



DETECTION AND IDENTIFICATION OF CITRUS TRISTEZA VIRUS AND CANDIDATUS LIBERIBACTER ASIATICUS INFECTING CITRUS IN MALANG REGENCY, EAST JAVA

SITI NURMALASARI SUPARMAN



DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION
FACULTY OF AGRICULTURE
BOGOR AGRICULTURAL UNIVERSITY
2025

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 mengulang 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 Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- Pengutipan tidak mengulang kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



AUTHOR'S DECLARATION ON THE COPYRIGHT OF THE THESIS AND ITS SOURCE OF INFORMATION AND DELEGATION

I declare that this undergraduate thesis entitled “Detection and Identification of Citrus tristeza virus and *Candidatus Liberibacter asiaticus* Infecting Citrus in Malang Regency, East Java” is my own and authentic work under the supervision of my supervisors and it is not submitted to any universities or institutions for any degree fulfillment. Source of information, both published or unpublished by the authors used for quotations in this thesis is already cited appropriately and presented in the thesis’ references chapter.

I hereby delegate my undergraduate thesis copyright to Bogor Agricultural University.

Bogor, December 2025

Siti Nurmala Sari Suparman
A3401211088

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 mengulang kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



SITI NURMALASARI SUPARMAN. Deteksi dan Identifikasi Citrus tristeza virus dan *Candidatus Liberibacter asiaticus* pada Tanaman Jeruk di Kabupaten Malang, Jawa Timur. Dibimbing oleh SARI NURULITA dan SRI HENDRASTUTI HIDAYAT.

Penyakit tristeza dan *huanglongbing* (HLB) merupakan penyakit penting pada tanaman jeruk. Tristeza diakibatkan oleh infeksi citrus tristeza virus (CTV), sedangkan HLB disebabkan oleh *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLas). Keduanya menginfeksi jaringan floem, menyebabkan gejala klorosis pada daun serta menghambat pertumbuhan tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi dan mengidentifikasi CTV dan CLas pada tanaman jeruk di Kabupaten Malang, Jawa Timur. Pengamatan lapangan dilakukan pada sembilan kebun jeruk untuk penilaian intensitas penyakit di lapangan. Pengambilan sampel daun jeruk berdasarkan variasi gejala per lokaasi digunakan untuk deteksi lebih lanjut di Laboratorium Virologi Tumbuhan, IPB. Metode deteksi yang digunakan adalah metode *double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay* (DAS-ELISA) dan *reverse transcription-polymerase chain reaction* (RT-PCR) untuk CTV dan PCR untuk CLas. Analisis sekuen nukleotida dilakukan dengan aplikasi MEGA X dan BLAST NCBI. Insidensi klorosis berkisar antara 28% - 100% dengan severitas 32,7% - 70%. Tiga variasi gejala yang ditemukan meliputi (i) tulang daun menguning, (ii) klorosis lamina dan penebalan daun, serta (iii) klorosis disertai perubahan bentuk daun yang seluruhnya terdeteksi positif CTV dan CLas. Seluruh kebun positif terinfeksi CLas, sedangkan infeksi CTV tidak ditemukan pada satu kebun, yaitu Kebun Junrejo. Isolat CTV, yaitu KK, KUS, dan KUD memiliki tingkat homologi 99% terhadap isolat Indonesia (LC804809.1 dan LC834217.1), sedangkan isolat KAG CTV memiliki tingkat kesamaan 99% dengan isolat Indonesia, Uruguay, dan China (LC834223.1, KU928174.1, dan MW169346.1) dengan primer yang digunakan mengamplifikasi gen p23. Sementara itu, hasil analisis homologi isolat CLas menunjukkan kesamaan identitas 100% dengan isolat pembanding karena primer yang digunakan mengamplifikasi region 16S rRNA yang bersifat konservatif. Penelitian ini menyajikan penggunaan deteksi molekuler dan pembaruan data infeksi CTV dan CLas pada pertanaman jeruk di Kabupaten Malang, Provinsi Jawa Timur.

Kata kunci: DAS-ELISA, gen p23, huanglongbing, RT-PCR, 16S rRNA



SITI NURMALASARI SUPARMAN. Detection and Identification of Citrus tristeza virus and *Candidatus* Liberibacter asiaticus Infecting Citrus in Malang Regency, East Java. Supervised by SARI NURULITA and SRI HENDRASTUTI HIDAYAT.

Tristeza and huanglongbing (HLB) are significant diseases affecting citrus. Tristeza is caused by citrus tristeza virus (CTV), while HLB is caused by *Candidatus* Liberibacter asiaticus (CLas). Both pathogens are phloem-limited, causing chlorosis on the leaves and inhibiting plant growth. This study aims to detect and identify CTV and CLas infecting citrus in Malang Regency, East Java. Field observations were conducted in nine citrus orchards to assess disease intensity in the field. Samples were collected on various symptoms per location for further detection at the Plant Virology Laboratory, IPB. Double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA) and reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) were used for CTV detection, and PCR for CLas. Nucleotide sequence analysis was performed using the MEGA X software and the BLAST program. Disease incidence ranged from 28% to 100%, with severity ranging from 32.7% to 70%. Three symptom types were observed, including vein yellowing, lamina chlorosis with leaf thickening, and leaf malformation with chlorosis, all of which tested positive for CTV and CLas. All tested samples from nine orchards were confirmed to be infected with CLas, whereas CTV was not detected in the sample from Junrejo Orchard. Three isolates of CTV (KK, KUS, and KUD) shared 99% identity with Indonesian CTV isolates (LC804809.1 and LC834217.1), meanwhile, isolate KAG had 99% sequence identity with Indonesian, Uruguay, and Chinese isolates (LC834223.1, KU928174.1, and MW169346.1), respectively, according to the p23 gene. Nucleotide sequence analysis of CLas isolates shared 100% identity with all compared isolates, as the primer covers the conserved 16S rRNA region. This study presents the use of molecular detection and provides updated information on the occurrence of CTV and CLas infecting citrus in Malang Regency, East Java Province.

Keywords: DAS-ELISA, gene P23, huanglongbing, RT-PCR, 16S rRNA



©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 mengulang kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Copyright owned by Bogor Agricultural University, 2025
All rights reserved

It is prohibited to make any quotations from part or whole of this undergraduate thesis without citing the author or the copyright holder. Quotation is allowed as long as for education, research, scientific writing, scientific report, research proposal or scientific review purposes only; those quotations should not produce any adverse effects to Bogor Agricultural University.

It is prohibited to republish and reproduce a part or whole of this paper in any forms without written permission from Bogor Agricultural University.



DETECTION AND IDENTIFICATION OF CITRUS TRISTEZA VIRUS AND CANDIDATUS LIBERIBACTER ASIATICUS INFECTING CITRUS IN MALANG REGENCY, EAST JAVA

SITI NURMALASARI SUPARMAN

Undergraduate thesis

In partial fulfillment of the requirements for the degree of
Bachelor of Agriculture
at the
Department of Plant Protection

**DEPARTEMEN OF PLANT PROTECTION
FACULTY OF AGRICULTURE
BOGOR AGRICULTURAL UNIVERSITY
BOGOR
2025**

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 mengulang 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

IPB University

Examiner of the thesis:
Dr. Ir. Swastiko Priyambodo, M.Si

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 mengulang kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Title : Detection and Identification of Citrus tristeza virus and *Candidatus Liberibacter asiaticus* Infecting Citrus in Malang Regency, East Java
Name : Siti Nurmalasari Suparman
SIN : A3401211088

Approved by

Principal Supervisor
Dr. Sari Nurulita, S.P., M.Si

Co-Supervisor
Prof. Dr. Ir. Sri Hendrastuti Hidayat, M.Sc.

Acknowledge by

Head of Department of Plant Protection:
Dr. Ir. Ali Nurmansyah, M.Si.
NIP 19630212 199002 1 001



Examination Date: 8 December 2025 Conferral Date: 15 DEC 2025



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 mengulang 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 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 mengulang kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PREFACE

All praise and gratitude are devoted to Allah Subhanahu wa Ta'ala for His endless blessings and grace, through which this scientific work has been successfully completed. This research focused on epidemiology of plant pathogens under the title “Detection and Identification of *Citrus tristeza* virus and *Candidatus Liberibacter asiaticus* on Citrus Plants in Malang Regency, East Java”.

I would like to express sincere appreciation and deepest gratitude to the supervisors, Dr. Sari Nurulita, S.P., M.Si. and Prof. Dr. Ir. Sri Hendrastuti Hidayat, M.Sc., for their invaluable guidance, insightful advice, and continuous support throughout the entire research and thesis writing process. Their patience, expertise, and encouragement have been an immense source of inspiration for me. I also extend heartfelt thanks to Dr. Ir. Kikin Hamzah Mutaqin, M.Si., for his academic supervision, guidance, and assistance during my study in the Plant Protection Study Program. Special thanks are given to Dr. Ir. Swastiko Priyambodo, M.Si., as the external examiner, for his suggestions and input that greatly refined and strengthened the completion of this undergraduate thesis.

This research was funded by the Early Career and Young Lecturer Research Scheme, IPB University (2023), for which the grant was received by Dr. Sari Nurulita, S.P., M.Si. I express sincere gratitude and appreciation for the valuable support that made this work possible. My deepest gratitude also goes to my beloved parents, Maman Suparman, S.Pd. and Neng Tintin Sulastri and family for their endless prayers, love, and moral as well as material support.

Special thanks are also extended to Amanda Febriyanti and Candrasa Miqdaad for their support, shared discussions, and encouragement throughout the supervision process. I would also like to express my gratitude to my dearest friends, Kak Zahrotul Huriyah, Nurlida, Nurwinda, Ligar Tarawita, Nur Awalul Husna, Dian Awallia, Wahyu Aprilia, Disa Rahma, Mayang Ananta, and Deflin Houston, for their constant help, encouragement, and warm companionship during the completion of this undergraduate thesis. Finally, I would like to express my appreciation to all colleagues in the Virology Laboratory for their technical assistance, moral support, and the warm and pleasant atmosphere that made the research process enjoyable and meaningful.

May this final project be beneficial to those who need it and contribute to the advancement of scientific knowledge.

Bogor, December 2025

Siti Nurmala Sari Suparman



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- Pengutipan tidak mengulang kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



LIST OF TABLES	ii
LIST OF FIGURES	ii
I INTRODUCTION	1
1.1 Background	1
1.2 Research Questions	2
1.3 Research Objective	2
1.4 Research Outcome	2
II LITERATURE REVIEW	3
2.1 History, Taxonomy, and Botanical Aspects of Citrus	3
2.2 The Importance of Citrus	5
2.3 <i>Citrus tristeza virus</i> (CTV)	5
2.4 <i>Huanglongbing</i>	6
2.5 Enzyme-Linked Immunoassay (ELISA)	7
2.6 Polymerase Chain Reaction (PCR)	7
III MATERIALS AND METHODS	8
3.1 Location and Research Period	8
3.2 Research Methods	8
IV RESULT AND DISCUSSION	14
4.1 Result	14
4.2 Discussion	26
V CONCLUSION AND SUGGESTION	29
5.1 Conclusion	29
5.2 Suggestion	29
REFERENCES	30
APPENDIX	38
BIOGRAPHY	39

