

Deteksi Molekuler Bakteri *Liberobacter Asiaticum* Penyebab Penyakit Citrus Vein Phloem Degeneration (CVPD) Pada Tanaman Jeruk Siam (*Citrus Nobilis*)

Ketut Srie Marhaeni Julyasih^{1*}, I Putu Parwata² 

¹Biologi, Universitas Pendidikan Ganesha, Singaraja, Indonesia

²Kimia, Universitas Pendidikan Ganesha, Singaraja, Indonesia

ARTICLE INFO

Article history:

Received January 08, 2024

Accepted April 13, 2024

Available online April 25, 2024

Kata Kunci:

Citrus Vein Phloem

Degeneration, Jeruk,

Liberobacter, Polymerase Chain

Reaction

Keywords:

Citrus Vein Phloem

Degeneration, Citrus,

Liberobacter, Polymerase Chain

Reaction



This is an open access article under the [CC BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.

Copyright © 2024 by Author.

Published by Universitas Pendidikan Ganesha.

ABSTRAK

Citrus Vein Phloem Degeneration (CVPD) merupakan penyakit yang sering menyerang tanaman jeruk. Penyebab penyakit CVPD yang disebut juga citrus greening atau *huang longbing* adalah bakteri *Liberobacter* yang termasuk dalam subdivisi Proteobacteria. Bakteri *Liberobacter* hidup pada floem tanaman jeruk dan menimbulkan gejala yang khas, namun bakteri tersebut tidak dapat dibiakkan pada media buatan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi gejala secara morfologi terhadap tanaman jeruk yang menunjukkan gejala terserang penyakit CVPD dan tanaman jeruk yang tidak menunjukkan gejala. Penelitian ini tergolong ke dalam penelitian eksperimental laboratorium. Subjek penelitian adalah tanaman jeruk siam yang menunjukkan gejala serangan CVPD dan yang tidak menunjukkan gejala serangan yang diambil di dua lokasi yang berbeda. Metode pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah pengambilan sampel daun jeruk dari dua lokasi berbeda, yaitu dari tanaman jeruk yang nampak sehat dan yang menunjukkan gejala penyakit CVPD. Instrumen yang digunakan meliputi berbagai alat laboratorium seperti mesin PCR, alat elektroforesis, centrifuge, UV transilluminator, dan lainnya yang digunakan untuk analisis DNA. Setelah data dikumpulkan kemudian dianalisis dengan teknik isolasi DNA dan amplifikasi DNA menggunakan teknik PCR. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, deteksi menggunakan PCR menunjukkan keberadaan bakteri *Liberobacter asiaticum* pada daun jeruk Siam bergejala dan tidak bergejala CVPD, dengan pita DNA teramplifikasi pada 1160 bp. Sehingga, dapat disimpulkan bahwa, daun jeruk Siam yang bergejala dan tidak bergejala CVPD sama-sama mengandung bakteri *Liberobacter asiaticum*, yang terdeteksi melalui PCR dengan pita DNA pada 1160 bp. Maka dari itu, memungkinkan tindakan pencegahan lebih awal dalam pengelolaan penyakit jeruk.

ABSTRACT

Citrus Vein Phloem Degeneration (CVPD) is a disease that often affects citrus plants. The cause of CVPD, also known as citrus greening or *huanglongbing*, is *Liberobacter* bacteria belonging to the Proteobacteria subdivision. *Liberobacter* bacteria live in the phloem of citrus plants and cause characteristic symptoms, but these bacteria cannot be cultured on artificial media. This study aimed to identify the morphological symptoms of citrus plants that show symptoms of CVPD disease and those that do not. This research is classified into laboratory experimental research. The research subjects were Siamese citrus plants that showed symptoms of CVPD attack and those that did not show symptoms of attack taken in two different locations. The data collection method used in this study is sampling citrus leaves from two other places: citrus plants that appear healthy and those that show symptoms of CVPD disease. The instruments used include various laboratory equipment such as PCR machines, electrophoresis equipment, centrifuge, UV transilluminators, and others used for DNA analysis. After the data was collected, it was analyzed using DNA isolation techniques and DNA amplification using PCR techniques. The results showed that PCR detection showed the presence of *Liberobacter asiaticum* bacteria in symptomatic and non-symptomatic CVPD Siamese citrus leaves, with a DNA band amplified at 1160 bp. Thus, it can be concluded that both symptomatic and non-symptomatic CVPD Siamese citrus leaves contain *Liberobacter asiaticum* bacteria, detected through PCR with a DNA band at 1160 bp. Therefore, it allows for early preventive measures in managing citrus diseases.

1. PENDAHULUAN

Jeruk Siam adalah salah satu komoditas buah yang penting di Indonesia. Jeruk banyak dikonsumsi oleh masyarakat luas, karena memiliki harga yang terjangkau dan mengandung vitamin C yang baik untuk kesehatan, permintaannya cukup besar dari tahun ke tahun dan paling menguntungkan untuk diusahakan (Abadi, 2016; Riyanto & Iswarini, 2023). Salah satu provinsi di Indonesia yang memiliki potensi untuk budidaya jeruk adalah provinsi Bali. Perkebunan jeruk di provinsi Bali adalah jenis perkebunan buah lokal yang hasilnya dimanfaatkan langsung oleh penduduk Bali. Hasil panen buah jeruk selain dikonsumsi oleh

*Corresponding author.

E-mail addresses: srie.marhaeni@undiksha.ac.id (Ketut Srie Marhaeni Julyasih)

wisatawan, banyak dimanfaatkan sebagai sarana dan prasarana dalam pelaksanaan upacara keagamaan yang mewajibkan penggunaan buah lokal dalam setiap upacara keagamaan (I Ketut Suda Armawan et al., 2023; Rini et al., 2023). Sesungguhnya potensi permintaan terhadap buah-buahan di Provinsi Bali relatif besar, karena Bali merupakan destinasi wisata nusantara dan mancanegara terkemuka yang membutuhkan produk pertanian termasuk buah-buahan lokal Bali (Nurul Asiah et al., 2022; Tamba, 2024)

Wilayah dengan potensi produktivitas jeruk yang sangat baik di Bali adalah Kecamatan Kintamani yang merupakan salah satu kecamatan yang terletak di Kabupaten Bangli. Buah jeruk Siam Kintamani terkenal secara luas memiliki ciri- ciri berkulit tipis dengan rasa yang khas yakni manis dengan sedikit asam. Namun hasil produksi buah jeruk Siam belum memenuhi harapan. Produksi jeruk di Provinsi Bali cenderung mengarah pada penurunan selama beberapa tahun terakhir. Pada tahun 2020 produksi buah jeruk mencapai 490 393 ton, lalu menurun menjadi 241. 617 ton pada tahun 2021 dan 135. 071 ton pada tahun 2022 (BPS, 2022). Beberapa faktor yang mengakibatkan menurunnya hasil produksi buah jeruk adalah faktor iklim, cara pengolahan tanaman yang meliputi pemupukan dan pengairan, pengendalian hama dan penyakit (Ayu & Yuniti, 2018; Elake et al., 2022).

Serangan penyakit CVPD terjadi pertama kali pada tahun 1932-1946 di Vietnam, khususnya di Delta Mekong, 70-79% tanaman telah terinfeksi, dan di Thailand kerusakan tanaman jeruk lebih dari 95%. Sedangkan di Indonesia sekitar tiga juta tanaman rusak antara tahun 1960-1970. Pada tahun 1984 di Afrika Selatan diketahui bahwa penyebab penyakit CVPD adalah bakteri dan berusaha diisolasi dengan berbagai macam medium. Bakteri penyebab CVPD adalah *Liberobacter asiaticus* yang masuk ke dalam sel tanaman melalui tusukan serangga vektor *Diaphorina citri* kuw. Daun tanaman yang terinfeksi penyakit CVPD berwarna kuning pada seluruh permukaan daun, tulang daun warnanya hijau tua atau lebih tua, dan daunnya menjadi lebih kaku juga lebih tebal. Selain itu, ukuran buah menjadi kecil, memiliki rasa masam, mengalami gagal panen, dan memperpendek masa hidup tanaman (Melani et al., 2018). Meskipun deteksi secara visual merupakan cara yang mudah dilakukan, tetapi pengamatan secara visual tidak memberikan hasil yang akurat karena gejala penyakit CVPD mirip dengan gejala seperti tanaman kekurangan unsur Zn dan Mn (Patandjengi et al., 2023; Triwiratno et al., 2003; Wirawan & Julyasih, 2015).

Polymerase Chain Reaction (PCR) mampu mengamplifikasi DNA secara in-vitro yang melibatkan beberapa tahap secara berulang. Teknik PCR menggunakan sepasang primer spesifik dari sekuen DNA bakteri CVPD. Primer tersebut sangat baik digunakan untuk mendeteksi serangan penyakit CVPD pada jeruk, dengan menggunakan primer tersebut maka hanya sekuen 16S rDNA dari bakteri CVPD, yaitu *Liberobacter asiaticus* yang teramplifikasi. Hasil deteksi penyakit CVPD menggunakan PCR pada masing-masing sampel tulang daun tanaman jeruk yang memiliki variasi gejala klorosis dari ringan sampai berat pada elektroforesis 1% gel agarose hingga menghasilkan pita DNA pada 1160 bp. Terdeteksinya bakteri *Liberobacter asiaticus* pada sampel yang menunjukkan bahwa, pola gejala klorosis pada daun tanaman jeruk Siam yang terserang penyakit CVPD dengan jenis yang berbeda-beda (Alydrus et al., 2024; Nurhayati & Bagus, 2016; Susilo et al., 2024).

Hasil observasi dan wawancara yang sudah dilakukan dengan beberapa petani jeruk di Desa Belantih, Kecamatan Kintamani menunjukkan bahwa, penyakit CVPD pernah menyebabkan gagal panen besar buah jeruk siam pada tahun 1980-1990 di Kintamani. Tanaman jeruk yang terserang penyakit CVPD memperlihatkan gejala daun menguning atau klorosis, warna tulang daun tetap hijau, buahnya kerdil dan berasa masam, ukuran daun menjadi kecil, serta daun yang menjadi kaku. Sementara untuk saat ini penanganan penyakit CVPD yang bisa dilakukan oleh petani adalah hanya dengan menebang, membakar, melakukan peremajaan tanaman jeruk, dan pergiliran tanaman jeruk dengan tanaman lain. Dari hasil survei awal di lapangan, hingga saat ini masih ditemukan tanaman jeruk siam di Kintamani yang dicurigai bergejala penyakit CVPD. Maka dari itu penelitian ini hadir dengan kebaruan untuk melakukan pendektaksian lebih akurat mengenai keberadaan bakteri *Liberobacter asiaticus* yang menjadi penyebab penyakit CVPD, hal ini dikarenakan patogen yang tidak dapat dikulturkan secara in-vitro, sehingga perlu dilakukan analisis secara molekuler dengan menggunakan teknik PCR. Deteksi dilakukan pada tanaman jeruk Siam yang bergejala serangan penyakit CVPD dan yang belum menunjukkan gejala (daun sehat) pada areal pertanaman jeruk di desa Belantih, dan Desa Daup, Kintamani, Bangli. Deteksi dilakukan agar penanganan terhadap penyakit CVPD bisa cepat dilakukan dan tidak menginfeksi lebih banyak tanaman jeruk di Kintamani. Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini bertujuan untuk melakukan identifikasi gejala secara morfologi terhadap tanaman jeruk yang menunjukkan gejala terserang penyakit CVPD dan tanaman jeruk yang tidak menunjukkan gejala, serta melakukan analisis secara molekuler bakteri penyebab penyakit CVPD dengan menggunakan teknik PCR,

2. METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Lokasi penelitian ini yaitu areal pertanaman jeruk milik petani pada dua lokasi, yaitu pengambilan sampel di areal pertanaman jeruk yang

tidak menunjukkan gejala (nampak sehat) secara visual yang terletak di desa Daup, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli. Pengambilan sampel daun jeruk yang menunjukkan gejala penyakit CVPD diambil dari lokasi pertanaman jeruk yang ada di desa Belantih, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli. Analisis lebih lanjut isolasi DNA dilakukan di laboratorium Sumberdaya Genetika Universitas Udayana. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jeruk siam yang diambil dari tanaman jeruk yang menunjukkan gejala serangan CVPD secara visual dan yang tidak menunjukkan gejala (nampak sehat). Alat yang digunakan adalah mesin PCR, seperangkat alat elektroforesis (BioRad), centrifuge (Biofuge 13), termometer UV transilluminator, tabung Eppendorf, shaker, microwave, alat vorteks, waterbath dan Erlenmeyer. Adapun penjabaran singkat mengenai prosedur penelitian akan dijelaskan sebagai berikut.

Prosedur penelitian ini dimulai dari melakukan Isolasi DNA Total Tanaman Jeruk Bergejala dan Tidak bergejala (sehat). Sampel daun jeruk dihancurkan hingga halus dalam 280 μ l Buffer PL Mix dan 20 μ l proteinase kit. Suspensi tersebut dimasukkan ke dalam tabung mikro (1,5 ml) dan diinkubasi pada suhu 65°C selama 1 jam. Selanjutnya, suspensi disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 5 menit, dan supernatan yang dihasilkan dipindahkan ke tabung mikro baru. Kemudian, supernatan dicampurkan dengan 600 μ l Buffer PB Mix dan diinkubasi pada suhu 65°C selama 10 menit. Supernatan ditambahkan 200 μ l etanol 95%. Sebanyak 900 μ l supernatan tersebut dipindahkan ke dalam kolom dan disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 1 menit. Selanjutnya, ditambahkan 750 μ l wash buffer pada kolom dan disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 1 menit. Kemudian, disuspensi kembali dalam 50 μ l elution buffer untuk mendapatkan pelet DNA.

Hasil isolasi DNA diamplifikasikan dengan reaksi PCR menggunakan: 2 μ l DNA sampel, 1 μ l PCR primer OI1, 1 μ l reverse primer OI2c, 10 μ l PCR master mix solution, dan 6 μ l buffer TE. Menggunakan primer OI1 dan OI2c, ukuran DNA yang teramplifikasi adalah 1160 bp. Amplifikasi DNA menggunakan program: pre-treatment pada suhu 92°C selama 30 detik dengan 1 siklus ulangan. Bagian kedua menggunakan 40 siklus ulangan: denaturasi pada suhu 92°C selama 60 detik, annealing pada suhu 60°C selama 30 detik, elongasi pada suhu 72°C selama 90 detik, dan ekstensi pada suhu 72°C selama 90 detik dengan 1 siklus ulangan. Terakhir, Elektroforesis Gel Agarose dan Visualisasi Hasil PCR. Gel agarose terdiri dari 1% agarose yang dilarutkan dalam 100 ml TAE buffer (terdiri atas 40 mM tris asetat pH 7,9; 2 mM Sodium EDTA). Sampel DNA (8 μ l DNA + 2 μ l loading dye) masing-masing diisikan pada sumuran gel. Elektroforesis dilakukan dengan tegangan 100 volt selama \pm 20 menit. Gel kemudian direndam dalam larutan EtBr (Etidium Bromida) selama \pm 15 menit. Kemudian, hasil elektroforesis divisualisasikan dengan UV transiluminator untuk melihat posisi pita (band) DNA dari tiap sampel dan didokumentasikan (Astari et al., 2021; Rustiani et al., 2015).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Gejala Penyakit CVPD (*Citrus Vein Phloem Degeneration*)

Pengamatan morfologi gejala serangan penyakit CVPD (*Citrus Vein Phloem Degeneration*) dilakukan secara visual. Hasil pengamatan secara visual terhadap gejala serangan pada daun tanaman jeruk secara umum, gejala khasnya adalah klorosis pada daun seperti gejala kekurangan unsur Zn dan Mn disajikan pada Gambar 1. Berdasarkan hasil pengamatan secara visual, gejala serangan penyakit CVPD pada daun jeruk siam di masing-masing lokasi tampak gejala klorosis yang bervariasi. Tanaman jeruk yang terserang CVPD memperlihatkan gejala daun menguning atau klorosis, warna tulang daun tetap hijau, ukuran daun menjadi kecil dan daun menjadi kaku.



Gambar 1 . Gejala Serangan CVPD (*Citrus Vein Phloem Degeneration*) pada Daun Tanaman Jeruk

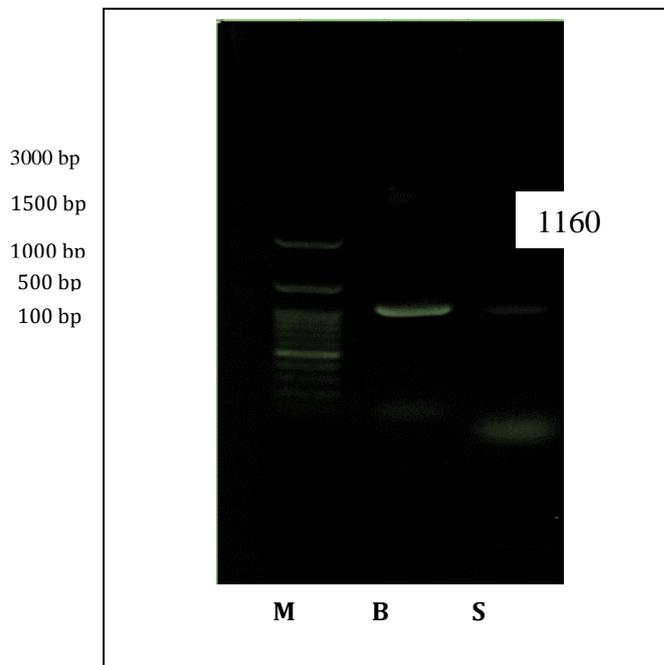
Pengambilan sampel pada daun tanaman jeruk yang tidak menunjukkan gejala serangan dilakukan dengan mengambil daun jeruk yang tidak menunjukkan gejala (nampak sehat) pada suatu lokasi pertanaman jeruk. Pengamatan secara visual terhadap tanaman yang tidak menunjukkan gejala serangan penyakit CVPD (*Citrus Vein Phloem Degeneration*), daun nampak berwarna hijau segar secara keseluruhan, tidak terlihat klorosis pada daun disajikan pada [Gambar 2](#).



Gambar 2. Daun Tanaman Jeruk Siam Sehat (Tidak Menunjukkan Gejala Serangan Penyakit CVPD)

Deteksi Penyakit CVPD Pada Tanaman Jeruk dengan PCR (Polymerase Chain Reaction)

Hasil amplifikasi PCR terhadap DNA yang diisolasi dari sampel daun tanaman jeruk yang bergejala penyakit CVPD dan tidak menunjukkan gejala (sehat) dari lokasi pengambilan sampel di lokasi kebun jeruk di Desa Belantih, Kintamani disajikan pada [Gambar 3](#).



Gambar 3. Deteksi Patogen Bakteri *Liberobacter Asiaticum* Penyebab Penyakit CVPD pada Daun Tanaman Jeruk Siam Bergejala dan tidak Bergejala (Sehat)

Keterangan:

M : Marker; B : Daun Jeruk Bergejala; S: Daun Jeruk tidak Bergejala

Hasil analisis DNA menunjukkan bahwa keberadaan bakteri *Liberobacter*, seperti pada [Gambar 3](#), ditandai dengan adanya pita DNA yang terdeteksi pada 1160 bp pada sampel daun. Hal ini menunjukkan gejala serangan pada daun yang tidak menunjukkan gejala (daun sehat), meskipun pada daun sehat terlihat pita DNA yang tipis. Analisis PCR terhadap jeruk siam yang terserang CVPD menggunakan primer spesifik untuk CVPD menunjukkan bahwa tanaman yang terserang CVPD pada hasil elektroforesis gel agarosa 1% memiliki pita DNA pada 1160 bp. Hal ini menunjukkan bahwa tanaman yang terserang CVPD mengandung bakteri *Liberobacter asiaticum*, karena keberadaan bakteri ini terdeteksi dengan primer 16S rDNA yang merupakan sekuen konservatif. Pada daun yang tidak menunjukkan gejala serangan penyakit CVPD secara visual, hasil gel elektroforesis menunjukkan pita/band DNA pada 1160 bp. Ini berarti, meskipun belum menunjukkan gejala serangan secara visual (daun tampak sehat), tidak menutup kemungkinan bahwa daun tersebut sudah terinfeksi bakteri *Liberobacter asiaticum*. Deteksi yang sensitif, cepat, dan akurat saat ini adalah dengan teknik PCR (Polymerase Chain Reaction) menggunakan sepasang primer spesifik, forward primer O11 dan reverse primer O12c, untuk mengamplifikasi 16S rDNA *Liberobacter asiaticum* yang berukuran sekitar 1160 bp. Berdasarkan hasil amplifikasi PCR tersebut, sampel yang positif mengandung bakteri *L. asiaticum* ditemukan pada sampel daun jeruk siam di lokasi kebun jeruk. Sampel daun jeruk siam yang bergejala CVPD akan menunjukkan pita DNA dengan ukuran 1160 bp pada hasil PCR, yang berarti sampel tersebut positif mengandung bakteri *Liberobacter* patogen penyebab penyakit CVPD, yang berhasil diamplifikasi pada 1160 bp.

Pembahasan

Gejala Penyakit CVPD (*Citrus Vein Phloem Degeneration*) adalah klorosis pada daun yang menyerupai gejala defisiensi mineral, dan deteksi terhadap penyakit CVPD tergolong sulit sehingga memerlukan cara deteksi khusus. Deteksi secara konvensional kurang memuaskan karena konsentrasi bakteri dalam tanaman rendah, distribusi tidak merata, masa inkubasi panjang dan banyak tanaman jeruk terinfeksi secara laten ([Lamdo et al., 2023](#); [Nurhadi, 2015](#)). Kondisi seperti suhu rendah, varietas tanaman yang berbeda, defisiensi hara, atau kompleksitas dengan penyakit lain menyebabkan gejala tidak jelas yang menyulitkan pengamatan secara visual. Tanaman jeruk yang terserang CVPD memperlihatkan gejala daun menguning atau klorosis, dengan warna tulang daun tetap hijau. Ukuran daun menjadi kecil dan kaku. Klorosis terjadi karena pembentukan klorofil pada daun berkurang. Selanjutnya, peneliti lain menyebutkan bahwa gejala klorosis disebabkan oleh infeksi *Liberobacter asiaticus* yang menunjukkan adanya gangguan fisiologi pada tanaman. Gangguan fisiologi terjadi karena massa bakteri menyebabkan penghambatan transportasi nutrisi dari dan ke jaringan floem. Hal ini sejalan dengan pendapat peneliti lain yang menyebutkan bahwa pada tanaman dewasa, gejala yang sering tampak adalah cabang dengan daun-daun yang kuning, kontras dengan cabang lain yang daun-daunnya masih sehat. Gejala ini dikenal dengan sebutan greening sektoral. Daun pada cabang-cabang yang terinfeksi menjorok ke atas seperti sikat. Gejala lain adalah daun berukuran lebih sempit, lancip, dengan warna kuning di antara tulang daun. ([Meitayani et al., 2014](#); [Ratu et al., 2020](#); [Rustiani et al., 2015](#); [Taufik, 2010](#)).

Berdasarkan pengamatan visual, sampel daun jeruk yang menunjukkan gejala penyakit CVPD memiliki ciri-ciri berwarna kuning (klorosis) dengan tulang daun berwarna hijau, daun menjadi kaku dan lebih tebal, serta ukurannya lebih kecil. Daun yang menunjukkan gejala klorosis berat memiliki seluruh permukaan daun yang berwarna kuning, urat daun berwarna hijau tua atau lebih gelap, dan daun menjadi lebih kaku dan tebal. Daun yang mengalami gejala klorosis sedang menunjukkan klorosis pada beberapa bagian permukaan daun, daun menjadi lebih tebal, dan urat daun tampak lebih tua. Daun dengan gejala klorosis ringan masih terlihat hijau, urat daun sudah tua, dan daun menjadi kaku. Tanaman yang menunjukkan gejala penyakit dengan tingkat serangan ringan mengalami klorosis secara parsial pada daun jeruk. Lamina daun nampak berwarna kuning, sedangkan tulang daun masih berwarna hijau. Gejala penyakit CVPD meliputi klorosis atau daun yang menguning, warna tulang daun menjadi hijau tua, daun lebih tebal, kaku, dan ukurannya menjadi lebih kecil. Klorosis ringan ditandai dengan lamina daun yang masih hijau dan tulang daun hijau, klorosis sedang ditandai dengan lamina daun sebagian menguning dan tulang daun tetap hijau, sedangkan pada klorosis berat, lamina daun berwarna kuning secara keseluruhan ([Inoue et al., n.d.](#); [Lestari et al., 2019](#); [Pandey & Shrestha, 2023](#); [Ratu et al., 2020](#)).

Pada daun yang tidak menunjukkan gejala serangan penyakit CVPD secara visual, hasil gel elektroforesis menunjukkan pita DNA pada 1160 bp. Hal ini berarti, walaupun belum menunjukkan gejala serangan secara visual (daun nampak sehat), tidak menutup kemungkinan bahwa daun tersebut sudah terinfeksi bakteri *Liberobacter asiaticum*. Deteksi yang sensitif, cepat, dan akurat saat ini adalah dengan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*) menggunakan sepasang primer spesifik, yaitu forward primer O11 dan reverse primer O12c, untuk mengamplifikasi 16S rDNA *Liberobacter asiaticum* yang berukuran sekitar 1160 bp. Berdasarkan hasil amplifikasi PCR tersebut, sampel yang positif mengandung bakteri *L. asiaticum* ditemukan pada sampel daun jeruk Siam di lokasi kebun jeruk. Sampel daun jeruk Siam yang bergejala

CVPD akan menunjukkan pita DNA dengan ukuran 1160 bp pada hasil PCR, yang berarti sampel tersebut positif mengandung bakteri *Liberobacter*, patogen penyebab penyakit CVPD, yang berhasil diamplifikasi pada 1160 bp. Sesuai dengan pendapat peneliti lain, teknik yang tepat untuk mendeteksi DNA *Liberobacter* adalah menggunakan Polymerase Chain Reaction dengan primer yang spesifik untuk CVPD. (Asiah Salatalohy & Baguna, 2022; Pandey & Shrestha, 2023).

Deteksi keberadaan bakteri pada sampel daun jeruk yang bergejala dalam penelitian ini dilakukan dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk mengamplifikasi 16S rDNA *Candidatus L. asiaticus*. PCR merupakan teknik deteksi yang sensitif, cepat, dan akurat, menggunakan pasangan primer spesifik forward 011 dan reverse primer 012c untuk memperkuat rDNA 16S *Candidatus L. asiaticus* dengan panjang sekitar 1160 bp. Hasil deteksi PCR menunjukkan fragmen DNA sampel daun jeruk sepanjang 1160-bp, menandakan bahwa sampel tersebut positif terinfeksi *Candidatus L. asiaticus*. Elektroforesis adalah teknik pemisahan molekul berdasarkan perbedaan tingkat migrasi dalam medan listrik, dimana molekul berukuran lebih besar akan bergerak lebih lambat. PCR merupakan teknologi yang mampu menggandakan fragmen DNA dari berbagai jenis organisme termasuk hewan, tumbuhan, bakteri, jamur, dan virus (Artati & Lubis, 2017; Jamaluddin et al., 2024). Deteksi menggunakan metode PCR dengan primer target gen 16S rDNA telah digunakan untuk mengidentifikasi *Liberobacter asiaticus* yang tersebar di kawasan Asia, termasuk Indonesia (Marlina et al., 2022; Tuwo et al., 2024).

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan. Salah satunya adalah biaya yang tinggi serta kebutuhan akan peralatan laboratorium yang canggih dan tenaga ahli terlatih untuk menjalankan teknik PCR atau Real-Time PCR. Hal ini bisa menjadi hambatan bagi penerapan luas metode ini, terutama di kalangan petani kecil atau di daerah dengan sumber daya terbatas. Selain itu, sampel dari tanaman mungkin memerlukan penanganan khusus untuk mencegah kontaminasi, yang bisa mempengaruhi akurasi hasil deteksi. Sensitivitas metode ini juga dapat dipengaruhi oleh variasi genetik bakteri, yang mungkin menyebabkan false negatives jika bakteri yang ada memiliki mutasi pada gen target yang digunakan untuk deteksi. Sebagai solusi, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengembangkan teknik deteksi yang lebih terjangkau dan mudah digunakan di lapangan, seperti metode isothermal amplification yang tidak memerlukan peralatan PCR yang mahal. Pelatihan dan penyuluhan bagi petani tentang cara pengambilan dan penanganan sampel yang benar juga sangat penting untuk meningkatkan keakuratan diagnosis. Selain itu, pengembangan kit diagnostik komersial yang dapat digunakan langsung di lapangan tanpa memerlukan keahlian khusus bisa membantu mengatasi keterbatasan metode molekuler ini. Kolaborasi antara peneliti, pemerintah, dan sektor swasta sangat diperlukan untuk menyediakan dukungan finansial dan teknis dalam mengimplementasikan teknologi deteksi ini secara luas.

Implikasi dari penelitian ini sangat penting dalam konteks perlindungan tanaman jeruk dari serangan *Candidatus Liberobacter asiaticus*. Dengan memperbaiki dan memvalidasi metode deteksi yang lebih efektif, petani dan peneliti dapat dengan cepat mengidentifikasi keberadaan bakteri ini, yang merupakan penyebab penyakit HLB (Huanglongbing), sebelum menyebabkan kerusakan besar pada tanaman jeruk. Hal ini dapat mengarah pada upaya pengendalian yang lebih efektif dan tepat waktu, seperti pengaturan karantina, pengawasan intensif, dan penerapan strategi manajemen penyakit yang lebih efisien. Secara keseluruhan, penelitian ini berpotensi memberikan kontribusi signifikan terhadap keberlanjutan industri perkebunan jeruk di Indonesia dan wilayah Asia lainnya, serta memberikan landasan bagi pengembangan teknologi deteksi dan pengendalian penyakit tanaman yang lebih maju di masa depan.

4. SIMPULAN

Hasil penelitian yang sudah dilaksanakan menunjukkan bahwa daun tanaman jeruk Siam yang bergejala CVPD secara visual menunjukkan hasil positif keberadaan bakteri *Liberobacter asiaticus*, penyebab penyakit CVPD (Citrus Vein Phloem Degeneration), yang teramplifikasi pada 1160 bp dengan menggunakan teknik PCR (Polymerase Chain Reaction). Begitu pula dengan daun tanaman jeruk Siam yang tidak menunjukkan gejala CVPD (nampak sehat), hasilnya juga positif untuk keberadaan bakteri *Liberobacter* yang teramplifikasi pada 1160 bp. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa daun jeruk Siam, baik yang bergejala maupun tidak, mengandung bakteri *Liberobacter asiaticus* yang terdeteksi melalui PCR dengan pita DNA sepanjang 1160 bp. Temuan ini menyoroti pentingnya deteksi dini dalam pengelolaan penyakit jeruk, memungkinkan untuk dilakukannya tindakan pencegahan lebih awal dalam upaya mengendalikan penyebaran penyakit ini di kebun jeruk.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Universitas Pendidikan Ganesha yang telah memberikan dana penelitian Fundamental Institusi 2023 melalui Dana DIPA BLU Universitas Pendidikan Ganesha sesuai dengan Kontrak Penelitian Nomor: 689/UN48.16/LT/2023.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Abadi, K. (2016). *Identifikasi Karakter Morfologi Dan Anatomi Tanaman Jeruk Lokal (Citrus Sp) Di Desa Karya Agung Dan Karya Abadi*. 4(6), 642–649.
- Alydrus, N. L., Saputri, J., & Alydrus, R. (2024). Deteksi *Helicobacter pylori* Pada Feses Mahasiswa Gastritis Tingkat Akhir Angkatan 2018 Di Universitas Megarezky Makassar Menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR). *Inhealth: Indonesian ...*, 13–24. <https://doi.org/10.56314/inhealth.v3i1.198>.
- Artati, D., & Lubis, S. (2017). *Optimasi performa*. 15(2), 47–50.
- Asiah Salatalohy, & Baguna, dan F. L. (2022). Potensi dan Pemanfaatan Limbah Hasil Tebangan Kayu Manis sebagai Biopestisida. *Jurnal Agribisnis Perikanan*, 15(2), 413–418. <https://doi.org/10.52046/agrikan.v15i2.1248>.
- Astari, D. D., Dewi, S. G., Setyaningrum, S., & Lidya, B. (2021). Perancangan Primer untuk Deteksi Kandungan Gen Cytochrome b Babi dengan Metode Polymerase Chain Reaction dan Aplikasinya pada Berbagai Produk Industri. *Fullerene Journ. Of Chem*, 6(2), 110–117. <https://doi.org/10.37033/fjc.v6i2.329>.
- Ayu, I. G., & Yuniti, D. (2018). *Perbanyak Tanaman Jeruk Siam (Citrus nobilis L.) dengan Teknik Kultur in vitro Menggunakan Biji Tanaman Terinfeksi Penyakit Citrus Vein Phloem Degeneration (CVPD) Citrus (Citrus nobilis L.) Propagation Through Culture In Vitro Using Seed*. 8(2), 179–188.
- Elake, W., Riry, J., & Riry, R. B. (2022). Pengelolaan Tanaman Kakao (*Theobroma cacao*) Oleh Petani Di Desa Makububui Kecamatan Taniwel Timur Kabupaten Seram Bagian Barat. *Jurnal Jendela Pengetahuan*, 17(2), 187–197. <https://doi.org/10.30598/jp17iss2pp187-197>.
- I Ketut Suda Armawan, Ni Komang Alit Astiari, & Ni putu Anom Sulistiawati. (2023). Pengaruh Pemberian Dosis Pupuk Kalium Nitrat dan Magnesium Sulfate Terhadap Hasil Tanaman Jeruk Siam (*Citrus nobilis* var. *Microcarpa* L.). *Gema Agro*, 28(1), 14–21. <https://doi.org/10.22225/ga.28.1.5632.14-21>.
- Inoue, H., Yamashita-muraki, S., Fujiwara, K., & Honda, K. (n.d.). *Fe 2 + Ions Alleviate the Symptom of Citrus Greening Disease*.
- Jamaluddin, S. N., Fitriana, F., & Amirah, S. (2024). Molecular Identification of Endophytic Fungi Isolated from Bidara Root (*Ziziphus mauritiana* Lam.) Using Polymerase Chain Reaction (Pcr). *Journal Microbiology Science*, 4(1), 11–21. <https://doi.org/10.56711/jms.v4i1.994>.
- Lamdo, H., Sari, Y., Faridzi, R. Al, Pebriyanti, P., Winanta, R. A., & Latif, F. (2023). Teknologi Dan Budidaya Tanaman Hortikultura, Buah Subtropika, Pangan, Pemanis Dan Serat, Serta Perkebunan Teh. *Jurnal Pendidikan : SEROJA*, 2(4), 84–92. <https://doi.org/10.572349/seroja.v2i4.1017>.
- Lestari, F. R., Purwanti, I., Purnama, N., Sajiah, A. M., Aksara, B., Informatika, J. T., Teknik, F., Halu, U., & Machine, M. V. (2019). *Identifikasi Penyakit Tanaman Jeruk Siam Menggunakan Metode M-SVM*. 441–448.
- Marlina, M., Hayati, I., & Mapegau, M. (2022). *Deteksi Penularan Penyakit CVPD pada Jeruk Rough Lemon Menggunakan Inokulum dari Berbagai Jaringan Tanaman Sakit dengan Tingkat Gejala yang Berbeda*. 6, 11–22.
- Meitayani, N. P. S., Adiartayasa, W., & Wijaya, I. N. (2014). Deteksi Penyakit Citrus Vein Phloem Degeneration (Cvpd) dengan Teknik Polymerase Chain Reaction (Pcr) pada Tanaman Jeruk di Bali. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika*, 3(2), 70–79.
- Melani, R., Adiartayasa, W., & Wijaya, I. N. (2018). Deteksi Penyakit Citrus Vein Phloem Degeneration (CVPD) Dengan Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR) pada Daun Tanaman Jeruk Yang Memiliki Pola Gejala Klorosis Berbeda. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika*, 7(2), 164–173.
- Nurhadi. (2015). Penyakit huanglongbing tanaman jeruk (*Candidatus Liberibacter Asiaticus*): ancaman dan strategi pengendalian. *Pengembangan Inovasi Pertanian*, 8(1), 21–32.
- Nurhayati, I. K. A., & Bagus, I. G. N. (2016). *Deteksi Keberadaan Penyebab Penyakit Citrus Vein Phloem Degeneration (CVPD) secara Molekuler pada Tanaman Jeruk Siam (Citrus nobilis Lour var . microcarpa Hassk) berdasarkan Variasi Gejala Klorosis*. 5(4), 344–353.
- Nurul Asiah, S. T. M. T., A, C. E., Ikom, A. K. M., Ramadhan, K., Hidayat, S. G., & Apriyantono, I. A. (2022). *Profil Kopi Arabika Kintamani Bali* (N. Asiah & A. Apriyantono (eds.). AE Publishing. <https://books.google.co.id/books?id=in5dEAAAQBAJ>.
- Pandey, S., & Shrestha, A. K. (2023). Citrus Greening: a Major Threat To Citrus Growers in Nepal. *Tropical Agrobiodiversity*, 4(1), 22–26. <https://doi.org/10.26480/trab.01.2023.22.26>.
- Patandjengi, B., Farham, M., Kuswinanti, T., Melina, Asman, & Tuwo, M. (2023). Detection of citrus vein phloem degeneration disease (*Candidatus Liberibacter asiaticum*) in orange cv. Selayar, *Citrus reticulata* L. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1192(1), 012026. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1192/1/012026>.
- Ratu, S., Taufik, M., & Khaeruni, A. (2020). Insidensi Penyakit Citrus Vein Phloem Degeneration (CVPD) dan

- Kepadatan Populasi Serangga Vektor *Diaphorina citri* pada Tanaman Jeruk di Pulau Siompu Kabupaten Buton Selatan. *Berkala Penelitian Agronomi*, 8(1), 33. <https://doi.org/10.33772/bpa.v8i1.13854>.
- Rini, K. A. T. P., Budiasa, I. M., & Kardi, C. (2023). Analisis Permintaan dan Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Permintaan Buah Jeruk Lumajang di Kabupaten Gianyar. *Jurnal AGRIFARM*, 2(3), 21–30.
- Riyanto, R., & Iswarini, H. (2023). Studi Manajemen Usahatani Dan Dampak Diperolehnya Sertifikat Produk Prima Tiga Terhadap Usahatani Jeruk Siam Di Desa Budi Mulya Kecamatan Air Kumbang Kabupaten Banyuasin. *Societa*, 12(1), 26–34. <https://doi.org/10.32502/jsct.v12i1.6308>.
- Rustiani, U. S., Endah, A. S., Nurjanah, N., Prasetyawan, A., & Nurmaida, N. (2015). Detection of Bacteria Causing CVPD on Citrus Using DNA Extracted from Leaf Midrib. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 11(3), 79–84. <https://doi.org/10.14692/jfi.11.3.79>.
- Susilo, T. B., Soesanto, O., Susanti, D. S., Fahrudin, A. E., Suhartono, E., Hidayat, Y., Wahjono, S. C., Soendjoto, M. A., & Krisdianto, K. (2024). Penyuluhan Asal Mula Teknologi Polymerase Chain Reaction Bagi Komunitas Minggu Raya (Bagian 2). *Jurnal Pengabdian ILUNG (Inovasi Lahan Basah Unggul)*, 3(3), 504. <https://doi.org/10.20527/ilung.v3i3.11887>.
- Tamba, I. M. (2024). Kajian Buah-Buahan Lokal Unggulan Provinsi Bali dan Potensi Dinamisnya. *JIA (Jurnal Ilmiah Agribisnis): Jurnal Agribisnis Dan Ilmu Sosial Ekonomi Pertanian*, 9(2), 126–132. <https://doi.org/10.37149/jia.v9i2.1117>.
- Taufik, M. (2010). Citrus vein phloem degeneration. *Agriplus*, 20(3), 240–245.
- Triwiratno, A., Supriyanto, A., Garnier, M., & Bove, J. M. (2003). Deteksi Penyebaran Geografis Penyakit CVPD di Bali Utara dengan Metode Polymerase Chain Reaction. *Deteksi Penyebaran Geografis Penyakit CVPD Di Bali Utara Dengan Metode Polymerase Chain Reaction*, 13(2), 138–145.
- Tuwo, M., Kuswinanti, T., Nasruddin, A., & Tambaru, E. (2024). Journal of Genetic Engineering and Biotechnology Uncovering the presence of CVPD disease in citrus varieties of South Sulawesi , Indonesia : A molecular approach. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 22(1), 100332. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2023.100332>.
- Wirawan, I., & Julyasih, K. (2015). Detection of Citrus Vein Phloem Degeneration (Cvpd) Disease By Polimerase Vhain Reaction (PCR) and Protein Analysis Using SDS Page. *International Journal of Biosciences and Biotechnology*, 1–7.