

I Gusti Ayu Diah Yuniti

# Polimorfisme Fragmen DNA CUPD<sup>r</sup> Pada Beberapa Jenis Tanaman Jeruk di Bali



# **POLIMORFISME**

**FRAGMEN DNA CVPD<sup>r</sup> PADA BEBERAPA  
JENIS TANAMAN JERUK DI BALI**

**I GUSTI AYU DIAH YUNITI**

**CAKRA MEDIA UTAMA  
2019**

**Polimorfisme Fragmen DNA CVPD<sup>r</sup>  
Pada Beberapa Jenis Tanaman Jeruk di Bali**

Penulis

**I Gusti Ayu Diah Yuniti**

Pracetak

Tim Grafis CMU

Penerbit

**CAKRA MEDIA UTAMA**

Jalan Diponegoro No. 256

Denpasar, Bali 80114

Email: [cakra.mediatama@gmail.com](mailto:cakra.mediatama@gmail.com)

Cetakan Pertama: 2019

ISBN 978-602-52797-7-5

# KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadapan Ida Sang Hyang Widhi Wasa/Tuhan Yang Maha Esa, karena karunia-Nya penulis dapat menerbitkan buku dengan judul **“Polimorfisme Fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> Pada Beberapa Jenis Tanaman Jeruk di Bali.”**

Buku ini bertujuan untuk (1) mengkonfirmasi fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada jenis tanaman jeruk keprok, jeruk siam, jeruk selayer, jeruk nipis, dan jeruk Bali yang merupakan jeruk rentan terhadap penyakit CVPD. (2) untuk mengetahui polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> yang terdapat antara tanaman jeruk yang tahan atau toleran dan tanaman jeruk yang peka terhadap penyakit CVPD. (3) untuk mengetahui pohon filogenetik yang dihasilkan dari analisis polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup>. (4) untuk mengetahui unsur hara apakah yang paling rendah pada tanaman yang terinfeksi penyakit CVPD dan bagaimana pengaruhnya terhadap kualitas buah yang dihasilkan.

Dengan segala hormat ucapan terima kasih kepada Alm. Ayahanda dan Ibunda, yang telah mengasuh dan membesarkan serta memberi motivasi agar selalu belajar tidak memandang usia serta menanamkan nilai-nilai kehidupan kepada penulis. Terima kasih yang tidak terhingga juga penulis sampaikan kepada kakak, adik, ipar dan keponakan yang sudah memberikan semangat dan dorongan selama penulis mengikuti pendidikan. Akhirnya penulis sampaikan terima kasih kepada suami tercinta Ir. I Ketut Astawa serta anak-anak tersayang Putu Diah Aryastuti Sanjiwani, S.E., Made Dwi Aryastana Janardana dan Nyoman Damma Aryastika Dhananjaya, yang telah banyak memberikan doa, dan pengorbanan serta semangat yang tidak pernah putus kepada penulis, selama pendidikan dan penelitian sampai dapat tersusunnya buku ini dengan baik.

Semoga Ida Sang Hyang Widhi Wasa/Tuhan Yang Maha Esa selalu memberikan perlindungan dan melimpahkan rahmat-Nya kepada semua pihak yang sudah berkontribusi bagi penyelesaian

buku ini, dan permohonan maaf atas segala kesalahan, kekurangan dan keterbatasan penulis. Semoga buku ini bermanfaat bagi peneliti CVPD dan pembaca pada umumnya.

Denpasar, Mei 2019

# DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR .....	iii
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR TABEL .....	vii
GAMBAR .....	viii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG .....	ix
<b>BAB I      PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	6
<b>BAB II     TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	7
2.1 Penyakit CVPD .....	7
2.2 Gejala Serangan Patogen Penyakit CVPD .....	9
2.3 Fragmen DNA CVPD <sup>r</sup> .....	13
2.4 <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR) .....	14
2.5 Komponen Bahan dalam Buah Jeruk .....	15
2.6 Defisiensi Unsur Hara Tanaman Jeruk .....	16
2.7 <i>Atomic Absorbtion Spektrophotometer</i> (AAS)...	20
2.8 Peneliti Terdahulu .....	21
<b>BAB III    KERANGKA BERPIKIR, KONSEP DAN HIPOTESIS</b> <b>          PENELITIAN</b> .....	25
3.1 Kerangka Berpikir .....	25
3.2 Kerangka Konsep .....	27
3.3 Hipotesis Penelitian .....	28
<b>BAB IV    METODE PENELITIAN</b> .....	31
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	31
4.2 Metode Pengumpulan Data .....	31
4.3 Analisis Data .....	32

4.4	Variabel Penelitian .....	39
<b>BAB V</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>43</b>
5.1	Gejala Penyakit, Persentase Serangan, dan Intensitas Serangan CVPD .....	43
5.2	Deteksi Penyakit CVPD dengan Metode PCR...	45
5.3	Distribusi Fragmen DNA CVPD <sup>r</sup> pada Tanaman Jeruk .....	49
5.4	Karakteristik Unsur Hara pada Tanaman Jeruk	69
5.5	Pengaruh Serangan Penyakit CVPD terhadap Kualitas dan Kuantitas Buah Jeruk .....	72
5.6	Kebaharuan Penelitian (Novelty) .....	80
<b>BAB VI</b>	<b>SIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>83</b>
6.1	Simpulan .....	83
6.2	Saran .....	84
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		<b>85</b>
<b>INDEKS .....</b>		<b>97</b>
<b>TENTANG PENULIS .....</b>		<b>100</b>

# DAFTAR TABEL

2.1.	Kriteria kecukupan unsur hara tanaman jeruk berdasarkan konsentrasinya dalam daun .....	19
4.1.	Skala numerik intensitas kerusakan tanaman terjangkit penyakit CVPD .....	33
4.2.	Variabel sensori .....	40
4.3.	Kriteria jeruk (SNI 01-3165-1992) .....	40
5.1.	Persentase serangan, dan intensitas tanaman jeruk terserang CVPD .....	44
5.2.	Hasil visualisasi PCR terhadap penyakit CVPD .....	46
5.3.	Hasil PCR fragmen DNA CVPD <sup>r</sup> .....	50
5.4.	Polimorfisme fragmen DNA CVPD <sup>r</sup> pada beberapa jenis tanaman jeruk .....	61
5.5.	Hasil analisis unsur hara dengan metode <i>Atomic Absorbtion Spectrophotometer</i> (AAS) .....	70
5.6.	Kadar air, vitamin C dan antioksidan .....	74
5.7.	Pengukuran buah jeruk .....	75
5.8.	Parameter sensorik warna .....	78
5.9.	Parameter sensorik aroma .....	79
5.10.	Parameter sensorik tekstur .....	79

# DAFTAR GAMBAR

2.1.	Gejala serangan penyakit CVPD pada daun jeruk siam dan buah jeruk siam Kintamani .....	9
3.1.	Kerangka Berpikir .....	27
3.2.	Kerangka Konsep Penelitian .....	29
5.1.	Buah dan daun jeruk bergejala CVPD di Petang, Badung	43
5.2.	Daun jeruk bergejala CVPD di Desa Petang .....	45
5.3.	Hasil amplifikasi DNA dengan PCR pada sampel tanaman jeruk .....	48
5.4.	Hasil amplifikasi DNA dengan PCR pada sampel tanaman jeruk .....	48
5.5.	Hasil amplifikasi DNA dengan PCR pada sampel tanaman jeruk .....	52
5.6.	Hasil amplifikasi DNA dengan PCR pada sampel tanaman jeruk .....	52
5.7.	Polimorfisme fragmen DNA CVPD <sup>r</sup> dari beberapa spesies jeruk di Bali .....	53
5.8.	Polimorfisme fragmen DNA CVPD <sup>r</sup> dari beberapa spesies jeruk di Bali .....	54
5.9.	Polimorfisme fragmen DNA CVPD <sup>r</sup> dari beberapa spesies jeruk di Bali .....	55
5.10.	Polimorfisme fragmen DNA CVPD <sup>r</sup> dari beberapa spesies jeruk di Bali .....	56
5.11.	Polimorfisme fragmen DNA CVPD <sup>r</sup> dari beberapa spesies jeruk di Bali .....	57
5.12.	Polimorfisme fragmen DNA CVPD <sup>r</sup> dari beberapa spesies jeruk di Bali .....	58
5.13.	Polimorfisme fragmen DNA CVPD <sup>r</sup> dari beberapa spesies jeruk di Bali .....	59
5.14.	Pohon Filogenetik .....	68
5.15.	Visual fisik buah jeruk yang terserang penyakit CVPD ....	73
5.16.	Perbedaan buah jeruk yang sehat dan terserang penyakit CVPD .....	74

# DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

## SINGKATAN

DNA	= Deoxyribonucleic Acid
CVPD	= Citrus Vein Phloem Degeneration
AAS	= Atomic Absorbtion Spectrophotometer
MLO	= Mycoplasma like-organism
BLO	= Bacterium-like-organism
PCR	= Polymerase Chain Reaction
UV	= Ultraviolet
GO	= Greening Organism
DPPH	= 2,2-difenil-2-pikrilhidrazil
LU	= Lintang Utara
LS	= Lintang Selatan
GAEAC	= <i>Gallic Acids Equivalent Antioxidant Capacity</i>

## LAMBANG

g	= gram
mg	= milligram
µg	= mikrogram
µl	= mikroliter
ml	= milliliter
l	= liter
nm	= nanometer
%b/b	= persen berat



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Jeruk (*Citrus* spp.) merupakan komoditas buah yang paling populer di dunia setelah anggur. Daerah tumbuhnya membentang dari 40° LU-40° LS, dan total luas areal tanaman jeruk di seluruh dunia tidak kurang dari 1,5 juta hektar. Jeruk bukan tanaman asli Indonesia, negeri asal jeruk adalah India, Cina, Australia, dan Kaledonia Baru. Sejak ratusan tahun yang lalu, jeruk sudah tumbuh di Indonesia baik secara alami atau dibudidayakan. Tanaman jeruk yang ada di Indonesia adalah peninggalan orang Belanda yang mendatangkan jeruk manis dan keprok dari Amerika dan Italia (Kemenristek, 2000). Di Indonesia budidaya dan penelitian jeruk terus berkembang, usaha ini sudah dilakukan orang sejak jaman sebelum kemerdekaan. Dewasa ini usaha perkebunan dan penanaman jeruk tidak hanya terpusat di Jawa, tetapi juga sudah hampir merata di daerah-daerah lain termasuk juga di Bali yang kondisi iklim dan tanahnya cocok untuk ditanami jeruk (Kementan, 2016).

Buah jeruk biasanya diolah menjadi olahan maupun dikonsumsi secara segar. Sebagai komoditas yang bernilai ekonomi tinggi, pengembangan jeruk perlu mendapat perhatian, mengingat kontribusinya yang besar pada perekonomian nasional (Simatupang, 2009). Peningkatan produksi buah jeruk belum mampu untuk memenuhi kebutuhan pasar dan belum mampu bersaing di pasar pariwisata karena dalam peningkatan produksi masih ada hambatannya terutama disebabkan oleh beberapa faktor antara lain faktor budidaya, adanya serangan hama dan penyakit serta penanganan panen serta pasca panen (Wirawan *et al.*, 2014).

Tanaman jeruk merupakan salah satu tanaman hortikultura yang sangat penting dalam perekonomian masyarakat. Tanaman ini sudah lama dikenal dan dibudidayakan di Indonesia (Wahyuningsih,

2009). Jeruk hampir selalu tersedia sepanjang tahun walaupun hanya bisa panen dalam setahun dua kali saja, karena tanaman jeruk tidak mengenal musim berbunga yang khusus (Zubaidah, 2010). Sentra produksi buah jeruk pada tahun 2014 adalah Jawa Timur, Kalimantan Selatan, Kalimantan Barat, Sumatra Utara dan sebagian kecil dari provinsi lainnya (Kementan, 2016). Hasil perkebunan jeruk di Indonesia berfluktuasi selama periode 2012 hingga 2016. Tahun 2015 menuju tahun 2016 menurut Kementerian Pertanian tahun 2017 produksi buah Jeruk di Bali pada khususnya mengalami penurunan 35% dibandingkan tahun sebelumnya. Hal tersebut disebabkan oleh beberapa faktor salah satunya adalah penyakit tanaman. Menurut Wirawan *et al.* (2014) penyakit jeruk yang mempengaruhi produksi buah jeruk salah satunya adalah serangan penyakit *Citrus Vein Phloem Degeneration* (CVPD). Penyakit CVPD tergolong salah satu penyakit dan mematikan pada tanaman jeruk. Penyakit CVPD telah berkembang luas dan menjadi kendala utama usaha pengembangan dan peningkatan produksi jeruk di Bali (Wijaya, 2007). Penyakit CVPD dapat menyerang dan mematikan tanaman jeruk dalam waktu 1-2 tahun (da Graca, 1991).

Nama lain dari CVPD yaitu *citrus greening*, *yellow shoot*, *leaf mottle* (Filipina), *likubin* atau *decline* (Taiwan), *citrus dieback* (India), *blotchy-mottle* atau *mottling disease* (Afrika); dengan nama internasional *huanglongbing* (China) (Zubaidah, 2010). Penyakit CVPD disebabkan oleh *Candidatus Liberibacter asiaticus* dan disebarkan oleh serangga vektor yaitu *Diaphorina citri* (Tirtawijaja, 1981; Sandrine *et al.*, 1996; Wirawan *et al.*, 2004; Secor *et al.*, 2009). Genom *L. asiaticus* strain A4 secara keseluruhan diurutkan oleh Zeng *et al.* (2014) dan dilaporkan pada tahun 2014, melalui penelitian genom ini dapat dipelajari beberapa polimorfisme DNA patogen untuk menemukan strain tertentu di perkebunan jeruk tempat pengambilan sampel.

Infeksi penyakit CVPD diawali dengan masuknya bakteri *Liberibacter asiaticus* ke dalam sel tanaman melalui tusukan serangga vektor *Diaphorina citri* yang inaktif, akhirnya menyebabkan daun

tanaman menguning (klorosis) dan buahnya kecil, rasanya masam sehingga banyak merugikan petani. (Wirawan *et al.*, 2004). Adanya standarisasi buah jeruk yang meliputi standar panen dan standar pasca panen (seperti *grading* (pengelompokan) buah, keseragaman warna buah, pengemasan, penyimpanan, transportasi, kadar air, kandungan vitamin C, dan kandungan gizi buah) yang beredar di pasar menyebabkan buah jeruk terserang CVPD tidak laku di pasaran (Wirawan *et al.*, 2014).

Semua tanaman jeruk budidaya rentan terhadap serangan penyakit CVPD (Mahayani, 2013). Jenis tanaman jeruk budidaya yang rentan terhadap CVPD selanjutnya disebut tanaman jeruk CVPD<sup>s</sup>. Di lain pihak dilaporkan beberapa jenis tanaman jeruk, terutama tanaman jeruk yang tidak dibudidayakan secara ekonomi dan beberapa tanaman kerabatnya, diketahui tahan terhadap penyakit CVPD. Jenis tanaman jeruk dan kerabatnya yang tahan CVPD ini untuk selanjutnya disebut tanaman jeruk CVPD<sup>r</sup>. Tanaman jeruk yang tahan CVPD (CVPD<sup>r</sup>) diduga mengandung gen yang menghasilkan suatu sifat yang sanggup mematahkan infeksi patogen CVPD atau sanggup menolak penularan patogen yang dibawa oleh serangga vektor (Wirawan *et al.*, 2004).

Perkembangan penelitian bioteknologi berbasis biologi molekuler, telah banyak memberi percepatan terhadap kemajuan penelitian penyakit CVPD. Satu gen yang diberi nama fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> berperan dalam ketahanan tanaman jeruk terhadap penyakit CVPD. Fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> tersebut ditemukan pada tanaman jeruk yang tahan atau relatif tahan terhadap penyakit CVPD yaitu jeruk kinkit (*Triphacia trifoliata*), dan jeruk nipis tanpa biji (*Citrus aurantifolia* var. seedles). Akan tetapi fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> ini juga ditemukan pada jeruk siam Kintamani, yang merupakan tanaman jeruk yang rentan terhadap penyakit CVPD, sehingga menjadi sulit menerangkan mekanisme infeksi penyakit CVPD. Semua gen tersebut belum diketahui dengan pasti secara molekuler. Ada kemungkinan bahwa fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> tidak dapat berperan dengan baik memberi ketahanan terhadap penyakit CVPD, sehingga

pada tanaman timbul ekspresi penyakit CVPD. Fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> berfungsi untuk menghilangkan hambatan pengaruh bakteri CVPD dalam penyerapan unsur hara ke dalam sel tanaman. Fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> berlokasi pada kromosom tanaman jeruk, tetapi mekanisme kerja tingkat molekulnya belum diketahui (Wirawan *et al.*, 2004).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui keberadaan fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada berbagai jenis tanaman jeruk yang ada di Bali menggunakan analisis *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan primer O11: GCGCGTATGCAATACGAGCGGC dan O12: GCCTCGCGACTTCGCAACCCAT untuk mendeteksi keberadaan patogen bakteri *L. asiaticus*. Deteksi keberadaan fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> dilakukan dengan analisis PCR menggunakan primer WR-F GACTAGGTGGTAATAACTACTTTT dan WR-R CCTTTTTGGTCTATCTTTACTTAG. Sekuen fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> dari berbagai jenis tanaman jeruk yang ada di Bali akan dianalisis untuk melihat polimorfismenya yang mungkin berkaitan dengan tingkat infeksi patogen CVPD secara molekuler.

Diantara semua jeruk budidaya seperti jeruk keprok (*Citrus reticulata* var keprok), jeruk selayar (*Citrus reticulata* var selayar), jeruk siam (*Citrus nobilis*), jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*), jeruk limau (*Citrus amblycarpa*), jeruk nipis tanpa biji (*Citrus aurantifolia* var. *seedless*), jeruk Bali (*Citrus grandis*), akan dicari keberadaan fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> menggunakan metode PCR dengan primer dari fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> (Wirawan *et al.*, 2004).

Penelitian ini menjadi menarik untuk diteliti lebih lanjut dilihat kenyataan bahwa penyakit CVPD hingga saat ini belum dapat ditanggulangi dengan rumusan strategi pengendalian yang belum tertata dengan baik. Hasil penelitian yang sudah banyak dilakukan belum mampu menjelaskan mekanisme infeksi secara detail. Penelitian ini mencoba menemukan polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada beberapa jenis tanaman jeruk yang ada di Bali. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka peneliti tertarik untuk mengkaji penelitian dengan judul polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada beberapa jenis tanaman jeruk di Bali.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang tersebut di atas, maka rumusan permasalahan adalah sebagai berikut.

1. Apakah fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> ditemukan pada jenis jeruk yang rentan seperti jeruk keprok, jeruk siam, jeruk selayar, limau, jeruk nipis, dan jeruk Bali ?
2. Apakah terdapat polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada tanaman jeruk yang tahan atau toleran dan tanaman jeruk yang peka terhadap penyakit CVPD?
3. Bagaimanakah pohon filogenetik yang dihasilkan dari analisis polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> ?
4. Konsentrasi unsur hara apakah yang paling rendah pada tanaman yang terinfeksi penyakit CVPD dan bagaimana pengaruhnya terhadap kualitas buah yang dihasilkan?

## **1.3. Tujuan Penelitian**

### **1.3.1. Tujuan Umum**

Tujuan umum dilakukannya penelitian ini adalah untuk menemukan apakah semua jeruk mempunyai fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> yaitu gen yang terindikasi memberi ketahanan terhadap tanaman jeruk. Adanya fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> tersebut diharapkan dapat meningkatkan ketahanan tanaman jeruk terhadap penyakit CVPD.

### **1.3.2. Tujuan Khusus**

1. Untuk menganalisis distribusi fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada jenis tanaman jeruk rentan seperti jeruk keprok, jeruk siam, jeruk selayar, jeruk nipis, dan jeruk Bali yang merupakan jeruk rentan terhadap penyakit CVPD.
2. Untuk mengetahui polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> yang terdapat pada tanaman jeruk yang tahan, toleran dan tanaman jeruk yang peka terhadap penyakit CVPD.
3. Untuk analisis pohon filogenetik yang dihasilkan dari

polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup>.

4. Untuk mengetahui defisiensi unsur hara yang paling rendah pada tanaman yang terinfeksi penyakit CVPD dan bagaimana pengaruhnya terhadap kualitas buah yang dihasilkan.

#### **1.4. Manfaat Penelitian**

Berdasarkan tujuan penelitian yang hendak dicapai, maka dengan adanya penelitian ini diharapkan akan dapat memberikan manfaat baik secara teoritis (keilmuan) maupun secara praktis (terapan) sebagai berikut:

##### **1.4.1 Manfaat teoretis (manfaat akademik)**

Berdasarkan penelitian ini diharapkan mampu mendukung atau memperkuat teori tentang polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada beberapa jenis tanaman jeruk di Bali.

##### **1.4.2 Manfaat praktis**

1. Polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada beberapa jenis tanaman jeruk dapat diketahui.
2. Dapat menentukan strategi pengendalian penyakit CVPD.
3. Mampu menjelaskan tanaman jeruk yang tahan atau toleran dan tanaman jeruk yang peka terhadap penyakit CVPD.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Penyakit CVPD

Penyakit CVPD pada awalnya diduga disebabkan oleh virus (Tirtawidjaja *et al.*, 1965; Tirtawidjaja, 1980; Chen and Mei, 1965), dengan perkembangan penelitian pada penyakit ini kemudian dikatakan disebabkan oleh *mycoplasma-like-organism* (MLO). Akan tetapi organisme yang diduga MLO ini segera diketahui dibungkus oleh dinding setebal 25 nm yang jauh lebih tebal dari unit membran yang khas untuk MLO yaitu antara 7 – 10 nm (Sandrine *et al.*, 1994). Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa membran setebal 25 nm itu merupakan membran bakteri yang memberi indikasi bahwa penyebab penyakit CVPD adalah bakteri dan bukan mikoplasma. Organisme yang sama seperti ditemukan pada CVPD ini juga ditemukan pada tanaman selain jeruk pada lebih dari 20 jenis penyakit (Greber and Gownalock, 1979; Holmes *et al.*, 1972; Nourrisseau *et al.*, 1993). Sejauh yang diketahui, organisme ini selalu berada dalam jaringan floem dan tidak satupun yang dapat dibiakkan pada media buatan. Mengambil persamaan dengan MLO, organisme ini kemudian disebut BLO (*bacterium-like-organism*) (Sandrine *et al.*, 1994).

Berdasarkan penemuan tersebut maka Sandrine *et al.*, pada tahun 1994, dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) mencoba mengamplifikasi fragmen 16SrDNA dari BLO yang diisolasi dari tanaman jeruk yang terserang penyakit CVPD menggunakan universal primer. Selanjutnya Sandrine *et al.* (1996) melaporkan bahwa mereka telah berhasil mengembangkan satu primer yang spesifik dari 16SrDNA tersebut untuk mendeteksi patogen penyebab penyakit CVPD dan sejak itu disimpulkan bahwa penyebab penyakit CVPD adalah bakteri yang diberi nama *Liberibacter* (Sandrine *et al.*, 1996). Ditemukan dua spesies yaitu *L. asiaticus* yang tersebar

di kawasan Asia termasuk Indonesia dan *L. africanus* yang tersebar di kawasan Afrika (Jagoueix *et al.*, 1994). Bakteri tersebut dikenal sebagai *greening organisms* (GO) dan ditularkan oleh 2 serangga vektor (kutu loncat) yaitu *Diaphorina citri* dan *Trioza erytreae* (Nakashima *et al.*, 1996).

CVPD adalah salah satu jenis penyakit yang paling merusak pada tanaman jeruk di banyak negara penghasil jeruk di Asia dan Afrika (Da Graca, 1991). Penyakit ini menyerang bagian daun tanaman jeruk, pada serangan lanjut tanaman akan menghasilkan buah yang kecil dan tidak dapat berkembang lagi sehingga akhirnya gugur (Yuniti, 2002).

Tanaman jeruk keprok yang sehat dapat mencapai umur puluhan tahun, tetapi sekarang setelah terserang penyakit CVPD hanya dapat memberi hasil 2-3 kali panen (Wirawan *et al.*, 2000). Penyakit CVPD ditemukan hampir pada semua kultivar jeruk, menyebabkan produksi berkurang atau gagal dan memperpendek masa hidup tanaman (Su and Hung, 2001).

Hama pucuk *Diaphorina citri* Kuw (*Homoptera: Psyllidae*) merupakan vektor penyakit CVPD di Indonesia, *Leaf Mottling* di Filipina, dan *Greening* di India (Kalshoven, 1981). Selain penyakit, rendahnya produktivitas jeruk juga dapat disebabkan oleh serangan hama. Kerusakan yang disebabkan oleh serangan hama dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung. Secara tidak langsung karena hama itu menjadi vektor penyakit (Astuti, 1988).

Penyakit CVPD disebabkan oleh *Liberibacter* yang merupakan bakteri Gram negatif yang tergolong subdivisi *Proteobacteria* (Sandrine *et al.*, 1996). Menurut Dwiastuti (2000), serangan penyakit CVPD di Bali Utara menyebabkan penurunan produksi jeruk sampai 60%.

Sritamin (2007) menyatakan bahwa berdasarkan pengaruh suhu, lingkungan ada dua macam spesies bakteri *Liberibacter*, dimana masing-masing spesies menginduksi gejala serangan yang berbeda. Spesies Asia menunjukkan gejala berat pada suhu 27-32°C atau bentuk yang toleran panas.

## 2.2. Gejala Serangan Patogen Penyakit CVPD

Tanaman jeruk pada saat bertunas, tidak ada perbedaan kenampakan pada tunasnya. Tunas tanaman sehat maupun tanaman bergejala CVPD menunjukkan kenampakan yang sama. Gejala khas serangan CVPD baru muncul setelah daun membuka penuh (Poerwanto and Solichah, 2010). Perbedaan tanaman jeruk terserang CVPD dan tanaman jeruk yang sehat disajikan dalam Gambar 2.1. Tanaman jeruk yang terserang CVPD memiliki gejala daun menguning dan tulang daun menebal seperti pada Gambar 2.1A, sedangkan buahnya menjadi kecil, keras kadar air berkurang, dan warnanya menguning mulai dari bagian tangkainya (Wirawan, 1998) Gambar 2.1.B.



A



B



C



D

Gambar 2.1.

A-B :Gejala serangan penyakit CVPD pada daun dan buah jeruk siam Kintamani  
C-D : Daun dan buah jeruk siam Payangan yang sehat (koleksi pribadi)

Gejala penyakit CVPD pada tanaman jeruk sering menyerupai gejala defisiensi unsur hara. Tirtawidjaja (1981) menjelaskan mekanisme infeksi patogen CVPD diawali dari serangga vektor penyakit CVPD yaitu *D. citri* infeksi yang membawa bakteri patogen CVPD *L. asiaticus* ke tanaman saat menghisap daun tanaman jeruk. Gejala serangan penyakit adalah daun menguning atau klorosis (Ohtsu, 1998) dan menyerupai gejala defisiensi unsur hara (Bove, 1995). Biji banyak yang abortus dan rasa buah menjadi masam (Da Graca, 1991). Yuniti (2002) berpendapat bahwa tanaman jeruk akan tertular karena *L. asiaticus* masuk ke dalam sel floem dan menyebar melalui pembuluh floem bersama translokasi nutrisi atau fotosintat.

Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Sulawesi Selatan (2011) membagi gejala penyakit CVPD sebagai berikut:

#### 1. Gejala Luar

Gejala yang tampak pada tanaman muda adalah kuncup berkembang lambat, kuncup tumbuh mencuat ke atas dengan daun-daun kecil dan belang-belang kuning, klorosis sedang, klorosis keras, klorosis dengan tulang daun menguning, dan tulang daun mengeras (Schneider, 1968; Roistacher, 1991; Ohtsu *et al.*, 1998). Di Indonesia, kultivar jeruk komersial terutama jeruk keprok, jeruk selayar, dan jeruk siam rentan terhadap penyakit CVPD berdasarkan penampakan gejala, seperti tunas-tunas menguning, mirip gejala defisiensi Zn, buah berguguran, buah tidak simetris dan berisi biji yang abortif (Muharam dan Whittle 1992). Aubert (1992) menyatakan gejala khas penyakit *greening* pada tanaman jeruk siam yang terinfeksi berat di Malaysia adalah mati ranting sektoral, gejala mirip defisiensi Zn, daun-daun menebal dan keras (Wahyuningsih 2009; Wijaya 2008; Obet, 2015).

Buah pada cabang-cabang terinfeksi biasanya tidak dapat berkembang normal dan berukuran kecil, terutama pada bagian yang tidak terkena cahaya matahari. Pada pangkal buah biasanya muncul warna orange yang sangat berbeda warnanya dengan dengan buah-

buah sehat. Buah-buah yang terserang rasanya masam dan bijinya kempes, tidak berkembang dan berwarna hitam (da Graca, 1991; Aubert *et al.*, 1992; Julyasih, 2003; Yuliani *et al.*, 2012).

## 2. Gejala dalam

Irisan melintang tulang daun tengah jeruk berturut-turut dari luar hingga ke tengah daun akan terlihat jaringan-jaringan epidermis, kolenkim, sklerenkim, floem. Menurut Tirtawidjaja (1984) dalam Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Sulawesi Selatan (2011) gejala dalam pada tanaman jeruk yang terkena CVPD adalah sebagai berikut:

- a. Floem tulang daun tanaman sakit lebih tebal dari floem tulang daun tanaman sehat.
- b. Floem tulang daun tanaman sakit, selnya berdinding tebal yang merupakan jalur transport unsure hara mulai dari dekat sklerenkim sampai dekat xylem. Dinding tebal tersebut adalah beberapa lapis dinding sel yang berdesak-desakan.
- c. Di dalam berbagai jaringan dalam daun terjadi pengumpulan secara berlebihan butir-butir halus zat pati.

Jeruk keprok, jeruk siam, dan jeruk selayar mempunyai gejala khas bila terkena penyakit CVPD yaitu daun-daun menguning, ukurannya kecil, daun tumbuh tegak, mati ranting (*die-back*), buah kecil dan bijinya abortif. Gejala khas CVPD pada tanaman jeruk keprok yang terinfeksi berat yaitu mati ranting sektoral, gejala yang mirip defisiensi Mn dan Fe pada daun, buah tidak simetris, biji abortif, daun menjadi tebal, kaku dan tulang daun mengeras (Aubert *et al.*, 1992).

Menurut Prasetya (2011) tanaman jeruk yang terserang penyakit CVPD memiliki gejala antara lain :

### 1. Gejala khas

Gejala khas tanaman yang terserang penyakit CVPD adalah daun belang-belang kuning (*blotching*) tidak merata, mulai berkembang pada ujung daun, bukan pada daun muda atau tunas. Gejala belang-belang pada bagian atas sama dengan bagian bawah.

Pada gejala lanjut daun menjadi lebih kaku dan lebih kecil, tulang daun utama dapat tetap hijau atau menjadi berwarna kuning.

## 2. Gejala pada tanaman muda

Gejala ini adalah kuncup yang berkembang lambat, pertumbuhannya mencuat ke atas, daun menjadi lebih kecil dan ditemukan gejala khas CVPD yaitu *blotching*, *mottle*, belang-belang kuning berpola tidak teratur pada helai daun yang agak berbeda dengan gejala defisiensi unsur hara Zn, Mn, Fe atau Mg.

## 3. Gejala pada tanaman dewasa

Gejala pada tanaman dewasa lebih bervariasi seperti gejala *greening* sektoral, diawali dengan munculnya gejala *blotching* pada cabang tertentu, diiringi dengan pertumbuhan tunas air lebih banyak dari tanaman normal di luar musim pertunasan. Daun pada cabang sakit menjorok ke atas seperti sikat, gejala berat, daun bisa menguning seluruhnya seperti defisiensi nitrogen dan terjadi pengerasan tulang daun primer dan sekunder yang dikenal sebagai *Vein crocking*, sementara itu secara keseluruhan daun menjadi lebih kaku dan menebal. Obet (2015) mengatakan bahwa daun dewasa yang halus berwarna lebih gelap sehingga kontras dibandingkan dengan daging daun yang berwarna kuning. Gejala ini merupakan indikator adanya kerusakan lebih berat pada pembuluh angkut atau floem, pada pohon yang sudah berproduksi, menyebabkan buah-buah pada cabang-cabang terinfeksi menjadi lebih kecil, tidak simetris (*lop sided*). Kadang-kadang ditemukan buah *red nose* (warna orange pada pangkal buah) terutama di tempat-tempat yang terlindung dari sinar. Buah terserang bijinya abortus dan rasanya asam (Julyasih 2003; Yuliani *et al.*, 2012).

## 4. Gejala tidak jelas

Beberapa kasus misalnya temperatur rendah, varietas berbeda, konsentrasi *L. asiaticus* rendah (*symptomless*) defisiensi

hara atau kompleks, ada gejala penyakit lain yang menyebabkan ekspresi gejala CVPD di lapangan tidak jelas, maka diperlukan proses deteksi yang disebut *indeksing* untuk memastikan penyebabnya. *Indeksing* dapat dilakukan dengan pemeriksaan melalui tanaman indikator, dengan uji serologi ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*), DIBA (*Dot Immono Blot Assay*) atau dengan uji PCR (*Polymerase Chain Reaction*) (Yuliani *et al.*, 2012)

Penularan penyakit CVPD di alam tergantung pada kepadatan populasi *D. citri* dan keberadaan sumber inokulum (Wijaya, 2003). Persentase rata-rata tanaman jeruk yang menunjukkan gejala penyakit CVPD pada tahun 2004 di Kecamatan Kintamani pada masing-masing petani sampel berkisar 80% (Adiartayasa, 2006).

### 2.3. Fragmen DNA CVPD<sup>r</sup>

Hampir semua tanaman jeruk yang dikultur secara komersial rentan terhadap penyakit CVPD, namun menurut Wirawan *et al.*, (2004) ada tanaman jeruk yang tahan atau resisten terhadap penyakit CVPD yaitu jeruk nipis tanpa biji (*Citrus auratifolia* var. seedless) dan jeruk kinkit (*Triphasia trifoliolate*). Tanaman jeruk yang tahan atau dianggap toleran terhadap penyakit CVPD kemudian disebut CVPD<sup>r</sup> dan menyimpan fragmen DNA CVPD<sup>r</sup>. Fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> ini sudah dikloning dalam vektor plasmid, yang disebut plasmid pWR27 dan telah dipatenkan dengan jumlah P00200400346 (ID P 0020148). Fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> membantu tanaman terserang CVPD untuk meningkatkan serapan unsur hara ke dalam sel tanaman. Namun, tanaman jeruk yang rentan terhadap penyakit CVPD ditemukan ada yang memiliki fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> melalui analisis PCR (Wirawan *et al.*, 2004; Wirawan dan Julyasih, 2015). Berdasarkan fakta ini, dicoba mempelajari polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> dan pengaruhnya terhadap ketahanan tanaman jeruk terhadap penyakit CVPD.

Wirawan *et al.*, (2004) menyatakan bahwa berdasarkan sekuen flanking DNA, dirumuskan tiga sekuen primer yang disebut dengan primer 1, primer 2 dan primer 3. Menggunakan ketiga primer tersebut akan dihasilkan tiga produk PCR dengan ukuran

yang berbeda, yaitu masing-masing 700 bp, 1100 bp, dan 841 bp.

Fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> bukan obat yang diberikan dari luar sel, tetapi telah berintegrasi tetap di dalam sel-sel tanaman jeruk (Wirawan, 2004). Fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> telah dapat diklon pada pUC18 dalam sel *E. coli* JM109 (pWR27). Bakteri tersebut membawa plasmid yang menyandi gen tahan terhadap *ampicillin*. Koloni yang tumbuh merupakan pUC18 yang dipelihara pada sel *E. coli* JM109. pUC18 merupakan vektor kloning membawa paling sedikit satu gen yang memberikan resistensi terhadap ampicillin pada sel tuan rumah dan seleksi untuk transformasi dengan menanam sel pada medium agar yang mengandung *ampicillin* (Brown, 1991 dalam Mahayani, 2013).

#### **2.4. Polymerase Chain Reaction (PCR)**

PCR adalah suatu metode *in vitro* yang digunakan untuk melakukan replikasi atau amplifikasi bagian spesifik dari berjuta lipatan DNA hanya dalam beberapa jam. Teknik PCR sebenarnya mengeksploitasi berbagai sifat alami replikasi DNA. Dalam proses tersebut polymerase DNA menggunakan DNA utas tunggal sebagai cetakan untuk mensintesis utas baru yang komplementer. Cetakan utas tunggal dapat diperoleh dengan mudah melalui pemanasan dari DNA cetakan utas ganda pada suhu mendekati titik didih (Loeffelholz *et al.*, 2006).

Hadidi *et al.* (1995) menyatakan bahwa sekuen DNA diamplifikasi secara cepat dengan kekhususan dan ketelitian yang sangat tinggi, menggunakan primer *oligonukleotida* dan enzim Taq DNA *polymerase* dalam suatu reaksi sederhana yang otomatis. Teknik reaksi *polymerase* berantai atau PCR ditemukan oleh Kary Mullis pada pertengahan tahun 1980. Penemuan ini telah mengakibatkan perubahan sangat cepat di bidang genetika molekular dan kemungkinan beberapa pendekatan baru mempelajari analisis gen (Watson *et al.*, 1992).

Analisis PCR untuk mendeteksi penyakit CVPD dapat dilakukan dengan menggunakan primer spesifik dari 16S rDNA

untuk mendeteksi keberadaan patogen bakteri *L. asiaticus* pada tanaman yang menunjukkan gejala penyakit. Isolasi DNA template dilakukan dari daun tanaman yang menunjukkan gejala penyakit CVPD. Sekuen primer yang digunakan adalah sekuen primer yang spesifik untuk patogen CVPD, yaitu O11 dan O12. Menggunakan primer ini ukuran DNA yang teramplifikasi adalah 1160 pasang basa (Assad, 2006).

Menurut Assad (2006) bahwa teknik PCR untuk mendeteksi penyakit CVPD menggunakan sepasang primer spesifik (Nakashima *et al.*, 1996; Jagoueix *et al.*, 1996; Hung *et al.*, 1999). Teknik ini diharapkan dapat mempercepat deteksi patogen CVPD di beberapa sentra produksi jeruk di Indonesia yang diduga terinfeksi CVPD.

Program PCR yang digunakan adalah (Loeffelholz *et al.* 2006):

1. Pre-treatment pada suhu 92°C selama 30 detik dengan satu siklus ulangan.
2. Denaturation pada suhu 92°C selama 60 detik.
3. Annealing pada suhu 60°C selama 30 detik.
4. Elongation pada suhu 72°C selama 90 detik. Tahap ini dengan 40 siklus ulangan
5. Extension pada suhu 72°C selama 90 detik dengan satu siklus ulangan.

## **2.5. Komponen Bahan dalam Buah Jeruk**

Pohon jeruk manis yang biasa kita makan banyak tumbuh di iklim tropis dan subtropics. Jeruk merupakan salah satu sumber vitamin C yang sangat baik untuk tubuh yaitu dapat meningkatkan kekebalan tubuh dan mempercepat kesembuhan luka (Deriyanto, 2015).

Selain kandungan vitamin C, jeruk juga mengandung komponen gula sebesar 4,93-7,57 g, yang terdiri dari glukosa 1,02-1,24 g; fruktosa 1,49-1,58 g; sukrosa 2,19-4,90 g, asam malat 0,18-0,21 g dan asam sitrat 0,80-1,22 g per 100 ml sari buah. Senyawa tersebut sangat menentukan citarasa sari buah jeruk berdasarkan

nilai imbalan gula-asamnya. Apabila terjadi perubahan imbalan gula-asam, maka cita rasa sari buah jeruk akan mengalami perubahan juga. Selama penyimpanan kadar gula sari buah jeruk akan mengalami penurunan yang dapat meningkatkan keasamannya, sehingga menurunkan citarasa sari buah jeruk (Helmiyesi *et al.*, 2008).

Menurut Wijaya (2012) bahwa jeruk sebagai buah yang paling populer di dunia dan paling bergizi diantara buah-buahan lainnya, karena sebuah jeruk mengandung lebih dari 60 senyawa flavonoid yang berbeda dan juga mengandung lebih dari 170 fitonutrien yang berbeda pula. Senyawa ini memiliki beragam sifat yang berhubungan dengan penyembuhan. Buah jeruk bisa dikategorikan sebagai buah favorit karena rasanya yang mengundang selera. Rasa buah jeruk sendiri adalah masam segar dan juga ada yang manis. Rasa masam jeruk ini dikarenakan asam sitrat yang dikandung oleh jeruk sendiri. Penelitian menunjukkan bahwa mengkonsumsi buah jeruk merupakan salah satu cara terbaik untuk mendapatkan manfaat kesehatan dari pada mengkonsumsi suplemen. Buah jeruk juga diketahui dapat membantu tubuh untuk menyerap nutrisi. Selain itu, buah jeruk mempunyai serat yang cukup tinggi sehingga baik untuk kesehatan sistem pencernaan.

Kandungan yang terdapat pada buah jeruk adalah vitamin C, karbohidrat, potasium, folat, kalsium, vitamin B1, niacin atau vitamin B3, vitamin B6/pyridoxine, fosfor, magnesium, tembaga, riboflavin/vitamin B2, asam pantotenat/vitamin B5 dan senyawa fitokimia. Kandungan vitamin C pada jeruk bermanfaat untuk menurunkan resiko terkena serangan kanker usus besar. Hal ini dikarenakan jeruk bisa membantu mengusir radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan DNA. Vitamin C juga memiliki fungsi sebagai sistem kekebalan tubuh, misalnya untuk menangkal flu dan mencegah infeksi pada telinga (Wijaya, 2012).

## **2.6. Defisiensi Unsur Hara Tanaman Jeruk**

Tanaman juga seperti manusia memerlukan makanan yang disebut dengan hara. Manusia menggunakan bahan organik,

tetapi tanaman menggunakan bahan anorganik untuk mendapatkan energi pertumbuhannya. Proses fotosintesis pada tanaman untuk mengumpulkan karbon yang ada di atmosfer yang kadarnya sangat rendah, ditambah air yang diubah menjadi bahan organik oleh klorofil dengan bantuan sinar matahari. Jadi unsur yang diserap untuk pertumbuhan dan metabolisme dinamakan hara tanaman, yang dapat memenuhi siklus hidupnya. Sedangkan mekanisme perubahan unsur hara menjadi senyawa organik atau energi disebut dengan metabolisme (Mirza, 2013).

Sudarmi (2013) menyampaikan bahwa fungsi hara tanaman tidak dapat digantikan oleh unsur lain dan bila tidak terdapat suatu hara tanaman, maka kegiatan metabolisme akan terganggu atau berhenti sama sekali. Umumnya tanaman yang kekurangan unsur hara akan menampilkan gejala pada suatu organ tertentu yang spesifik biasa disebut dengan gejala kekahatan. Unsur hara yang diperlukan tanaman adalah karbon (C), hidrogen (H), oksigen (O), nitrogen (N), fosfor (P), kalium (K), sulfur (S), kalsium (Ca), magnesium (Mg), seng (Zn), besi (Fe), mangan (Mn), tembaga (Cu), molibden (Mo), boron (B), klor (Cl), natrium (Na), kobal (Co), dan silikon (Si).

Unsur hara di bagi menjadi dua golongan, yakni unsur hara makro dan unsur hara mikro, berdasarkan jumlah yang diperlukan. Unsur hara makro dibutuhkan tanaman dan terdapat dalam jumlah yang lebih besar, di bandingkan dengan unsur hara mikro. Davidescu (1988) mengusulkan bahwa batas perbedaan unsur hara makro dan mikro adalah 0,02% dan bila kurang disebut unsur hara mikro. Ada juga unsur hara yang tidak mempunyai fungsi pada tanaman, tetapi kadarnya cukup tinggi dalam tanaman dan tanaman yang hidup pada suatu tanah tertentu selalu mengandung unsur hara tersebut misalnya unsur hara aluminium (Al), nikel (Ni) dan besi (Fe).

Tanaman jeruk yang kekurangan atau kelebihan unsur hara mikro, perkembangannya akan terganggu dan menunjukkan gejala seperti penyakit CVPD yang kadang-kadang identifikasi gejalanya mirip dan tumpang tindih dengan gejala yang disebabkan oleh penyakit. Unsur hara mikro dibutuhkan oleh tanaman dalam jumlah

yang sedikit, namun apabila berlebihan dapat menjadi racun bagi tanaman. Sumber-sumber unsur hara mikro biasanya dari pupuk cair atau pupuk daun (Sudarmi, 2013).

Gejala kekurangan dan kelebihan unsur hara mikro terhadap tanaman jeruk (Sudarmi, 2013) adalah:

1. Kekurangan seng (Zn), daun mengecil dan menyempit dengan ujung lancip; daun muda berwarna pucat dan pada daun tua terlihat tulang-tulang daun berwarna hijau kontras dengan warna kuning antar tulang daun; pertumbuhan ranting-ranting terhambat, antar ruas daun memendek dan ranting tumbuh roset/melingkar; buah menjadi kecil, hasil menurun, kulit buah tipis, dan berwarna kuning pucat dengan sedikit sari buah.
2. Kekurangan besi (Fe), daun muda menguning kecuali pada tulang daun, daun mengecil dan tipis, sedangkan daun lebih tua tetap hijau; pada kondisi parah terjadi kematian dahan dan ranting, ranting tumbuh roset/melingkar; buah lebih kecil dan rasa lebih masam.
3. Kekurangan mangan (Mn), lamina sepanjang tulang daun berwarna hijau tua dan diantara tulang daun berwarna hijau muda dan agak menguning.

Cottenie (1983) dan Harmsen (1977) menyatakan bahwa tanah merupakan suatu sistem yang kompleks, berperan sebagai sumber kehidupan tanaman yaitu air, udara dan unsur hara. Tembaga (Cu), seng (Zn), besi (Fe) dan mangan (Mn) merupakan beberapa contoh unsur hara mikro yang esensial bagi tanaman karena walaupun diperlukan dalam jumlah relatif sedikit tetapi sangat besar peranannya dalam metabolisme di dalam tanaman.

Untuk mengetahui defisiensi unsur hara yang terjadi pada tanaman secara akurat, dapat dilakukan dengan analisis daun secara laboratorium, lalu dibandingkan dengan standar (fase) optimum pada tanaman, yaitu fase tanaman dapat tumbuh secara optimal. Apabila kandungan unsur mikro melebihi fase optimum, maka tanaman akan mengalami fase berlebihan yang terbagi

menjadi fase konsumsi berlebih (*Luxurious consumption*) dan fase racun (*toxic range*) yang merupakan tahap tanaman mengalami penurunan pertumbuhan seperti yang diperlihatkan dalam Tabel 2.1 (Muhammad dan Idaryanti, 2005).

Tabel 2.1  
Kriteria kecukupan unsur hara tanaman jeruk  
berdasarkan konsentrasinya dalam daun.

Unsur hara	Konsentrasi kritis dalam daun (%)		
	Kahat	Optimum	Berlebih
Zn	< 16	25 – 100	>300
Mn	< 16	25 – 200	>300
Mg	< 0,16	0,25 - 6,0	>1,2
Fe	< 36	60 – 120	>200

Sumber: Muhammad & Idaryanti, 2005

Untuk melakukan pengujian unsur hara dilakukan terlebih dahulu preparasi sampel untuk menentukan keberhasilan dalam suatu analisis. Preparasi sampel yang dapat dilakukan yaitu dengan metode pengabuan kering (*dry ashing*) atau pengabuan basah (*wet digestion*). Pemilihan metode pengabuan tersebut tergantung pada sifat zat organik dalam sampel, sifat zat anorganik dalam bahan, logam berat yang akan dianalisis serta sensitivitas yang digunakan (Hawkins, 2010).

Destruksi yang dipakai untuk sampel daun jeruk bergejala CVPD yaitu dengan metode destruksi basah (*wet digestion*). Destruksi basah ini adalah perombakan sampel dengan asam-asam kuat baik tunggal maupun campuran, lalu dioksidasi dengan menggunakan zat oksidator. Pelarut yang dapat dipakai sebagai destruksi basah antara lain asam nitrat, asam sulfat, asam perklorat dan asam klorida. Untuk destruksi ini yang akan digunakan sebagai pelarut oksidator yaitu asam nitrat dan asam sulfat. Fungsi destruksi adalah untuk memutus ikatan antara senyawa organik dengan logam yang akan dianalisis. Destruksi basah pada prinsipnya adalah penggunaan

asam nitrat untuk mendestruksi zat organik pada suhu rendah dengan maksud mengurangi kehilangan mineral akibat penguapan. Tahap selanjutnya proses seringkali berlangsung sangat cepat akibat pengaruh asam perklorat atau hidrat peroksida. Digunakan destruksi basah pada penelitian ini karena umumnya destruksi basah dapat dipakai menentukan unsur-unsur dengan konsentrasi rendah, sehingga diharapkan setelah proses selesai yang tertinggal hanya logam-logam saja dalam bentuk ion (Sumardi, 1981).

### **2.7. Atomic Absorbtion Spektrophotometer (AAS)**

Menurut Skoog *et al.* (2008) bahwa spektroskopi serapan atom (*atomic absorption spectroscopy*) merupakan prosedur dalam analisis kimia yang menggunakan prinsip energi yang diserap atom. Atom yang menyerap radiasi akan menimbulkan keadaan energi elektronik tereksitasi. Untuk menentukan analisis unsur hara tertentu pada tanaman jeruk dilakukan dengan metode AAS. Metode spektrometri serapan atom ini mempunyai sensitivitas tinggi, mudah, murah, sederhana, cepat dan bahan sampel dibutuhkan sedikit. AAS lebih sensitif, spesifik untuk unsur yang ditentukan serta dapat digunakan untuk penentuan kadar unsur yang konsentrasinya sangat kecil tanpa harus dipisahkan terlebih dahulu.

Spektrum diukur pada daerah UV-Vis, sampel yang diukur harus dalam bentuk larutan jernih. Sebelum dianalisis maka sampel harus dipreparasi dulu dengan destruksi basah, yaitu metode destruksi basah, dalam penelitian ini dilakukan dengan menimbang 1 gram sampel serbuk halus dari daun jeruk, kemudian ditambahkan 10 mL  $\text{HNO}_3$  pekat dan 3 mL larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  60%, lalu dipanaskan diatas hotplate pada suhu 100 – 200°C sampai buih habis dan  $\text{HNO}_3$  hampir mengering, lalu didinginkan.

Hasil destruksi ditambah 5,0 mL larutan Pb 200 mg/L (standar adisi) dan larutan  $\text{HNO}_3$  2%, dan dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur serta ditambahkan larutan  $\text{HNO}_3$  2% sampai volumenya menjadi 100,0 mL, dihomogen dan disaring. Kemudian larutan diukur absorbansinya dengan menggunakan

instrument Flame-AAS pada panjang gelombang 422,7 nm. Metode AAS berprinsip pada absorpsi cahaya oleh atom. Atom-atom menyerap cahaya tersebut pada panjang gelombang tertentu, tergantung pada sifat unsurnya. Pada atomisasi temperatur harus benar-benar terkendali dengan sangat hati-hati agar proses atomisasinya sempurna. Temperatur biasanya akan dinaikkan secara bertahap untuk menguapkan sekaligus mendisosiasikan senyawa yang dianalisis. Analisis dengan AAS menganut hukum Lambert Beer untuk menyatakan hubungan antara absorbansi yang terukur dengan konsentrasi sampel (Supriyanto *et al.*, 2007).

## 2.8. Peneliti Terdahulu

Sepanjang penelusuran terhadap penelitian polimorfisme gen CVPD<sup>r</sup> pada beberapa tanaman jeruk tidak ada kesamaan dengan penelitian yang sedang dilakukan saat ini. Diantara peneliti terdahulu yang diacu dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

Asaad (2006) menyimpulkan hasil penelitiannya bahwa penyakit CVPD yang disebabkan oleh bakteri *L. asiaticus* merupakan penyakit yang paling merusak pada tanaman jeruk di banyak negara. Fragmen 16S rDNA patogen CVPD pada ukuran yang diharapkan, yaitu 1160 bp, dideteksi pada setiap tipe gejala yang dikumpulkan dari semua daerah sentra. Fragmen ini juga dideteksi pada vektor CVPD (*D. citri*) yang dikumpulkan dari pohon jeruk yang terinfeksi CVPD. Analisis enzim restriksi DNA yang teramplifikasi menunjukkan bahwa patogen CVPD di Malaysia dan Indonesia adalah spesies *L. asiaticus*.

Adiartayasa *et al.* (2012) menyimpulkan penelitiannya berdasarkan pola pita protein didapat 17 pita, delapan pita yang mencirikan kelompok *Citrus nobilis*. Kehadiran dua pita tambahan mencirikan varietas *Chrysocarpa* dan ketidakhadiran kedua pita tersebut mencirikan varietas *Microcarpa*; tujuh pita yang membedakan antar varietas *Chrysocarpa*; enam pita tambahan yang membedakan antar varietas *Microcarpa*. Berdasarkan pola pita protein daun tanaman yang terserang, ditemukan adanya protein

spesifik dengan besar molekul kurang lebih 16 kDa (pada Jeruk Tejakula, Batu-55, Cina dan Siam Kintamani), 35 kDa (pada Jeruk Mulung) dan 66 kDa (pada jeruk Besakih, Tejakula, Selayar, Batu-55, Cina dan Siam Kintamani). Pada daun sehat tidak ditemukan adanya protein spesifik tersebut, demikian juga pada buah sehat dan terserang (baik pada kulit, serat, biji maupun daging). Berdasarkan profil protein tanaman terserang CVPD ditemukan adanya satu pita pada jeruk Besakih, Selayar (66 kDa), Mulung (35 kDa); dan ada dua pita pada jeruk Tejakula, Batu-55, Siam Kintamani, dan Cina (16 dan 66 kDa). Pada daun sehat, protein buah sehat dan terserang (baik pada kulit, serat, biji maupun daging) tidak ditemukan adanya protein spesifik tersebut.

Subandiyah *et al.* (2009) dalam penelitiannya memberi kesimpulan bahwa penggunaan bibit jeruk bebas penyakit sangat disarankan untuk pencegahan CVPD. Pengendalian dengan pola tanam menggunakan jambu biji sebagai tanaman sela dan tanaman kayu putih sebagai tanaman pelindung (*wind break*) dapat melindungi tanaman jeruk dari investasi *D. citri* kedalam kebun.

Wijaya *et al.* (2010) dalam kesimpulannya bahwa ditemukan dua jenis parasitoid nimfa yang berperan menekan perkembangan *D. citri*. *Tamarixia radiata* merupakan parasitoid nimfa yang berperan menekan perkembangan populasi *D. citri* pada pertanaman jeruk siam dengan tingkat parasitisasinya berkisar antara 21,05 – 64,79%. Serangga *D. citri* pada pertanaman jeruk siam tidak berstatus sebagai hama, tetapi lebih berperan sebagai vektor penyakit CVPD. Serangga *D. citri* merupakan satu-satunya vektor penyakit CVPD diantara serangga-serangga yang ditemukan berasosiasi dengan tanaman jeruk.

Gianto *et al.* (2010) menyimpulkan bahwa rata-rata jumlah tanaman yang menunjukkan gejala CVPD di Sulawesi Tenggara sebanyak 51,57%, di Kabupaten Kolaka 57,42%, Kabupaten Konawe sampai dengan 69%. Teknik PCR berhasil mengamplifikasi fragment DNA bakteri *L. asiaticus* yang berukuran sekitar 1.160 bp, namun demikian *D. citri* belum ditemukan di lokasi-lokasi kebun selama

pengamatan lapangan.

Bioekologi bakteri patogen mempunyai bentuk *polymorfik* (beberapa bentuk). Bentuk batang panjang yang sedang tumbuh berukuran 100-250x500-2.500 nm yang berbentuk spiral (membulat) diameternya 700-800 nm. Bakteri ini tidak dapat dikulturkan. *L. asiaticus* hidup di dalam jaringan floem mengakibatkan sel-sel floem mengalami degenerasi sehingga menghambat tanaman menyerap nutrisi. Penyebaran ke bagian tanaman lain tergolong lambat, meskipun bakteri hidup dalam floem. Gejala baru terlihat 4-6 bulan setelah tanaman terinfeksi. Bahkan di lapangan, gejala terlihat jelas setelah 1-3 tahun. Penyebaran CVPD antar daerah atau kebun (secara geografis) biasanya melalui mata-tempel atau bibit terinfeksi, sedangkan penyebaran di dalam kebun antar tanaman melalui serangga kutu loncat (*D. citri*) atau mata-tempel yang terinfeksi. Tipe hubungan patogen dalam tubuh serangga pembawa (vektor) bersifat persisten, sirkulatif dan non propagatif, artinya jika vektor CVPD telah mengandung *L. asiaticus* maka bila kondisinya ideal selama hidupnya akan terus mengandung bakteri. Kutu loncat dapat menularkan CVPD pada tanaman sehat 168-360 jam setelah menghisap bakteri. Penularan melalui alat-alat pertanian terkontaminasi perlu diwaspadai seperti yang dilaporkan di Thailand. Sebaran geografis penyakit ini sangat luas terdapat di hampir semua sentra jeruk di Jawa, Bali, Sumatera, Sulawesi, Nusa Tenggara Barat dan Kalimantan (Prasetya, 2011).

Dintya *et al.* (2013) dalam penelitiannya berdasarkan hasil pengamatan tanaman secara morfologi di Kecamatan Kintamani dan sekitarnya didapatkan 9 jenis tanaman jeruk, yaitu jeruk siam, selayar, Besakih, Tejakula, manis, nipis, purut, lemo, dan jeruk Bali, dengan gejala penyakit CVPD secara visual pada masing-masing tanaman jeruk memiliki variasi gejala klorosis dari ringan sampai berat. Persentase tanaman yang menunjukkan gejala serangan CVPD berkisar antara 45-59%, dengan intensitas serangan ringan ( 7,58-9,44% ). Hasil deteksi penyakit CVPD pada masing-masing jenis tanaman jeruk yang memiliki variasi gejala klorosis dari ringan

sampai berat pada elektroforesis 1% gel agarose menghasilkan pita DNA pada 1160 bp. Oleh karena bakteri *Liberobakter asiaticus* memiliki pita DNA pada 1160 bp, maka tanaman jeruk yang dideteksi dikatakan bereaksi positif terhadap bakteri *Liberobakter asiaticus*.

## BAB III

# KERANGKA BERPIKIR, KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

### 3.1. Kerangka Berpikir

Jeruk sebagai salah satu komoditas yang mempunyai nilai tinggi, hingga kini kualitas dan kuantitas buah jeruk belum memenuhi kebutuhan pasar. Hal ini disebabkan oleh faktor agronomi yaitu dalam pembudidayaannya dan adanya serangan hama dan patogen penyakit CVPD. Buah jeruk belum sanggup bersaing di pasar pariwisata terutama disebabkan oleh berbagai infeksi hama dan patogen serta penanganan panen serta pasca panen yang kurang baik (Wirawan *et al.*, 2014).

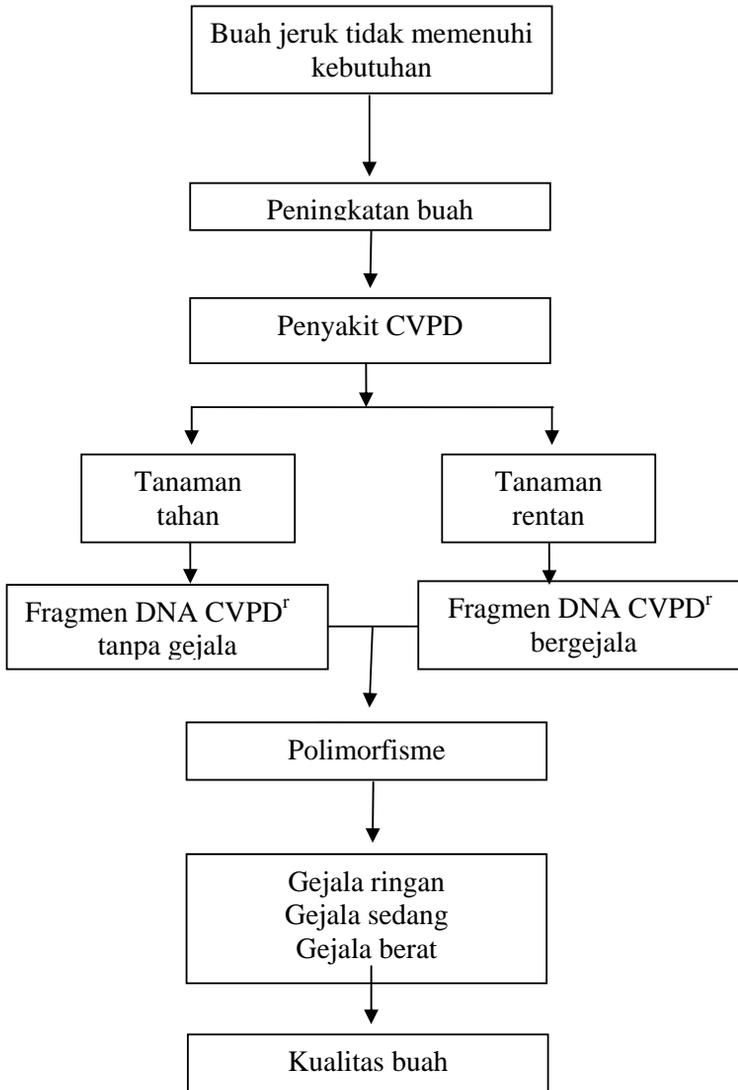
Tanaman jeruk sudah lama dikenal dan banyak dibudidayakan di Indonesia, tetapi produksi, kualitas dan kuantitas buah jeruk menurun karena disebabkan oleh beberapa faktor salah satunya adalah penyakit tanaman. Penyakit jeruk yang mempengaruhi produksi, kuantitas dan kualitas buah jeruk salah satunya adalah serangan penyakit CVPD yang disebut juga *citrus greening* atau *huanglongbin* adalah bakteri *Liberibacter* yang tergolong dalam subdivisi *Protobacteria* (Chen, 1998). Bakteri *Liberibacter* hidup dalam floem tanaman jeruk dan menimbulkan gejala yang khas, bakteri tersebut belum bisa dibiakkan pada media buatan (Wirawan, 2002).

Kualitas buah jeruk banyak ditentukan oleh adanya penyakit utama tanaman jeruk yaitu penyakit CVPD yang banyak merugikan di tingkat petani dan diduga menyebabkan buah jeruk menjadi kecil dan tidak seragam baik warna maupun ukuran buah. Penyakit CVPD yang disebabkan oleh bakteri *L. asiaticus* menyebabkan daun tanaman menjadi menguning (klorosis) dan kecil (Wirawan *et al.*, 2004). Standarisasi buah jeruk yang meliputi standar panen dan standar pasca panen seperti *grading* (pengelompokan) buah,

keseragaman warna buah, pengemasan, penyimpanan, transportasi, kadar air, dan kandungan vitamin C pada buah jeruk yang beredar di pasar kurang mampu bersaing mengalahkan buah impor (Wirawan *et al.*, 2014).

Fragmen DNA CVPD' yang terindikasi berperan dalam ketahanan tanaman jeruk terhadap penyakit CVPD ditemukan pada tanaman jeruk yang tahan atau relatif tahan terhadap penyakit CVPD yaitu tanaman jeruk kinkit (*T. trifoliata*) dan jeruk nipis tanpa biji (*C. aurantifolia* var. seedless). Tetapi gen ini juga ditemukan pada jeruk siam Kintamani, yang merupakan tanaman jeruk yang rentan terhadap penyakit CVPD (Wirawan *et al.*, 2004). Pada tanaman jeruk yang dibudidayakan ada tanaman yang tidak menunjukkan gejala penyakit CVPD, akan tetapi setelah dilakukan analisis PCR ternyata mengandung bakteri *L. asiaticus* (Adiartayasa, 2006). Selanjutnya dilakukan analisis DNA dari jeruk tahan dengan gen tahan dan jeruk rentan dengan gen tahannya, kemudian dilakukan amplifikasi dengan PCR, hasil PCR dilanjutkan dengan sekuensing.

Mengingat bahwa potensi buah-buahan tropis (buah jeruk) di Indonesia sangat besar apabila dimanfaatkan secara optimal, untuk memastikan buah jeruk yang dihasilkan mempunyai kualitas dan kuantitas yang baik, perlu dilakukan pengamatan organoleptik yang didasarkan pada proses penginderaan atau suatu proses fisiopsikologis, yaitu kesadaran atau pengenalan alat indra terhadap sifat-sifat benda (Yenrina, 2015). Kerangka pemikiran penelitian tentang polimorfisme fragmen DNA CVPD' pada beberapa tanaman jeruk, disajikan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1  
Kerangka Berpikir Polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup>  
pada beberapa jenis tanaman jeruk di Bali

### 3.2. Kerangka Konsep

#### 3.2.1 Tanaman jeruk (*Citrus spp.*)

Jeruk (*Citrus spp.*) merupakan salah satu genus dari famili *Rutaceae* yang mempunyai nilai ekonomi tinggi (Aswidinnoor

*et al.*, 2002). Jeruk merupakan buah yang digemari masyarakat baik sebagai buah segar maupun olahan. Sebagai komoditas yang bernilai ekonomi tinggi maka pengembangan jeruk perlu mendapat perhatian yang besar mengingat kontribusinya yang besar pada perekonomian nasional (Simatupang, 2009). Jeruk merupakan komoditas buah-buahan terpenting di Indonesia setelah pisang dan mangga (Gianto *et al.*, 2010).

### **3.2.2 CVPD (*Citrus Vein Phloem Degeneration*)**

Penyakit CVPD yang disebabkan oleh bakteri *L. asiaticus* merupakan penyakit yang paling merusak pada tanaman jeruk di banyak negara penghasil jeruk di Asia dan Afrika (Assad, 2006). CVPD tergolong salah satu penyakit penting pada tanaman jeruk yang telah berkembang luas dan menjadi kendala utama usaha pengembangan dan peningkatan produksi jeruk di Bali (Wijaya, 2007).

### **3.2.3 *Polymerase Chain Reaction (PCR)***

Deteksi terhadap penyakit CVPD yang bersifat sensitif, cepat dan akurat adalah dengan teknik PCR (Julyasih, 2004). Teknik PCR yang sangat sensitif dan dapat diandalkan untuk mendeteksi bakteri CVPD (Gianto, 2010).

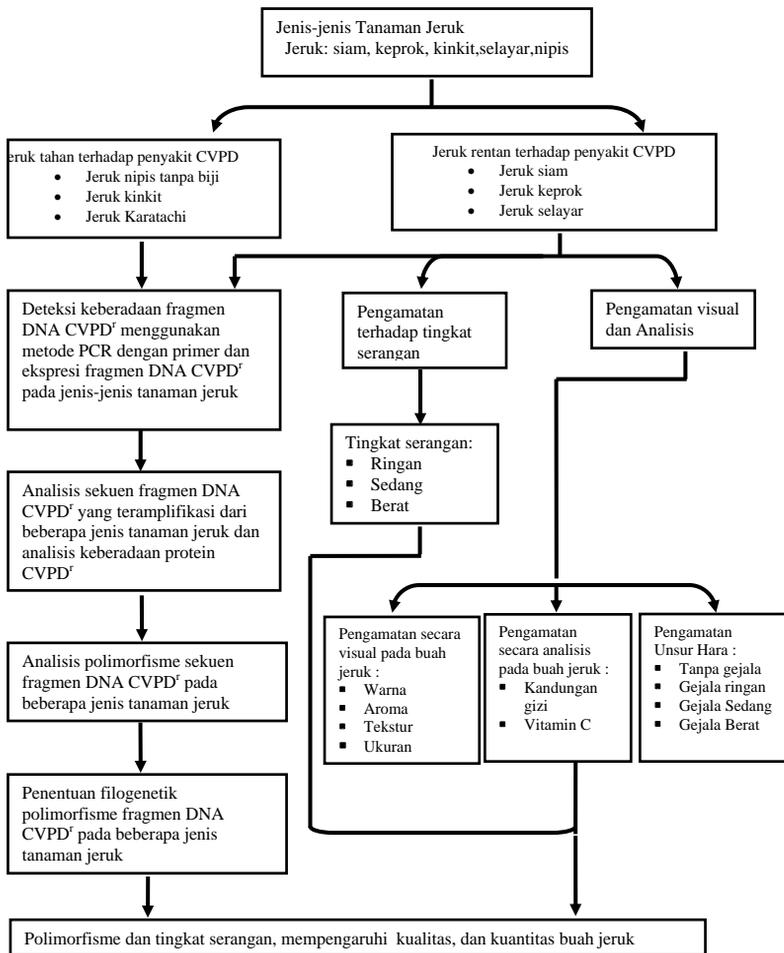
Pengenalan CVPD dengan menggunakan gejala dan uji iodine memang tidak dapat memberikan hasil yang benar-benar akurat. Mengingat tingkat akurasi uji iodine adalah 65% maka bila dari 100 pengujian ditemukan 80 hasil positif, setidaknya 52 pengujian adalah akurat. Untuk hasil yang benar-benar akurat dapat dilakukan uji PCR (Mudita dan Natonis, 2011). Kerangka konsep disajikan pada Gambar 3.2.

### **3.3. Hipotesis Penelitian**

Hipotesis yang diusulkan dalam penelitian ini adalah:

1. Terdapat fragmen DNA CVPD' pada berbagai jenis jeruk yang rentan, seperti jeruk keprok, jeruk siam, jeruk selayer, limau, jeruk nipis, dan jeruk Bali.

2. Terdapat polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada tanaman jeruk yang tahan, toleran dan tanaman jeruk yang peka terhadap penyakit CVPD.
3. Pohon filogenik yang dihasilkan dari analisis polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> dapat menentukan beberapa tingkat serangan CVPD.
4. Fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> bukan merupakan gen tunggal yang bertanggung jawab terhadap kualitas buah yang dihasilkan.



Gambar: 3.2  
 Kerangka Konsep Penelitian  
 Polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada beberapa jenis tanaman jeruk



## BAB IV METODE PENELITIAN

### 4.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian tentang polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada beberapa jenis tanaman jeruk di Bali pengambilan sampelnya dilakukan di 7 kabupaten kota meliputi Kabupaten Tabanan, Karangasem, Bangli, Gianyar, Badung, Buleleng, dan Kota Denpasar. Isolasi DNA dan amplifikasi DNA dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler Sumber Daya Genetika Universitas Udayana Denpasar. Analisis sekuensing DNA dilakukan di Laboratorium PT Genetika Science Indonesia, Jakarta. Penelitian ini berlangsung mulai bulan Februari 2016 sampai dengan bulan Januari 2017.

### 4.2. Metode Pengumpulan Data

Metode pengambilan sampel dalam penelitian ini menggunakan teknik *purposive sampling*, yaitu teknik pengambilan sampel yang dilakukan dengan pertimbangan tertentu seperti sifat populasi ataupun data yang sudah diketahui sebelumnya sehingga data yang diperoleh lebih representatif (Sugiyono, 2010 dan Notoatmojo, 2010). Pengambilan sampel daun jeruk didasari atas data sentra penanaman jeruk di Bali, yang diperoleh dari Badan Pusat Statistik (BPS).

Deteksi penyakit CVPD dengan metode PCR dan analisis unsur hara, bagian tanaman yang digunakan adalah tulang daun tanaman jeruk segar yang diambil dari tiap kultivar. Penentuan kualitas dan kuantitas buah digunakan buah yang sudah matang dengan beberapa ciri seperti warna kulit buah menguning, teksturnya agak keras, rasanya manis, dan tercium bau khas jeruk. Pengujian kandungan kimia buah jeruk meliputi kadar air (%), kapasitas antioksidan (ppmGAEAC/*Galik Acid Equivalent Antioxidant Capacity*), dan vitamin C, mengacu pada analisis bahan pangan dan

pertanian oleh Sudarmadji *et al.* (2010).

#### 4.3. Analisis Data

##### 4.3.1. Persentase Serangan dan Intensitas Serangan CVPD

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode survei, melalui pengamatan persentase serangan dan intensitas serangan CVPD di lapangan. Untuk persentase serangan dilakukan pengamatan pertanaman yang menunjukkan gejala penyakit CVPD dilakukan dengan mengamati 100 pohon tanaman jeruk dalam satu hamparan di masing-masing lokasi. Pohon yang diamati adalah tanaman yang menunjukkan gejala penyakit CVPD dan intensitas serangan diamati pada tanaman yang sakit dengan skor tingkat kerusakan. Pengamatan tersebut dilakukan pada areal pertanaman yang masih produktif. Jenis data yang dikumpulkan dari hasil penelitian ini, yaitu data primer. Data primer diperoleh secara langsung di lapangan, yaitu jumlah tanaman yang diamati, jumlah tanaman jeruk yang menunjukkan gejala penyakit CVPD, serta intensitas kerusakan tanaman terserang CVPD.

Data tersebut ditabulasi, kemudian dihitung persentase tanaman jeruk yang terserang penyakit CVPD dan intensitas kerusakan tanaman akibat CVPD dihitung dengan rumus sebagai berikut:

Persentase penyakit CVPD (Boggie dan Hans, 1988)

$$PP = \frac{X}{N} \times 100\%$$

Keterangan:

PP = Persentase penyakit CVPD

X = Jumlah tanaman sakit CVPD

N = Jumlah tanaman yang diamati

Intensitas penyakit CVPD dapat dihitung dengan formulasi (Sinaga, 2009)

$$IP = \frac{\Sigma(n \times v)}{ZN} \times 100\%$$

Keterangan:

IP = Intensitas kerusakan tanaman jeruk akibat penyakit CVPD

n = Jumlah ranting tanaman dengan gejala penyakit CVPD

v = Nilai skala (*harga numeric*) dari tiap katagori serangan

Z = Nilai skala dari katagori tertinggi

N = Jumlah tajuk tanaman yang diamati

Tabel 4.1.

Skala numerik intensitas kerusakan tanaman terjangkit penyakit CVPD

Skor	Keterangan
1	Tidak ada serangan 0% tajuk tidak menunjukkan gejala penyakit CVPD
2	Serangan ringan < 25% tajuk menunjukkan gejala penyakit CVPD
3	Serangan sedang 25-50% tajuk menunjukkan gejala penyakit CVPD
4	Serangan berat 50% -75% tajuk menunjukkan gejala penyakit CVPD
5	Sangat berat > 75% tajuk menunjukkan gejala penyakit CVPD

#### 4.3.2. Isolasi DNA dan Analisis DNA dengan Metoda PCR

Total DNA dari tanaman jeruk diisolasi menggunakan kit NucleoSpin® Plant II dari Marchery-Nagel ([www.nn-net.com](http://www.nn-net.com)) dan sampel diambil dari tulang daun yang dipotong kecil-kecil. Langkah pertama yaitu sampel dihomogenasi dengan mengambil 100 mg sampel berat basah atau sampai dengan 20 mg berat kering

sampel dari tanaman. Setelah itu sampel digerus dengan mortar menggunakan liquid nitrogen kemudian dipindahkan dalam ependorf. Kemudian ditambahkan lysis buffer 400  $\mu$ l PL-1 lalu divortex. Setelah itu ditambahkan 10  $\mu$ l RNase A dan kocoklah diinkubasikan pada suhu 65°C selama 10 menit kemudian dilakukan filtrasi. Tempatkan NucleonSpin Filter (Violet Ring) pada tube yang baru (2 ml) dan taruh lytase (sample yang telah hancur). Kemudian dilakukan centrifuge selama 2 menit pada 11.000 x g. Pekerjaan selanjutnya yaitu mengambil bagian supernatant atau supernatant yang melewati kolom kemudian NucleoSpin Filter dibuang. Pekerjaan tersebut diulangi lagi jika masih belum semua sampel terlewat pada kolom kemudian ditaping kembali. Setelah itu ditambahkan 450  $\mu$ l Buffer PC dicampur dengan baik menggunakan vortex. Nucleon Spin Plant II Column (green ring) ditaruh ke dalam tube (2 ml) dan masukkan supernatant (700  $\mu$ l), lalu dicentrifuge selama 1 menit selama 11.000 x g. Cairan yang melewati filter kemudian dibuang. Setelah itu cuci dengan menambahkan 400  $\mu$ l Buffer PW1 ke dalam Nucleon Spin Plant II yang digunakan, centrifuge selama 1 menit pada 11.000 x g, kemudian dibuang supernatantnya (bagian yang lewat filter). Selanjutnya tambahkan 700  $\mu$ l Buffer PW2 pada Nucleon Spin Plant II, centrifuge 1 menit pada 11.000 x g dan buang supernatant (bagian yang lewat filter). Kemudian ditambahkan 200  $\mu$ l Buffer PW2 pada Nucleon Spin Plant II, centrifuge selama 2 menit pada 11.000 x g (dry the silica membrane completely), taruh Nucleon Spin Plant II pada Eppendorf Tube dan tambahkan 50  $\mu$ l Buffer PE (65°C) pada dinding tube (Nucleon Spin Plant II), inkubasikan pada suhu 65°C selama 5 menit, centrifuge selama 1 menit pada 11.000 x g, cairan yang ada pada Eppendorf tube adalah DNA tanaman, DNA tersebut disimpan sampai digunakan kembali.

Sampel diambil dari tulang daun dengan pengamatan terhadap gejala serangan CVPD dan deteksi menggunakan analisis PCR dengan Forward Primer O11 (5' GCG CGT ATG CAA TAC GAG CGG C 3') dan Reverse Primer O12 (5' GCC TCG CGA CTT CGC AAC CCA T 3'). Reaksi PCR terdiri dari 1 ng DNA sampel, 100 p mol P 011

dan P 012c, 2 $\mu$ l dNTP, 2 $\mu$ l BUFFER pcr (10X), 0,2 Taq polymerase (5 U/ $\mu$ l). Program PCR yang digunakan yaitu Pre-treatment pada suhu 92 $^{\circ}$ C selama 30 detik dengan satu siklus ulangan, denaturation pada suhu 92 $^{\circ}$ C selama 60 detik, Annealing pada suhu 60 $^{\circ}$ C selama 30 detik, Elongation pada suhu 72 $^{\circ}$ C selama 90 detik. Tahap ini dengan 40 siklus ulangan.

Extension pada suhu 72 $^{\circ}$ C selama 90 detik dengan satu siklus ulangan.

Deteksi keberadaan fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> dilakukan dengan analisis PCR menggunakan primer WR-F dan WR-R dan menggunakan program denaturasi pada suhu 94 $^{\circ}$ C selama 60 detik, annealing pada suhu 60 $^{\circ}$ C selama 30 detik, dan elongation pada suhu 72 $^{\circ}$ C selama 90 detik. Semua tahap ini dilakukan dengan 36 siklus ulangan (Wirawan *et al.*, 2004)

#### **4.3.3. Elektroforesis Gel Agarose dan Visualisasi Hasil PCR**

Gel agarose terdiri dari 1% agarose dilarutkan dalam 100 ml TAE buffer (terdiri dari 40 mM tris asetat pH 7,9; 2 mM Sodium EDTA). Sampel DNA (8 $\mu$ l DNA + 2 $\mu$ l *loading dye*) masing-masing diisikan pada sumuran gel. Elektroforesis dilakukan dengan tegangan 100 volt selama  $\pm$  20 menit, kemudian direndam dalam larutan EtBr selama  $\pm$  15 menit. Hasil elektroforesis kemudian divisualisasikan dengan *UV transilluminator* untuk melihat posisi pita (*band*) DNA dari tiap sampel kemudian di dokumentasikan. Metode elektroforesis adalah metode umum yang dapat diterapkan untuk memperlihatkan polimorfisme sejumlah besar enzim. Melalui metode ini maka dapat ditemukan perubahan dalam struktur molekul enzim yang mengakibatkan perubahan muatan listrik molekul (Jean and Francois , 2010 ).

#### **4.3.4. Ekspresi Fragmen DNA CPVD<sup>r</sup> dengan Analisa Sekuensing DNA**

Mesin sekuensing DNA otomatis modern mampu mengurutkan 384 sampel berlabel fluoresens sekaligus dalam sekali *batch (elektroforesis)* yang dapat dilakukan sampai 24 kali sehari. Hal

tersebut hanya mencakup proses pemisahan dan proses pembacaan kurva, reaksi sekuensing, pembersihan dan pelarutan ulang dalam larutan penyangga yang sesuai harus dilakukan secara terpisah. Untuk memperoleh hasil reaksi berlabel yang dapat dideteksi dari DNA cetakan, metode “sekuensing daur” (*cycle sequencing*) paling lazim dilakukan. Dalam metode ini dilakukan berturut-turut penempelan primer (*primer annealing*), ekstensi oleh polimerase DNA dan denaturasi (peleburan atau *melting*) untai-untai DNA cetakan secara berulang-ulang (25-40 putaran). Kelebihan utama sekuensing daur adalah lebih efisien. Setiap tahap pada sekuensing daur ditempuh dengan mengubah suhu reaksi menggunakan mesin pendaur panas ([\*thermal cycler\*](#)) PCR (Sanger *et al.*, 1977).

Total DNA dari tanaman jeruk diisolasi menggunakan Mini Kit Plant dari nucleoSpin® Plant II dari Marchery-Nagel ([www.mn.net.com](http://www.mn.net.com)). Dalam reaksi PCR, menggunakan 1 µg sampel DNA, primer dari 100 p mol P011 dan P012c, 2µl dNTP, 2µl PCR Buffer (10X), 0,2 Taq polimerase (5 U / µl). Program PCR menggunakan Pre-treatment pada suhu 92°C selama 30 detik dengan satu putaran, denaturasi pada suhu 92°C selama 60 detik, Annealing pada suhu 60°C selama 30 detik, Elongasi pada suhu 72°C selama 90 detik dengan 40 putaran. Perpanjangan di 72°C selama 90 detik dengan satu putaran (Wirawan *et al.*, 2014). Deteksi keberadaan fragmen DNA CPVD<sup>r</sup> dilakukan dengan analisis PCR menggunakan primer WR-F dan WR-R, menggunakan program denaturasi pada suhu 94°C selama 60 detik, annealing pada suhu 60°C selama 30 detik, dan elongation pada suhu 72°C selama 90 detik. Semua tahap ini dilakukan dengan 36 siklus ulangan. DNA hasil amplifikasi dengan PCR dielektroforesis dalam gel agarose TA 1% (b / v) dan kemudian disekuensing dengan fragmen DNA CVPD<sup>r</sup>.

#### **4.3.5. Uji Defisiensi Unsur Hara Daun Jeruk yang Bergejala CVPD Dengan *Atomic Absorbtion Spectrophotometer* (AAS)**

Analisis jaringan tanaman lebih praktis dilakukan untuk mengetahui status hara pada tanaman daripada cara lain. Status

hara pada jaringan tanaman juga merupakan gambaran status hara dalam tanah. Hal ini berdasarkan prinsip bahwa konsentrasi suatu unsur hara di dalam tanaman hasil interaksi dari semua faktor yang mempengaruhi penyerapan unsur tersebut dari dalam tanah (Liferdi *et al.*, 2008). Jaringan tanaman yang digunakan untuk dianalisis yaitu daun, karena daun merupakan tempat proses fotosintesis dan metabolisme lainnya yang sangat aktif. Daun juga merupakan salah satu tempat penyimpanan karbohidrat dan mineral. Hara yang ada pada daun tidak hanya berperan dalam fotosintesis tetapi juga menggambarkan status hara tanaman. Dilaporkan oleh Liferdi *et al.* (2006) bahwa umur daun penting diperhatikan untuk sampel daun. Hal ini terkait dengan perubahan fungsi daun sebagai *sink* dan *source*. Daun-daun muda berfungsi sebagai *sink* sehingga harus mengimpor hara-hara mineral dan fotosintat dari organ lain, yang berfungsi sebagai *source* adalah daun dewasa yang mengeksport hara mineral ke organ yang membutuhkan.

Metode AAS berprinsip pada absorpsi cahaya oleh atom. Atom-atom yang menyerap cahaya tersebut pada panjang gelombang tertentu, tergantung pada sifat unsurnya. Atom-atom ini mampu menyerap energy cahaya yang panjang gelombang resonansinya khas untuknya, yang pada umumnya adalah panjang gelombang radiasi yang akan dipancarkan atom-atom itu bila tereksitasi dari keadaan dasar. Jika cahaya dengan panjang gelombang resonansi itu dilewatkan nyala yang mengandung atom-atom yang bersangkutan, maka sebagian cahaya itu akan diserap, dan jauhnya penyerapan akan berbanding lurus dengan banyaknya atom keadaan dasar yang berada dalam keadaan nyala. Pemilihan metode spektrometri serapan atom karena mempunyai sensitifitas tinggi, mudah, murah, sederhana, cepat, dan cuplikan yang dibutuhkan sedikit (Supriyanto *et al.*, 2007). Analisis menggunakan AAS juga lebih sensitif, spesifik untuk unsur yang ditentukan, dan dapat digunakan untuk penentuan kadar unsur yang konsentrasinya sangat kecil tanpa harus dipisahkan terlebih dahulu.

Komponen pada uji AAS yaitu:

1. Suplai daya / sumber sinar
2. Sistem pengatoman
3. Monokromator
4. Detektor
5. Sistem pembacaan

Perhitungan konsentrasi hasil AAS sesuai standar SNI dapat dihitung dengan rumus seperti:

$$\text{Konsentrasi logam (\%)} = \frac{(D-E) \times F_p \times V \times 100\%}{W}$$

Keterangan:

D = konsentrasi dari hasil pembacaan AAS

E = konsentrasi blanko contoh dari hasil pembacaan AAS

F<sub>p</sub> = pengenceran

V = volume akhir larutan contoh yang disiapkan (L)

W = berat contoh (g)

Preparasi sampel yang dapat dilakukan yaitu dengan metode pengabuan basah. Pemilihan metode pengabuan tersebut tergantung pada sifat zat organik dalam sampel, sifat zat anorganik yang ada dalam bahan, logam berat yang akan dianalisa serta sensitivitas yang digunakan (Andarwulan, 2011).

Padapengabuan ini dilakukan destruksi basah menggunakan HNO<sub>3</sub> dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Penambahan HNO<sub>3</sub> berfungsi untuk memutus ikatan senyawa kompleks, dimana logam-logam yang terdapat dalam cuplikan membentuk senyawa kompleks dengan bahan organik. Metode destruksi basah dalam penelitian ini dilakukan dengan menimbang 1 gram sampel serbuk halus dari daun jeruk, kemudian ditambahkan 10 ml HNO<sub>3</sub> pekat dan 3 ml larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 60%, lalu dipanaskan di atas *hotplate* pada suhu 100 – 120°C sampai buih habis, berfungsi sebagai agen pengoksidasi yang kuat sehingga dapat menyempurnakan proses destruksi.

Selama proses destruksi terdapat gelembung-gelembung kecil berisi gas berwarna kecoklatan, gas ini adalah NO<sub>2</sub> (hasil samping proses destruksi menggunakan asam nitrat). Penggunaan HNO<sub>3</sub> sebagai agen pengoksidasi dapat menimbulkan gas berwarna kecoklatan selama pemanasan berlangsung. Logam CH dan HNO<sub>3</sub> hampir mengering, lalu didinginkan. Hasil destruksi ditambah 5,0 mL larutan unsur hara 200 mg/L (standar adisi) dan larutan HNO<sub>3</sub> 2%, dan dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur serta ditambahkan larutan HNO<sub>3</sub> 2% sampai volumenya menjadi 100,0 mL, dikocok homogen dan disaring. Kemudian larutan diukur absorbansinya dengan menggunakan instrument Flame-AAS pada panjang gelombang 422,7 nm. Penelitian ini hanya menganalisis mineral Mg, Zn, Mn, dan Zn karena mineral tersebut adalah termasuk unsur hara makro yang diperlukan dalam jumlah sedikit, tetapi unsur hara tersebut harus ada.

#### **4.4. Variabel Penelitian**

Variabel yang diamati dalam penelitian ini terdiri dari dua macam, yaitu variabel sensori dan kimia dari buah jeruk. Variabel sensori meliputi warna, aroma, tekstur, rasa, dan ukuran menurut metode Waysima *et al.* (2010). Variabel kimia meliputi kandungan air, vitamin C, dan antioksidan. Mineral yang diamati adalah Zn, Fe, Mg, dan Mn.

Pengukuran terhadap variabel dilakukan secara langsung terhadap unit-unit percobaan meliputi:

##### **4.4.1. Uji organoleptik**

Uji organoleptik terhadap warna, aroma, tekstur dan ukuran dilakukan dengan uji skoring menggunakan 15 panelis semi terlatih sebagai ulangan. Panelis pada penelitian ini adalah panelis semi terlatih yang sudah diberikan penjelasan terlebih dahulu dan mengenal buah jeruk serta memiliki pengalaman dalam penilaian organoleptik. Panelis diminta untuk memberikan penilaian terhadap sampel yang disajikan berdasarkan skala numerik dengan

mengisikan penilaiannya dengan cara memberikan tanda (X) pada tabel kuesioner yang telah disediakan. Adapun deskripsi pada masing-masing variabel sebagai berikut:

Tabel 4.2.  
Variabel sensori

Parameter sensori	Skala numerik	Skala verbal
Warna	1	Hijau kekuningan
	2	Kuning kehijauan
	3	Kuning
	4	Orange kekuningan
	5	Orange
Aroma	1	Sangat kurang aroma jeruk
	2	Kurang khas aroma jeruk
	3	Biasa
	4	Khas aroma jeruk
	5	Sangat khas aroma jeruk
Tekstur	1	Amat sangat lembek
	2	Sangat lembek
	3	Lembek
	4	Agak keras
	5	Keras

Tabel 4.3.  
Kriteria jeruk keprok (SNI 01-3165-1992)

Kelas	Bobot (g)	Diameter (cm)
A	$\geq 151$	$\geq 71$
B	101-150	61-70
C	51-100	51-60
D	$\leq 50$	40-50

Sumber: Badan Standarisasi Nasional

#### 4.4.2. Analisa Penentuan Kadar Air dengan cara Pemanasan

Penentuan kadar air dilakukan dengan menggunakan metode oven (AOAC, 1999). Penentuan kadar air yakni didasarkan pada perbedaan berat sampel sebelum dan sesudah dikeringkan. Cawan kosong yang bersih dikeringkan dalam oven selama satu jam dengan suhu 105°C dan didinginkan dalam desikator, kemudian ditimbang. Dilakukan sampai berat cawan konstan. Kemudian sampel buah jeruk dimasukkan ke dalam cawan yang telah ditimbang dan dikeringkan dalam oven pada suhu 105° C selama 4 jam. Setelah itu, cawan yang telah berisi sampel buah jeruk tersebut didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Lalu dipanaskan kembali selama satu jam, kemudian didinginkan kembali dalam desikator dan ditimbang. Perlakuan ini diulangi sampai berat konstan. Kadar air dihitung berdasarkan kehilangan berat, yaitu selisih antara berat awal dan berat akhir sampel buah jeruk (Sudarmadji *et al.*, 2010) dengan menggunakan rumus:

$$\frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100\%$$

Keterangan:

bb = Bobot basah

W<sub>1</sub> = Berat awal sampel buah jeruk (g)

W<sub>2</sub> = Berat akhir sampel buah jeruk (g)

#### 4.4.3. Analisa Vitamin C dengan Uji Iodium

Buah jeruk ditimbang sebanyak 200-300 g dan dihancurkan dengan blender sampai diperoleh bubur. Bubur ditimbang sebanyak 10-30 g, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas volume 100 ml. Kemudian filtrat dihomogenkan dan disaring dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh diambil 25 ml dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 ml kemudian 1 ml amilum 1% ditambahkan ke dalamnya. Filtrat yang telah ditambahkan dengan amilum dititrasi dengan larutan iodium standar 0,01 N sampai terjadi perubahan

warna (Sudarmadji *et al.*, 2010). Kadar vitamin C dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Vitamin C (\%)} = \frac{\text{ml iod} \times 0,01 \text{ N} \times \frac{100}{25} \times 88 \times 100}{\text{Berat bahan (mg)}}$$

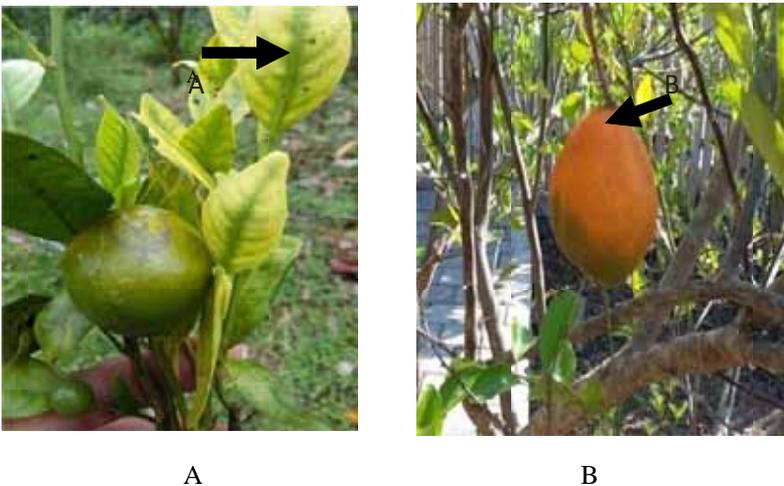
#### 4.4.4. Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

Penelitian ini menggunakan metode uji aktivitas antioksidan radikal 2,2-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dalam menguji aktivitas antioksidan pada sari jeruk. Metode DPPH adalah suatu metode sederhana yang dikembangkan untuk menentukan aktivitas antioksidan dari suatu bahan pangan menggunakan radikal DPPH. Uji DPPH adalah suatu metode kolorimetri yang efektif dan cepat untuk memperkirakan aktivitas antiradikal. Radikal DPPH adalah suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorbansi kuat pada = 517 nm dan berwarna ungu gelap. Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, DPPH tersebut akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Hal ini menunjukkan bahwa semakin kuat suatu senyawa antioksidan dalam mendonorkan atom hidrogen maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Wulan, 2010).

## BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1. Gejala Penyakit, Persentase Serangan, dan Intensitas Serangan CVPD

Hasil penelitian secara umum menunjukkan bahwa gejala penyakit CVPD adalah daun menguning dan tulang daun hijau serta adanya penyumbatan jaringan pembuluh floem. Pada gejala berat, daun menjadi lebih kaku, kecil, menebal, dan dapat menguning pada keseluruhan kanopi Gambar 5.1.A, letaknya tersebar dan mengalami mati ranting yang parah. Tanaman jeruk yang terserang CVPD pangkal buah menguning, buahnya kecil dan keras, seperti pada Gambar 5.1. B.



Gambar 5.1

Buah dan daun jeruk bergejala CVPD di desa Petang, Badung (koleksi pribadi)

A. Daun jeruk bergejala CVPD: daun menguning dengan tulang daun hijau

B. Buah jeruk terserang CVPD: pangkal buah menguning

Penelitian tentang intensitas tanaman terserang dan persentase serangan dilakukan di Desa Petang, Kabupaten Badung yang secara topografi terletak pada ketinggian 800 meter di atas permukaan laut, lebih kurang 32 km sebelah utara Kota Denpasar.

Luas desa adalah 115,00 km<sup>2</sup>, beriklim tropis yang pada umumnya terdiri dari lima bulan musim hujan dan tujuh bulan musim kemarau. Kondisi udara cukup segar dan bersih karena faktor pencemaran relatif masih rendah. Curah hujan rata-rata pertahunnya antara 2000 sampai 2500 mm, suhu udara rata-rata minimum 24<sup>o</sup> C dan maksimum 32<sup>o</sup> C dengan faktor iklim, curah hujan dan suhu udara, menunjukkan kondisi sedang sehingga kehidupan flora dan fauna dapat didukung dengan keanekaragaman tanpa memerlukan kekhasan tersendiri sehingga perlu diamati persentase dan intensitas tanaman terserang penyakit CVPD yang berkembang di Desa Petang.

Berdasarkan hasil pengamatan yaitu suatu kegiatan yang bertujuan untuk mendapatkan data atau keterangan dengan jalan mengamati, melakukan pengukuran. dan perhitungan terhadap obyek yang diteliti dalam penelitian ini yaitu pada pertanaman jeruk dengan berbagai gejala di desa Petang, Kabupaten Badung yang sudah diidentifikasi, maka mendapatkan hasil persentase dan intensitas tanaman jeruk terserang CVPD seperti disajikan pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1

Persentase serangan, dan intensitas tanaman jeruk terserang CVPD

Jenis jeruk	Tanaman jeruk terserang CVPD (%)	
	Persentase serangan (%)	Intensitas serangan (%)
Jeruk siam	61	42,2
Jeruk keprok	70	44,4
Jeruk selayar	87	55,5

Gejala fisik tanaman jeruk pada daun yang terserang penyakit CVPD di Desa Petang terlihat pada Gambar 5.2.

Gambar 5.2.  
Daun jeruk bergejala CVPD di desa Petang



Gambar 5.2.  
Daun jeruk bergejala CVPD di desa Petang

Hasil pengamatan di Desa Petang, Kabupaten Badung menunjukkan bahwa intensitas serangan CVPD pada jeruk siam persentasenya terendah 42.2% dan jeruk selayar menempati persentase tertinggi yaitu 55,5 %. Persentase serangan CVPD juga berbeda pada masing-masing jeruk, yaitu persentase serangan CVPD terendah ditemukan pada jeruk siam dan tertinggi ditemukan pada jeruk selayar 87%. Secara menyeluruh dari hasil pengamatan di lapang terlihat bahwa jeruk siam menunjukkan intensitas serangan dan persentase serangan yang paling rendah dibandingkan dengan jeruk selayar dan jeruk keprok di Desa Petang.

## 5.2. Deteksi Penyakit CVPD dengan Metode PCR

Kemiripan gejala penyakit CVPD secara fisik dengan gejala kekurangan unsur hara pada tanaman jeruk menimbulkan pertanyaan untuk dapat menyelesaikan atau mencari solusi dalam mengatasi permasalahan tersebut. Dengan demikian dilakukanlah deteksi penyakit CVPD menggunakan metode PCR untuk memastikan bahwa tanaman jeruk terserang CVPD. Deteksi dilakukan terhadap 27 sampel tanaman jeruk dari lokasi yang berbeda di 7 Kabupaten/kota,

yaitu Kabupaten Karangasem, Kabupaten Bangli, Kabupaten Gianyar, Kabupaten Badung, Kabupaten Buleleng, Kabupaten Tabanan, dan Kota Denpasar, Provinsi Bali dengan jenis tanaman jeruk, yaitu jeruk kinkit (*T. trifoliata*), jeruk nipis tanpa biji (*C. aurantifolia* var. *seedless*), jeruk nipis (*C. aurantifolia*), jeruk Bali (*C. grandis*), jeruk selayer (*C. reticulata* var selayer), jeruk siam (*C. nobilis*), jeruk keprok (*C. reticulata* var keprok), jeruk limo (*C. amblycarpa*) dan kemuning (*Murraya paniculata* L). Hasil isolasi DNA total daun dianalisis dengan metode PCR menggunakan primer CVPD O11 dan O12 untuk mengetahui keberadaan bakteri *L. asiaticus*. Hasil deteksi dengan PCR tersebut disajikan pada Tabel 5.2.

Hasil analisis PCR menunjukkan bahwa dari 27 sampel tanaman jeruk yang dideteksi terdapat 25 tanaman jeruk positif terjangkit penyakit CVPD kecuali tanaman jeruk kinkit (*T. trifoliata*) dan jeruk nipis tanpa biji (*C. aurantifolia* var. *seedless*) yang menunjukkan hasil negatif. Hasil analisis dengan PCR ini menunjukkan hasil yang sama seperti yang ditemukan oleh Wirawan *et al.*, 2004 yang menyatakan bahwa varietas jeruk ini mempunyai gen ketahanan yang berlokasi pada kromosom tanaman jeruk. Hasil elektroforesis dari DNA yang teramplifikasi dengan PCR divisualisasikan dengan UV *transimulator*, ditemukan pita DNA pada ukuran 1160bp. Hasil amplifikasi ini disajikan pada Gambar 5.3. dan 5.4.

Tabel 5.2  
Hasil visualisasi PCR terhadap penyakit CVPD

No	Jenis jeruk	Gejala	CVPD
1	<i>Citrus nobilis</i> var. Kintamani	-	+
2	<i>Citrus grandis</i> L. Besakih	-	+
3	<i>Citrus grandis</i> L. Kintamani	-	+
4	<i>Citrus grandis</i> L. Bedugul	+	+
5	<i>Citrus nobilis</i> var. Bedugul	+	+
6	<i>Citrus reticulata</i> var. selayar Mangguh	-	+
7	<i>Citrus reticulata</i> var. selayar Kintamani	-	+
8	<i>Citrus reticulata</i> var. keprok Gianyar	+	+
9	<i>Citrus reticulata</i> var. keprok Petang	+	+
10	<i>Citrus nobilis</i> var. Gianyar	-	+
11	<i>Citrus reticulata</i> var. keprok Karangasem	-	+
12	<i>Citrus reticulata</i> var. keprok Bangli	-	+
13	<i>Citrus nobilis</i> var. Mangguh	-	+
14	<i>Citrus nobilis</i> var. Denpasar	-	+
15	<i>Citrus reticulata</i> var. keprok Mangguh	-	+
16	<i>Citrus reticulata</i> var. keprok Besakih	-	+
17	<i>Citrus nobilis</i> var. Tabanan	+	+
18	<i>Citrus nobilis</i> var Pecatu	+	+
19	<i>Citrus nobilis</i> var. Payangan	-	+
20	<i>Triphasia trifoliata</i>	-	-
21	<i>Citrus reticulata</i> var . selayar Buleleng	+	+
22	<i>Citrus amblycarpa</i>	-	+
23	<i>Citrus aurantifolia</i> var. seedless	-	-
24	<i>Citrus nobilis</i> var. Buleleng	+	+
25	<i>Citrus aurantifolia</i>	-	+
26	<i>Citrus nobilis</i> var Petang	+	+
27	<i>Murraya paniculata</i> L.	+	+

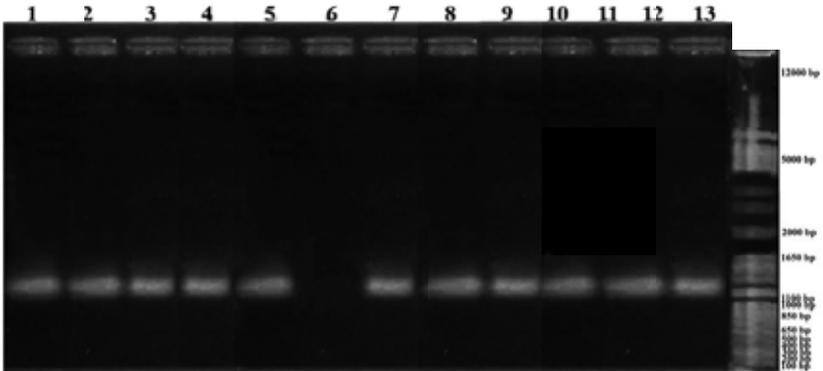
Keterangan:

(+) bergejala

(+)ada bakteri

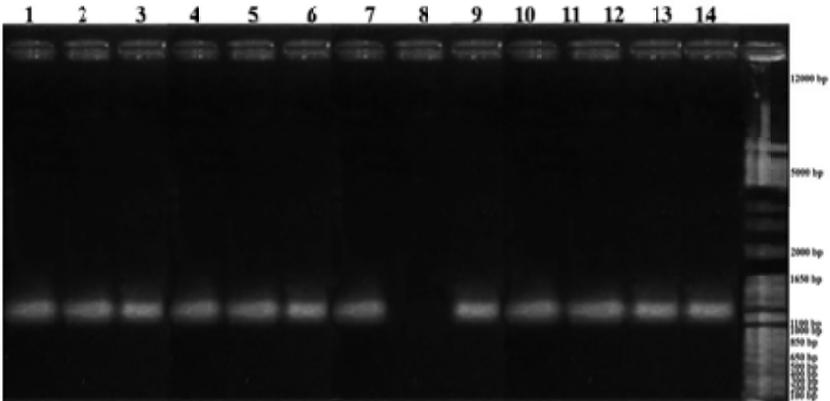
(-) tidak bergeja

(-)tidak ada bakteri



Gambar 5.3.

Hasil amplifikasi DNA dengan PCR pada sampel tanaman jeruk: 1. *C. grandis* L Kintamani, 2. *C. nobilis* var Bedugul, 3. *C. grandis* L Bedugul, 4. *C. reticulata* var keprok Petang, 5. *C. grandis* L Besakih, 6. *Citrus aurantifolia* var. seedless (tidak terdeteksi bakteri *Liberobacter*), 7. *C. aurantifolia*, 8. *C. amblycarpa*, 9. *C. reticulata* var. keprok Bangli, 10. *C. reticulata* var. selayer Mangguh, 11. *C. nobilis* var. Mangguh, 12. *C. reticulata* var. keprok Mangguh, 13. *C. reticulata* var. keprok Besakih.



Gambar 5.4.

Hasil amplifikasi DNA dengan PCR pada sampel tanaman jeruk: 1. *C. nobilis* var Petang, 2. *Muraya paniculata* L. 3. *C. reticulata* var. keprok Karangasem, 4. *C. nobilis* var. Kintamani, 5. *C. nobilis* var. Denpasar, 6. *C. nobilis* var. Buleleng, 7. *C. nobilis* var. Gianyar, 8. *Triphasia trifoliata*. (tidak terdeteksi bakteri *Liberobacter*), 9. *C. nobilis* var. Pecatu, 10. *C. reticulata* var. selayer Buleleng, 11. *C. nobilis* var. Payangan, 12. *C. reticulata* var. selayer Kintamani, 13. *C. nobilis* var. Tabanan, 14. *C. reticulata* var. keprok Gianyar

Hasil visualisasi PCR terhadap penyakit CVPD pada Tabel 5.2. bahwa sampel jeruk yang tidak menunjukkan gejala serangan CVPD yaitu jeruk siam Kintamani, jeruk Bali Besakih, jeruk Bali Kintamani, jeruk selayar Mangguh, jeruk selayar Kintamani, jeruk keprok Karangasem, jeruk keprok Bangli, jeruk siam Mangguh, jeruk siam Denpasar, jeruk siam Gianyar, jeruk keprok Mangguh, jeruk keprok Besakih, jeruk siam Payangan, jeruk kinkit, jeruk limau, jeruk nipis tanpa biji, dan jeruk nipis setelah dilakukan deteksi dengan menggunakan metode PCR menunjukkan sampel tersebut positif terserang penyakit CVPD dengan ditemukannya pita DNA pada ukuran 1160bp, kecuali pada sampel jeruk kinkit dan jeruk nipis tanpa biji tidak terdeteksi adanya bakteri *Liberobacter*.

Sampel jeruk Bali Bedugul, jeruk siam Bedugul, jeruk keprok Gianyar, jeruk keprok Petang, jeruk siam Tabanan, jeruk siam Pecatu, jeruk selayar Buleleng, jeruk siam Buleleng, jeruk siam Petang, dan kemuning yang menunjukkan gejala CVPD setelah dilakukan deteksi dengan metode PCR memang terserang penyakit CVPD. Penelitian ini menunjukkan bahwa sampel daun jeruk yang secara visual tidak menunjukkan gejala CVPD, setelah dilakukan deteksi dengan metode PCR ternyata positif terserang penyakit CVPD. Untuk mendeteksi keberadaan bakteri *Liberobacter* pada tanaman jeruk dilakukan dengan menggunakan metode PCR dengan primer yang spesifik dari 16SrDNA, akan ditemukan pita DNA pada ukuran 1160bp.

### **5.3. Distribusi Fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada Tanaman Jeruk**

Polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada beberapa tanaman jeruk yang ada di Bali, termasuk jeruk kinkit (*Triphacia trifoliata*) dan jeruk nipis tanpa biji (*Citrus aurantifolia* var. *seedles*) yang selama ini dikenal sebagai tanaman jeruk yang tahan terhadap penyakit CVPD.

Untuk mendapatkan polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada beberapa tanaman jeruk yang ada di Bali dilakukan analisis DNA dengan PCR, menggunakan primer gen ketahanan untuk mengetahui keberadaan fragmen DNA CVPD<sup>r</sup>. Hasil deteksi dengan PCR disajikan

dalam Tabel 5.3. Hasil fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> teramplifikasi dilakukan sekuensing untuk mendapatkan polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> dari beberapa tanaman jeruk di Bali disajikan pada Gambar 5.5. dan 5.6.

Analisis PCR terhadap DNA dari 27 tanaman jeruk tahan maupun rentan menunjukkan bahwa sebanyak 25 sampel mengandung pita fragmen DNA CVPD<sup>r</sup>, dengan ukuran 841bp. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Wirawan (2004). DNA sampel tanaman jeruk siam Petang (*C. nobilis* var Petang) tidak terdeteksi mengandung fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada line 8 (delapan) (Gambar 5.5).

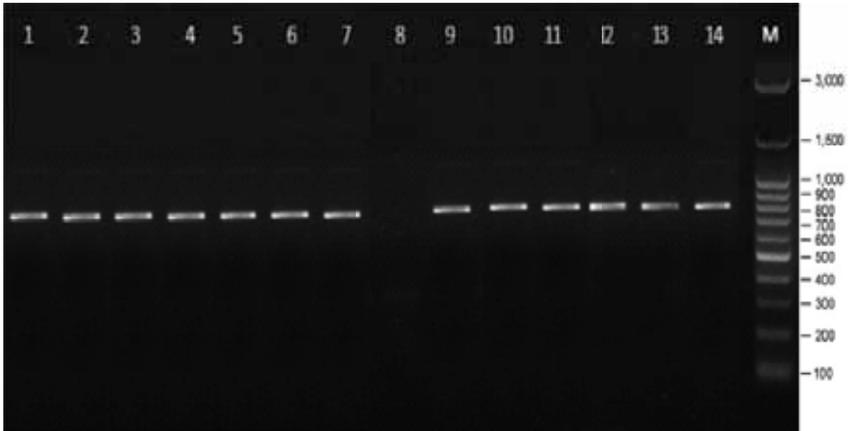
Sementara itu kemuning (*Muraya peniculata*) pada line 6 (enam) tidak terdeteksi mengandung fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> (Gambar 5.6.). Dari hasil penelitian ini ditemukan adanya fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada semua jenis jeruk baik yang tahan, toleran maupun yang peka, kecuali pada jeruk siam Petang (*C. nobilis* var Petang) dan kemuning (*Muraya peniculata*).

Tabel 5.3  
Hasil PCR fragmen DNA CVPD<sup>r</sup>

No	Jenis Jeruk	CVPD <sup>r</sup>
1	<i>Citrus nobilis</i> var. Kintamani	+
2	<i>Citrus grandis</i> L. Besakih	+
3	<i>Citrus grandis</i> L. Kintamani	+
4	<i>Citrus grandis</i> L. Bedugul	+
5	<i>Citrus nobilis</i> var. Bedugul	+
6	<i>Citrus reticulate</i> var. selayar Mangguh	+
7	<i>Citrus reticulate</i> var. selayar Kintamani	+
8	<i>Citrus reticulate</i> var. keprok Gianyar	+
9	<i>Citrus reticulate</i> var. keprok Petang	+
10	<i>Citrus nobilis</i> var. Gianyar	+
11	<i>Citrus reticulate</i> var. keprok Karangasem	+
12	<i>Citrus reticulate</i> var. keprok Bangli	+
13	<i>Citrus nobilis</i> var. Mangguh	+
14	<i>Citrus nobilis</i> var. Denpasar	+
15	<i>Citrus reticulate</i> var. keprok Mangguh	+
16	<i>Citrus reticulate</i> var. keprok Besakih	+
17	<i>Citrus nobilis</i> var. Tabanan	+
18	<i>Citrus nobilis</i> var Pecatu	+
19	<i>Citrus nobilis</i> var. Payangan	+
20	<i>Triphasia trifoliata</i>	+
21	<i>Citrus reticulate</i> var . selayar Buleleng	+
22	<i>Citrus amblycarpa</i>	+
23	<i>Citrus aurantifolia</i> var. seedless	+
24	<i>Citrus nobilis</i> var. Buleleng	+
25	<i>Citrus aurantifolia</i>	+
26	<i>Citrus nobilis</i> var Petang	-
27	<i>Murraya paniculata</i> L.	-

Keterangan (+) mengandung fragmen DNA CVPD<sup>r</sup>

(-) tidak mengandung fragmen DNA CVPD<sup>r</sup>



Gambar 5.5.

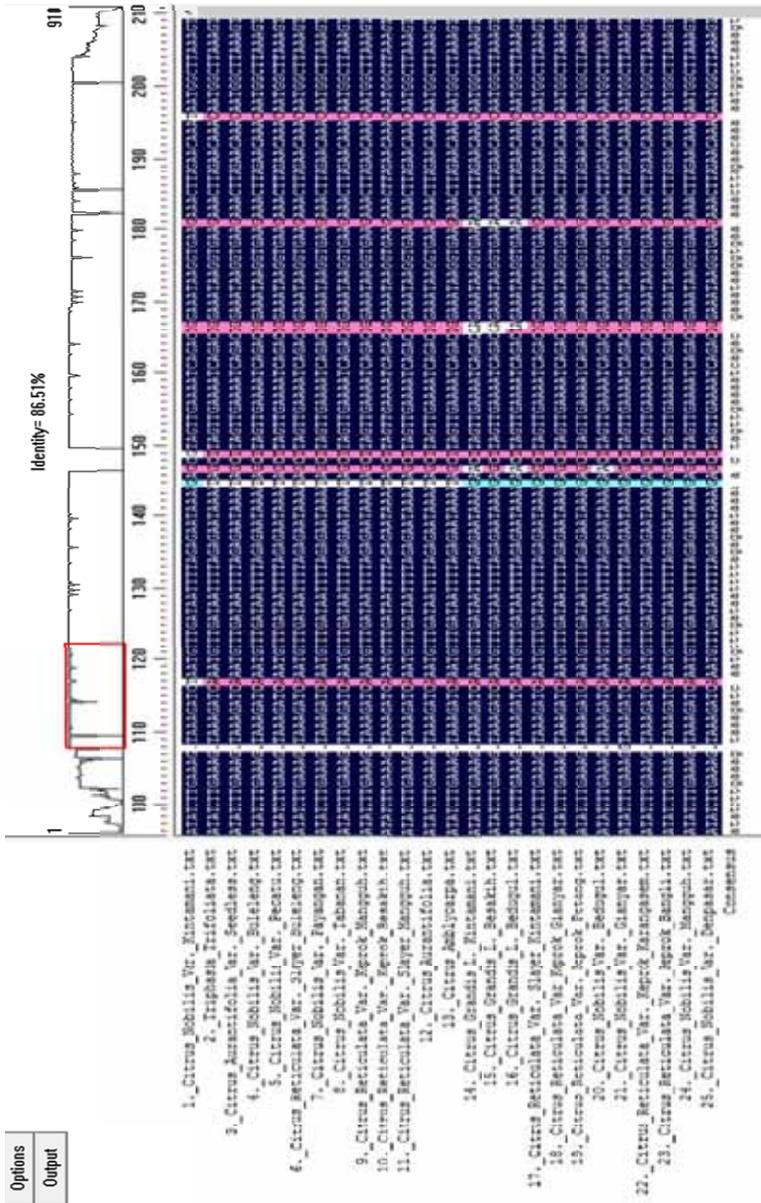
Hasil amplifikasi DNA dengan PCR pada sampel tanaman jeruk: 1. *Triphasia trifoliata*, 2. *Citrus aurantifolia* var. Seedles, 3. *C. reticulata* var Keprok Karangasem, 4. *C. nobilis* var Kintamani, 5. *C. nobilis* var Denpasar, 6. *C. nobilis* var Buleleng, 7. *C. nobilis* var Siam Gianyar, 8. *C. nobilis* var Petang (tidak terdeteksi), 9. *C. nobilis* var Pecatu, 10. *C. reticulata* var Slayer Buleleng, 11. *C. nobilis* var Payangan, 12. *C. reticulata* var Slayer Kintamani, 13. *C. nobilis* var Tabanan, 14. *C. reticulata* var Keprok Gianyar.



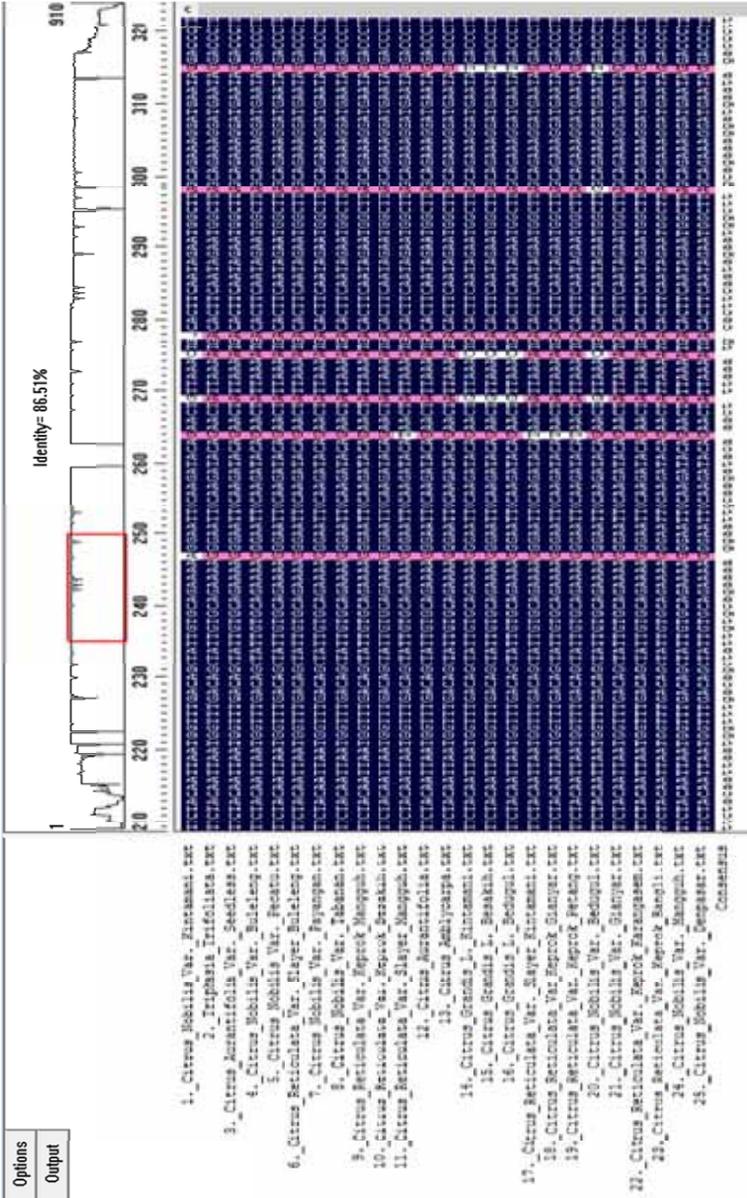
Gambar 5.6.

Hasil amplifikasi DNA dengan PCR pada sampel tanaman jeruk: 1. *C. grandis* L Kintamani, 2. *C. nobilis* var Bedugul, 3. *C. grandis* L Bedugul, 4. *C. reticulata* var Keprok Petang, 5. *C. grandis* L Besakih, 6. *Muraya paniculata* L. (tidak terdeteksi), 7. *C. aurantifolia*, 8. *C. amblycarpa*, 9. *C. reticulata* var Keprok Bangli, 10. *C. reticulata* var Slayer Mangguh, 11. *C. nobilis* var Mangguh, 12. *C. reticulata* var Keprok Mangguh, 13. *C. reticulata* var Keprok Besakih.

Adapun polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> terlihat pada Gambar 5.7



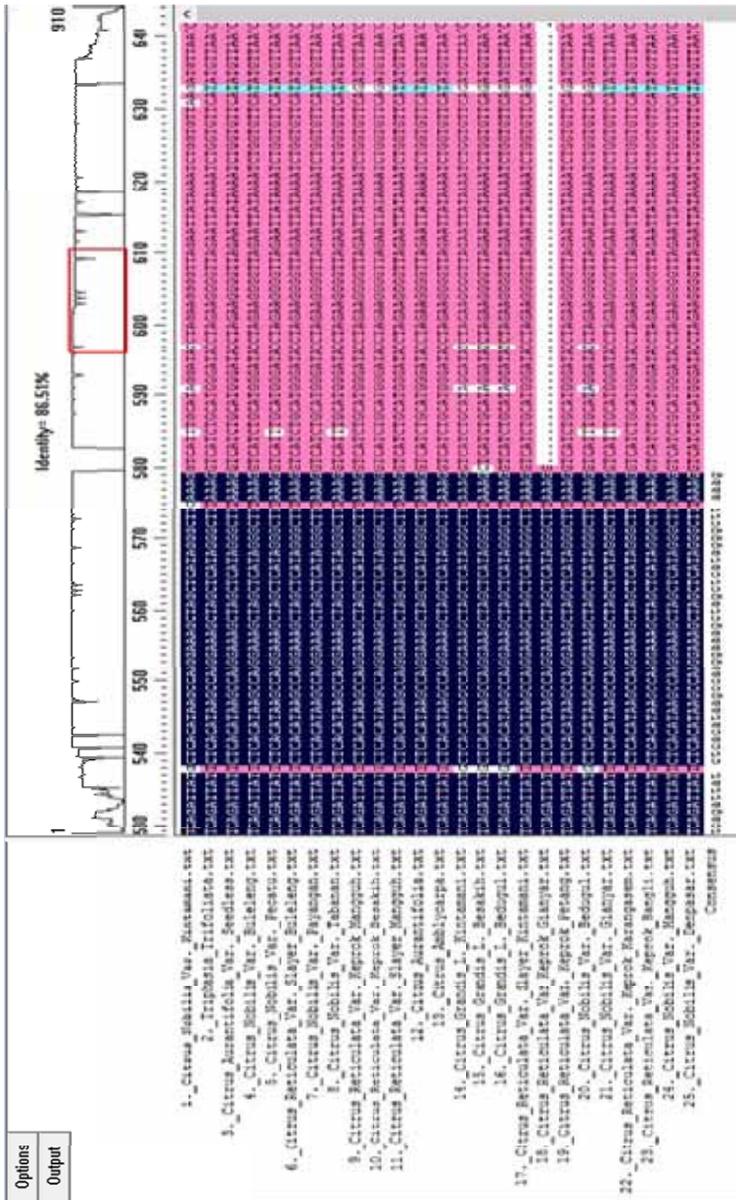
Gambar 5.7. Polimorfisme fragmen DNA CVPDR dari beberapa jenis jeruk di Bali pada ukuran 841 bp



Gambar 5.8.  
Polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> dari beberapa jenis jeruk di Bali pada ukuran 841 bp

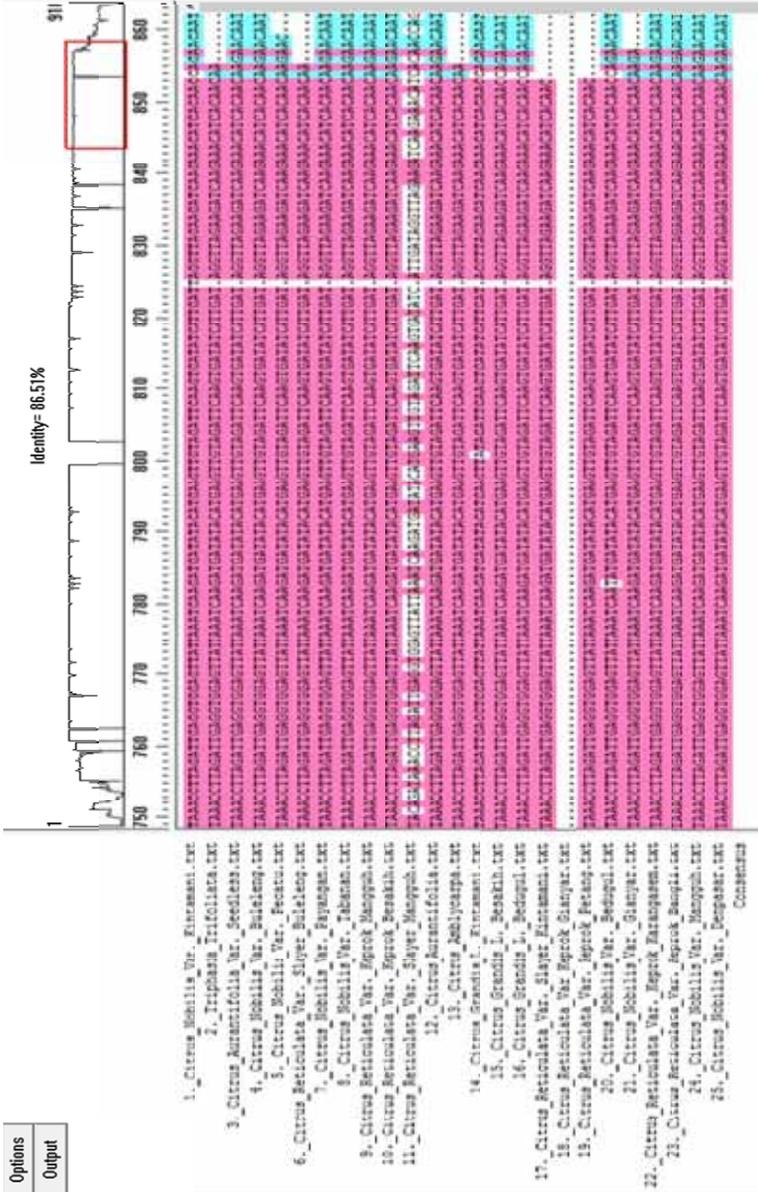






Gambar 5.11.  
Polimorfisme fragmen DNA CVPD dari beberapa jenis jeruk di Bali pada ukuran 841 bp





Gambar 5.13. Polimorfisme fragmen DNA CVPD dari beberapa jenis jeruk di Bali pada ukuran 841 bp

Hasil sekuensing pada Gambar 5.7. memperlihatkan bahwa ada perbedaan pasang basa pada 117 bp, 145 bp, 147 bp, 149 bp, 166 bp, 167 bp, 181, 196 bp. Hasil sekuensing Gambar 5.8. memperlihatkan bahwa ada perbedaan pasang basa 247, 264, 269, 275, 278, 298, 315 bp. Hasil sekuensing Gambar 5.9. memperlihatkan bahwa ada perbedaan pasang basa pada 336 bp, 344 bp, 347 bp, 352 bp, pada 400 bp sampai dengan 424 bp semua sampel tidak terdeteksi, kecuali pada sampel jeruk siam Kintamani terdeteksi. Hasil sekuensing Gambar 5.10. memperlihatkan bahwa ada perbedaan pasang basa pada 462 bp, 478 bp, 490 bp, 503 bp, 504 bp, 527 bp. Hasil sekuensing Gambar 5.11. memperlihatkan bahwa ada perbedaan pasang basa pada 538 bp, 575 bp, 580 bp, 585 bp, 591 bp, 597 bp, 631 bp, 633 bp, dan mulai pada 581 b p jeruk keprok Gianyar tidak terdeteksi sampai di 841 bp. Hasil sekuensing Gambar 5.12. memperlihatkan bahwa ada perbedaan pasang basa pada 663 bp, 672 bp, 680 bp, 694 bp, 706 bp, 709 bp, 714 bp, 724 bp, 747 bp. Akan tetapi sampel jeruk selayer Mangguh dari 680 bp sampai dengan 841 bp terdapat perbedaan basa dengan sampel jeruk yang lain. Hasil sekuensing Gambar 5.13. memperlihatkan bahwa ada perbedaan pasang basa pada 783 bp, 801 bp, 825 bp.

Hasil penelitian menunjukkan dari 27 sampel tanaman jeruk, sebanyak 25 sampel mengandung fragmen DNA CVPD<sup>r</sup>, rentan terhadap penyakit CVPD, hal ini menunjukkan bahwa fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada spesies atau varietas tanaman jeruk ini tidak bekerja dengan baik dan dapat disebabkan oleh mutasi atau ketahanan terhadap penyakit CVPD masih diperlukan gen lain, selanjutnya untuk mengetahui urutan fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada beberapa tanaman jeruk dilakukan analisa urutan DNA fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> dengan hasilnya seperti disajikan pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4.

Polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada beberapa jenis tanaman jeruk

No.	Ukuran basa	Basa yang mengalami polimorfisme	Isolat sampel
1	117 bp	TCA → TCT	CnKin
2	145-147 bp	GAG → TAA	Tt, CavarSeed, CnBll, CnPc, CnvarSlayBll, CnPy, CnTbn, CrvarKepMang, CrvarKepBs, CrvarSlayMang, Cauran, Cambly.
3	149 bp	CTT → CGT	CnKin
4	166-167 bp	TGG → CAG	CgKin, CgBs
5	181 bp	GAA → AAA	CgKin, CgBd
6	196 bp	CAA → TAA	CnKin
7	247 bp	GGG → AGG	CnKin
8	264 bp	CAG → CAT	CrvarSlayKin, CrvarKepGr, CrvarSlayMang, CrvarKepPet
9	269 bp	TAT → TGT	CnKin, CnBd, CgKin, CgBd, CgBs
10	275	AAT → ACT	CnKin, CnBd, CgBs,
11	278 bp	GAC → G·C	CnKin
12	298 bp	AGC → GGC	CnBd
13	315 bp	TAG → TAT	CnBd, CnKin, CgBd, CgBs
14	336 bp	AAG → AAA	CnKin
15	344 bp	GCT → GTT	CnKin
16	347 bp	TCT → TAT	CrvarSlayKin, CrvarKep, CrvarSlayMang, CrvarKepPet
17	352 bp	AAT → CAT	CnKin
18	400-424 bp	AGACTTTGTAG-GCATAAATGCTAT	Hanya CnKin yang mengalami mutasi
19	462 bp	TTT → TTG	CgBd, CrvarKepBgl

20	478 bp	AAA → CAA	CgBs
21	490 bp	CAG → TAG	CgKin
22	503-504 bp	TTG → AAG	CnKin, CnBd, CgKin, CgBd, CnBll,
23	527 bp	GTT → CTT	CnBd,
24	538 bp	ATT → ATG	CnKin, CnBd, CgKin, CgBd, CnBll
25	575 bp	TAA → CAA	CnKin
26	580-841 bp	NNN → NNN	CrvarKepGr
27	585 bp	TCT → TTT	CnKin, CnGr, CnPc, CnTbn, CnBd
28	591 bp	TGG → TAG	CnKin, CnBd, CgBd, CgKin, CgBs
29	597 bp	ACC → ATC	CnKin, CnBd, CgBd, CgKin, CgBs
30	631 bp	TTC → TTA	CnKin
31	633 bp	ATA → AGA	CnKin, CrvarSlayKin, CnBd, CgKin, CgBd, CrvarKepMang, CrvarKepBs, CgBs, CrvarKepBgl
32	652 bp	ATG → ATC	CrvarKepBgl, CgBs
33	663 bp	AAA → ACA	CnKin, CnBd, CgKin, CgBd, CgBs
34	672 bp	TGT → TTT	CgBs
35	680 bp	A·T → ATT	CrvarSlayMang
	680 bp	A·T → AAT	CnBll
	680-841 bp	terjadi perbedaan basa dengan sampel yang lain	CrvarSlayMang
36	694 bp	TTG → TTC	CnBd, CgKin, CgBd
37	706 bp	AA· → AAC	CnTbn
38	709 bp	GTC → GTT	CgBs, CnKin

39	714 bp	TCA → TTA	CnKin
40	724 bp	ATC → ATA	CgKin, CgBd
41	747 bp	AGA → ATA	CnBd
42	783 bp	AGA → ATA	CnBd
43	801 bp	T·A → TTT	CnKin

## Keterangan:

CnKin= *C. nobilis* var. Kintamani, Tt= *Triphasia trifoliata*, CavarSeed= *C. aurantifolia* var. *Seedles*, CnBll= *C. nobilis* var. Buleleng, CnPc= *C. nobilis* var. Pecatu, Crvar.SlayBll= *C. reticulata* var. Slayer Buleleng, CnPay= *C. nobilis* var. Payangan, CnTab= *C. nobilis* var. Tabanan, CrvarKepMang= *C. reticulata* var. Keprok Mangguh, CrKepBs= *C. reticulata* var. Keprok Besakih, CrvarSlayMng= *C. reticulata* var. Slayer Mangguh, Cauran= *C. aurantifolia*, Cambly= *C. amblycarpa*, CgKin= *C. grandis* L. Kintamani, CgBs= *C. grandis* L. Besakih, CgBd= *C. grandis* L. Bedugul, CrvarSlayKin= *C. reticulata* var. Slayer Kintamani, CrvarKepGr= *C. reticulata* var. Keprok Gianyar, CrvarKepPet= *C. reticulata* var. Keprok Petang, CnBd= *C. nobilis* var. Bedugul, CnGr= *C. nobilis* var. Gianyar, CrvarKepKr= *C. reticulata* var. Keprok Karangasem, CrvarBgl= *C. reticulata* var. Keprok Bangli, CnMang= *C. nobilis* var. Mangguh, CnDps= *C. nobilis* var. Denpasar.

Hasil penelitian menunjukkan terdapat polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada beberapa jenis jeruk yang diteliti (Tabel 5.4). Jeruk kinkit (*Triphacia trifoliata*) dan jeruk nipis tanpa biji (*Citrus aurantifolia* var. *seedless*) hanya mengalami perubahan basa pada 145-147 bp dari GAG menjadi TAA. Terjadinya polimorfisme pada suatu gen ditandai adanya beberapa perbedaan sekuen DNA pada tanaman jeruk sampel dengan spesies yang berbeda maupun sama. Perbedaan sekuen DNA tersebut disebabkan oleh adanya peristiwa delesi, insersi, rekombinasi, perkawinan acak yang rendah dan seleksi dalam populasi tersebut (Schleif, 1993).

Tabel 5.4. juga menunjukkan bahwa yang terbanyak mengalami polimorfisme adalah tanaman jeruk siam Kintamani sebanyak 25, kemudian tanaman jeruk siam Badung sebanyak 15 dan diikuti oleh jeruk Bali Badung dan jeruk Bali Besakih sebanyak 12 polimorfisme (hasil sekuensing terlampir). Jeruk kinkit (*Triphacia*

*trifoliata*) dan jeruk siam (*C. nobilis*) dari hasil penelitian ini keduanya mengandung fragmen DNA CVPD<sup>r</sup>, namun ketahanannya berbeda. Hal ini disebabkan oleh adanya perbedaan polimorfisme yang menyebabkan terjadinya perbedaan ketahanan pada jeruk kinkit (*Triphacia trifoliata*) dan jeruk siam (*C. nobilis*) yaitu beda nukleotidanya pada 145 147bp dari GAG menjadi TAA. Berdasarkan analisis tersebut fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> terindikasi mempunyai peranan yang penting dalam mekanisme ketahanan tanaman terhadap penyakit CVPD.

Polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> *T. trifoliata* dan *C. aurantifolia* var *seedless* yang tahan terhadap penyakit CVPD terletak pada klaster yang sama, sedangkan tanaman jeruk yang sensitif terhadap penyakit CVPD terletak pada klaster lain. Perbedaan posisi basa polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> menyebabkan respon ketahanan tanaman jeruk terhadap penyakit CVPD juga berbeda.

Polimorfisme adalah adanya lebih dari satu alel pada lokus genetik dengan frekuensi alel jarang lebih dari satu persen pada populasi. Polimorfisme gen terjadi karena perubahan susunan nukleotida gen. Perubahan komposisi gen dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti seleksi alami atau buatan, kawin, dan mutasi. Perubahan ini dapat mempengaruhi perubahan fenotipik suatu organisme (Frankham *et al.*, 2002). Polimorfisme merupakan varian dalam sekuens DNA yang dapat menyebabkan perubahan fungsi protein. Protein apabila terdeteksi maka kita dapat memperkirakan gen yang dimiliki di dalam individu tersebut, karena satu jenis protein adalah representasi dari lokus yang dimiliki oleh individu yang bersangkutan. Akan tetapi tentunya kita tidak mungkin untuk mempelajari semua (protein) lokus yang dimiliki oleh suatu individu karena tidak diketahui seberapa banyak protein (lokus) yang dimiliki oleh individu (Ayala dan Kiger, 1980).

Terdapat polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada beberapa jenis tanaman jeruk. *T. trifoliata* dan *C. aurantifolia* var *seedless* yang resisten terhadap penyakit CVPD dalam pohon filogenetik

terdapat dalam kelompok yang sama dengan *C. nobilis* var Buleleng, *C. reticulate* var selayar Buleleng dan *C. amblycarpa* yang dianggap relatif toleran terhadap penyakit CVPD. Di sisi lain, tanaman jeruk yang sensitif terhadap penyakit CVPD terletak pada kelompok yang berbeda. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> dan filogenetiknya dapat menentukan tanaman jeruk menjadi beberapa tingkat serangan CVPD yang dikelompokkan kedalam kelompok yang tahan/relatif tahan, kelompok yang peka, dan kelompok yang sangat peka terhadap penyakit CVPD.

Berdasarkan penelitian ini belum dapat dikatakan bahwa sudah terjadi mutasi, walaupun terjadi perubahan materi genetik (DNA) pada sampel yang diteliti. Hal ini harus dilakukan penelitian lebih lanjut apakah memang benar sudah terjadi mutasi, walaupun dari hasil sekuensing ditemukan banyak sekali urutan nukleotida yang menyebabkan protein yang dihasilkan tidak dapat berfungsi baik dalam sel, dan sel tidak mampu mentolerir inaktifnya protein tersebut, maka akan menyebabkan kematian (*lethal mutation*).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa polimorfisme DNA pada fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> terindikasi menyebabkan perbedaan ketahanan tanaman jeruk terhadap penyakit CVPD. Faktor lain seperti kurang unsur hara akibat adanya bakteri *L. asiaticus* pada jaringan floem yang menghambat transport unsur mineral ke sel tanaman yang melakukan fotosintesis.

Sejauh ini, melalui telusur kepustakaan belum ditemukan laporan penelitian mengenai polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada tanaman jeruk di Indonesia. Fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> terdeteksi positif pada 25 sampel dari 27 sampel yang diteliti yaitu pada pasangan basa ukuran 841 bp.

Bakteri *L. asiaticus* masuk ke dalam sel floem tanaman jeruk kemudian berkembangbiak dengan mengambil sumber karbon dan nitrogen sebagai makanan dari metabolisme sel-sel floem tanaman jeruk. Masuknya patogen ke dalam sel floem menyebabkan terjadinya reaksi tingkat molekul antara patogen dan sel floem.

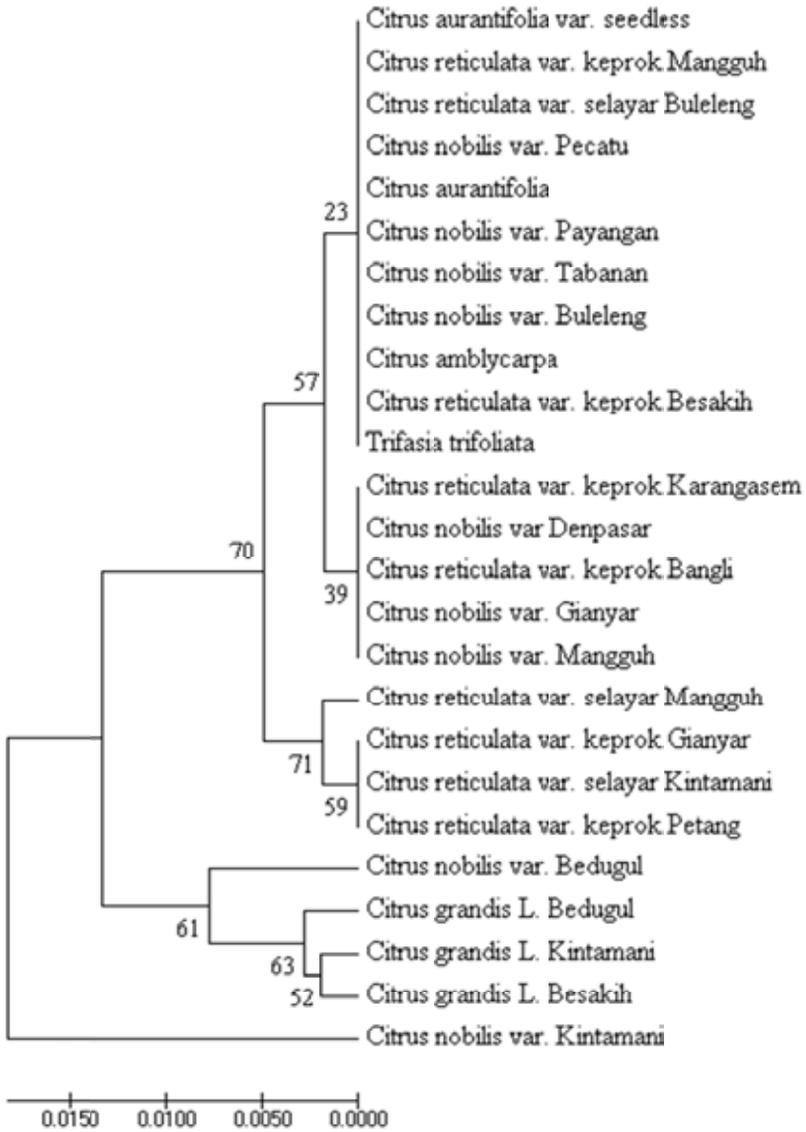
*Liberobacter* menghasilkan molekul protein virulen (toksik) yang dapat mengganggu metabolisme sel-sel floem. Sementara itu sel-sel floem menghasilkan protein khusus yaitu protein reseptor yang berfungsi sebagai reaksi terhadap masuknya patogen dan molekul virulennya ke dalam sel floem. Protein virulen yang dihasilkan oleh bakteri *L. asiaticus* dan protein hasil respon tanaman berikatan secara kimia pada molekul protein membrane sel saluran yang berfungsi menyalurkan ion-ion anorganik ke dalam sel floem tanaman jeruk. Akibatnya protein saluran tidak dapat berfungsi sehingga penyerapan ion-ion tertentu menjadi terhambat. Jadi adanya infeksi patogen CVPD mengganggu mekanisme transport ion-ion Zn, Mn, Fe, dan Mg ke dalam sel-sel tanaman jeruk sehingga terjadi defisiensi (Wirawan dan Julyasih, 2015).

Hubungan kekerabatan dan hubungan evolusi antar organisme dapat digambarkan melalui pohon filogenetik. Tujuan mempelajari pohon filogenetik adalah merekonstruksi silsilah (*genealogical ties*) antar organisme dan menentukan waktu evolusi dari suatu organisme. Pohon filogenetik adalah suatu grafik yang terdiri dari cabang atau nodus. Dua nodus yang berdekatan dihubungkan oleh satu cabang. Nodus merepresentasikan unit taksonomi, sedangkan cabang merepresentasikan hubungan antar unit taksonomi. Pola percabangan pada pohon filogenetika disebut topologi. Panjang cabang merepresentasikan kejauhan perbedaan pada cabang tersebut. Unit taksonomi dapat berupa spesies, populasi, individu atau gen (Li, 1997).

Kekerabatan dalam sistematik tanaman dapat diartikan sebagai pola hubungan atau total kesamaan antara kelompok tanaman berdasarkan sifat atau ciri tertentu dari masing-masing kelompok tanaman tersebut. Berdasarkan jenis data yang digunakan untuk menentukan jauh dekatnya kekerabatan antara jenis tanaman, maka kekerabatan dapat dibedakan atas kekerabatan fenetik dan kekerabatan filogenetik (filetik).

Pohon filogenetika adalah pendekatan logis untuk menunjukkan hubungan evolusi antara organisme. Filogenetika merupakan model untuk merepresentasikan sekitar hubungan nenek moyang organisme, sekuen molekul atau keduanya. Salah satu tujuan dari penyusunan filogenetika adalah untuk mengkonstruksi dengan tepat hubungan antara organisme dan memperkirakan perbedaan yang terjadi dari satu nenek moyang kepada keturunannya. Filogenetika dapat menganalisis perubahan yang terjadi dalam evolusi organisme yang berbeda. Berdasarkan analisis, sekuen yang mempunyai kedekatan dapat diidentifikasi dengan menempati cabang yang bertetangga pada pohon.

Pohon filogenetika dapat direkonstruksi dengan menggunakan beberapa metode statistik. Salah satunya adalah metode statistik yang umum digunakan yaitu *Bayesian methods*. *Bayesian methods* adalah suatu metode rekonstruksi pohon filogenetik yang menggunakan *optimality criterion* (standar optimal). Metode tersebut memiliki konsep yang sama dengan *likelihood methods*, yaitu menggunakan *probability distribution of tree* untuk mencari pohon filogenetik yang paling tepat dari sekuen data yang digunakan. Posisi setiap sekuen pada *aligned sequences* disebut *character*, sedangkan nukleotida disebut "states" pada *bayesian methods*. Posisi seluruh *character* dianalisis secara mandiri atau terpisah satu sama lain, sehingga setiap *alignment column* diasumsikan sebagai realisasi mandiri pada proses evolusi. Bayesian methods memungkinkan peneliti untuk menentukan sendiri model parameter seperti model substitusi, panjang cabang, dan topologi pohon (Vandamme, 2009).



Gambar 5.14.

Pohon filogenetik (*phylogenetic tree*) hasil analisis UPGMA dengan Bootstrap berbagai jenis tanaman jeruk beberapa daerah di Bali berdasarkan sekuen nukleotida

Hasil pohon filogenetika yang disajikan dalam Gambar 5.14. menunjukkan pola pengelompokan semua jeruk yang diteliti. Secara umum dapat dilihat bahwa jeruk tersebut mengelompok, yaitu kelompok pertama terdiri dari *T. trifoliata*, *C. aurantifolia* var seedless *C. aurantifolia*, *C. nobilis* var. Pecatu, *C. nobilis* var. Payangan, *C. nobilis* var. Tabanan, *C. nobilis* var. Buleleng, *C. reticulate* var. keprok Mangguh, *C. reticulate* var. selayar Buleleng, *C. reticulate* var. keprok Besakih dan *C. amblycarpa*, *C. reticulate* var keprok Karangasem, *C. nobilis* var Denpasar, *C. reticulate* var keprok Bamgli, *C. nobilis* var Gianyar, *C. nobilis* var Mangguh, *C. reticulate* var selayar Mangguh, *C. reticulate* var keprok Gianyar, *C. reticulate* var selayar Kintamani, dan *C. reticulate* var keprok Petang, kelompok kedua terdiri dari *C. nobilis* var Bedugul, *C. grandis* L Bedugul, *C. grandis* L Kintamani, *C. grandis* L Besakih, dan *C. nobilis* var Kintamani dan kelompok ketiga *Muraya paniculata* L.

Berdasarkan hasil pengelompokan tersebut maka dapat disusun tiga kelompok yaitu yang pertama tahan atau relatif tahan, kedua peka dan ketiga sangat peka. Untuk ketiga kelompok tersebut, jeruk pertama mengelompok lebih dekat dengan jeruk kedua dibandingkan dengan kelompok ketiga. Hasil pengelompokan tersebut dapat dijadikan dasar untuk menentukan hubungan kekerabatan fenetik antara setiap jenis jeruk yang diteliti. Dengan demikian bukti sekuen dapat dijadikan dasar untuk menentukan hubungan kekerabatan fenetik antara jenis jeruk yang diteliti.

#### **5.4. Karakteristik Unsur Hara pada Tanaman Jeruk**

Budidaya tanaman cenderung menyebabkan kemunduran lahan jika tidak diimbangi dengan pemupukan yang memadai. Kemunduran lahan tersebut antara lain disebabkan oleh semakin menurunnya kesuburan, kerusakan sifat fisik dan biologis, serta menipisnya ketebalan tanah. Faktor yang mempengaruhi pengaturan keseimbangan kesuburan tanah antara lain oksigen, air, unsur hara dan unsur toksik (Sudarmi, 2013).

Tanah merupakan sumber bahan makanan bagi makhluk hidup termasuk tanaman. Kesuburan tanah sangat ditentukan oleh keberadaan unsur hara dalam tanah, baik unsur hara makro, unsur hara sekunder maupun unsur hara mikro. Unsur hara di dalam tanah harus dalam jumlah cukup dan komposisi seimbang, sebab bila salah satu unsur berkurang maka dapat mengakibatkan pertumbuhan tanaman menjadi tidak wajar. Unsur mikro adalah unsur yang diperlukan dalam jumlah sedikit dan dapat merusak bila dijumpai dalam jumlah banyak. Secara umum fungsi unsur hara mikro (Dwiastuti dan Sutopo, 2006) adalah sebagai penyusun jaringan tanaman, sebagai katalisator, mempengaruhi proses oksidasi dan reduksi tanaman, membantu mengatur kadar asam, mempengaruhi nilai osmotik tanaman, mempengaruhi pemasukan unsur hara dan membantu pertumbuhan tanaman.

Pengujian defisiensi unsur hara pada tanaman jeruk dianalisis di laboratorium dengan menggunakan metode *Atomic Absorbtion Spectrophotometer* (AAS). Hasil analisis laboratorium terhadap konsentrasi hara makro Fe, Zn, Mn dan Mg dengan metode AAS disajikan dalam Tabel 5.5.

Tabel 5.5.

Hasil analisis unsur hara

dengan metode *Atomic Absorbtion Spectrophotometer* (AAS)

Sampel daun jeruk	Konsentrasi unsur hara (%)			
	Zn	Fe	Mg	Mn
Tanpa gejala	8,86*	70,49	13,11	11,92*
Gejala ringan	5.95*	67,11	8,83	4,60*
Gejala sedang	ttd	66,92	7,83	ttd
Gejala berat	ttd	65,32	5,52	ttd

Keterangan: (\*): Kritis unsur hara  
ttd: tidak terdeteksi

Tabel 5.5. memperlihatkan tanaman jeruk tanpa gejala dan bergejala ringan menunjukkan kekurangan unsur hara Zn, tetapi dilain pihak jeruk bergejala sedang dan berat tidak terdeteksi keberadaan unsur Zn tersebut. Kekurangan unsur Zn bagi tanaman akan menyebabkan timbulnya warna bintik-bintik kuning pada daun muda dan pertumbuhan akan terhenti dan daun berguguran sehingga dapat mengakibatkan kematian. Menurut Muhammad dan Idaryani (2005) apabila kandungan unsur mikro melebihi fase optimum maka tanaman akan mengalami fase berlebih dan fase racun. Unsur Zn konsentrasi yang harus ada pada tanaman jeruk antara 25-100%. Menurut McLaren dan Cameron (2005) kandungan Mg dalam jaringan tanaman biasanya antara 0,25-6,0%, tetapi penelitian di Malaysia kandungan Mg lebih tinggi, yaitu berkisar antara 0,55-0,70%. Kandungan Mg tersebut termasuk dalam kategori rendah sampai tinggi. Unsur Fe dan Mg untuk semua sampel menunjukkan kecukupan unsur hara pada tanaman. Unsur Fe dibutuhkan tanaman jeruk berkisar antara 25-200%. Kekurangan unsur Mn pada tanaman jeruk akan menyebabkan terjadinya pertumbuhan tanaman yang kerdil, karena Mn berperan dalam pembentukan klorofil, membantu proses fotosintesis serta merangsang perkecambahan biji dan pemasakan buah. Gejala yang bisa dilihat pada tanaman jeruk apabila kekurangan unsur hara adalah gejala kelainan daunnya muncul pada seluruh tanaman, sedangkan yang terserang penyakit CVPD hanya pada blok tanaman tertentu saja (Sudarmi, 2013).

Berdasarkan gejala visual keseimbangan hara merupakan faktor penting dalam menggambarkan gejala defisiensi dan disebabkan oleh lebih dari satu unsur hara tertentu. Dari hasil PCR sampel daun jeruk yang menunjukkan gejala CVPD, tidak semuanya menghasilkan pita DNA bakteri *L. asiaticus* tetapi dari semua sampel menunjukkan adanya kekurangan unsur hara dari mineral tertentu, hasil ini sesuai dengan pendapat Wirawan *et al.* (2017). Hal tersebut berarti bahwa kurangnya unsur hara tersedia bagi tanaman

jeruk akan mengakibatkan kebutuhan unsur hara yang dibutuhkan tanaman jeruk tidak terpenuhi maka akan terjadi defisiensi unsur hara atau oleh infeksi organisme lainnya, seperti disajikan pada Tabel 5.5.

Akibat serangan penyakit CVPD, maka protein transport ion sel tanaman akan terganggu yang mengakibatkan sel tanaman kekurangan mineral atau unsur hara tertentu (Sritamin, 2007). Pada tanaman jeruk yang terserang CVPD, agar proteinnya dapat berfungsi dengan baik maka protein yang berperan sebagai protein transport akan mengikat senyawa protein spesifik. Menurut Toha (2001) suatu senyawa yang akan ditranspot harus berikatan terlebih dahulu dengan protein transpot spesifik sehingga nantinya senyawa tersebut akan mampu dibawa melewati membran.

#### **5.5. Pengaruh Serangan Penyakit CVPD terhadap Kualitas dan Kuantitas Buah Jeruk**

Adanya serangan CVPD akan berdampak pada hasil panen tanaman jeruk. Gejala serangan CVPD pada buah jeruk dapat terlihat dari ukuran buah dan berat buah yang kecil serta tekstur buah yang keras. Secara fisik terlihat perbedaan pada tanaman jeruk yang terserang CVPD ringan, sedang dan berat. Buah jeruk yang sehat nampak lebih besar dibandingkan dengan buah jeruk yang terserang penyakit CVPD. Selain itu buah terlihat lebih segar dan isinya lebih besar. Secara visual hasil buah jeruk yang terserang CVPD disajikan pada Gambar 5.15. dan 5.16.

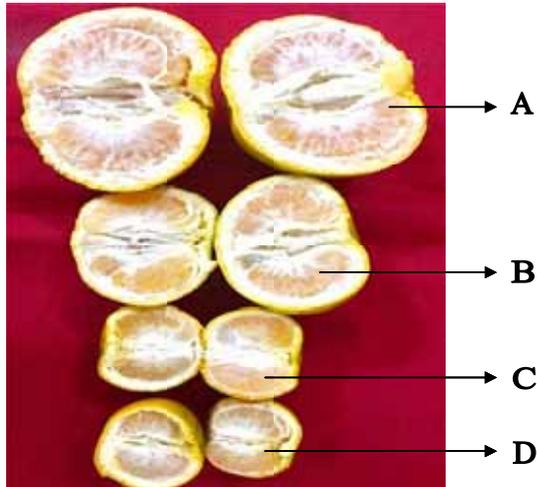


Gambar 5.15.

Visual fisik buah jeruk yang terserang penyakit CVPD

Keterangan : A-B . Buah dari tanaman jeruk sehat,C-D . Buah dari tanaman jeruk yang terserang penyakit CVPD ringan, E-F. Buah dari tanaman jeruk yang terserang penyakit CVPD sedang dan G-H-I buah tanaman jeruk yang terserang penyakit CVPD berat.

Buah jeruk pada Gambar 5.15. memperlihatkan buah hasil panen kedua dengan umur tanaman 5 tahun. Berdasarkan hasil Tabel 5.5 dan 5.6. dapat dilihat bahwa akibat serangan penyakit CVPD, maka protein transport ion sel tanaman akan terganggu yang mengakibatkan sel tanaman kekurangan mineral atau unsur hara tertentu sehingga menyebabkan buah jeruk menjadi keras, kecil, kadar air rendah, rasanya asam, vitamin C dan antioksidannya juga rendah seperti terlihat pada Gambar 5.16. Jadi kekurangan unsur hara mikro dan serangan penyakit CVPD sangat mempengaruhi kualitas buah.



Gambar 5.16.

Perbedaan buah jeruk yang sehat dan terserang penyakit CVPD

- A. Buah jeruk sehat
- B. Buah jeruk terserang ringan
- C. Buah jeruk terserang sedang
- D. Buah jeruk terserang berat

Selain kualitas buah yang terserang CVPD menurun, dari hasil penelitian jumlah kadar air, kandungan vitamin C dan antioksidan yang terkandung dalam buah jeruk menunjukkan perbedaan antara buah jeruk yang sakit dan buah jeruk yang sehat, seperti disajikan pada Tabel 5.6.

Tabel 5.6.

Kadar air, vitamin C dan antioksidan

No	Sampel	Kadar air (%bb)	Vitamin C (mg/100g buah segar)	Antioksidan (mg/L GAEAC)
1	Jeruk siam sakit	75,6117	10,925	113,6
2	Jeruk siam sehat	87,6924	29,265	145,0
3	Jeruk selayar sakit	79,0115	11,862	107,3
4	Jeruk selayar sehat	90,4226	31,618	149,9

Keterangan: GAEAC=*Gallic Acids Equivalent Antioxidant Capacity*  
%b/b =persen berat

Tabel 5.6. menunjukkan kandungan kadar air, vitamin C dan antioksidan berbeda antara jeruk yang sehat dan sakit. Menurut Zekri dan Obreza (2012) hal ini disebabkan oleh karena terhambatnya penyerapan unsur hara makro atau mikro yang dibutuhkan oleh tanaman, kurangnya kemampuan akar dalam menyerap unsur hara dapat mengakibatkan defisiensi zat Fe, Zn, Mg dan Mn akan mengakibatkan gejala klorosis pada daun tanaman. Gejala serangan CVPD juga menyebabkan buah menjadi kecil, keras dan warnanya hijau menguning.

Kandungan air dalam buah jeruk berkisar antara 85 – 90%, buah jeruk merupakan salah satu buah yang memiliki kandungan air cukup tinggi, buah jeruk sangat terkenal akan kandungan vitamin C nya. Vitamin C adalah antioksidan alami yang kuat. Kandungan vitamin C pada buah jeruk sangat beragam, tergantung varietasnya, tetapi berkisar antara 59 – 83 mg per satu buahnya. Makin tua buah jeruk biasanya makin berkurang kandungan vitamin C nya, rasa buahnya menjadi semakin manis (Wisnusubrata, 2017).

Gejala serangan CVPD dapat juga dilihat dari ukuran buah dan berat buah. Pengukuran penelitian ini dilakukan dengan mengukur lingkaran buah jeruk dan berat buah jeruk yang terserang penyakit CVPD ringan, sedang dan berat. Sampel buah jeruk pada Gambar 5.15. diambil masing-masing 5 buah untuk ditimbang berat dan lingkaran buahnya, kemudian diambil rata-rata berat dan lingkaran buahnya, hasilnya seperti terlihat pada Tabel 5.7.

Tabel 5.7  
Pengukuran buah jeruk

Sampel	Berat buah (gr)	Lingkar buah (cm)
A	216,20	25,70
B	172,41	23,05
C	146,84	22,55
D	124,24	21,40
E	105,66	20,05

F	99,10	19,50
G	60,29	16,40
H	40,37	14,45
I	25,84	12,25

Keterangan:

- A-B : Buah dari tanaman jeruk sehat (terlihat dari fisik tanaman),
- C-D : Buah dari tanaman jeruk yang terserang penyakit CVPD ringan,
- E-F : Buah dari tanaman jeruk yang terserang penyakit CVPD sedang,
- G-H-I : Buah dari tanaman jeruk yang terserang penyakit CVPD berat.

Tanaman jeruk yang sehat menghasilkan buah dengan berat dan lingkaran buah yang lebih besar yaitu seberat 216,20 g dengan lingkaran buah 25,70 cm, sedangkan tanaman jeruk yang sakit memiliki ukuran buah yang lebih kecil dan memiliki lingkaran buah yang kecil. Jeruk yang sehat mempunyai buah yang segar, ukurannya besar, lingkaran buahnya juga besar serta kandungan air yang tinggi. Makin berat tingkat serangan CVPD pada tanaman jeruk makin kecil kuantitas dan kualitas buah yang dihasilkan.

Buah jeruk yang dihasilkan oleh tanaman jeruk sehat hingga terserang penyakit dilakukan uji organoleptik untuk mengetahui tingkat kesukaan konsumen pada produk buah jeruk ini. Menurut Tabriani (2013), pengujian organoleptik adalah pengujian yang didasarkan pada proses penginderaan. Penginderaan diartikan sebagai suatu proses fisio-psikologis, yaitu kesadaran atau pengenalan alat indra akan sifat-sifat benda karena adanya rangsangan yang diterima alat indra yang berasal dari benda tersebut. Penginderaan dapat juga berarti reaksi mental (*sensation*) jika alat indra mendapat rangsangan (*stimulus*). Reaksi atau kesan yang ditimbulkan karena adanya rangsangan dapat berupa sikap untuk mendekati atau menjauhi, menyukai atau tidak menyukai akan benda penyebab rangsangan. Kesadaran, kesan, dan sikap terhadap rangsangan adalah reaksi psikologis atau reaksi subyektif. Pengukuran terhadap nilai/tingkat kesan, kesadaran dan sikap disebut pengukuran subyektif

atau penilaian subyektif. Disebut penilaian subyektif karena hasil penilaian atau pengukuran sangat ditentukan oleh pelaku atau yang melakukan pengukuran.

Selanjutnya Tabriani (2013) mengatakan ada jenis penilaian atau pengukuran yang lain dengan menggunakan alat ukur dan disebut penilaian atau pengukuran instrumental atau pengukuran obyektif. Pengukuran obyektif hasilnya sangat ditentukan oleh kondisi obyek atau sesuatu yang diukur. Demikian pula karena pengukuran atau penilaian dilakukan dengan memberikan rangsangan atau benda rangsang pada alat atau organ tubuh (indra), maka pengukuran ini disebut juga pengukuran atau penilaian subyektif atau penilaian organoleptik atau penilaian indrawi. Yang diukur atau dinilai sebenarnya adalah reaksi psikologis (reaksi mental) berupa kesadaran seseorang setelah diberi rangsangan, maka disebut juga penilaian sensorik.

Rangsangan yang dapat diindra dapat bersifat mekanis (tekanan, tusukan), bersifat fisis (dingin, panas, sinar, warna), sifat kimia (bau, aroma, rasa). Pada waktu alat indra menerima rangsangan, sebelum terjadi kesadaran prosesnya adalah fisiologis, yaitu dimulai di reseptor dan diteruskan pada susunan syaraf sensori atau syaraf penerimaan (Okatavia, 2015).

Mekanisme pengindraan secara singkat menurut Tabriyani (2013) adalah:

1. Penerimaan rangsangan (stimulus) oleh sel-sel peka khusus pada indra
2. Terjadi reaksi dalam sel-sel peka membentuk energi kimia
3. Perubahan energi kimia menjadi energi listrik (impulse) pada sel syaraf
4. Penghantaran energi listrik (impulse) melalui urat syaraf menuju ke syaraf pusat otak atau sumsum belakang.
5. Terjadi interpretasi psikologis dalam syaraf pusat
6. Hasilnya berupa kesadaran atau kesan psikologis.

Bagian organ tubuh yang berperan dalam penginderaan adalah mata, telinga, indra pencicip, indra pembau dan indra perabaan atau sentuhan. Kemampuan alat indra memberikan kesan atau tanggapan dapat dianalisis atau dibedakan berdasarkan jenis kesan, intensitas kesan, luas daerah kesan, lama kesan dan kesan hedonik. Jenis kesan adalah kesan spesifik yang dikenali misalnya rasa manis, asin.. Intensitas kesan adalah kondisi yang menggambarkan kuat lemahnya suatu rangsangan.

Perbedaan fisik maupun biologis dari jeruk dapat dipengaruhi oleh keadaan jeruk sakit maupun sehat. Untuk mengetahui tingkat kesukaan konsumen dilakukannya uji organoleptik terhadap jeruk siam yang terserang penyakit CVPD dan jeruk siam yang tidak terserang penyakit, kemudian hasil organoleptik diolah dengan uji deskriptif. Uji deskriptif adalah penilaian sensori berdasarkan sifat-sifat sensori yang lebih kompleks, meliputi berbagai jenis sifat sensori yang menggambarkan keseluruhan sifat komoditi tersebut (Tabriani, 2013). Dalam penelitian ini terdapat 15 panelis dengan 4 perlakuan dan 6 ulangan. Perlakuan I (S1) adalah jeruk siam sehat I, perlakuan II (S2) adalah jeruk siam sehat II, perlakuan III (S3) adalah jeruk siam sakit (terserang CVPD) I dan perlakuan IV (S4) adalah jeruk siam sakit (terserang CVPD) II. Parameter dalam uji organoleptik ini adalah warna dari buah jeruk, aroma dari buah jeruk, dan tekstur dari buah jeruk. Hasil analisis deskriptif dari uji organoleptik ini disajikan pada Tabel 5.8.

Tabel 5.8.  
Parameter sensorik warna

Warna	Skor	Persentase (%)	
		S1	S2
Hijau kekuningan	1	7	60
Kuning kehijauan	2	23,75	39,50
Kuning	3	49,35	0,50
Orange kekuningan	4	19,90	0
Orange	5	0	0
Jumlah		100	100

Keterangan:

S1: buah jeruk berasal dari tanaman sehat

S2: buah jeruk berasal dari tanaman terserang CVPD

Tabel 5.9.  
Parameter sensorik aroma

Aroma	Skor	Persentase (%)	
		S1	S2
Sangat kurang aroma jeruk	1	1	0
Kurang khas aroma jeruk	2	3	38,85
Biasa	3	15	43,40
Khas aroma jeruk	4	52	15
Sangat khas aroma jeruk	5	29	2,75
Jumlah		100	100

Keterangan:

S1: buah jeruk berasal dari tanaman sehat

S2: buah jeruk berasal dari tanaman terserang CVPD

Tabel 5.10.  
Parameter sensorik tekstur

Tekstur	Skor	Persentase (%)	
		S1	S2
Amat sangat lembek	1	0	0
Sangat lembek	2	0,5	0
Lembek	3	20	23,90
Agak keras	4	71	42,80
Keras	5	8,5	33,30
Jumlah		100	100

Keterangan:

S1: buah jeruk berasal dari tanaman sehat

S2: buah jeruk berasal dari tanaman terserang CVPD

Data yang terdapat pada Tabel 5.8. kemudian dicocokkan dengan Lampiran 1 untuk mengetahui perbedaan antar sampel yang diujikan. Dengan menggunakan Lampiran 1 dapat diperoleh dua jumlah terbesar yang diperlukan untuk menyatakan kecenderungan

panelis memilih sampel buah jeruk tersebut. Untuk uji sensorik warna jeruk sampel S1, jumlah panelis 15 orang adalah 23,75% memilih warna kuning kehijauan serta 49,35% memilih warna kuning. Berdasarkan uji yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa panelis cenderung memilih warna jeruk dari kuning kehijauan sampai dengan kuning, hal ini sesuai dengan kriteria SNI 3165:2009 tentang warna kulit buah jeruk.

Tabel 5.9. dengan menggunakan tabel pada Lampiran 2, untuk uji sensorik aroma jeruk, maka untuk jumlah 15 orang panelis 29% cenderung mengatakan khas aroma buah jeruk, sedangkan 52% lagi cenderung mengatakan sangat khas aroma buah jeruk. Berdasarkan uji yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa panelis cenderung mengatakan khas aroma jeruk sampai dengan sangat khas aroma jeruk, yaitu tercium aroma khas yang menyegarkan sesuai dengan hasil penelitian Sutopo (2011).

Tekstur buah jeruk dari Tabel 5.10. dengan menggunakan Lampiran 3, jumlah 15 orang panelis 71% memilih jeruk agak keras. Berdasarkan uji yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa panelis cenderung memilih tekstur buah jeruk dari lembek sampai agak keras. Sutopo (2011) mengatakan bahwa buah jeruk yang baik jika dipijit buahnya tidak terlalu keras, bagian bawah buah jika dipijit terasa lunak.

Untuk rasa buah jeruk panelis tidak dapat menyatakan adanya perbedaan yang nyata karena jumlah panelis yang menjawab rata-rata suka terhadap rasa buah jeruk pada sampel S1 serta netral pada sampel S2.

## **5.6. Kebaharuan Penelitian (Novelty)**

Berdasarkan hasil penelitian ini, diperoleh temuan baru sebagai berikut:

1. Fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> ditemukan pada sampel tanaman jeruk baik yang resisten atau toleran terhadap penyakit CVPD maupun yang rentan terhadap penyakit CVPD, dan tidak ditemukan pada tanaman jeruk siam Petang (*C. nobilis* var Petang) dan tanaman

Kemuning (*Murraya paniculata*) yang sangat tidak tahan terhadap penyakit CVPD.

2. Analisis sekuen fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada semua sampel jeruk ditemukan adanya polimorfisme pada basa-basa penyusun fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> baik pada tanaman yang resisten atau toleran terhadap penyakit CVPD seperti jeruk kinkit (*T. trifoliata*), jeruk nipis tanpa biji (*C. aurantifolia* var seedless) maupun pada tanaman jeruk yang rentan terhadap penyakit CVPD seperti jeruk keprok, jeruk siam, jeruk selayar, dan jeruk Bali.
3. *T. trifoliata* dan *C. aurantifolia* var seedless ditemukan berada dalam satu kluster atau kelompok bersama *C. aurantifolia*, *C. nobilis* var. Pecatu, *C. nobilis* var. Payangan, *C. nobilis* var. Tabanan, *C. nobilis* var. Buleleng, *C. reticulate* var. keprok Mangguh, *C. reticulate* var. selayar Buleleng, *C. reticulate* var. keprok Besakih dan *C. amblycarpa* yang dipandang relatif toleran terhadap penyakit CVPD. Di sisi lain, tanaman jeruk yang rentan terhadap penyakit CVPD terletak pada kluster atau kelompok yang berbeda.



## BAB VI

### SIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat disimpulkan hal-hal sebagai berikut:

1. Fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> ditemukan terdistribusi pada *T. trifoliata*, *C. amblycarpa* dan *C. aurantifolia* var. seedless (jenis jeruk yang tahan atau toleran terhadap penyakit CVPD) dan *C. nobilis*, *C. reticulate* var. *Slayer*, *C. reticulate* var. *keprok*, *C. grandis* pada 25 sampel jenis tanaman jeruk yang rentan terhadap penyakit CVPD. Sedangkan, fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> tidak ditemukan pada tanaman *C. nobilis* var Petang dan tanaman kemuning (*Murraya paniculata*) yang sangat tidak tahan terhadap penyakit CVPD.
2. Terdapat polimorfisme fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> pada tanaman jeruk yang rentan dan tanaman jeruk yang tahan atau toleran penyakit CVPD.
3. Pohon filogenetik yang dihasilkan menunjukkan *T. trifoliata* dan *C. aurantifolia* var. seedless yang resisten terhadap penyakit CVPD berada pada kluster atau kelompok yang sama dengan *C. nobilis* var *Buleleng*, *C. reticulate* var. *Slayer Buleleng*, dan *C. amblycarpa* yang relatif toleran terhadap penyakit CVPD. Di sisi lain, tanaman jeruk yang sensitif terhadap penyakit CVPD terletak pada kelompok yang berbeda. Fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> terindikasi mempunyai peranan yang penting dalam mekanisme ketahanan tanaman jeruk terhadap penyakit CVPD.
4. Serangan penyakit CVPD pada tanaman jeruk menyebabkan tanaman mengalami defisiensi unsur hara terutama Zn dan Mn. Tingginya intensitas tanaman jeruk terserang penyakit CVPD dan persentase tanaman terserang penyakit CVPD mempengaruhi kualitas dan kuantitas buah yang dihasilkan.

## 6.2. Saran

1. Perbedaan polimorfisme pada fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> memungkinkan dibuat primer spesifik sehingga dapat mengamplifikasi fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> hanya yang betul-betul memberikan ketahanan terhadap penyakit CVPD.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan kemungkinan adanya gen-gen lain yang terlibat dalam mekanisme ketahanan tanaman terhadap penyakit CVPD.
3. Perlu dilakukan penelitian tentang mekanisme tingkat molekul penghambatan penyerapan unsur-unsur hara pada tanaman yang terserang penyakit CVPD.
4. Perlu dilakukan penelitian melalui kultur in vitro untuk melihat sebaran bakteri *L. asiaticus* dalam pembuatan tanaman bebas penyakit CVPD.
5. Perlu dilakukan penelitian multilokasi untuk melihat berbagai variasi genetik tanaman jeruk terutama yang terkait dengan fragmen DNA CVPD<sup>r</sup>.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adiartayasa, W. 2006. "Identifikasi Beberapa Varietas Jeruk dan Deteksi Patogen CVPD dengan PCR di Kecamatan Kintamani" (*tesis*). Universitas Udayana. Denpasar.
- Adiartayasa, Wayan, I G P Wirawan, I N Wijaya dan I G N Bagus. 2012. Kajian Penyakit CVPD pada Tanaman Jeruk di Kabupaten Karangasem. Laporan Riset Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Udayana. Denpasar.
- AOAC International. 1999. *Official Methods of Analysis*. Virginia: Fifteenth Edition. AOAC. Inc. Suite 400.
- Andarwulan, N., Kusnandar, F., dan Herawati. 2011. Analisis Pangan. Dian Rakyat: Jakarta
- Assad. 2006. Karakterisasi Patogen CVPD pada Tanaman Jeruk dan Vektor CVPD Menggunakan Teknik *Polymerase Chain Reaction*. *J. Hort.* 16 (4) : 66-70.
- Astuti, W. 1988. *Pengamatan Hama Pada Pertanaman Jeruk di Wilayah Kerja. Bogor: Penyuluhan Pertanian Downan Kec. Kalijati Kab. Subang Prop. Jawa Barat. Makalah Seminar IPB.*
- Aswidinnoor, H. Karsinah. Sudarsono. Setyobudi, L. 2002. Keragaman genetik plasma nutfah jeruk berdasarkan analisis penanda RAPD. *Jurnal Bioteknologi Pertanian.* 7 (1): 8-16.
- Aubert, B. Setyobudi, L. Bahar, F.A. Winarno, M. 1992. Malaysian citriculture report of visits October 19th-22nd 1987 and February 23rd-28th 1989. In *Proceedings of Asian Citrus*

Rehabilitation Conference. pp 16-28.

- Ayala, F.J. and J.A. Kiger Jr. 1980. *Modern Genetics*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. California.
- Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP). 2011. *Pengenalan Penyakit CVPD pada Tanaman Jeruk dan Upaya Pengendaliannya*. Sulawesi Selatan.
- Boggie, L.M. & Person, H. 1988. *Plant Roots and Their Environment. Development in Agricultural and Manajed, Forest*, Uppsala Sweden. 560p.
- Bove JM, 1995. *Virus and Virus Like Disease of Citrus in the Near Region*. Italy: FAO.
- Bove JM, 2006. Huanglongbing: A Destructive, Newly-Emerging Century-Old Disease of Citrus. *Journal of Plant Pathology*, 88 (1) : 7-37.
- BPTP Kalbar. 2013. [Penanggulangan Penyakit CVPD dan Pecah Buah, Fokus Pendampingan Program Kawasan Hortikultura di Kabupaten Sambas](#).
- Chen, CN. 1998. Ecology of the insect vector of citrus systemic diseases and their control in Taiwan. *Citrus Greening Control Project in Okinawa*. Japan: Extension Bulletin. 459 : 1 – 5.
- Chen, Y.H., and J.H. Mei. 1965. A Preliminary Study of Citrus Yellow Shoot Virus. *Acta Phytophylacica Sinica* 4 (4) : 361 - 366
- Cottenie, A., 1983. *Trace Elements In Agriculture and In The Environment*. Laboratory of Analytical and Agrochemistry, Faculty of Agriculture, State University of Ghent, Belgium.
- Da Graca, J.V. 1991. Citrus Greening Disease. *Annu. Rev. Phytopathol.* 29:109-136.
- Davidescu D., Velicica Davidescu, Lacatusu R., 1998. *Chimizarea agriculturii, VI, Microelementele în agricultură*. Editura Academiei RSR, pp. 278
- Deriyanto dan Dicky. 2015. *Manfaat Jeruk*. 17 Juni 2015. <http://>

[portal-kecantikan.blogspot.com/2015/03/manfaat-buah-jeruk-untuk-kesehatan](http://portal-kecantikan.blogspot.com/2015/03/manfaat-buah-jeruk-untuk-kesehatan).

- Dintya, G.P.P. Adiartayasa, W. Sritamin, M. 2013. Aplikasi Teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) Terhadap Variasi Gejala Penyakit *Citrus Vein Phloem Degeneration* (CVPD) pada Beberapa Jenis Daun Tanaman Jeruk. Denpasar: E-jurnal Agroekoteknologi Tropika ISSN: 2301-6515. Program Studi Agroekoteknologi. Fakultas Pertanian Universitas Udayana
- Dwiastuti, M.E. 2000. Evaluation Ketahanan Varietas Jeruk Terhadap Penyakit CVPD Isolat Lumajang. *J. Hort.* 10(2): 131-136.
- Dwiastuti, M.E., Sutopo. 2006. Mengenal Penyakit non tekknis: Kekurangan (Defisiensi) hara mikro pada tanaman jeruk. *Balitjestro litbang pertanian go.id/wp*.
- Frankham, R., J.D. Ballou & D.A. Briscoe. 2002. Introduction to conservation genetics. Cambridge University Press.
- Gianto, Muhammad T. Andi, K. Terry, P. 2010. Deteksi Keberadaan Citrus Vein Phloem Degeneration (CVPD) dengan Teknik PCR (Polymerase Chain Reaction) di Sulawesi Tenggara. *Sulawesi Tenggara: JHPT Trifoca* ISSN 1411-7525. 10 (1): 73 – 79.
- Greber RS, Gowanlock DH, 1979. Rickettsia-like and mycoplasma-like organisms associated with two yellows-type diseases of strawberries in Queensland. *Australian Journal of Agricultural Research* 30, 1101±9.
- Hadidi, A. Levy L. and Podleckis. E.V. 1995. Polymerase chain reaction technology in plant pathology. In *Molecular methods in plant pathology*. ed. R.P. Singh and U.S. Singh: 167-187
- Harmsen, K., 1977. Behavior of Heavy Metals in Soils. *Agricultural research reports*. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen.
- Hawkins, B.J. 2010. Seeding Mineral Nutrition, The Root of The Matter. *National Proceedings: Forest and Conservation Nursery Associations*, p:87-97.

- Helmiyesi, Hastuti, R.B. dan Prihastanti, E. 2008. Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Kadar Gula dan Vitamin C Pada Buah Jeruk (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*). Buletin Anatomi dan Fisiologi. 16 (2): 33 -37.
- Holmes, F.O., Hirumi,H., Maramorosh, K. 1972. Witches broom of willow : *Salix* yellows. *Phytopathology*. 62:826-828
- Hung, T.H. Wu M.L. and Su. H.J. 1999. Development of a rapid method for the diagnosis of citrus greening disease using the polymerase chain reaction. *J. Phytopathology*. 147:599-604.
- Jagoueix, S. Bove, J.M. and Garnier, M. 1994. The Phloem-limited bacterium of greening disease of citrus is a member of the a subdivision of the Protobacteria. *Int. J. Syst. Bacteriol*. 44:379-386.
- Jean and Francois Giot. 2010. Agarose Gel Electrophoresis – Applications in ClinicalChemistry. *Journal of Medical Biochemistry* 2010; 29 (1).
- Julyasih, K.S.M. 2003. “Analisis Tanaman Jeruk (*Citrus* spp.) Terserang Penyakit CVPD (*Citrus* Vein Phloem Degeneration)” (*tesis*). Denpasar: Universitas Udayana.
- Kalshoven, LGE. 1981. *The Pest of Crops In Indonesia*. Jakarta: PT. Ichtar Baru-Van Hoeve.
- Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi. 2000. *Jeruk*. Jakarta: Deputi Meneg Ristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Kemenristek.
- Kementrian Pertanian. 2016. *Komoditas Pertanian Sub Sektor Hortikultura: Jeruk*. ISSN:1907-1507. Jakarta. Pusat Data dan Informasi Pertanian.
- Li, W-H., 1997. *Molecular evolution*, Sinauer Associates, Inc., Publisher, Sunderland Massachusetts.
- Liferdi. 2006. *Perubahan Karbohidrat dan Nitrogen Empat Varietas*

Rambutan. *J.Hort.*16(2):134-141.

- Loeffelholz, M.J., Thompson, C.J., Long, K.S. 1999. Comparison of PCR, culture, and direct fluorescent-antibody testing for detection of *Bordetella pertussis*. *J. Clin Microbiol* 37: 2872-6
- Mahayani, A.A.P.S. 2013. Analisis Ekspresi Klon Gen CVPD<sup>r</sup> Dalam Sel *Escherichia coli*. Surabaya: Jurnal Agroknow 1(1): 23-27.
- McLaren RG & Cameron KC. 2005. Soil science : An Introduction to the Properties and Management of New Zealand soils (2nd Ed). Oxford University Press. Auckland, New Zealand. 314.
- Mely Meliendari. 2012. "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Gracia kyda Roxb.* Dengan Metode DPPH dan Identifikasi Senyawa Kimia Fraksi yang Aktif" (*skripsi*). Jakarta : Universitas Indonesia.
- Mirza, M.F. 2013. Hara dan Hubungannya dengan Tanaman, Meretas Ilmu. 1 Maret 2017. <http://laborr-ilmu.blogspot.co.id/2013/02/hara-dan-hubungannya-dengan-tanaman.html>.
- Muchtadi, Deddy. 2013 *Antioksidan dan Kiat Sehat di Usia Produktif*, Bandung : Alfabeta.
- Mudita dan Natonis. 2011. CVPD Penyakit mematikan dan paling merusak bagi Jeruk. <http://citrusbiosecurity.blogspot.co.id/2010/10/cvpd-penyakit-mematikan-dan-paling.html>.
- Muhammad, H., Idaryanti. 2005. Metode Penentuan Kebutuhan Hara pada Tanaman Jeruk. 20 Januari 2017 <http://sulsel.litbang.pertanian.go.id>.
- Muharam, A., and Whittle, A.M. Setyobudi, L. Bahar, F.A. Winarno, M. and Whittle, A.M. 1992. Indexing of citrus for major systemic pathogens in Indonesian citrus variety improvement programme. *In Proceedings of Asian Citrus Rehabilitation Conference*, pp 140-156. Malang Indonesia: Ministry of Agriculture, Republic of Indonesia and Food and Agriculture Organization.

- Nakashima, K. Prommintara, M. Ohtsu, Y. Kano, T. Imada J. and Koizumi. M. 1996. Detection of 16 S rDNA of Thai isolates of bacterium like organism associated with greening disease of citrus. JIRCAS J. 3:1-8.
- Nourrisseau, J.G., Lansac, M., Garnier, M. 1993. Marginal chlorosis, a new disease of strawberries ;presence of the bacterium –like organism in the phloem of infected plant. Plant Disease. 77:1055-1059.
- Notoatmodjo, S. 2010. Metodologi Penelitian Kesehatan. Penerbit Rineka Cipta. Jakarta.
- Obet. 2015. Penyakit Citrus Vein Phloem Degeneration (CVPD). 23 September 2015. <http://www.scribd.com/doc/86333726/Penyakit-Citrus-Vein-Phloem-Degeneration-CVPD>.
- Ohtsu, Y. Nakashima, K. Prommintara M. and Tomiyasu, Y. 1998. Typical symptoms of citrus greening on Mandarin trees in Nepal, supported by detection and characterization of ribosomal DNA of the causal organisms. Annu. Phytopathol. Soc. Jpn. 64: 539-545.
- Okatavia, Armida. 2015. Panelis. <http://armidaokatavia.blog.uns.ac.id> (16 November 2015).
- Poerwanto, M.E., Solichah, C. 2010. Kajian Preferensi Oviposisi *Diaphorina citri* Kuwayama pada Tanaman Jeruk yang Terinfeksi CVPD dan Jeruk Sehat. Seminar Nasional Peringatan 40<sup>th</sup> PEI. Yogyakarta.
- Prasetya, E. 2011. CVPD (Citrus Vein Phloem Degeneration) pada Tanaman Jeruk. 21 September 2015. <http://khasindonesia-indonesia.blogspot.co.id/2011/12/cvpd-citrus-vein-phloem-degeneration.html>.
- Rizqiana Dewi. 2012. “Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksitas Metabolit Sekunder Daun Salam (*Syzygium polyanthum Wight*) Dan Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia Lamk.*)” (Skripsi) Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Roistacher, C.N. 1991. Graft-transmissible disease of citrus (handbook

- for detection and diagnosis). *FAO*: 35-45
- Sandrine, J. Bove, J.M. and Garnier. 1996. PCR Detetion of The Two Candidatus Liberobacter Species Associated with Greening Disease of Citrus. *Moleculer and celluler probes*. 10:43-50
- Sandrine, J., J.M. Bove and M. Garnier. 1994. The phloem-limited bacterium of greening disease of citrus is a member of the a subdivision of the proteobacteria. *Journal of Systematic Bacteriology*. 44:370-386
- Sanger, F. Nicklen, S. Coulson, AR. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. USA: *Proceedings of the National Academy of Sciences*.
- Schleif, R. 1993. *Genetics and Molecular Biologi* 2<sup>th</sup> edition. The John Hopkins Press Ltd. London.
- Schneider, H. 1968. Anatomy of greening-diseased sweet. orange shoots. *Phytopathol*. 58:1155-1160.
- Secor GA, Rivera VV, Lee IM, Clover GRG, Liefing LW, Li X, De Boer SH (2009) Association of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' with Zebra chip disease of potato established by graft and psyllid transmission, electron microscopy, and PCR. *Plant Disease*.
- Simatupang, S. 2009. Karakterisasi dan Pemanfaatan Plasma Nutfah Jeruk In Situ oleh Masyarakat Lokal Sumatera Utara. *Buletin Plasma Nutfah*. 15 (2): 55 - 60 Th.2009.
- Sinaga, M. S. 2009. *Dasar-Dasar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Penerbit Penebar Swadaya. Jakarta.
- Skoog DA, West DM, Holler J, Crouch SR. 2008. *Fundamentals of Analytical Chemistry*. Ed-ke 9. Belmont: Brooks/Cole.
- Soekarto, S. 2002. *Penilaian Organoleptik untuk Industri Pangan dan Hasil Pertanian*. Bharata Karya Aksara. Jakarta.
- Solichah dan Poerwanto. 2010. Kajian Preferensi Oviposisi Diaphorina Citri Ku wayama pada Tanaman Jeruk yang Terinfeksi CVPD dan Jeruk Sehat. Yogyakarta: *Seminar Nasional Peringatan*

- 40th PEI. 1-2 Oktober 2010. Faculty of Agriculture. University of Pembangunan Nasional "veteran".*
- Sritamin. 2007. "Akumulasi Protein Spesifik Berat Molekul 16 k5a (PS 16) pada Daun Jeruk Terinfeksi Penyakit CVPD" (*disertasi*). Universitas Brawijaya. Malang.
- Su, H.J. dan Hung. 2001. Detection of Greening Fastidious Bacteria (GFB) Causing Citrus Greening by Dot Hybridization and Polymerase Chain Reaction (PCR) with DNA Probes and Primer Pairs. *Plant Protection*.
- Subandiyah, S. Winarno, M. Sabari. Setyobudi, L. Supriyanto, A. (eds.). Iwanami, I. Beattie, A. 2009. Perkembangan penelitian CVPD di Universitas Gadjah Mada. Growth of CVPD research at Gadjah Mada University. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Fakultas Pertanian. *Prosiding seminar nasional jeruk, Jakarta, 13-14 Jun 2009 / Jakarta: Puslitbanghorti, 2008: p.53-59, 4 ill., 3 tables; 9 ref.*
- Sudarmaji, S. Bambang, H. dan Suhardi. 2010. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Edisi Keempat. Yogyakarta: Liberty.
- Sudarmi. 2013. Pentingnya Unsur Hara Mikro Bagi Pertumbuhan Tanaman. *Widyatama 2 (2) : 178-183*.
- Sugiyono. 2010. *Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R&D*. Alfabeta. Bandung.
- Sumardi. (1981). Metode Destruksi Contoh Secara Kering Dalam Analisa Unsur- Unsur Fe-Cu-Mn dan Zn Dalam Contoh-Contoh Biologis. *Prosiding Seminar Nasional Metode Analisis. Lembaga Kimia Nasional*. LIPI. Jakarta.
- Supriyanto, C., Samin, & Zainul, K. 2007. Analisis Cemaran Logam Berat Pb, Cu, dan Cd pada Ikan Air Tawar dengan Metode Spektrometri Nyala Serapan Atom (SSA). *Prosiding3rdSeminar Nasional*. Yogyakarta: BATAN.
- Sutopo. 2011. Panen dan Pasca Panen Jeruk. Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika Badan Penelitian dan

Pengembangan Pertanian. Malang.

- Tabriyani. 2013. "Analisis Kualitas Produk Surabi Berbasis Organoleptik Pada Pedagang Surabi di Kota Bandung"(tesis). Bandung: Universitas Pendidikan Indonesia.
- Tang, Y.W. and Stratton C.W. (ed). 2006. 'PCR and Its Variations'. Advanced Techniques in Diagnostic Microbiology. New York: Springer Science Business Media LLC.
- Tirtawidjaja, S. 1981. Insect. Dodder and Seed Transmissions of Citrus Vein-Phloem Degeneration (CVPD). Proc.Int.Soc. Criticulture 1: 469-471
- Tirtawidjaja, S., T. Hadiwidjaya, and A.M. Lasheen. 1965. Citrus Vein Phloem Degeneration Virus, a Possible Cause of Citrus Chlorosis in Jawa. J. Amer. Soc. Hort., Sci. 86 : 235-243
- Tirtawidjaja,S. & R. Suharjo. 1990. Penyakit CVPD Merupakan Bahaya Laten Bagi Tanaman Jeruk di Indonesia. Perlindungan Tanaman Menunjang Terwujudnya Pertanian Tangguh dan Kelestarian Lingkungan. PT. Agricon.
- Toha, A. H. A. 2001. Deoxyribo Nucleic Acid: Keanekaragaman, Ekspresi, Rekayasa, dan Efek Pemanfaatannya. Edisi Pertama. Alfabeta. Bandung.
- Vandamme, A-M. 2009. Basic concepts of molecular evolution. Dalam : Lemey, P., M. Salemi & A-M. Vandamme. (ed). 2009. The phylogenetic
- Wahyuningsih, E. 2009. CVPD pada Jeruk (*Citrus spp*) dan Upaya Pengendaliannya. Jakarta: Vis Vitalis, 2 (2). ISSN 1978-9513. Fakultas Biologi Universitas Nasional.
- Watson, J.D. Gilman, M. Witkowsky, J. 1992. Recombinant DNA. New York USA: Sec. ed. Freeman.
- Waysima, Adawiyah, Dede, R. (2010). Evaluasi Sensori (Cetakan ke-5). Fakultas Teknologi. Pertanian Institut Pertanian. Bogor.
- Wijaya,I N. 2003. "*Diaphorina citri* KUW (Homoptera : *Psyllidae*): Bioteknologi dan Perannya sebagai Vektor Penyakit CVPD

(*Citrus Vein Phloem Degeneration*) Pada Tanaman Jeruk Siam" (*disertasi*). Bogor: Institut Pertanian Bogor.

- Wijaya,A. 2012. Kandungan dan Manfaat Jeruk. 16 Juni 2015. <http://permathic.blogspot.com/2012/04/kandungan-dan-manfaat-jeruk.html>.
- Wijaya, I N. 2007. Penularan Penyakit CVPD (*Citrus Vein Phloem Degeneration*) oleh *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: *Psyllidae*) pada Tanaman Jeruk Siam. *Agritrop* .26(4):140-146.
- Wijaya, I N. 2008. Pengendalian Penyakit CVPD pada Tanaman jeruk dan Penyakit Karat Puru pada Tanaman Albesia di Desa Taro. Denpasar: Kegiatan pengabdian Masyarakat Universitas Udayana.
- Wijaya, I N., W. Adiartayasa, M. Sritamin, dan K.A. Yuliadi. 2010. Dinamika Populasi *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: *Psyllidae*) dan Deteksi CVPD dengan Teknik PCR. Denpasar: PS. Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana. *J. Entomol. Indon.* 7 (2) : 78-87.
- Wirawan, I G. P. 2002. Mekanisme Tingkat Melekul Infeksi Penyakit CVPD (*Citrus Vein Phloem Degeneration*) pada Tanaman Jeruk dan Peran *Diaphorina citri* Kuw. Sebagai Serangga Vektor. Laporan Pelaksanaan RUT IX. 1 Tahun 2002. Denpasar: Lembaga Penelitian Universitas Udayana.
- Wirawan, I G. P. Arya, N. dan Subandiyah, S. 2000. Isolasi Loci Resisten Terhadap CVPD (Citrus Vein Phloem Degeneration) dengan Menggunakan *Agrobacterium tumefaciens*. Laporan Riset Unggulan Terpadu V. Kantor Menteri Negara Riset dan Teknologi Dewan Riset Nasional.,
- Wirawan, I G. P. Liliek, S. dan Wijaya. 2004. Penyakit CVPD Pada Tanaman Jeruk. Denpasar: Udayana University Press.
- Wirawan, I G.P. 2001. Bioteknologi Menjawab Tantangan Pembangunan Berbasis Teknologi. Orasi Ilmiah Pengukuhan Guru Besar Tetap Universitas Udayana. Denpasar.Universitas Udayana.

- Wirawan, I G.P. Julyasih, SM. W. Adiartayasa, N. Wijaya dan Anom, P. 2014. Increasing Local Fruits Competitiveness In Entering The Tourism Market In Bali. *International Journal Of Biosciences and Biotechnology*. 2(2).
- Wirawan, I G.P. Suprpta, D.N. Arya, N. dan Subandiyah, S. 1998. Isolasi Mutan Transgenik Tanaman Jeruk Keprok Tejakula Menggunakan Transformasi *Agrobacterium tumefaciens*. Bandung: Naskah Seminar Nasional XIV Perhimpunan Biokimia dan Biologi Molekuler Indonesia (PBBMI).
- Wirawan, I Gede Putu and Ketut Sri Marhaeni Juliasih, 2015. Detection of *Citrus Vein Phloem Degeneration* Disease in Citrus Plants by PCR and Protein Analysis using SDS PAGE (A Review). *Internasional Journal of Bioscience and Biotechnology*. 3 (1): 77-86.
- Wisnusubrata. 2017. 6 Buah-buahan tinggi Vitamin C selain jeruk. 10-10-2017. <http://lifestyle.kompas.com>.
- Wulan, N. A. 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Beras Merah dan Beras Hitam dan Produk Olahannya Berupa Nasi. Bandung: Universitas Pendidikan Indonesia.
- Yenrina.R. 2015. Metode Analisis Bahan Pangan dan Komponen Bioaktif. Andalas University Press. Padang.
- Yuliani N, Suhendri Saputra, Sri Swastika. 2012. Pengendalian Penyakit CVPD (*Citrus Vein Phloem Degeneration*). Pekanbaru: Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Riau. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian.
- Yuniti, I G. A. D. 2002. "Penyebaran Bakteri *Liberibacter Asiaticus* pada Jeruk Dalam Beberapa Tingkat Gejala Serangan Penyakit CVPD" (tesis). Denpasar: Universitas Udayana.
- Zekri M dan Obreza TA. 2012. Micronutrient deficiencies in citrus: Iron, Zink, and Manganese 14 Februari 2017 .<http://edis.ifas.ufl.edu>.
- Zheng Z, Deng X. and Chen J., 2014. Whole-Genome Sequence of "Candidatus *Liberibacter asiaticus*" from Guangdong,

China. *Genome Announc.* 2014 Mar-Apr; 2 (2): e00273-14. Published online 2014 Apr 10. doi: 10.1128/genomeA.00273-14 PMID: PMC3983304.

Zubaidah, S. 2010. Peningkatan Kemampuan Beberapa Antibiotik dalam Eliminasi Bakteri *Liberibacter asiaticus* untuk Mendapatkan Bibit Jeruk Bebas CVPD. Malang: Jurnal ILMU DASAR 11 (1): 45 - 54.

# INDEKS

## A

Adiartayasa 13, 21, 26, 85, 87,  
94, 95  
Afrika 2, 8, 28  
Amerika 1  
Asia 8, 28  
Assad 15, 28, 85  
atomic absorption spectroscopy  
20  
Aubert 10, 11, 85  
Australia 1

## B

Badan Pusat Statistik 31  
Badung viii, 31, 43, 44, 45, 46,  
63  
Bali ii, iii, viii, 1, 2, 4, 5, 6, 8, 23,  
27, 28, 31, 46, 49, 50, 53,  
54, 55, 56, 57, 58, 59, 63,  
68, 81, 95, 100  
Bangli 31, 46, 47, 48, 49, 51,  
52, 63, 100  
Belanda 1, 90  
Besakih 22, 23, 46, 47, 48, 49,  
50, 51, 52, 63, 69, 81  
Buleleng 31, 46, 47, 48, 49, 51,  
52, 63, 65, 69, 81, 83

## C

Cameron 71, 89  
China 2, 96  
Chrysocarpa 21

Cina 1, 22

Citrus nobilis 4, 21, 46, 47, 50,  
51, 88

Cottenie 18, 86

## D

Denpasar ii, iv, 31, 43, 46, 47,  
48, 49, 51, 52, 63, 69, 85,  
87, 88, 94, 95, 100

Diaphorina citri 2, 3, 8, 90, 93,  
94

Diaphorina citri Kuw 8, 94

Dintya 23, 87

## F

Filipina 2

filogenetika 66, 67, 69

fotosintesis 17, 37, 65, 71

## G

Gianto 22, 28, 87

Gianyar 31, 46, 47, 48, 49, 50,  
51, 52, 60, 63, 69, 100

## H

Hadidi 14, 87

Harmsen 18, 87

hortikultura 1

## I

India 1, 2, 8

Indonesia 1, 2, 8, 10, 15, 21, 25,

- 26, 28, 31, 65, 88, 89, 93,  
95, 100
- Italia 1
- J**
- Jakarta 31, 85, 88, 89, 90, 91,  
92, 93
- Jawa Timur 2
- K**
- Kaledonia Baru 1
- Kalimantan Barat 2
- Kalimantan Selatan 2
- Karangasem 31, 46, 47, 48, 49,  
51, 52, 63, 69, 85
- Kintamani viii, 3, 9, 13, 22, 23,  
26, 46, 47, 48, 49, 50, 52,  
60, 63, 69, 85
- Kolaka 22
- L**
- Leaf Mottling 8
- liquid nitrogen 34
- lysis buffer 34
- M**
- McLaren 71, 89
- metabolisme 17, 18, 37, 65, 66
- Murraya paniculata 46, 47, 51,  
81, 83
- O**
- organoleptik 26, 39, 76, 77, 78
- P**
- pariwisata 1, 25
- Petang (Desa) viii, 43, 44, 45,  
47, 48, 49, 50, 51, 52, 63,  
69, 80, 83
- Prasetya 11, 23, 90
- purposive sampling 31
- R**
- Rutaceae 27
- S**
- Sandrine 2, 7, 8, 91
- spektrometri 20, 37
- Sritamin 8, 72, 87, 92, 94
- Subandiyah 22, 92, 94, 95
- Sudarmadji 32, 41, 42
- Sudarmi 17, 18, 69, 71, 92
- Sulawesi Selatan 10, 11, 86
- Sulawesi Tenggara 22, 87
- Sumatra Utara 2
- T**
- Tabanan 31, 46, 47, 48, 49, 51,  
52, 63, 69, 81
- Tabriyani 77, 93
- Taiwan 2, 86
- Tejakula 22, 23, 95
- Tirtawidjaja 7, 10, 11, 93
- Triphacia trifoliata 3, 49, 63, 64
- U**
- Universitas Udayana 31, 85, 87,  
88, 94, 95, 100
- V**
- Vein crocking 12
- W**
- Waysima 39, 93

wet digestion 19

Wijaya 2, 10, 13, 16, 22, 28, 85,  
93, 94, 95

Wirawan 1, 2, 3, 4, 8, 9, 13, 14,  
25, 26, 35, 36, 46, 50, 66,  
71, 85, 94, 95

## **Z**

Zeng 2

## TENTANG PENULIS

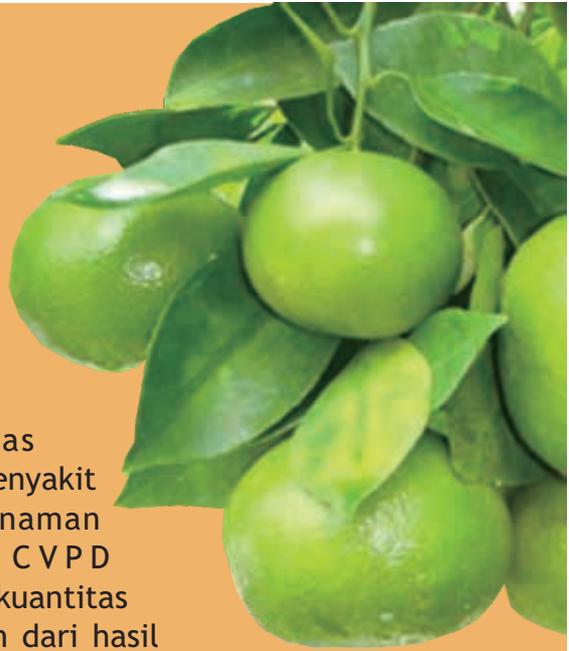


**Dr. Dra. I Gusti Ayu Diah Yuniti, M.Si.** adalah anak ketiga dari pasangan I Gusti Ngurah Dauh (alm.) dengan I Gusti Ayu Sukra (alm.), yang terlahir pada tanggal 15 Januari 1966, di Banjar Wanayu, Bedulu, Blahbatuh, Gianyar. Penulis merupakan dosen pada Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Mahasaraswati Denpasar, Bali mengambil bidang Biologi Molekuler. Penulis menyelesaikan S-1 di Universitas Airlangga Surabaya, Sementara S-2 dan S-3 diselesaikan di Universitas Udayana, Denpasar, Bali.

Selama ini, penulis pernah menjabat sebagai Ketua DKC Pramuka Kwardcab, Gianyar (1983-1986); wakil Ketua DKD Pramuka Kwarda Bali (1986-1990), Pembantu Dekan II Fakultas Teknik Universitas Ngurah Rai (2002-2006 dan 2006-2010), Anggota KPU Kota Denpasar (2008-2013), Ketua Forum Komunikasi Pemerhati Radio Repeblik Indonesia (2017-2022), dan Pengurus Perhimpunan Hortikultura Indonesia Daerah Bali (2018 - sekarang).

Penelitian yang pernah dilakukan antara lain: Penyebaran Bakteri *Liberibacter Asiaticus* pada Tanaman Jeruk dalam Beberapa Tingkat Serangan Penyakit CVPD (Tesis S-2), Persentase Penyakit dan Intensitas Kerusakan Tanaman Jeruk Terserang CVPD di Desa Pengotan, Kabupaten Bangli (2016), Polymorphism of CVPD<sup>r</sup> DNA Fragment of Citrus Plants in Bali Indicated Different Susceptibility Against *Citrus Vein Degeneration* (CVPD) Disease (2017), Polimorfisme Fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> DNA Pada Beberapa Jenis Tanaman Jeruk di Bali (Disertasi 2018), “The DNA Mutations of some Citrus Plants in Bali That Harboring CVPD<sup>r</sup> DNA Fragment Indicating Some Different Character” (2018), dan “Adaption of *Morus Alba* and *Morus Cathayana Plan* in a different Climate and Environment Conditions in Indonesia” (2019). Hasil penelitiannya sudah dipublikasikan di jurnal nasional dan Internasional.

**B**uku ini memberikan gambaran yang jelas mengenai serangan penyakit CVPD pada tanaman jeruk yang menyebabkan tanaman mengalami defisiensi unsur hara. Tingginya intensitas tanaman jeruk terserang penyakit CVPD dan persentase tanaman terserang penyakit CVPD mempengaruhi kualitas dan kuantitas buah yang dihasilkan. Bahkan dari hasil penelitian ini pohon filogenetik yang dihasilkan menunjukkan *T. trifoliata* dan *C. aurantifolia* var. *seedless* yang resisten terhadap penyakit CVPD berada pada kluster atau kelompok yang sama dengan *C. nobilis* var *Buleleng*, *C. reticulate* var. *Slayer Buleleng*, dan *C. amblycarpa* yang relatif toleran terhadap penyakit CVPD. Di sisi lain, tanaman jeruk yang sensitif terhadap penyakit CVPD terletak pada kelompok yang berbeda. Fragmen DNA CVPD<sup>r</sup> terindikasi mempunyai peranan yang penting dalam mekanisme ketahanan tanaman jeruk terhadap penyakit CVPD.



Buku ini juga dapat dijadikan rujukan bagi peneliti tanaman jeruk, para penyuluh pertanian, dan pemerintah melalui dinas terkait untuk mempelajari dan mengantisipasi penyakit jeruk. Bagaimanapun jeruk dari Bali pernah berjaya dan harus dikembalikan ke pola penanaman dan pascapanen yang baik agar menghasilkan jeruk berkualitas dan kembali menguasai pasaran.

