



# PERAKITAN TANAMAN JERUK MELALUI PENGEDITAN GENOM SEBAGAI UPAYA PENINGKATAN KETAHANAN PENYAKIT HUANGLONGBING

DIAN PUJI RAHAYU



**PROGRAM STUDI PEMULIAAN DAN BIOTEKNOLOGI TANAMAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2024**

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



### *@Hak cipta milik IPB University*

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul "Perakitan Tanaman Jeruk Melalui Pengeditan Genom Sebagai Upaya Peningkatan Ketahanan Penyakit Huanglongbing" adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Juli 2024

Dian Puji Rahayu  
A253194041

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## RINGKASAN

DIAN PUJI RAHAYU. Perakitan Tanaman Jeruk Melalui Pengeditan Genom Sebagai Upaya Peningkatan Ketahanan Penyakit Huanglongbing. Dibimbing oleh AGUS PURWITO dan MIA KOSMIATIN

Jeruk merupakan salah satu komoditi nasional yang memiliki potensi dan daya saing tinggi hal ini dikarenakan adanya kesadaran masyarakat akan kebutuhan jeruk sebagai sumber gizi. Upaya dalam peningkatan produksi jeruk memiliki berbagai kendala salah satunya yaitu ketidaktahanan tanaman jeruk terhadap serangan penyakit huanglongbing. Huanglongbing merupakan penyakit pada tanaman jeruk yang disebabkan oleh aktivitas bakteri *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLAs) yang dibawa oleh serangga vektor berupa kutu loncat atau *Asian Citrus Psyllid* (ACP) yaitu *Diaphorina citri* Kuwayama. Adanya aktivitas bakteri *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLAs) yang menginfeksi tanaman jeruk pada jaringan floem mengakibatkan akumulasi senyawa *callose* sehingga mengganggu perkembangan tanaman karena proses translokasi nutrisi ke bagian lain tanaman menjadi terganggu yang kemudian menimbulkan gejala penyakit huanglongbing seperti pucuk daun berbercak kuning, daun mengeras dan berukuran kecil. Hingga saat ini berbagai upaya untuk menanggulangi penyakit Huanglongbing masih belum efektif. Cara yang efektif untuk menanggulangi penyakit huanglongbing adalah menggunakan varietas yang tahan. Salah satu cara untuk mendapatkan tanaman yang tahan terhadap penyakit Huanglongbing yaitu dengan pendekatan bioteknologi melalui pengeditan genom. Pengeditan genom yang saat ini banyak digunakan yaitu dengan sistem CRISPR. CRISPR merupakan teknologi modern untuk pengeditan genom yang terdiri dari sekuens atau urutan nukleotida dengan repetisi pendek. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk memodifikasi gen *callose synthase* sehingga tidak terjadi akumulasi *callose* yang dihasilkan dari aktivitas bakteri *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLAs) penyebab penyakit Huanglongbing melalui teknik transformasi gen CRISPR/Cas9-gRNA-CsCS ke dalam genom tanaman jeruk dengan bantuan bakteri *Agrobacterium tumefaciens*.

Transformasi gen dilakukan pada 3 jenis eksplan yaitu embrio zigotik, embrio nuselar dan buku kotiledon yang berasal dari 4 jenis jeruk yang terdiri dari jeruk mandarin Ponkan, keprok Terigas, siam Banyuwangi dan fS89. Transformasi dilakukan pada konsentrasi *Optical Density* (OD<sub>600</sub>) sebesar 0,2 dan 0,02 dengan perendaman eksplan pada suspensi bakteri *Agrobacterium tumefaciens* yang telah membawa gen CRISPR/Cas9-gRNA-CsCS selama 20 menit kemudian dikokultivasi selama 3 hari pada kondisi ruang gelap lalu dilakukan seleksi pada media yang mengandung higromisin selanjutnya diregenerasikan pada beberapa komposisi media tanam untuk meregenerasikan eksplan. Eksplan yang beregenerasi kemudian dilakukan *Shoot Tip Grafting* dan diinokulasi bakteri *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLAs) secara buatan.

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini yaitu optimasi pada konsentrasi vektor *Agrobacterium tumefaciens* pada *Optical Density* (OD<sub>600</sub>) 0,02 memiliki hasil tertinggi pada semua karakter pengamatan pada semua eksplan pada beberapa jenis jeruk sedangkan optimasi pada *Optical Density* (OD<sub>600</sub>) 0,2 memiliki nilai yang lebih rendah. Percepatan pertumbuhan putatif transforman asal eksplan buku kotiledon yang dilakukan pada 6 jenis media tanam (VMW, MT, MS+K0, MS+K1,

@Hak Cipta milik IPB University

IPB University

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

MS+K2, MS+K3) menunjukkan bahwa tinggi tanaman dan jumlah daun tertinggi pada eksplan embrio nuselar diperoleh pada komposisi media tanam MS yang dikombinasikan dengan kinetin 3 mg/L.

Nilai rata-rata tinggi tanaman dan jumlah daun tertinggi pada eksplan embrio zigotik terdapat pada komposisi media MT dan hasil rata-rata tinggi tanaman dan jumlah daun tertinggi pada eksplan buku kotiledon terdapat pada komposisi media tanam MS yang dikombinasikan dengan kinetin 2 dan 3 mg/L. Efisiensi transformasi tertinggi didapatkan pada jenis eksplan embrio nuselar sebesar 14,29%. Efisiensi regenerasi tertinggi terdapat pada jenis eksplan embrio zigotik. Hasil persentase keberhasilan STG (*Shoot Tip Grafting*) tertinggi pada eksplan buku kotiledon. Pertumbuhan STG (*Shoot Tip Grafting*) di dalam rumah kaca sebelum dilakukan inokulasi bakteri CLas secara buatan sejumlah 7 galur yaitu KP597, KP598, KP599, KP604, KP605, KP606, dan KP607. Galur KP606 memiliki nilai tinggi tanaman tertinggi yaitu sebesar 53,63 cm. Nilai jumlah daun tertinggi terdapat pada galur KP598 sebesar 114,25 dan karakter jumlah cabang memiliki nilai tertinggi didapatkan pada galur KP598 dan KP604 yaitu sebesar 8,00. Sedangkan pada karakter diameter batang rata-rata tertinggi didapatkan pada galur KP606 sebesar 5,70 mm.

Inokulasi bakteri secara buatan terhadap entres galur Ponkan putatif transforman dilakukan pada 6 galur yaitu KP597, KP598, KP604, KP605, KP606 dan KP607 dengan keberhasilan penyambungan 100%, adapun pertumbuhan galur putatif transforman setelah dilakukan inokulasi bakteri secara buatan menunjukkan hasil tinggi tanaman tertinggi diperoleh pada galur KP598 sebesar 33,17. Karakter jumlah daun dan jumlah tunas tertinggi diperoleh pada galur KP606 dengan nilai berturut-turut 43,00 dan 4,67 mm. Pada karakter diameter batang menunjukkan hasil bahwa KP598 memiliki nilai tertinggi yaitu 2,97. Hasil persentase intensitas putatif transforman terserang penyakit huanglongbing setelah dilakukan inokulasi secara buatan menunjukkan hasil bahwa galur KP604 memiliki persentase intensitas serangan tertinggi sebesar 12,50% yang terjadi pada minggu ke 20 setelah inokulasi dan terdapat 3 galur yaitu KP598, KP606, dan KP607 yang tidak menunjukkan gejala HLB hingga minggu ke 24 setelah inokulasi bakteri.

Hasil pengamatan *Scanning Electron Microscope* (SEM) pada tunas yang dilakukan inokulasi bakteri secara buatan menunjukkan bahwa tunas yang tidak bergejala tidak terdapat bakteri yang berkoloni yang artinya tidak terjadi akumulasi *callose*, sedangkan tunas yang bergejala menunjukkan adanya koloni bakteri yang menginduksi akumulasi *callose*. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu terdapat 7 galur asal eksplan buku kotiledon mandarin Ponkan yang dapat dilanjutkan STG dan pengujian dengan inokulasi bakteri secara buatan di rumah kaca. Terdapat 3 galur yang menunjukkan tidak adanya gejala penyakit HLB setelah dilakukan inokulasi bakteri penyebab penyakit HLB secara buatan.

Kata kunci: Transformasi, *citrus*, huanglongbing, *in vitro*





## SUMMARY

DIAN PUJI RAHAYU. Citrus Plant Assembly Through Genome Editing as an Effort to Improve Huanglongbing Disease Resistance. Supervised by AGUS PURWITO and MIA KOSMIATIN.

Oranges are a national commodity with high potential and competitiveness due to public awareness of the need for oranges as a source of nutrition. Efforts to increase orange production have various obstacles, one of which is the resistance of orange plants to attacks by huanglongbing disease. Huanglongbing is a disease of citrus plants caused by the activity of the *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLAs), carried by insect vectors in the form of psyllids or ACP (*Diaphorina citri* Kuwayama). The activity of *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLAs) bacteria, which infects citrus plants in the phloem tissue, results in the accumulation of *callose* compounds, thereby disrupting plant development because the process of translocating nutrients to other parts of the plant is disrupted, which then causes symptoms of Huanglongbing disease such as yellowing of the tops of the leaves with some green spots, the leaves hardened and small in size. Until now, various efforts to control Huanglongbing disease have been ineffective. One way to get plants resistant to Huanglongbing disease is with a biotechnological approach through genome editing. Genome editing, which is currently widely used, is the CRISPR system. CRISPR is a modern technology for editing genomes consisting of sequences or sequences of nucleotides with short repeats. This research aims to modify the *callose synthase* gene so that there is no accumulation of *callose* resulting from the activity of the *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLAs) bacteria that causes Huanglongbing disease through the CRISPR/Cas9-gRNA-CsCS gene transformation technique into the citrus plant genome with the help of the *Agrobacterium tumefaciens* bacteria.

Gene transformation was carried out on three types of explants, namely zygotic embryos, nucellar embryos and cotyledon nodes originating from 4 types of oranges consisting of Ponkan mandarin, terigas tangerines, banyuwangi siamese and FS28. The transformation was carried out at *Optical Density* ( $OD_{600}$ ) concentrations of 0,2 and 0,02 by immersing the explants in a suspension of *Agrobacterium tumefaciens* bacteria, which carried the CRISPR/Cas9-gRNA-CsCS gene for 20 minutes, then co-cultivated for three days in dark conditions. Next, the selection was carried out on media containing hygromycin and continued with the regeneration stage on several planting media compositions to obtain explants, which were then carried out with STG (*Shoot Tip Grafting*) and inoculation with *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLAs) bacteria in greenhouse.

The result obtained from this research were that optimization at an *Optical Density* ( $OD_{600}$ ) concentration of 0,02 had the highest result for all observed characters in all explants on several types of citrus. In contrast, optimization at an *Optical Density* ( $OD_{600}$ ) 0,2 had a lower value. Acceleration of putative growth of transformants from cotyledon explants carried out on six types of planting media (VMW, MT, MS+K0, MS+K1, MS+K2, MS+K3) showed that the highest and number of leaves in nucellar embryos explants were obtained in MS planting media composition combined with kinetin three mg/L.

@Hak cipta milik IPB University

The highest average value of plant height and number of leaves in zygotic explants was found in the MT media composition, and the highest average plant height and number of leaves in cotyledon node explants was found in the MS planting media composition combined with kinetin 2 and 3 mg/L. The highest transformation efficiency was obtained in the nucellar embryo explant type at 14,29%. The highest regeneration efficiency is found in the zygotic embryo explant type. The highest percentage of STG (*Shoot Tip Grafting*) success result were found in cotyledon node explants. The growth of STG in the greenhouse before inoculation of CLas bacteria artificially showed that line KP606 had the highest value of plant height of 53,63 cm. The value of the highest number of leaves is found in the KP598 line of 114,25, and the character of the number of buds that have the highest value is found in the KP598 and KP604 lines of 8,00. Meanwhile, the highest stem diameter character is found in KP606 line at 5,70 mm.

Artificial bacterial inoculation of the putative transformant strain of Ponkan scion was carried out on 6 lines, namely KP597, KP598, KP604, KP606, and KP607 with grafting success of 100%, the growth results of the putative transformant lines after artificial bacterial inoculation showed that the highest plant height was obtained for the KP607 line of 25,70. The highest average number of leaves and shoots were obtained in the KP606 line with values of 43,00 and 4,67 respectively and the highest average number of stem diameters was obtained for the KP598 line of 2,97 mm. The results of the percentage of putative intensity of transformant attacked by huanglongbing disease after artificial inoculation showed that the KP604 line had the highest percentage of attack intensity of 12,50%, which occurred on the 20th week after inoculation. Three lines, namely KP598, KP606, and KP607, showed HLB symptoms in the 24th week after bacterial inoculation. The results of SEM (*Scanning Electron Microscope*) observations showed that asymptomatic showed no bacterial colonies, which means there was no *callose* accumulation after artificial bacterial inoculation, while symptomatic shoots showed the presence of bacterial colonies, which caused *callose* accumulation. This research concludes that seven lines from mandarin Ponkan cotyledon nodes explants can be continued with STG and testing with artificial bacterial inoculation in the greenhouse. Three lines showed no symptoms of HLB disease after artificial inoculation of the bacteria that cause HLB disease.

Keywords: advanced line, selection, transgressive segregants, yield test





@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2024  
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

*Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.*

*Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.*



# **PERAKITAN TANAMAN JERUK MELALUI PENGEDITAN GENOM SEBAGAI UPAYA PENINGKATAN KETAHANAN PENYAKIT HUANGLONGBING**

**DIAN PUJI RAHAYU**

Tesis  
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Magister Sains pada  
Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman

**PROGRAM STUDI PEMULIAAN DAN BIOTEKNOLOGI TANAMAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2024**



**@Hak cipta milik IPB University**

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Tesis:

- 1 Dr. Arya Widura Ritonga, S.P., M.Si
- 2 Dr. Ir. Diny Dinarti, M.Si



Judul Tesis : Perakitan Tanaman Jeruk Melalui Pengeditan Genom Sebagai Upaya Peningkatan Ketahanan Penyakit Huanglongbing  
Nama : Dian Puji Rahayu  
NIM : A253194041

@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang  
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Disetujui oleh

Pembimbing 1:  
Prof. Dr. Ir. Agus Purwito, M.Sc.Agr.

Pembimbing 2:  
Dr. Mia Kosmiatin, S.Si., M.Si.

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:  
Prof. Dr. Dewi Sukma, S.P., M.Si.  
NIP 197004041997022001

Dekan Fakultas Pertanian  
Prof. Dr. Ir. Suryo Wiyono, M.Sc.Agr.  
NIP. 196902121992031003

Tanggal Ujian:  
17 Juli 2024

Tanggal Lulus: 08 AUG 2024



### *@Hak cipta milik IPB University*

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

## PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Judul yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Juni 2021 sampai bulan Maret 2023 ini ialah "Perakitan Tanaman Jeruk Melalui Pengeditan Genom sebagai Upaya Peningkatan Ketahanan Penyakit Huanglongbing". Tesis ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar magister pada Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman. Secara khusus penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Ayah, Ibu, dan seluruh keluarga yang telah memberikan dukungan serta doanya.
2. Prof. Dr. Ir. Agus Purwito, M.Sc.Agr dan Dr. Mia Kosmiatin, S.Si., M.Si selaku komisi pembimbing yang telah membimbing, memotivasi, dan banyak memberi saran kepada penulis dari awal hingga akhir penyusunan tesis ini.
3. Bapak Dr. Tri Joko Santoso, S.P., M.Si yang telah menyiapkan kontrak gen CRISPR/Cas9-gRNA-CsCS
4. Ketua Program Studi dan Bioteknologi Tanaman Prof. Dr. Dewi Sukma, S.P., M.Si yang telah memberi banyak arahan selama perkuliahan.
5. Staff pengajar dan pihak sekretariat yang telah membantu meningkatkan pemahaman keilmuan serta memberikan banyak bantuan terkait administrasi.
6. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BB Biogen) yang telah memberikan dana penelitian melalui program DIPA 2021 beserta staff laboratorium yang telah membantu selama pengumpulan data penelitian

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan

Bogor, Juli 2024

*Dian Puji Rahayu*



### *@Hak cipta milik IPB University*

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Hipotesis Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
1.6 Ruang Lingkup Penelitian	4
II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tanaman Jeruk	6
2.2 Penyakit Huanglongbing	7
2.3 Pengeditan Genom	9
2.4 Transformasi menggunakan <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	12
III METODE	15
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	15
3.2 Alat dan Bahan	15
3.3 Prosedur Kerja	15
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Optimasi Transformasi dengan Beberapa Jenis Jeruk dan Jenis Eksplan Jeruk	20
4.2 Percepatan Pertumbuhan Eksplan Putatif Transforman Asal Eksplan Buku Kotiledon Secara <i>In vitro</i>	21
4.3 Efisiensi Transformasi, Efisiensi Regenerasi dan Keberhasilan <i>Shoot Tip Grafting</i> (STG)	23
4.4 Pertumbuhan STG Tanaman Putatif Transforman Asal Eksplan Buku Kotiledon Mandarin Ponkan	24
4.5 Intensitas Tanaman terserang Penyakit pada Putatif Transforman Asal Eksplan Buku Kotiledon Mandarin Ponkan	27
V PEMBAHASAN UMUM	30
VI SIMPULAN DAN SARAN	32
DAFTAR PUSTAKA	33
RIWAYAT HIDUP	42
LAMPIRAN	42



## DAFTAR TABEL

1	Nilai intensitas tanaman terserang huanglongbing	19
2	Optimasi transformasi gen CRISPR/Cas9-gRNA-CsCS dengan vektor <i>A. tumefaciens</i>	20
3	Rata-rata pertumbuhan tinggi tanaman dan jumlah daun putatif transforman mandarin Ponkan secara <i>In vitro</i> pada umur 12 MST	22
4	Keberhasilan transformasi hingga STG pada jeruk mandarin Ponkan	23
5	Efisiensi transformasi, efisiensi regenerasi dan keberhasilan STG	23
6	Tinggi tanaman, jumlah daun, diameter batang, dan jumlah cabang galur putatif transforman mandarin Ponkan asal eksplan buku kotiledon sebelum inokulasi bakteri secara buatan pada minggu ke 20 setelah STG	25
7	Tinggi tanaman, jumlah daun, diameter batang, dan jumlah cabang galur putatif transforman mandarin Ponkan setelah inokulasi bakteri secara buatan pada minggu ke 20 setelah STG	27
8	Persentase intensitas galur putatif transforman terserang Huanglongbing minggu ke 24 setelah inokulasi bakteri secara buatan.	27

## DAFTAR GAMBAR

1	Bagan alur penelitian	5
2	Gejala Penyakit Huanglongbing	9
3	Prinsip kerja CRISPR/Cas9	10
4	Peta konstruk CRISPR/Cas9-gRNA-CsCS	16
5	Koloni tunggal bakteri <i>A. tumefaciens</i> yang membawa gen CRISPR/Cas9-gRNA-CsCS	16
6	Eksplan embrio nuselar, embrio zigotik, dan buku kotiledon	17
7	Eksplan pasca transformasi	21
8	Eksplan pada botol kultur	24
9	Kualitas batang bawah untuk STG	26
10	Pertumbuhan galur putatif transforman mandarin Ponkan di dalam rumah kaca	27
11	Putatif transforman mandarin Ponkan 20 minggu setelah inokulasi bakteri secara buatan	28
12	Galur putatif transforman mandarin Ponkan bergejala dan tidak bergejala	28
13	Hasil pengamatan SEM ( <i>Scanning Electron Microscope</i> ) jaringan floem tunas putatif transforman	29



## DAFTAR LAMPIRAN

1	Bahan pembuatan media tanam untuk percepatan pertumbuhan	40
2	Bahan pembuatan media Luria Bertani (LB) untuk bakteri <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	40
3	Hasil analisis sidik ragam	40

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.