama 2–5 menit untuk inaktivasi RT, pada suhu 95°C selama 3 detik untuk denaturasi, pada suhu 55°C selama 20 detik untuk penempelan primer. Siklus diulang sebanyak 40x dengan pemanjangan akhir pada suhu 72°C selama 5 menit.

Secara kualitatif ekspresi gen dinilai berdasar atas nilai C_T , yaitu nilai kuantifikasi jumlah kopi ekspresi gen yang melewati garis ambang (*threshold*) yang telah ditetapkan, digradasikan menjadi overekspresi (<15), terekspresi sangat tinggi (15–20), tinggi (20–25), sedang (25–30), lemah (30–35), dan terekspresi sangat lemah (35–40) (Shahib, 2015).

Proses amplifikasi diperoleh kurva disosiasi yang kemudian dianalisis ekspresi relatifnya dengan menggunakan metode yang membandingkan target C_T dengan nilai referensi yang dipilih, yaitu level ekspresi *housekeeping gene* yang pada penelitian menggunakan gen 18S rRNA, dengan perhitungan $\Delta C_T = C_T \text{ target gene} - C_T \text{ housekeeping gene}$. Nilai ΔC_T memiliki nilai positif maka nilai C_T gen target lebih besar daripada nilai gen 18S rRNA ($+\Delta C_T$) dan sebaliknya nilai negative bila C_T gen target lebih rendah daripada gen 18S rRNA ($-\Delta C_T$). Perbandingan level ekspresi didapat dengan menggunakan rumus metode $2^{-\Delta\Delta C_T}$ (Livak, 2001).

HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Respons Daun Cabai Merah terhadap *F. oxysporum*

Hasil pengamatan ketahanan tanaman cabai merah dilakukan pada jam ke 6, 48, dan 96. Gejala dapat diamati dari morfologis daun tanaman cabai merah sesuai Tabel 1.

Tabel 1. Gejala pada tanaman cabai merah setelah inokulasi

Perlakuan	Morfologi daun pada jam ke		
	6	48	96
Kontrol	Daun hijau dan segar	Daun hijau dan segar	Daun hijau dan segar
<i>F. oxysporum</i>	Daun hijau dan segar	Daun hijau dan segar	Daun bagian bawah menguning

Respons pada tanaman mulai tampak pada jam ke 96 setelah inokulasi. Hasil penelitian mengalami perubahan pada warna daun bagian bawah yang mulai menguning. Hal ini sesuai dengan pendapat McDonald dan Muller (1992) bahwa *F. oxysporum* menyebabkan tanaman terkulai dan daun menguning sebelah bawah diikuti seluruh tanaman.

3.2 Ekspresi Gen Penyandi Peroksidase

Peroksidase diketahui berperan penting dalam sistem pertahanan tanaman terhadap serangan patogen (Hiraga *et al.*, 2001; Almagro *et al.*, 2009; Doehlemann dan Hemetsberger, 2013). Secara khusus, beberapa penelitian melaporkan adanya peningkatan aktivitas peroksidase pada tanaman cabai merah terserang oleh patogen, baik pada interaksi yang kompatibel maupun tidak kompatibel (Alcázar *et al.*, 1995; Egea *et al.*, 2001; Do *et al.*, 2003; Sarowar *et al.*, 2005; Choi *et al.*, 2007; Choi dan Hwang, 2012; Wang *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2013).

Analisis qRT-PCR dengan *RotorgeneQ Software version 2.1.1* menunjukkan adanya perubahan tingkat ekspresi pada perlakuan (Tabel 2).

Tabel 2. Analisis qRT-PCR gen Peroksidase pada tanaman cabai merah

ddCT H0 (6 jam setelah inokulasi)

Replikasi	GOI CT	Norm. CT	Konsentrasi Relatif	Kalibrator
Perlakuan	22.52	13.04	28.58	
Kontrol	27.37	13.05	1	✓

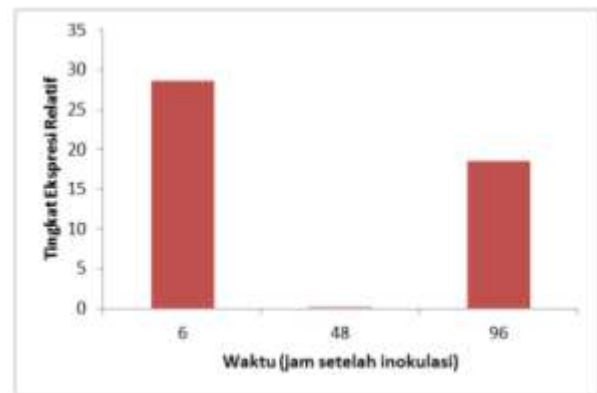
ddCT H2 (48 jam setelah inokulasi)

Replikasi	GOI CT	Norm. CT	Konsentrasi Relatif	Kalibrator
Perlakuan	23.78	21.64	0.19	
Kontrol	21.32	21.59	1	✓

ddCT H4 (96 jam setelah inokulasi)

Replikasi	GOI CT	Norm. CT	Konsentrasi Relatif	Kalibrator
Perlakuan	25.84	20.02	18.49	
Kontrol	22.15	20.54	1	✓

Tingkat ekspresi pada tanaman perlakuan dihitung secara relatif dibandingkan dengan tanaman kontrol yang berfungsi sebagai kalibrator dalam analisis qRT-PCR. Nilai tingkat ekspresi tanaman kontrol sebesar 1 pada penghitungan tingkat ekspresi relatif (*relative concentration*) pada tabel analisis qRT-PCR. Tingkat ekspresi relatif gen penyandi Peroksidase tanaman cabai merah ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Tingkat ekspresi relatif gen Peroksidase pada tanaman cabai merah sebagai respon terhadap infeksi layu *F. oxysporum*

Aktivitas peroksidase pada jam ke-6 setelah inokulasi mengalami peningkatan yang tinggi disebabkan sistem pertahanan dasar tanaman akan teraktivasi saat reseptor tanaman mengenali elisitor yang dihasilkan patogen. Salah satu mekanisme pertahanan yang dikembangkan tanaman adalah

akumulasi cepat dari spesies oksigen reaktif (ROS), yang disebut dengan ledakan oksidatif (*oxidative burst*). ROS bersifat meracun bagi patogen dan bisa menghancurkan dinding sel patogen menggunakan kemampuan oksidatifnya. Mekanisme ledakan oksidatif ini dikatalis oleh dua kelas enzim, yaitu NADPH oksidase dan peroksidase (Mehdy, 1994; Alcázar *et al.*, 1995; Bolwell *et al.*, 1995; Lamb dan Dixon, 1997; Apel dan Hirt, 2004).

Aktivitas peroksidase pada jam ke-48 setelah inokulasi menunjukkan adanya perubahan yang drastis. Hal ini menurut Do *et al.* (2003) aktivitas gen peroksidase menurun pada 24 dan 30 jam setelah inokulasi pada tanaman yang inkompatibel terhadap *F. oxysporum* ketika level akumulasi H₂O₂ maksimal. Hasil ini menunjukkan bahwa akumulasi H₂O₂ dan penurunan kuat dalam aktivitas gen peroksidase selama kematian sel yang diprogram mungkin disebabkan oleh penekanan kuat ekspresi gen *CaPO1*.

Peningkatan aktivitas peroksidase pada jam ke 96 setelah inokulasi terjadi karena ledakan oksidatif dapat terjadi dalam dua fase. Fase yang pertama terjadi segera yaitu 0-1 jam setelah reseptor tanaman mengenali elisitor patogen. Ledakan awal ini diawali dengan sekresi enzim yang ada pada apoplas dalam bentuk inaktif. Sementara, transkripsi tambahan dari enzim penghasil ROS juga terinduksi. Fase kedua biasanya dimulai 3-4 jam setelah serangan patogen, apabila patogen gagal membentuk interaksi yang kompatibel. Proses lalu dilanjutkan dengan aktivasi respon hipersensitif (HR) serta kematian sel terprogram pada jaringan yang terinfeksi (Mehdy, 1994; Lamb dan Dixon, 1997, Torres *et al.*, 2006; Daudi *et al.*, 2012).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa gen penyandi Peroksidase tanaman cabai merah mengalami ekspresi tertinggi pada jam ke-6 setelah inokulasi sebagai respons terhadap *F. oxysporum*.

DAFTAR PUSTAKA

Alcázar, D., C. Egea, A. E dan Cdanela, M.E. 1995. Peroxide isoenzymes in the defense response of *Capsicum annum* to *Phytophthora capsici*. *Physiogy Plant*. 94: 736–742.

- Almagro, L., Gómez-Ros, L.V., Belchi-Navarro, S., Bru, R., Ros-Barceló, A., and Pedreño, M.A. 2009. Class III peroxidases in plant defence reactions. *Journal of Experimental Botany*. 60: 377–390.
- Alqisi, M. 2018. Hemacytometer Calculator. *Academic Paper*. 1–2.
- Apel, K. and Hirt, H. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, dan signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*. 55: 373–399.
- Balai Perlindungan Tanaman Pangan dan Hortikultura Sumatra Utara. 2018. Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) II: Layu *Fusarium*. BPTPH Sumatra Utara.
- Bolwell, G.P., Butt, V.S., Davies, D.R., and Zimmerlin, A. 1995. The origin of the oxidative burst in plants. *Free Radical Research*. 23: 517–532.
- Choi, H.W. and Hwang, B.K. 2012. The pepper extracellular peroxidase CaPO2 is required for salt, drought dan oxidative stress tolerance as well as resistance to fungal pathogens. *Planta*. 235: 1369–1382.
- Choi, H.W., Kim, Y.J., Lee, S.C., Hong, J.K., dan Hwang, B.K. 2007. Hydrogen peroxide generation by the pepper extracellular peroxidase CaPO2 activates local dan systemic cell death and defense response to bacterial pathogens. *Plant Physiology*. 145: 890–904.
- Daudi, A., Cheng, Z., O'Brien, J.A., Mammarella, N., Khan, S., Ausubel, F.M., and Bolwell, G.P. 2012. The apoplastic oxidative burst peroxidase in *Arabidopsis* is a major component of pattern-triggered immunity. *Plant Cell*. 24: 275–287.
- Do, H.M., J.K. Hong, H.W. Jung, S.H. Kim, J.H. Ham dan B.K. Hwang. 2003. Expression of peroxidase-like genes, H₂O₂ production, and peroxidase activity during the hypersensitive response to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in *Capsicum annum*. *Molecular Plant Microbe Interactions Journal*. 16: 196–205.
- Doehlemann, G. and Hemetsberger, C. 2013. Apoplastic immunity dan its suppression by filamentous plant pathogens. *New Phytologist*. 198: 1001–1016.

- Egea, C., Ahmed, A.S., Cdanela, M and Cdanela, M.E. 2001. Elicitation of peroxidase activity and lignin biosynthesis in pepper suspension cells by *Fusarium oxysporum*. *Journal of Plant Physiology*. 158: 151–158.
- Fernández-Herrera, E., Rojas-Martínez, R.I., Guevara-Olvera, L., Rivas-Dávila, M.E., Valadez-Moctezuma, E., and Zavaleta-Mejía, E. 2012. Defense in chili CM-334 inoculated with *Fusarium oxysporum* and infected by *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 42: 96–107.
- Gayoso, C., Pomar, F., Merino, F., and Bernal, M.A. 2004. Oxidative metabolism and phenolic compounds in *Capsicum annuum* L. var. *annuum* infected by *Fusarium oxysporum* Leon. *Scientia Horticulturae*. 102: 1–13.
- Herman, R. and Perl-Treves, R. 2007. Characterization and Inheritance of a New Source of Resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* Race 1.2 in *Cucumis melo*. *Plant Disease* 91 : 1180 – 1186.
- Hiraga, S., Sasaki, K., Ito, H., Ohashi, Y., and Matsui, H. 2001. A large family of class III plant peroxidases. *Plant Cell Physiology*. 42:462-468.
- Karimi, R., Owuoche, J.O., and Silim, S.N. 2010. Inheritance of *Fusarium* wilt resistance in pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh). *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*. 70(3): 271-276.
- Lamb, C. and Dixon, R.A. 1997. The oxidative burst in plant disease resistance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 48: 251–275.
- Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. 2001. Analysis of relative gene expression data using realtime quantitative PCR dan the 2- $\Delta\Delta$ CT method. *Methods*. 25(4):402–8.
- Mdanal, S., Mitra, A., and Mallick, N. 2008. Biochemical characterization of oxidative burst during interaction between *Solanum lycopersicum* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 72: 56–61.
- McDonald, F. and Muller, G. 1992. Some Diseases of Hot Pepper in the CarribeanCommunity Countries. Carribean Agricultural Research and Development Institute. *Factsheet*. 1-4.
- Mehdy, M.C. 1994. Active oxygen species in plant defense against pathogens. *Plant Physiology*. 151: 1531–1545.
- Nugraheni, E.S. 2010. Karakterisasi Biologi Isolat-Isolat *Fusarium* Sp Pada Tanaman Cabai Merah Merah (*Capsicum annuum* L .) Asal Boyolali Karakterisasi Biologi Isolat-Isolat *Fusarium* sp pada tanaman Cabai Merah (*Capsicum annuum* L .). Fakultas pertanian Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Prajnanta, F. 2001. *Agribisnis Cabai Merah Hibrida*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Rostini. 2011. *Enam Jurus Bertanam Cabai Merah Bebas Hama dan Penyakit*. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka.
- Sarowar, S., Kim, E.N., Kim, Y.J., Ok, S.H., Kim, K.D., Hwang B.K., and Shin, J.S. 2005. Overexpression of a pepper ascorbate peroxidase-like 1 gene in tobacco plants enhances tolerance to oxidative stress dan pathogens. *Plant Science*. 169: 55–63.
- Setiadi, 2000. *Jenis dan Budi Daya Cabai Merah Rawit*. Cetakan 8. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Shahib, M.N., Budiman, Z., Feranty, A. 2015. Studies on gene expression at the RNA level associated with the senile lens change in human lens cataract. *DJMMS*. 2(3):11–8.
- Torres, M.A., J.D. Jones and J.L. Dangl. 2006. Reactive oxygen species signaling in response to pathogens. *Plant Physiology*. 141: 373–378.
- Vicuna, D., Malone, R. P., Dix, P. J. 2011. Increased tolerance to abiotic stresses in tobacco plants expressing a barley cell wall peroxidase. *Journal of Plant Sciences*. 6: 1-13.
- Wang, J.E., Li, D.W., Zhang, Y.L., Zhao, Q., He, Y.M and Gong, Z.H. 2013. Defence responses of pepper (*Capsicum annuum* L.) infected with incompatible and compatible strains of *Phytophthora capsici*. *European. Journal of Plant Pathology*. 136: 625–638.
- Zhang Y.L., Li, D.W., Gong, Z.H., Wang, J.E., Yin, Y.X., and Ji, J.J. 2013. Genetic determinants of the defense response of resistant and susceptible pepper (*Capsicum annuum*) cultivars infected with *Phytophthora capsici* (Oomycetes; Pythiaceae). *Genetics dan Molecular Research*. 12 (3): 3605-3621.