

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pengendalian penyakit kuning keriting pada tanaman cabai biasanya dilakukan dengan penggunaan benih yang berkualitas, persemaian yang benar, perawatan tanaman muda, pengolahan tanah dan pemupukan berimbang, penggunaan mulsa plastik hitam perak, penanaman tanaman penghadang, sanitasi dan pencabutan tanaman sakit (Morales dan Anderson, 2001). Pengendalian lain dapat dilakukan melalui memberantas serangga yang menjadi pembawa virus gemini menggunakan insektisida kimia. Namun, dosis yang digunakan seringkali lebih tinggi dari formulasi yang direkomendasikan, sehingga menyebabkan resistensi pada vektor (Vidavski, 2007).

Pengembangan varietas tahan virus gemini adalah salah satu alternatif yang dapat digunakan oleh petani cabai. Seleksi dan persilangan adalah metode umum yang digunakan untuk menghasilkan varietas tahan tersebut, namun upaya tersebut membutuhkan waktu yang lama serta lahan dan biaya yang besar sampai mendapatkan varietas yang diinginkan tersebut.

Metode untuk menghasilkan varietas tahan virus Gemini antara lain dapat dilakukan melalui proses mutasi menggunakan metode *genom editing*. Metode tersebut dapat merubah DNA secara spesifik dan terarah. Adatiga metode *editing* yang telah direkomendasikan, yaitu; *Zinc Finger Nucleases* (ZFN) (Mani *et al.*, 2005), *Transcription Activator-Like Effector Nucleases* (TALEN) (Beumer *et al.*, 2013) dan *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat* (CRISPR) (Xie dan Yang, 2013). ZFN dan TALEN memiliki mekanisme mutasi DNA yang sama yaitu menggunakan 2 protein nuklease yang memotong pada kedua pita DNA (Caia *et al.*, 2014). Metode CRISPR hanya menggunakan satu protein nuklease yang dapat memotong di dua sisi pita ganda DNA dan menghasilkan mutasi lebih efisien. ZFN dan TALEN menggunakan protein faktor transkripsi untuk mengarahkan mutasi, sedangkan CRISPR menggunakan *guide RNA* (gRNA) yang secara struktur molekul lebih sederhana dan mudah untuk dirancang serta disintesis.

Telah banyak penelitian yang menguji efektifitas metode CRISPR pada tanaman diantaranya tanaman tomat (Li *et al.*, 2018), kentang (Butler *et al.*, 2016),

pisang (Tripathi *et al.*, 2019), tembakau, beras, Arabidopsis dan sorgum (Jiang *et al.*, 2013). Baltes *et al.* (2015) telah berhasil mendapatkan tembakau yang tahan *geminivirus* dengan cara *knock off* pada gen *Intergenic Region* (IR), *Rep Binding Site* (RBS), motif I, II dan III dari domain gen *Rep*. Berdasarkan hasil penelitian tersebut tanaman mutan IR diketahui memiliki gejala infeksi yang rendah setelah diinfeksi virus. Hal tersebut menunjukkan bahwa mutasi pada IR menurunkan level ekspresi dari *geminivirus* pada tanaman. Kong dan Hanley-Bowdoin, (2002) menyatakan bahwa IR berfungsi sebagai pengikatan protein inisiasi replikasi virus, sehingga jika terjadi mutasi dapat mengganggu proses replikasi virus.

Mutasi sekuen IR menyebabkan kegagalan replikasi *geminivirus*, sehingga mengganggu proses perbanyakan *geminivirus* dalam inang. Telah banyak penelitian yang menguji efektifitas mutasi CRISPR/Cas9 pada tanaman. Namun, memiliki kendala pada kompatibilitas plasmid yang digunakan ke tanaman. Untuk mendapatkan plasmid yang kompatibel, maka dilakukan penelitian mengenai **Konstruksi pBI121 Pembawa Fragmen gRNA sebagai Gen Target untuk Sistem CRISPR/Cas9.**

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah konstruksi pBI121 pembawa fragmen gRNA berhasil dilakukan?
2. Apakah metode transformasi yang tepat digunakan dalam menghasilkan konstruksi pBI121 pembawa fragmen gRNA?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konstruksi plasmid pBI121 yang membawa fragmen gRNA untuk sistem CRISPR/Cas9 pada tanaman.

D. Hipotesis Penelitian

Konstruksi pBI121 pembawa fragmen gRNA sebagai gen target untuk sistem CRISPR/Cas9 berhasil dilakukan.

E. Manfaat Penelitian

Didapatkan konstruksi plasmid pBI121 yang siap untuk digunakan dalam teknologi CRISPR/Cas9 pada tanaman, sehingga diharapkan dapat digunakan dalam peningkatan resistensi tanaman cabai terhadap infeksi *geminivirus*.

