

**Keberadaan Penyakit *Citrus Vein Phloem Degeneration* ('*Candidatus Liberibacter asiaticus*') pada Pertanaman Jeruk Keprok Selayar di Desa Bontona Saluk, Kecamatan Bontomatene, Kabupaten Kepulauan Selayar**

**MUHARSI**

**G011 18 1412**



**DEPARTEMEN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI**

**FAKULTAS PERTANIAN**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2023**

**SKRIPSI**

**Keberadaan Penyakit *Citrus Vein Phloem Degeneration* ('*Candidatus Liberibacter asiaticus*') pada Pertanaman Jeruk Keprok Selayar di Desa Bontona Saluk, Kecamatan Bontomatene, Kabupaten Kepulauan Selayar**

**MUHARSI**

**G011181412**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana pertanian

Pada

Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan

Fakultas Pertanian

Universitas Hasanuddin

Makassar

**DEPARTEMEN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI**

**FAKULTAS PERTANIAN**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2023**

## LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI


Judul : Keberadaan Penyakit *Citrus Vein Phloem Degeneration*  
Skripsi ('*Candidatus Liberibacter asiaticus*') pada Pertanaman Jeruk  
Keprok Selayar di Desa Bontona Saluk, Kecamatan Bontomatene,  
Kabupaten Kepulauan Selayar

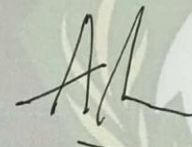
Nama : Muharsi  
NIM : G011181412

Disetujui oleh

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

  
Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Baharuddin  
NIP. 19601224 198601 1 001

  
Prof. Dr. Ir. Nur Amin Dipl. Ing. Agr  
NIP. 19621202 198702 1 002

Diketahui oleh:

Ketua Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan,

  
  
Prof. Dr. Ir. Tutik Kuswinanti, M.Sc.  
NIP. 19650316 198903 2 002

Tanggal Lulus: 02 Februari 2023

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**Keberadaan Penyakit *Citrus Vein Phloem Degeneration* ('*Candidatus Liberibacter asiaticus*') pada Pertanaman Jeruk Keprok Selayar di Desa Bontona Saluk, Kecamatan Bontomatene, Kabupaten Kepulauan Selayar**


**Disusun dan diajukan oleh:**

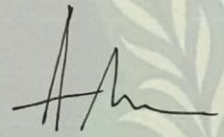
**MUHARSI  
G011 18 1412**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin pada Tanggal, 02 Februari 2023 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan Menyetujui,


**Pembimbing Utama,**

**Pembimbing Pendamping,**

  
**Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Baharuddin**  
NIP. 19601224 198601 1 001

  
**Prof. Dr. Ir. Nur Amin-Dipl. Ing. Agr**  
NIP. 19621202 198702 1 002

Mengetahui,  
**Ketua Program Studi Agroteknologi,**

  
**Dr. Ir Abd Haris B, M.Si.**  
NIP. 19670811 199403 1 003

## DEKLARASI

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul “Keberadaan Penyakit *Citrus Vein Phloem Degeneration* (*Candidatus Liberibacter asiaticus*) Pada Pertanaman Jeruk Keprok Selayar di Desa Bontona Saluk, Kecamatan Bontomatene, Kabupaten Kepulauan Selayar” benar adalah karya saya dengan arahan tim pembimbing, belum pernah diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Saya menyatakan bahwa, semua informasi yang digunakan telah disebutkan di dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka.

Makassar, 28 Februari 2023



Muharsi  
G011181412

## ABSTRAK

**Muharsi (G011 18 1412)** “Keberadaan Penyakit *Citrus Vein Phloem Degeneration* (*Candidatus Liberibacter asiaticus*) Pada Pertanaman Jeruk Keprok Selayar di Desa Bontona Saluk, Kecamatan Bontomatene, Kabupaten Kepulauan Selayar”. Dibimbing oleh **Baharuddin dan Nur Amin**.

Penyakit *Citrus Vein Phloem Degeneration* (CVPD) atau Huanglongbing (HLB) disebabkan oleh bakteri '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' pada umumnya ditularkan oleh vektor *Diaphorina citri* dan penempelan mata tunas. Bakteri ini hidup dalam jaringan floem tanaman jeruk. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan penyakit CVPD dan tingkat serangannya pada pertanaman jeruk keprok Selayar di Kabupaten Kepulauan Selayar dan melakukan konfirmasi ketepatan diagnosisnya menggunakan LAMP (*Loop-mediated isothermal amplification*). Pengamatan dilakukan secara visual pada tanaman jeruk yang menunjukkan gejala khas yaitu terdapat gejala klorosis di antara tulang daun sementara tulang daun masih berwarna hijau terutama pada pucuk daun. Intensitas tanaman yang terserang penyakit CVPD dihitung dalam rumus intensitas serangan. Hasil penelitian diperoleh persentase tanaman yang bergejala CVPD di Desa Bontonasaluk, Kecamatan Bontomatene untuk tanaman umur 1–4 tahun, 5–10 tahun, dan >10 tahun system perbanyakan Biji (Selayar), Selayar-Selayar dan JC-Selayar, intensitas serangan diperoleh dari 4,50% sampai 9,84% intensitas serangan bergejala CVPD yang termasuk dalam gejala ringan. Pengujian teknik LAMP berhasil mendeteksi keberadaan bakteri '*Ca. L. asiaticus*' pada pertanaman jeruk keprok yang ditandai adanya perubahan warna untuk sampel positif mengalami *flouresen* pada sampel 1, 3, 6, 7, 8 dan sampel negatif tidak mengalami *flouresen* pada sampel 2, 4, 5, namun pada ketiga lokasi tidak ditemukan vektor dari CVPD yaitu *Diaphorina citri* selama enam kali pengamatan.

**Kata Kunci:** Jeruk, Vektor, *Citrus Vein Phloem Degeneration* (CVPD), *Loop-mediated isothermal amplificati* (LAMP)

## ABSTRACT

**Muharsi (G011 18 1412)** "The Presence of *Citrus Vein Phloem Degeneration* ('*Candidatus Liberibacter asiaticus*') in Selayar Citrus Plantation in Bontona Saluk Village, Bontomatene District, Selayar Islands Regency". Supervised by **Baharuddin** and **Nur Amin**.

*Citrus Vein Phloem Degeneration* (CVPD) or Huanglongbing (HLB) disease is caused by the bacterium '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' which is generally transmitted by the vector *Diaphorina citri* and bud attachment. This bacterium lives in the phloem tissue of citrus plants. This study aims to determine the presence of CVPD disease and the level of its attack on Selayar citrus plantations in Selayar Islands Regency and to confirm the accuracy of the diagnosis using LAMP (*Loop-mediated isothermal amplification*). Observations were made visually on citrus plants which showed typical symptoms, namely there were symptoms of chlorosis between the leaf veins while the veins were still green, especially on the leaf tips. The intensity of plants attacked by CVPD disease is calculated in the attack intensity formula. The results showed that the percentage of plants with CVPD symptoms in Bontonasaluk Village, Bontomatene District for plants aged 1–4 years, 5–10 years, and >10 years of seed propagation (Selayar), Selayar-Selayar and JC-Selayar, the attack intensity was obtained from 4.50 % to 9.84% intensity of CVPD symptomatic attacks which are included in mild symptoms. The LAMP technique test was successful in detecting the presence of '*Ca. L. asiaticus*' on citrus plantations which was marked by a change in color for the positive samples to experience fluoresen in samples 1,3,6,7,8 and the negative samples did not experience fouresen in samples 2,4,5, but were not found at all three locations vector of CVPD, namely *Diaphorina citri* for six observations.

**Keywords:** Citrus, Vector, *Citrus Vein Phloem Degeneration* (CVPD), *Loop-mediated isothermal amplification* (LAMP)

## PERSANTUNAN

Syukur Alhamdulillah, senantiasa penulis panjatkan kehadiran Allah SWT. Segala puji bagi-Nya, atas berkat rahmat, nikmat, karunia, petunjuk, dan pertolongannya, sehingga setelah melewati perjalanan yang panjang, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Tak lupa pula Sholawat dan salam selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW, sebagai rahmatan lil alamin.

Skripsi yang berjudul “Keberadaan Penyakit *Citrus Vein Phloem Degeneration* (*Candidatus Liberibacter asiaticus*) Pada Pertanaman Jeruk Keprok Selayar di Desa Bontona Saluk, Kecamatan Bontomatene, Kabupaten Kepulauan Selayar” dapat dirangkumkan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi di Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin, Makassar. Tulisan ini dimkasud untuk memberikan informasi bagi pembaca dan dapat menjadi acuan untuk penelitian selanjutnya.

Penulis menyadari bahwasanya penelitian dan penulisan skripsi ini tidak terlepas dari dukungan berbagai pihak. Oleh karena itu, kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya saya sampaikan kepada:

1. Kedua orang tua penulis, ayah **M. Zakariah, S.P.**, ibu Almh **Enceng** yang selalu memberikan yang terbaik, doa, serta dukungan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini. Terima kasih pula kepada saudara saya Ira Irmayanti, Yusran, Hasrul, Yuliani M, Hasbil, Hasriyanti, serta keluarga besar yang telah memberikan support kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
2. **Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Baharuddin**, selaku Dosen Pembimbing utama dan **Prof. Dr. Ir. Nur Amin Dipl. Ing. Agr**, selaku Dosen Pembimbing pendamping saya yang telah memberikan arahan dan masukan positif dalam penelitian serta penyusunan skripsi penulis.
3. **Prof. Dr. Ir. Tutik Kuswinanti, M.Sc., Asman, S.P., M.P dan Dr. Suleha Thamrin, S.P. M.Si** selaku Dosen Penguji yang telah memberi saran dan masukan yang membangun sampai selesainya skripsi ini.
4. **Prof. Dr. Ir. Tutik Kuswinanti, M.Sc**, sebagai ketua Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin, **Dr. Ir. Abdul Haris B, M.Si.**, selaku ketua Prodi Agroteknologi, **Dr. Ir. Tamrin Abdullah, M.Si.**, selaku Pembimbing Akademik yang banyak memberi ilmu kepada penulis, juga bantuan untuk kemudahan administrasi selama perkuliahan.



5. Para peneliti dan staff di Laboratorium Bioteknologi, Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin yang telah memberikan bantuan kepada penulis.
6. Bapak dan Ibu staff Dinas Pertanian dan Katahanan Pangan Kab. Kepulauan Selayar yang memudahkan penulis mencari informasi, arahan dan saran selama penulis di Selayar, serta Pak Rusli staff dinas Penyuluhan Pertanian daerah Bontomatene yang mengarahkan penulis ke lokasi penelitian dan memudahkan penulis dalam mendata isi kusioner petani jeruk keprok, serta saran masukan selama di Selayar
7. Bapak Rusmin, S.Sos., dan Bapak Abdul Wahab yang bersedia memberikan izin penggunaan lahan sebagai penelitian penulis, memudahkan penulis dalam penelitian, memberikan ilmu, pengalaman, sarana, saran dan masukan kepada penulis selama penelitian di Selayar berlangsung.
8. Keluarga besar kak Citra yang bersedia memberikan tempat istirahat, makanan, serta sarana dan prasarana, terima kasih pula menjadi tempat canda dan tawa, saling bertukar cerita dan pengalaman selama di Desa Bontona Saluk. Serta kak Farham yang bersedia mengarahkan penulis pada saat penelitian di Selayar
9. Terima kasih kepada Faranita, S.P yang telah mendampingi penulis selama penelitian di Selayar maupun di Makassar, terima kasih atas bantuan, teman seperbimbingan, teman diskusi, teman canda dan tawa.
10. Terima kasih sebesar-besarnya kepada ketiga kucing tersayang saya, YON, NOY, dan NON yang telah memberikan penyemangat hidup secara batin, semangat hidup, motivasi hidup, terima kasih pula atas tingkah lucu kalian sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
11. Sahabat tercinta yang selalu memberikan semangat dan dukungan penuh, Raodhatul Jannah, Muslihah Icha F, S.P., Andi Rieskha Ramadhani, S.P., Nurul Alami, Aprianti, S.P., Nirmalasari, S.P., Rahmania, Andi Fatmawati, Nuur Amalia Suanto, Reski Rahmayanti, Dzahra Amalia Bogra, Nurul Rahmawati, Nadiah Ulfa Safira, dan Murniati Muslimin yang telah meyempatkan waktu dan ruang untuk keluh dan kesah penulis.
12. Teman-teman seperjuangan seperbimbingan A. Dinda Namirah Sarilla, S.P., Fitya Anggraeni R, S.P., Arfa, Arifah Fitriani Indra Ramadhani, S.P, dan Ara Setya, S.P terimakasih atas semua bantuan serta dukungannya kepada penulis dan selamat berjuang untuk menggapai cita-cita selanjutnya.

13. Teman-teman *Plant Physiologi* memberikan bantuan serta saran kepada penulis mulai awal penelitian sampai dengan selesainya skripsi ini, Moh. Nur Faiz, S.P., Reynaldi Laurenze, S.P., A. Rifai, S.P., Azwan Adhe Putra, S.P., Eka Setiawan, S.Si. M.Si., Febry Zulqoidah, S.P., Yuni Rahmi Utami, S.P., Agus Mappa, S.P., Herlinda Yana Sari, A. Nur Afni, Fitriyanti, dan Andi Nursafitri yang berdedia membantu dan memberikan semangat
14. Kepada keluarga besar H18rida, Diagnos18 dan teman-teman KKN Tamanlanrea 14, terimakasih atas dukungan dan semangatnya, semoga rasa kekeluargaan kita bisa terus berlanjut kedepannya.
15. Seluruh warga Kabupaten Kepulauan Selayar terutama warga Kecamatan Botomatene, Kecamatan Bontoharu, dan Kota Benteng yang memudahkan penulis selama di Selayar.
16. Kepada semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-satu, terimakasih atas doa dan dukungannya hingga skripsi ini bisa terselesaikan.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini jauh dari kata sempurna. Penulis meminta maaf atas kekurangan yang terdapat pada skripsi ini. Semoga skripsi ini bisa bermanfaat untuk masyarakat kedepannya.

Makassar, 28 Februari 2023

Muharsi

NIM. G011 18 1412

## DAFTAR ISI

KEBERADAAN PENYAKIT CITRUS VEIN .	i
KEBERADAAN PENYAKIT CITRUS VEIN.	ii
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI.....	iv
DEKLARASI .....	v
ABSTRAK .....	vi
PERSANTUNAN .....	viii
DAFTAR ISI .....	xi
1 PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan dan Kegunaan .....	3
1.3 Hipotesis .....	3
2. TINJAUAN PUSTAKA .....	4
2.1 Jeruk Keprok ( <i>Citrus reticulata</i> Blanco) .....	4
2.2 <i>Citrus Vein Phloem Degeneration</i> (CVPD) .....	5
2.3 <i>Loop-mediated isothermal Amplification</i> (LAMP).....	10
3. METODOLOGI PENELITIAN .....	14
3.1 Tempat dan Waktu .....	14
3.2 Alat dan Bahan .....	14
3.3 Pelaksanaan Penelitian .....	14
3.3.1 Pengamatan Dan Pengambilan Sampel .....	14
3.3.2 LAMP ( <i>Loop-mediated isothermal Amplification</i> ).....	16
3.3.3 Visualisasi Hasil LAMP .....	16
4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	17
4.1 Hasil.....	17
4.1.1 Karakteristik Gejala CVPD Pada Pertanaman Jeruk Keprok.....	17
4.1.2 Persentase Penyakit CVPD .....	17
4.1.3 Uji <i>Loop-mediated isothermal Amplification</i> (LAMP).....	19
4.1.4 Pengamtan Vektor.....	20

4.2 Pembahasan.....	21
5. PENUTUP .....	25
5.1 Kesimpulan .....	25
5.2 Saran .....	25
DAFTAR PUSTAKA .....	26
LAMPIRAN .....	31

## DAFTAR TABEL

Tabel 3-1. Sistem Perbanyakkan dan Umur Tanaman Jeruk Keprok yang Diamati .....	14
Tabel 3-2. Skor (Nilai Numerik) Intensitas Tanaman Terserang Penyakit CVPD.....	15
Tabel 4-1. Insidensi Tanaman Bergejala pada Berbagai Umur dan Perbanyakkan.....	18
Tabel 4-2. Rata-rata Tingkat Keparahan Tanaman Bergejala CVPD .....	18
Tabel 4-3. Hasil Uji LAMP pada Pertanaman Jeruk Keprok Selayar .....	20
Tabel 4-4. Populasi <i>Diaphorina citri</i> yang Diamati .....	21
Tabel 6-1. Intensitas Serangan CVPD pada Umur1-4 Tahun Perbanyakkan Selayar-Selayar .....	35
Tabel 6-2. Intensitas Serangan CVPD pada Umur1-4 Tahun Perbanyakkan JC-Selayar .....	36
Tabel 6-3. Intensitas Serangan CVPD pada Umur 5-10 Tahun Perbanyakkan Selayar-Selayar .....	36
Tabel 6-4. Intensitas Serangan CVPD pada Umur 5-10 Tahun Perbanyakkan JC-Selayar .....	38
Tabel 6-5. Intensitas Serangan CVPD pada Umur >10 Tahun.....	39
Tabel 6-6. Data Potensi Jeruk Keprok pada Kecamatan Bontomatene .....	40
Tabel 6-7. Data Potensi Jeruk Keprok pada Kecamatan Bontomanai .....	40
Tabel 6-8. Data Potensi Jeruk Keprok pada Kecamatan Benteng .....	40
Tabel 6-9. Data Potensi Jeruk Keprok pada Kecamatan Bontoharu.....	40
Tabel 6-10. Data Potensi Jeruk Keprok pada Kecamatan Bontosikuyu .....	41
Tabel 6-11. Data Potensi Jeruk Keprok pada Kecamatan Pasimasunggu .....	41
Tabel 6-12. Data Potensi Jeruk Keprok pada Kecamatan Pasimarannu .....	41
Tabel 6-13. Data Potensi Jeruk Keprok pada Kecamatan Pasilambena .....	41
Tabel 6-14. Data Potensi Jeruk Keprok pada Kecamatan Pasimasunggu Timur .....	42
Tabel 6-15. Data Potensi Jeruk Keprok pada Kecamatan Buki.....	42
Tabel 6-16. Data Potensi Jeruk Keprok pada Kabupaten Kepulauan Selayar.....	42

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2-1. (a) Tanaman Jeruk Keprok Umur 1-4 Tahun, (b) Tanaman Jeruk Keprok Umur 5-10 Tahun, (c) Tanaman Jeruk Keprok Umur >10 Tahun.....	4
Gambar 2-2. Pucuk Daun yang Menunjukkan Gejala CVPD pada Pertanaman Jeruk Keprok.....	7
Gambar 2-3. Jenis Primer pada LAMP.....	11
Gambar 2-4. Prinsip Kerja LAMP.....	12
Gambar 3-1. Penempatan Perangkat <i>Yellow Trap</i> dan Penggunaan Perangkat Jaring.....	16
Gambar 4-1. Keragaman Gejala Penyakit CVPD pada Pertanaman Jeruk Keprok Selayar.....	17
Gambar 4-2. Sampel Telah di Uji LAMP Sebelum Penyinaran Lampu UV.....	19
Gambar 4-3. Sampel Telah di Uji LAMP Setelah Penyinaran Lampu UV.....	19
Gambar 6-17. Denah Penempatan Pemasangan <i>Yellow Trap</i> Umur 1-4 Tahun.....	43
Gambar 6-18. Denah Penempatan Pemasangan <i>Yellow Trap</i> Umur 5-10 Tahun.....	43
Gambar 6-19. Denah Penempatan Pemasangan <i>Yellow Trap</i> Umur >10 Tahun.....	43
Gambar 6-20. Pembuatan <i>Yellow Trap</i> .....	44
Gambar 6-21. Pemasangan <i>Yellow Trap</i> pada 3 Lokasi.....	44
Gambar 6-22. Penggunaan Perangkat Jaring.....	44
Gambar 6-23. Pengamatan Gejala CVPD di Lokasi Penelitian.....	45
Gambar 6-24. Mencatat Intensitas Serangan pada Pucuk yang Terserang CVPD.....	54
Gambar 6-25. Mengukur Luas Batang dan Luas Daun Tanaman Jeruk Keprok.....	45
Gambar 6-26. Mendata Isi Kusioner Petani Jeruk Keprok.....	46
Gambar 6-27. Pengujian LAMP di Lokasi Penelitian.....	46

# 1. PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Jeruk merupakan salah satu komoditi buah-buahan yang mempunyai peranan penting di pasaran dunia. Saat ini Indonesia merupakan negara pengekspor jeruk terbesar kedua di ASEAN setelah Malaysia. Impor jeruk Indonesia pada tahun 2004 mencapai 94.711.000 ton sedangkan eksportnya hanya sekitar 657.000 ton. Oleh karena itu, pemacuan produksi jeruk nasional akan memiliki urgensi penting karena di samping untuk meningkatkan pendapatan masyarakat, kesempatan kerja, konsumsi buah dan juga meningkatkan devisa ekspor nasional. Impor buah jeruk segar yang terus meningkat, mengindikasikan adanya segmen pasar (konsumen) tertentu yang menghendaki jenis dan mutu buah jeruk prima yang belum bisa dipenuhi produsen dalam negeri (Litbang Kementan, 2009).

Jeruk salah satu komoditas buah terpenting di dunia, dengan produksi pertahun lebih dari 120 juta ton. Pada tahun 2004 luasan produksi jeruk nasional mencapai 70.000 ha dengan produksi sebesar 1.600.000 ton (produktivitas berkisar antara 1725 ton/ha). Di Indonesia, mayoritas jeruk yang ditanam adalah jeruk siam sebanyak 70%, jeruk keprok 20%, dan jeruk lainnya 10%. Program pengembangan jeruk yang dilakukan 10 tahun terakhir mampu mempertahankan posisi Indonesia sebagai produsen jeruk dunia untuk jenis keprok dan siam (Balitjestro, 2021). Produksi jeruk siam/keprok di Indonesia sebagian besar berasal dari Sumatera Utara dan Jawa Timur, sedangkan produksi jeruk besar sebagian besar berasal dari Sulawesi Selatan dan Jawa Timur. Saat ini total area tanaman jeruk di Indonesia lebih dari 57.000 hektar, nilai impor jeruk Indonesia setara dengan kebun jeruk 4.000 hektar (BPS, 2020).

Jeruk keprok Selayar merupakan salah satu komoditas hortikultura unggulan dan spesifik daerah Sulawesi Selatan. Tanaman ini sudah lama diusahakan oleh petani dengan keuntungan usaha tani yang cukup tinggi, B/C 5,70 (Taufik *et al.*, 2000 dalam Hatta *et al.*, 2003). Jeruk diintroduksi ke Pulau Selayar pada tahun 1925 (Roesmiyanto dan Hutagalung 1989 dalam Hatta *et al.*, 2003). Jeruk keprok Selayar merupakan komoditas primadona bagi petani setempat. Pertanaman jeruk tersebar di daratan Pulau Selayar terutama di Kecamatan Bontoharu, Bontomatene, dan Bontosikuyu. Baharuddin *et al.*, (2001) dalam Hatta *et al.*, (2003) melaporkan bahwa terdapat 125 pohon jeruk di Kelurahan Batang Matasapo, Kecamatan Bontomatene, dan di Desa Polebunging, Kecamatan Bontomarannu yang

terserang penyakit *Citrus Vein Phloem Degeneration* (CVPD), baik yang ringan maupun yang berat, namun serangga penularnya yaitu *Diaphorina citri* Kuway belum ditemukan.

*Citrus Vein Phloem Degeneration* (CVPD) merupakan salah satu penyebab fluktuasi produksi jeruk keprok Selayar. Gejala penyakit CVPD yaitu klorosis atau daunnya menguning, warna tulang daun menjadi hijau tua, daunnya lebih tebal, kaku dan ukurannya menjadi lebih kecil (Wijaya, 2003). Menurut Meitayani *et al.*, (2014), gejala serangan penyakit CVPD pada daun tanaman jeruk Selayar yang menunjukkan gejala klorosis. Menurut Nurhayati *et al.*, (2016), kandungan klorofil daun tanaman jeruk 47,06 SPAD dapat digunakan sebagai dasar untuk mendiagnosa penyakit CVPD pada tanaman jeruk, serta menurut Himawan *et al.* (2010), gejala klorosis pada daun jeruk yang terserang CVPD dikelompokkan menjadi delapan tipe klorosis.

Hasil penelitian Farham (2021), yang menunjukkan bahwa insidensi tanaman yang bergejala CVPD pada pembibitan sebesar 21%, Selayar – Selayar (S-S) sebesar 13%, dan JC– Selayar (JC–S) 10%. Persentase bibit jeruk yang bergejala CVPD di 2 pembibitan adalah 0.27% dan 0.09%, namun setelah dideteksi menggunakan PCR bahwa hasil amplifikasi PCR tidak berhasil mendeteksi keberadaan CVPD dan tidak ditemukan vektor dari CVPD (*Diaphorina citri*) di lokasi sumber batang bawah maupun di pembibitan. Maka dari itu penelitian ini menggunakan metode yang berbeda yaitu metode LAMP untuk mendeteksi keberadaan CVPD pada jeruk keprok Selayar.

Deteksi dan identifikasi bakteri penyebab CVPD menggunakan alat deteksi cepat HLB (rapid test HLB) yang dikembangkan dengan platform LAMP (*Loop-mediated isothermal Amplification*) yang merupakan metode yang dapat mengamplifikasi DNA untai ganda pada kondisi isothermal dengan alat sederhana. Rapid test ini terdiri dari 3 komponen yang dikemas dalam kemasan kedap udara yang terdiri buffer ekstraksi DNA, campuran reaksi LAMP dalam bentuk baku kering, *buffer reconstitute*. Kondisi isothermal dimungkinkan karena pada suhu sekitar 65°C, DNA untai ganda berada dalam kesetimbangan dinamis sehingga memungkinkan salah satu primer untuk berhibridisasi dengan sekuens komplementernya, lalu menginisiasi terjadinya sintesis DNA. Metode ini merupakan metode amplifikasi DNA yang simpel, cepat, spesifik dan sebagai alat diagnosis karena banyak keunggulannya dibandingkan dengan metode amplifikasi gen lainnya seperti PCR atau RTPCR karena proses amplifikasi dan deteksi gen dapat dilakukan hanya dalam satu suhu (65°C) (Deguo *et al.*, 2008). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan dan intensitas penyakit CVPD serta mendeteksi penyakit CVPD dengan menggunakan reaksi LAMP pada beberapa sampel.



## **1.2 Tujuan dan Kegunaan**

Penelitian bertujuan untuk mendeteksi secara dini keberadaan penyakit CVPD serta persentase tanaman jeruk yang terserang CVPD dan intensitas kerusakan tanaman yang terserang CVPD pada jeruk di Kabupaten Kepulauan Selayar. Kegunaannya adalah untuk membantu masyarakat dalam mengenal secara dini penyakit CVPD dan membantu Petugas Pengendali Organisme Tumbuhan (POPT) dalam pengembangan jeruk keprok Selayar.

## **1.3 Hipotesis**

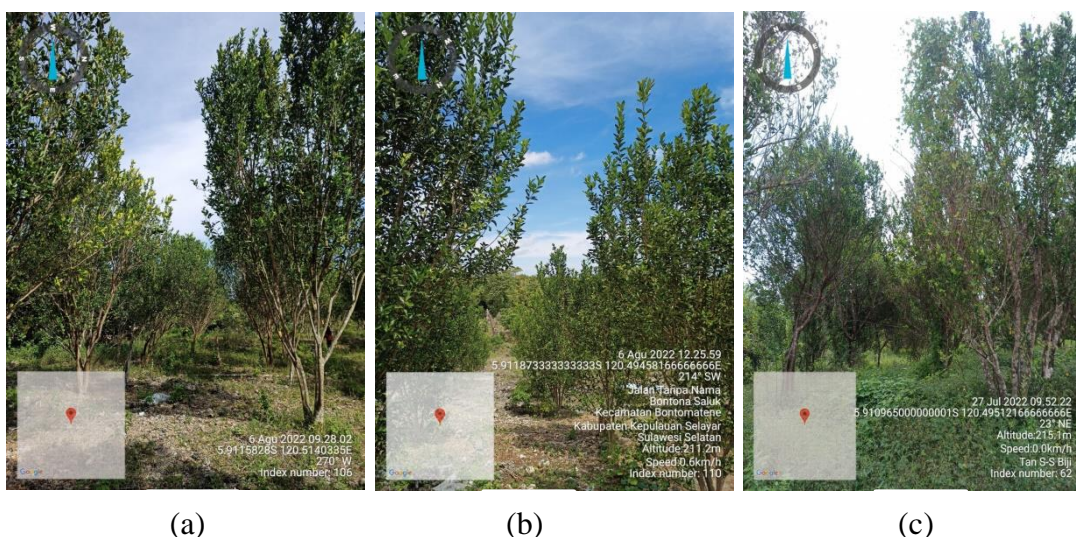
Diduga terdapat penyakit CVPD (*Citrus Vein Phloem Degeneration*) pada pertanaman jeruk keprok Selayar dan adanya vektor pada pertanaman jeruk keprok Selayar.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Jeruk Keprok (*Citrus reticulata* Blanco)

Jeruk merupakan salah satu komoditas hortikultura yang mendapat prioritas untuk dikembangkan, karena usaha taninya memberikan keuntungan yang tinggi sehingga dijadikan sumber pendapatan petani. Di samping itu, jeruk merupakan buah yang banyak digemari masyarakat baik sebagai buah segar maupun dalam bentuk olahan (Ariaty, 2013). Salah satu jenis jeruk lokal yang dibudidayakan di Indonesia adalah jeruk keprok. Jeruk keprok (*Citrus reticulata* Blanco) merupakan salah satu jeruk unggul Indonesia yang telah ditetapkan sebagai Perbanyakan unggul nasional dan sebagai jeruk substitusi impor, khususnya untuk jenis mandarin (Yulianti, 2010). Beberapa jenis jeruk keprok yang sampai saat ini masih banyak diusahakan petani secara besar-besaran adalah jeruk keprok Siam, Keprok Garut, Keprok Punten, Keprok Tejakula, Keprok Madura, dan Keprok Selayar (Sudirman dan Basri, 2013).

Jeruk keprok Selayar merupakan salah satu komoditas hortikultura dan spesifik daerah Sulawesi Selatan. Tanaman ini sudah lama diusahakan oleh petani dengan keuntungan usaha tani yang cukup menguntungkan. Jeruk keprok Selayar diintroduksi ke Pulau Selayar pada tahun 1925 (Hatta *et al.*, 2003). Pertanaman jeruk keprok Selayar tersebar terutama di Kecamatan Bontoharu, Bontomatene, Bontomanai dan Bontosikuyu yang berada pada ketinggian 50-200 m dpl dengan keadaan tanah berbatu karang (Ariaty, 2013).



**Gambar 2-1.** (a) Tanaman Jeruk Keprok Umur 1-4 Tahun, (b) Tanaman Jeruk Keprok Umur 5-10 Tahun, (c) Tanaman Jeruk Keprok Umur >10 Tahun (Sumber: Dokumentasi Pribadi)

Pada umumnya, tanaman jeruk keprok yang berasal dari biji memiliki duri dan batangnya mengeluarkan aroma khas jeruk keprok Selayar, sedangkan pada tanaman sumber batang bawah S-S dan JC-S tidak memiliki duri. Batangnya bulat atau setengah bulat. Rantingnya berkisaran 10-30 ranting. Jeruk keprok memiliki daun yang berbentuk bulat telur memanjang, elips, atau lanset. Permukaan daun atas berwarna hijau tua mengkilat dan permukaan daun bawah berwarna hijau muda. Panjang daun jeruk keprok sekitar 4-8 cm dengan lebar 1,5-4 cm. Tangkai daun bersayap sangat sempit sampai dikatakan tidak bersayap (Hidayat, 2020).

Tanaman jeruk keprok menghendaki temperatur atau suhu optimal antara 25-30°C namun ada yang masih dapat tumbuh normal pada 38°C. Tanaman Jeruk keprok memerlukan 5-6, 6-7 atau 9 bulan basah. Bulan basah ini diperlukan untuk perkembangan bunga dan buah agar tanahnya tetap lembab. Semua jenis jeruk tidak menyukai tempat yang terlindung dari sinar matahari. Kelembaban optimum yang dikehendaki tanaman jeruk keprok untuk pertumbuhannya sekitar 70-80% (Dinas Pertanian Yogyakarta, 2021).

Tanah yang baik untuk tanaman jeruk adalah lempung sampai lempung berpasir dengan fraksi liat 7 - 27%, debu 25 - 50% dan pasir < 50%, cukup humus. Tanaman jeruk keprok menghendaki tata air dan udara tanah yang baik dengan tingkat kemasaman (pH) tanah berkisar antara 5,5-6,5 dengan pH optimum 6. Tanaman jeruk keprok dapat tumbuh dengan baik di daerah yang memiliki kemiringan sekitar 30° (BPTP Riau, 2021).

## **2.2 Citrus Vein Floem Degeneration (CVPD)**

Penyakit Huanglongbing (HLB) atau *Citrus Vein Floem Degeneration* (CVPD) merupakan penyakit yang sangat merugikan pada tanaman jeruk dan menimbulkan kerusakan pada tanaman bahkan dapat mengakibatkan tanaman kehilangan hasil dan mengakibatkan tanaman mati dalam kurun waktu 1-2 tahun (Sritamin, 2007). Penyakit *Citrus Vein Floem Degeneration* (CVPD) tergolong salah satu penyakit penting pada tanaman jeruk yang telah berkembang luas dan menjadi kendala utama usaha pengembangan dan peningkatan produksi tanaman jeruk (Wijaya, 2007).

Penyakit *Citrus Vein Floem Degeneration* (CVPD) disebabkan oleh bakteri ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ (‘*Ca. L. asiaticus*’) yang bergram negatif (Taufik *et al.*, 2010). Bakteri ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ hidup dalam pembuluh angkut floem tanaman jeruk yang menimbulkan gejala yang khas. Penularan penyakit CVPD dilakukan oleh serangga vektor *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae). Penyebaran atau penularan penyakit CVPD di alam tergantung pada jumlah kepadatan populasi *Diaphorina citri* sebagai serangga vektor dan

keberadaan sumber inokulum. Selain melalui vektor *Diaphorina citri*, penyakit CVPD juga dapat menular melalui bibit terinfeksi. Bibit jeruk yang tampak sehat dapat mengandung penyakit patogen CVPD, karena masa inkubasi pathogen CVPD dalam tanaman inang berkisar tiga sampai lima bulan, sehingga diperlukan cara yang tepat dan cepat untuk mendeteksi keberadaan patogen CVPD pada bibit jeruk (Wijaya, 2007).

Perkembangan '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' ('*Ca. L. asiaticus*') dalam tubuh tanaman akan berjalan cepat pada tanaman yang berada pada kondisi mikrolimat yang ideal bagi proses fisiologinya. Dari proses salivasi ketika *Diaphorina citri* menghisap tanaman dari tunas muda, bakteri akan dengan mudah tersebar ke seluruh bagian tubuh tanaman melalui pembuluh floem. Keadaan ini mengakibatkan gejala penyakit Huanglongbing (HLB) di dateran rendah sangat beragam mulai mosaik di daun, gangguan perakran hingga meranggasnya tanaman yang mengakibatkan gugurnya daun, gagalnya pembungaan dan gangguan pada translokasi fotosintat untuk mendukung pembuahan pada tanaman jeruk keprok (Gunadi, 2016)

Bakteri CVPD yang ditularkan oleh vektor *Diaphorina citri*, penularan terjadi pada waktu tanaman membentuk kuncup. Serangga ini dapat menularkan CVPD ke tanaman sehat setelah menghisap tanaman sakit selama 48 jam, lalu menghisap tanaman sehat selama 360 jam. Perpindahan serangga vektor ini dari tanaman sakit ke tanaman sehat lambat karena umur tanaman. Perpindahan yang cepat dan mencapai area yang luas biasanya di bantu oleh angin (Ardiana, 2008).

Penyebab penyakit CVPD awalnya diperkirakan adalah virus. Sejalan dengan perkembangan penguasaan ilmu dan teknologi serta penelitian lebih lanjut tentang penyebab penyakit CVPD, diketahui bahwa penyebab penyakit CVPD adalah bakteri. Berdasarkan analogi terhadap MLO (*Mycoplasma-like organisme*), penyebab CVPD disebut BLO (*Bacterium like organism*). Kondisi lingkungan pertanaman jeruk di Indonesia yang beragam, diduga dapat menyebabkan mutasi dan variasi genetik pada bekteri CVPD, karena mutasi dan variasi genetik pada makhluk hidup dapat dipengaruhi lingkungan. Gejala khas CVPD dalam memiliki yaitu gejala luar dan gejala dalam. Gejala dalam yaitu pada tanaman muda gejala yang nampak adalah adanya kuncup yang berkembang lambat, pertumbuhannya mencuat keatas dengan daun-daun klorosis, tegak dan kaku. Daun tersebut menunjukkan gejala tulang daun berwarna hijau tua dan lamina daun menguning (Saputra, 2016).



**Gambar 2-2.** Pucuk Daun Yang Menunjukkan Gejala CVPD Pada Pertanaman Jeruk Keprok  
(Sumber: Dokumentasi Pribadi)

Pada tanaman yang telah berproduksi gejala yaitu buah menjadi kecil, tidak simetris, banyak buah jatuh secara prematur, terkadang warna kuning orange pada bagian dekat tungkai karena perkembangan warna buah dimulai dari ujung pedunculus, sedangkan pada perkembangan normal dari ujung *stylar* (Garnier dan Bove, 1993). Seringkali ujung *stylar* tetap hijau atau keseluruhan buah tetap hijau pucat, oleh karena itu dikatakan *greening* (Gottwald, 2010). Biji buah tanaman terserang CVPD mengalami *abortus* (Planck, 1999) dan rasa buahnya masam karena pada keasaman lebih tinggi dan kadar gula lebih rendah (Kapur *et al*, 1970 dalam Graca 1991)

Untuk mengendalikan penyakit CVPD, diperlukan konsep PHT yang memanfaatkan beberapa teknik pengendalian yang dapat dipergunakan secara terpadu untuk pengendalian CVPD sampai tingkat yang tidak menimbulkan kerugian secara ekonomi, manusia dan lingkungan. Komponen – komponen pengendalian yang dapat diaplikasikan

1. Penanaman bibit jeruk bebas CVPD

Penanaman bibit jeruk bebas CVPD merupakan syarat mutlak agar usaha penanaman jeruk berhasil dengan baik. Bibit jeruk bebas CVPD merupakan bibit yang selama proses produksinya dijamin bebas CVPD. Bibit dapat tetap bebas CVPD apabila ditanam pada lahan bebas CPD, maka proses penyiapan lahan merupakan faktor penting untuk pertumbuhan jeruk yang optimal dan sehat.

Usaha yang dilakukan petani jeruk untuk mendapatkan bibit jeruk yang bebas CVPD :

- a) Pembuatan bibit dilakukan dalam rumah kaca (*Screen House*), sehingga terhindar dari masuknya serangga vektor *D. citri* ke dalam pembibitan

- b) Mata tunas yang diambil dari pohon induk dapat diberi perlakuan dengan perendaman selama 20-30 menit dalam larutan antibiotik seperti : ampicilin, tetrasiklin (1.000 ppm), karbenisilin, atau kanamisin, masing – masing dengan konsentrasi 1.000 ppm;
- c) Penggunaan tanaman batang bawah yang tahan CVPD seperti : jeruk kinkit (*Triphacia trifoliata*); jeruk karatachi (*Poncirus trifolia*), jeruk nipis tanpa biji, lemon Tahiti (Tahiti Lime) dapat dianjurkan, karena batang bawah akan menginduksi ketahanan tanaman terhadap CVPD;
- d) Pengendalian CVPD menggunakan tanaman jeruk transgenik yang membawa gen untuk ketahanan terhadap CVPD. Wirawan (2000) telah berhasil mengklon gen ketahanan terhadap CVPD (gen CVPD) yang diisolasi dari tanaman jeruk kinkit dan gen ya hololog juga ditemukan tanaman *P. trifolia*. Klon gen ini pada plasmid vektor diberi nama pWR27 dan telah didaftarkan hak patennya di Ditjen HKI melalui Program Oleh Paten. Tanaman jeruk transgenik yang membawa gen CVPDr telah dihasilkan menggunakan metode transformasi genetik dengan vektor *Agrobacterium rumefaciens*.

## 2. Budidaya tanaman sehat

Tanaman yang sehat akan lebih bertahan terhadap serangan penyakit dan lebih cepat mengatasi kerusakan dengan proses penyembuhan fisiologis. Usaha budidaya tanaman sejak pemilihan bibit tanaman, penanaman, pemeliharaan tanaman (pemupukan dan pengendalian OPT) merupakan hal penting untuk dilakukan. Lakukan pemupukan dengan pupuk kandang (gunakan pupuk kandang matang) pada tanaman yang bergejala ringan, setelah bagian tanaman yang bergejala dipangkas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tunas – tunas muda dapat tumbuh sehat setelah tanaman dipangkas dan dipupuk, perlakuan berhasil pada tanaman dengan tingkat serangan ringan. Penyiraman air pada musim kering sangat membantu menunjang kesehatan tanaman. Ke depan pengendalian secara bio-molekular akan banyak dilakukan seperti penggunaan antibodi, vaksin, atau enzim yang dapat mendegradasi senyawa virulen yang dihasilkan bakteri CVPD.

## 3. Pemantauan tanaman bergejala CVPD

Tujuan pemantauan untuk menganalisis ekosistem dan mengetahui serangan CVPD, sebagai peringatan dini dan penentuan kegiatan pengendalian tahap awal. Gejala serangan CVPD mesti diketahui dengan baik, pengamatan perlu dilakukan rutin. Jika ditemukan ada ranting tanaman yang terserang segera dilakukan pemangkasan pada bagian tergejala. Bagian tanaman dipotong dapat ditanam di tanah (karena bakteri penyebab CVPD tidak menular melalui tanah) atau dibakar. Hasil penelitian Wijaya (2003) menunjukkan bahwa seekor serangga dewasa *D. citri* mampu menularkan CVPD

dan patogen CVPD bersifat persisten dalam tubuh serangga. Sifat persisten itu menunjang cepatnya proses penularan CVPD.

#### 4. Eradikasi tanaman terserang

Eradikasi jeruk yang terserang CVPD merupakan upaya untuk menghilangkan tanaman sakit baik jeruk sebagai tanaman utama maupun tanaman famili Rutaceae lainnya seperti kemuning (*Murraya paniculata*). Hasil penelitian Wijaya (2003), melaporkan bahwa tanaman kemuning yang disukai *D. citri* menunjukkan reaksi positif terhadap keberadaan patogen CVPD. Tanaman kemuning dapat berperan sebagai sumber infeksi, sehingga keberadaannya di daerah endemis CVPD harus dieradikasi.

#### 5. Pengendalian serangga vektor

Sampai saat ini *D. citri* merupakan serangga yang menularkan CVPD, sehingga keberadaan *D. citri* di pertanaman jeruk harus mendapat perhatian serius. Patogen CVPD bersifat persisten dalam tubuh serangga, sehingga populasinya harus dipertahankan serendah mungkin setiap saat. Apabila populasinya di atas ambang ekonomi maka segera dikendalikan dengan metode seperti di atas. Keberadaan serangga – serangga lain yang berasosiasi dengan tanaman jeruk juga perlu dideteksi karena tidak menutup kemungkinan dapat berperan sebagai vektor penyakit CVPD. Pengendalian serangga vektor *D. citri* dapat dilakukan sebagai berikut; Pemantauan fluktuasi populasi *D. citri*, Pola pertunasan tanaman sebagai indikator peramalan fluktuasi populasi *D. citri*, Pelepasan musuh alami ke daerah serangan, Tanaman pembatas, Penggunaan insektisida

#### 6. Karantina

Pengawasan ketat terhadap pengangkutan bibit di dalam maupun antar pulau oleh petugas karantina dan pemerintah daerah harus terus ditingkatkan. Upaya ini untuk mencegah penyebaran CVPD terutama ke daerah yang masih bebas CVPD. Peraturan Pemerintah tentang pengangkutan tanaman dan atau bibit tanaman jeruk untuk mencegah penyebaran CVPD, harus dipatuhi oleh setiap orang atau Badan Hukum Indonesia dan harus dilaksanakan secara konsekuen oleh aparat pengawasan karantina, Pemerintah Daerah dan UPTD Balai Pengawasan dan Sertifikasi Benih (BPSB) Provinsi. Keterpaduan aparat yang melibatkan berbagai instansi dalam pengendalian CVPD sangat diperlukan. Pembinaan secara langsung kepada kelompok – kelompok tani harus terus ditingkatkan sehingga petani mampu dan berkomitmen untuk mampu melaksanakan usaha pengendalian CVPD baik secara perorangan maupun secara kelompok.

### 2.3 Loop-mediated isothermal Amplification (LAMP)

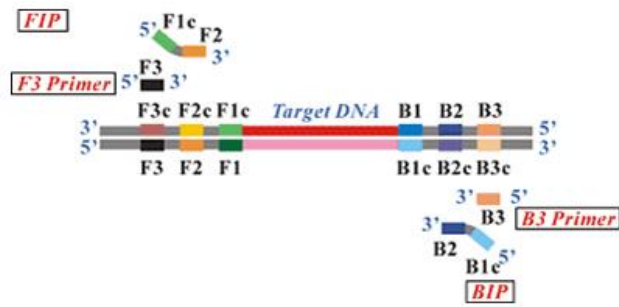
Mendeteksi keberadaan penyakit CVPD salah satunya dengan menggunakan metode LAMP. *Loop-mediated isothermal amplification* (LAMP) adalah teknik amplifikasi DNA yang mengamplifikasi DNA dengan spesifisitas, efisiensi, dan kecepatan tinggi dalam kondisi isothermal. LAMP didasarkan pada prinsip sintesis DNA perpindahan untai autocycling yang dilakukan oleh Bst DNA polymerase. Enzim ini di produksi dari bakteri *Bacillus stearothermophilus* merupakan bakteri thermofilik, untuk mendeteksi sekuens DNA tertentu. Teknik ini dapat dilakukan di bawah kondisi isothermal berkisar antara 60°C sampai 65°C menghasilkan sejumlah besar DNA (Okuda *et al.*, 2005 dalam Rigano *et al.*, 2014).

Setelah ditemukan sekuens gen target maka dilakukan langkah untuk mendesain primer LAMP dengan bantuan program PrimerExplorer V4, kemudian program tersebut akan menghasilkan beberapa pilihan primer, setelah dikonfirmasi didapatkan primer LAMP yang disarankan oleh program tersebut. Primer yang digunakan adalah empat buah primer, yaitu primer F3 5'-CGGCATTTTGCCTTCCTGT-3' (19 basa), primer B3 5'-CGACCGAGTTGCTCTTGC-3' (18 basa), primer FIP 5'-ACTCGTGCACCCAACCTGATCTT TTTGCTCACCCAGAAACGC-3' (41 basa), dan primer BIP 5'-ATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCG GGGATAATACCGCACCACAT-3' (42 basa) (Wilopo *et al.*, 2015)

Reaksi LAMP dengan total mengandung volume 25 µL terdiri atas 2,5 µL isothermal amplification buffer 10x; 3,5 µL dNTP Mix 10 mM; 2 µL MgCl<sub>2</sub> 50 mM; 2,5 µL primer F3 2 µM; 2,5 µL primer B3 2 µM; 2,5 µL primer FIP 16 µM; 2,5 µL primer BIP 16 µM; 1 µL Bst 2.0 (8.000 U/mL); 5 µL akuades steril dan 1 µL sampel. Kondisi reaksi LAMP adalah 30-60 menit pada suhu 63<sup>0</sup>C-65°C yang diakhiri dengan penghentian reaksi pada suhu 80°C selama 2 menit. Proses amplifikasi DNA dengan LAMP dapat menggunakan alat thermocycler ataupun penangas air dengan hasil yang sama (Wilopo *et al.*, 2015)

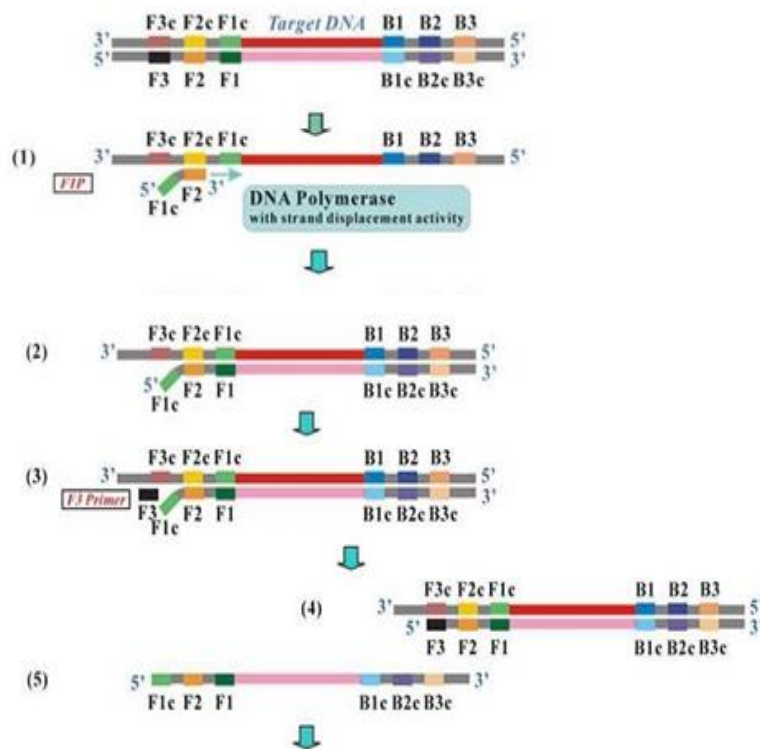
Prinsip kerja Metode LAMP mengamplifikasi fragmen DNA melalui mekanisme sintesis dan pemisahan rantai DNA secara otomatis yang dilakukan oleh enzim DNA polimerase dan 4 buah primer yang mengenal 6 daerah spesifik, dengan 3 daerah di masing-masing ujung fragmen DNA-nya. Forward inner primer (FIP) terdiri atas sekuens komplementer F1 di ujung 5', linker TTTT dan sekuens F2 di ujung 3'. Forward outer primer (F3) merupakan sekuens F3. Backward inner primer (BIP) terdiri atas sekuens komplementer B1 di ujung 5', linker TTTT dan sekuens B2 di ujung 3'. Backward outer primer (B3) merupakan sekuens B3 (Gambar 2-3) Notomi *et al.*, 2000.

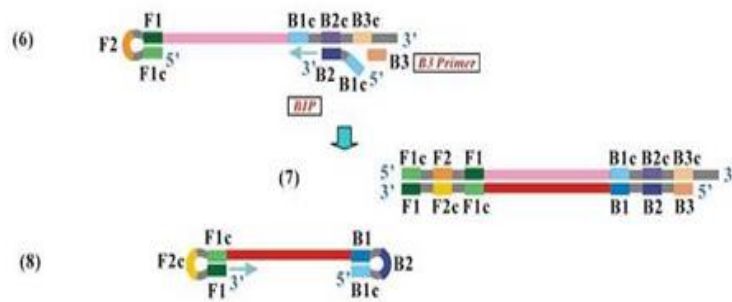




**Gambar 2-3.** Jenis Primer pada LAMP (Sumber: Notomi *et al.*, 2000).

Reaksi LAMP terdiri atas tahapan produksi material awal berupa struktur dumb-bell (starting material producing step), tahapan amplifikasi siklus (cycling amplification step) dan tahapan perpanjangan dan siklus berulang (elongation and recycling step). Reaksi pada produksi material awal merupakan tahapan yang kritis untuk keberhasilan reaksi LAMP (Gambar 2-4)





**Gambar 2-4.** Prinsip Kerja LAMP (Sumber: Notomi *et al.*, 2000).

Bagian F2 dari FIP akan menempel pada bagian F2c dari DNA template (1) dan akan dilanjutkan dengan perpanjangan DNA ke arah 3' (2). Selanjutnya *Forward outer primer* (F3) akan menempel pada sekuen F3c dari template DNA dan dilanjutkan dengan perpanjangan DNA (3). Perpanjangan ini akan menyebabkan terlepasnya rantai DNA hasil perpanjangan dari primer FIP (5). Rantai DNA yang lepas akan membentuk loop pada ujung 5' yaitu dengan hibridisasi bagian F1 hasil polimerisasi dengan F1c dari primer FIP (6). Sementara perpanjangan dari primer BIP dan pelepasannya oleh reaksi polimerisasi dari primer B3. Utas rantai yang terlepas akan menghasilkan loop karena hibridisasi B1 pada B1c dan pada ujung yang lain terbentuk loop karena hibridisasi F1 pada F1c, sehingga membentuk struktur *dumb bell* (8). Struktur terakhir ini akan digunakan sebagai bahan utama pada tahapan amplifikasi berikutnya dengan primer FIP dan BIP. Reaksi ini akan menghasilkan beberapa bentuk struktur DNA dengan ukuran yang berbeda-beda (Notomi *et al.*, 2000)

Reaksi LAMP pada umumnya dilakukan selama 1 jam, bahkan reaksi positifnya bisa terlihat pada menit ke-40 (El-Matbouli & Soliman, 2005) atau ke-45 (Gunimaladevi *et al.*, 2005) yang diamati dengan agarose elektroforesis; dan menggunakan pengamatan real time terhadap turbiditasnya (Thai *et al.*, 2004). Reaksi positifnya bisa dilihat secara langsung dari tube dan tidak memerlukan elektroforesis pada agarose. Teknik LAMP mempunyai kelebihan dapat mendeteksi keberadaan DNA atau RNA target dalam jumlah sangat rendah (Gunimaladevi *et al.*, 2005).

LAMP telah berhasil digunakan untuk mendeteksi *Liberibacter solanacearum* (Ravindran *et al.*, 2012), *Erwinia amylovora* (Temple dan Johnson, 2011), *Tylenchulus semipenetrans* (Song *et al.*, 2017), Viroid umbi spindle kentang (Lenarcic *et al.*, 2013), penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum* (Kubota *et al.*, 2008), kanker jeruk yang disebabkan oleh *Xanthomonas citri* (Rigano *et al.*, 2010) dan Virus Mosaik Streak Gandum (Lee *et al.*, 2015). Metode LAMP memiliki keuntungan tidak memerlukan

*thermocycler* untuk amplifikasi atau elektroforesis gel agarosa untuk resolusi tetapi dapat dilakukan menggunakan *heat block* atau *waterbath*.

Beberapa kelebihan metode LAMP antara lain: 1) memanfaatkan suhu tetap dan dapat dilakukan dengan penangas air dan atau pelat pemanas (*heating block*), 2) teknik pemeriksaan dan pengamatan hasil mudah dan sederhana, 3) mempunyai spesifisitas tinggi dengan menggunakan 4 atau 6 primer sehingga dapat mengenali 6 atau 8 sekuen nukleotida yang berbeda, 4) membutuhkan waktu yang cepat sekitar 30 sampai 60 menit (4-5 jam untuk PCR, dari awal amplifikasi sampai hasil analisis), dan 5) mempunyai sensitivitas sangat tinggi karena mampu mengamplifikasi DNA  $10^9$  hingga  $10^{10}$  kali dalam waktu 15 menit sampai 60 menit. Amplifikasi dapat dideteksi melalui keberadaan produk amplifikasi (Mori *et al.*, 2001).

Metode LAMP tidak memerlukan peralatan mahal seperti metode PCR lainnya dan produknya dapat di amplifikasi menggunakan suhu konstan tunggal. Metode LAMP ini menunjukkan hasil yang bagus sebagai metode yang andal, cepat, dan hemat biaya untuk mendeteksi Patogen pada jeruk dan dapat diterapkan dimana diperlukan diagnosis yang cepat seperti di lapangan (Choi *et al.*, 2018).