



Meningkatkan Ketahanan Kelapa Sawit terhadap Fungi *Ganoderma Boninense* melalui *Gene-editing* CRISPR/Cas9 System

Prof. Dr. Iman Permana M., M.Si

Anggota:

- Dr. Erni Suminar
- Endah Yulia, SP.,MSc.,Ph.D.
- Dr. Mira Ariyanti, SP., MP
- Taufik Ramdani M. Biotek



TUJUAN PROJECT

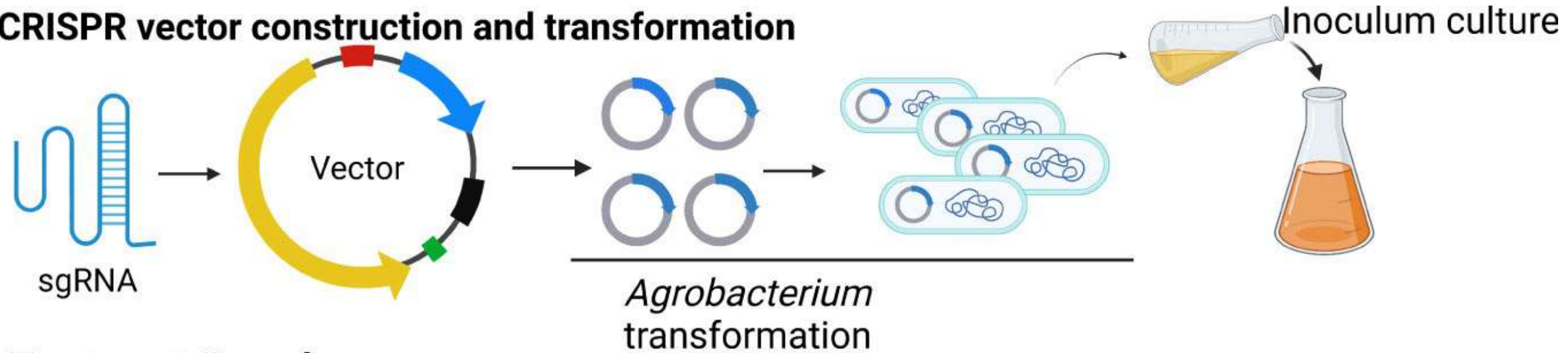
Penelitian ini dilakukan untuk meningkatkan ketahanan kelapa sawit tingkat *moderate* terhadap fungi *Ganoderma boninense* melalui *gene-editing* CRISPR/Cas9 *system*.



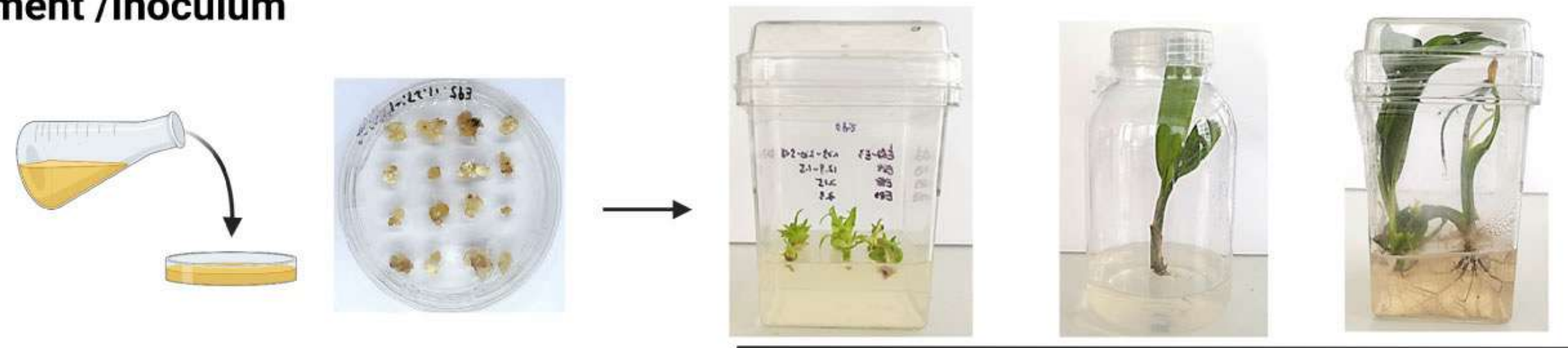
JUSTIFIKASI RISET/PROJECT

- Teknik pemuliaan konvensional relatif memakan waktu, diperlukan sekitar 20 tahun untuk menghasilkan kelapa sawit unggul (Zulkifli dkk., 2017) Sedangkan, program pemuliaan tanaman dapat dipercepat melalui penerapan teknologi pengeditan gen dimediasi CRISPR/Cas9 dengan keunggulan mutasi terarah (Jaganathan dkk, 2018).
- Memperbaiki sifat tanaman kelapa sawit terhadap infeksi *G. boninense* telah dilakukan dengan melakukan gen *knockout* (KO) pada gen penanda *EgEMLP*. Hasil dikonfirmasi pada tingkat genomik (DNA) dan transkriptomik (RNA) (Budiani dkk., 2019) Selain itu, *gene-editing* CRISPR/Cas9 pada tanaman kelapa sawit terbukti berhasil dilakukan juga dengan target pengeditan gen penanda *EgFAD2* and *EgPAT* untuk meningkatkan kadar oleat pada minyak kelapa sawit (Bahariah dkk., 2023)
- Tujuh gen penanda seperti *ANTHO*, *CHALCONE*, *ETHYLENE*, *LEUCO*, *MANNOSE*, *SENESCENCE*, dan *THAUMATIN* menunjukkan konsistensi pola peningkatan transkrip pada kelapa sawit yang terinfeksi *G. Boninense* di Malaysia (Zuhair LM., dkk., 2021). Ketujuh marka gen telah divalidasi terhadap kelapa sawit terinfeksi *G. Boninense* di 3 lokasi endemik di Indonesia, menghasilkan hasil positif melalui pengujian RT-qPCR (Permatasari dkk., 2023). Hal tersebut menjadi potensi gen target mutasi terkait sifat pertahanan tanaman kelapa sawit terhadap *G. Boninense* serta melalui pendalaman komputasional '*in siliko*' dan kelimpahan data (e.g NCBI) mampu meningkatkan *high-throughput genetic screening* (Yang C., dkk., 2024)

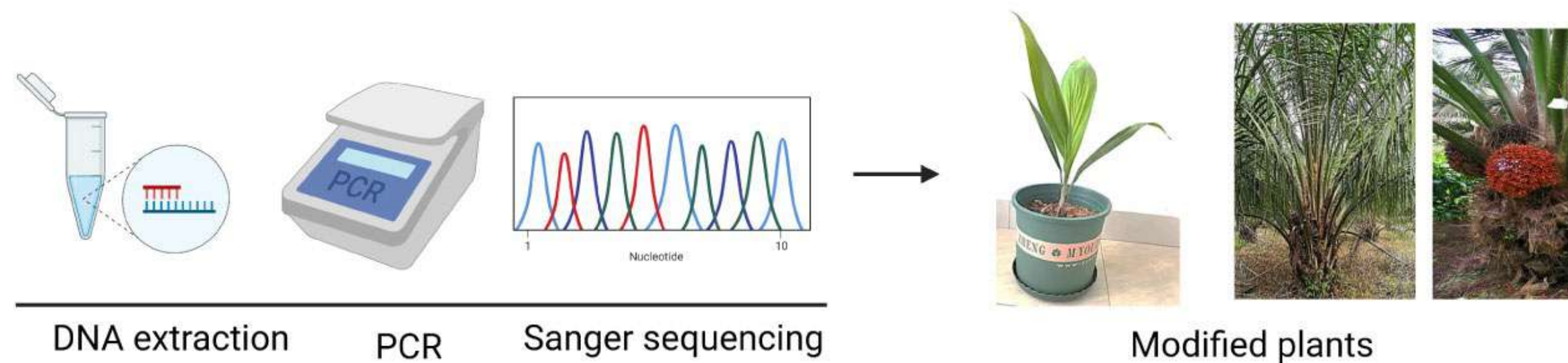
A CRISPR vector construction and transformation



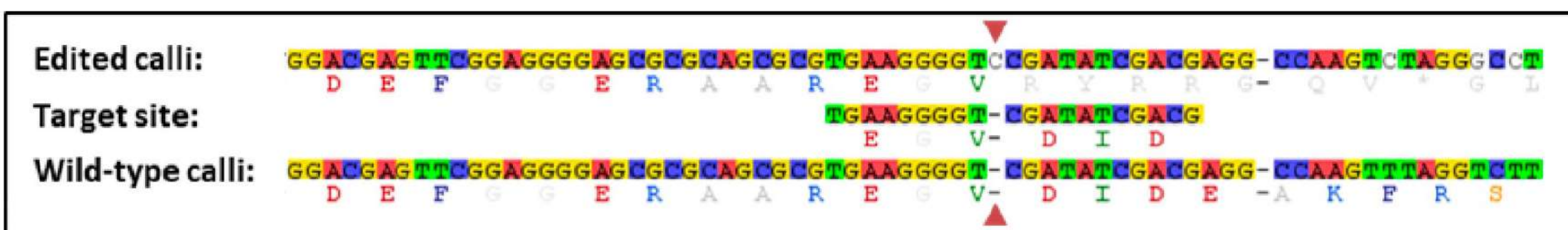
B Treatment /Inoculum



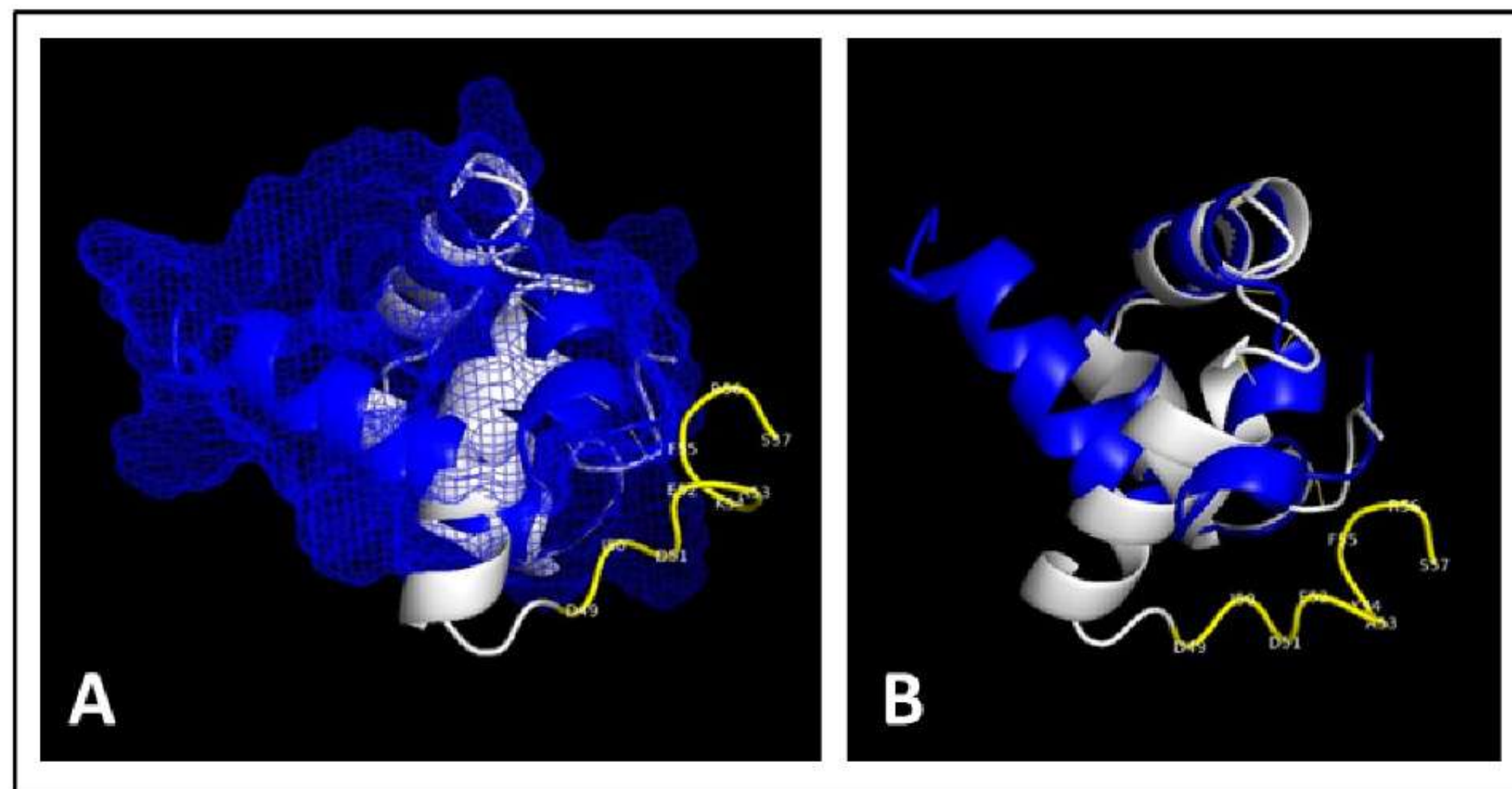
C Confirmation of transform explants



Transformasi vektor CRISPR via *Agrobacterium* pada Kelapa Sawit (Khan dkk., 2022)



Perubahan sekuen genome melalui CRISPR/Cas9 system



Perubahan model protein EgEMLP pasca CRISPR/Cas9 (B) Kontrol (A)

(Budiani dkk., 2018)

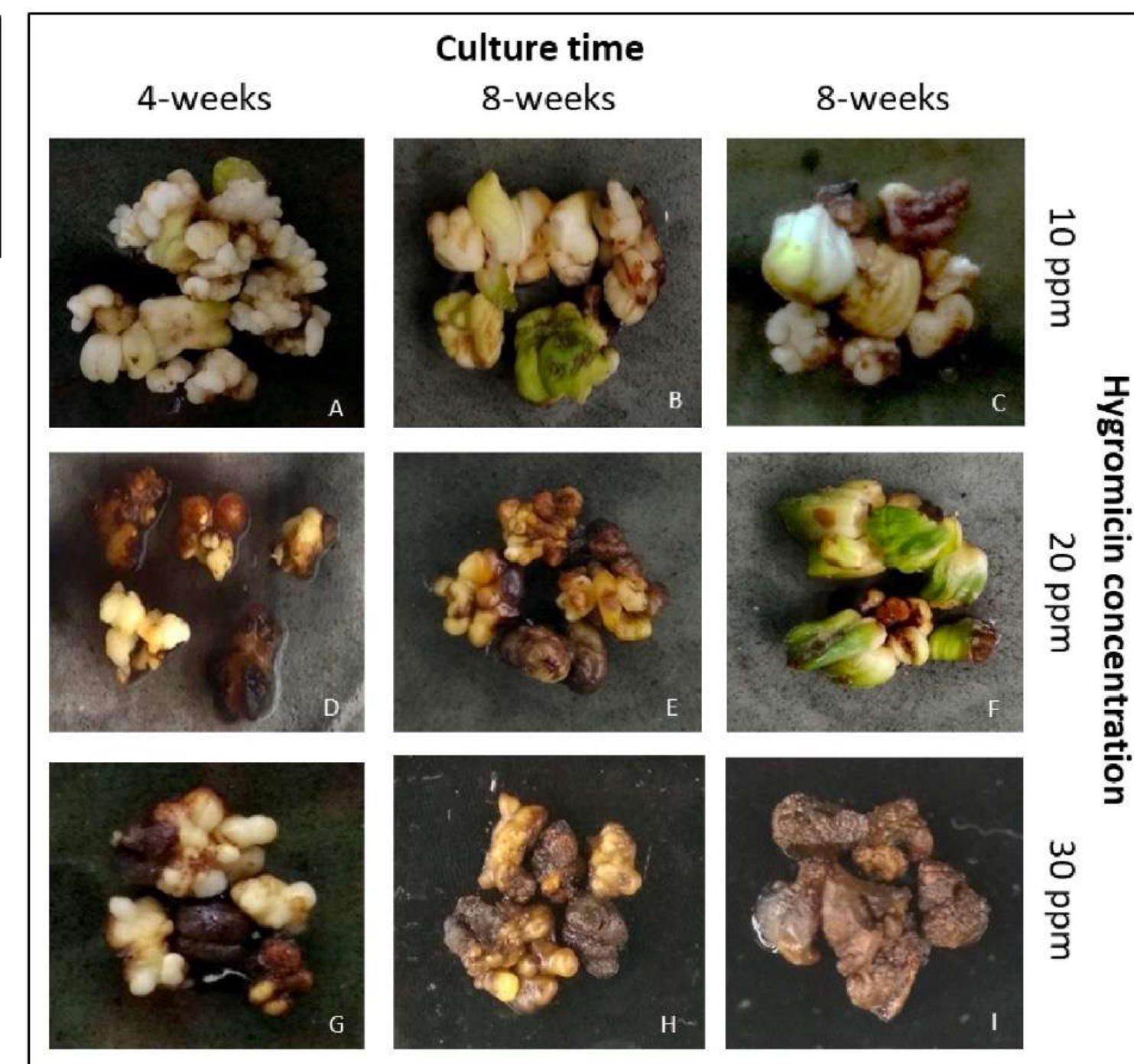


FIGURE 2 Calli selection in DF media supplemented with hygromycin. All calli were grown with 250 ppm cefotaxime to reduce *Agrobacterium tumefaciens* over growth. Based on this result, the optimum hygromycin concentration for calli selection was deduced at 20 ppm, as higher concentration (30 ppm) will induce calli death (browning) while lower concentration at 10 ppm will produce non-transformed (escapee) calli thus allowing for false positives.

BIG PICTURE RISET/PROJECT

Tahun 2024

1. *Screening* gen penanda terkait sifat pertahanan terhadap *G. Boninense* secara *In siliko*
2. Induksi kalus kelapa sawit

Luaran:

1. Kandidat gen penanda sebagai target *gene-editing*
2. Kalus kelapa sawit

Rp. 155.087.000;

Tahun 2025

1. Konstruksi vektor CRISPR/Cas9
2. Transformasi *Agrobacterium tumefaciens* dengan vektor CRISPR/Cas9
3. Isolasi dan karakterisasi kultur filtrat *G. Boninense*

Luaran:

1. Desain vektor CRISPR/Cas9
2. Transforman *Agrobacterium-delivery CRISPR/Cas9 system*
3. Isolat filtrat *G. boninnense* terkarakterisasi

Rp. 300.631.000;

Tahun 2026

1. Tranfeksi kalus kelapa sawit dengan *Agrobacterium-delivery CRISPR/Cas9 system*
2. Seleksi *in vitro* kalus kelapa sawit pada *media kultur filtrat G. boninense*
3. Karakterisasi kelapa sawit termodifikasi (ekstraksi DNA; PCR dan sekuensing)

Luaran:

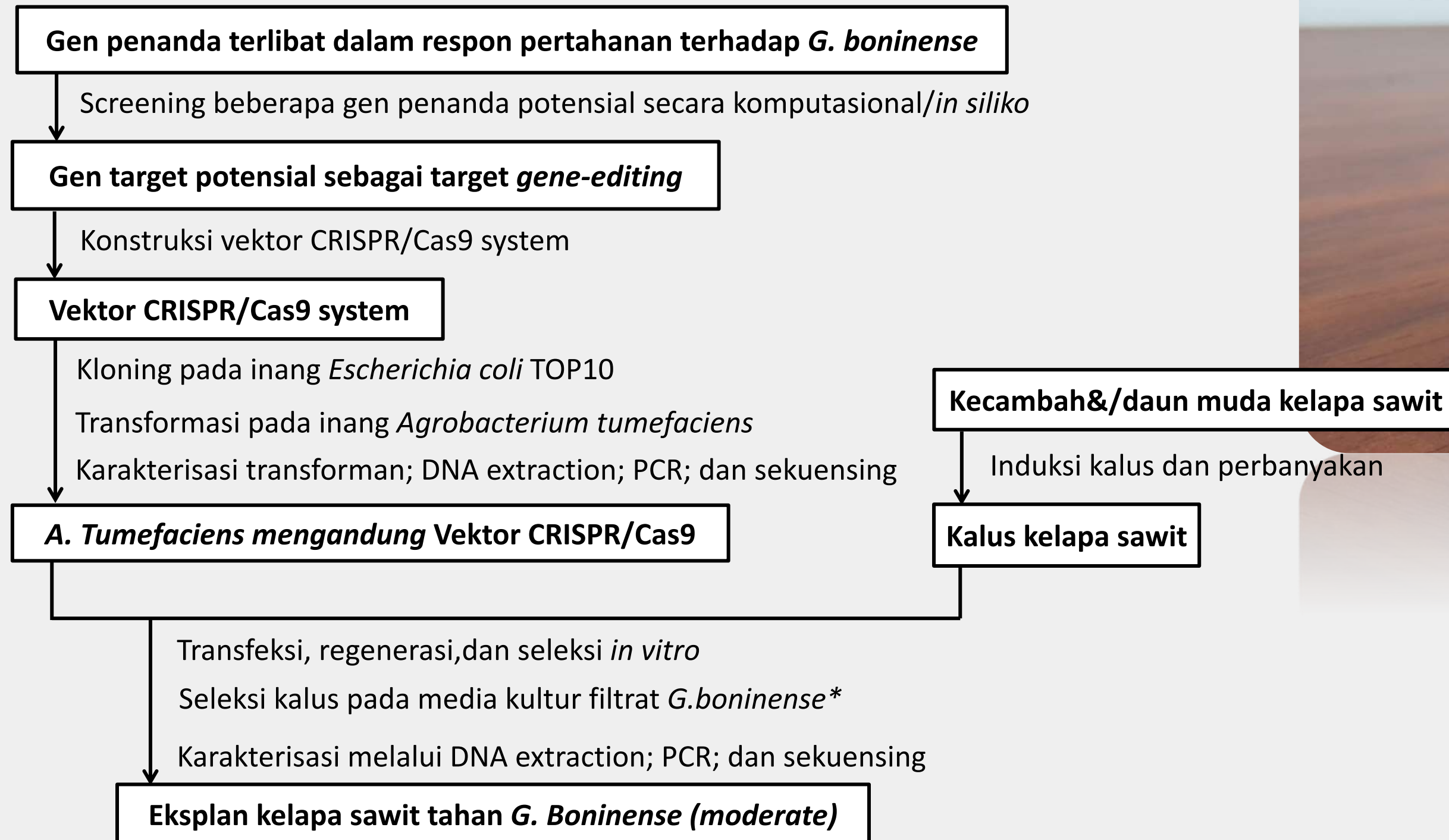
1. Eksplan kelapa sawit toleran (*moderate*) *G. Boninense* terkarakterisasi di tingkat molekular dan *in vitro*
2. Jurnal ilmiah & HAKI/Paten

Rp. 176.916.500

GANTT CHART PELAKSANAAN

No.	Aktivitas	Waktu (Bulan)											
		Januari	Februari	Maret	April	Juni	Juli	Agustus	September	Oktober	November	Desember	
Tahun ke-1													
1	Studi gen penanda kandidat <i>gene-editing</i>												
2	Seleksi gen penananda secara <i>in siliko</i>												
3	protein modelling antara mutan dan <i>wild-type</i>												
4	Menyediakan bibit sawit												
5	Menanam bibit sawit dalam polibag												
6	Induksi kalus asal kecambah sawit												
7	Induksi kalus asal pelepah daun tanaman muda sawit												
8	Perbanyak kalus												
Tahun ke-2													
1	Konstruksi vektor CRISPR/Cas9												
2	Kloning vektor di <i>Escherichia coli</i>												
3	Transfomasi <i>Agrobacterium tumefaciens</i>												
4	Karakterisasi <i>Agrobacterium-delivery CRISPR/Cas9 system</i>												
5	Perbanyak kultur <i>Agrobacterium-delivery CRISPR/Cas9 system</i>												
6	Koleksi sampel material tanaman sawit terinfeksi <i>G. boninense</i>												
7	Isolasi, karakterisasi dan pemeliharaan isolat <i>G. boninense</i>												
Tahun ke-3													
1	Transfeksi kalus kelapa sawit												
2	Seleksi in vitro kalus kelapa sawit pada media kultur filtrat <i>G. boninense</i>												
3	Regenerasi kalus kelapa sawit hasil seleksi												
4	Induksi tunas asal kalus termodifikasi <i>in vitro</i>												
5	Multiplikasi tunas sawit transgenik <i>in vitro</i>												
6	Karakterisasi kelapa sawit termodifikasi: Ekstraksi DNA												
7	Karakterisasi kelapa sawit termodifikasi: Perbanyak DNA melalui PCR												
8	Karakterisasi kelapa sawit termodifikasi: Sekuensing												
9	Analisis Mutasi kelapa sawit termodifikasi												

Metodologi



*filtrat *G. boninense* di isolasi dari beberapa lokasi endemik *G. boninense*



RAB RISET/PROJECT

No	Rincian	Total
Tahun ke-1		
1	Honorarium	38,400,000
2	Bahan Habis Pakai	106,687,000
3	Jasa dan lain-lain	10,000,000
Sub-total		155,087,000
Tahun ke-2		
1	Honorarium	75,200,000
2	Bahan Habis Pakai	180,431,000
3	Jasa dan lain-lain	45,000,000
Sub-total		300,631,000
Tahun ke-3		
1	Honorarium	43,200,000
2	Bahan Habis Pakai	101,216,500
3	Jasa dan lain-lain	32,500,000
Sub-total		176,916,500
Total		632,634,500

Detail RAB dapat diakses pada link berikut:
<https://www.dropbox.com/scl/fi/cjtkg3jm3y5tcvabuft2/Meningkatkan-ketahanan-Kelapa-Sawit-terhadap-Fungi-Ganoderma-Boninense-melalui-Gene-editing-CRISPR-Cas9-System-290324.xlsx?rlkey=aj57apr48lc7myos43ugvtbzy&dl=0>

DAMPAK RISET/PROJECT

Dampak Financial

- Penurunan Biaya pengobatan dan pengendalian penyakit
- Peningkatan produktivitas tanaman kelapa sawit

Dampak Non-Financial

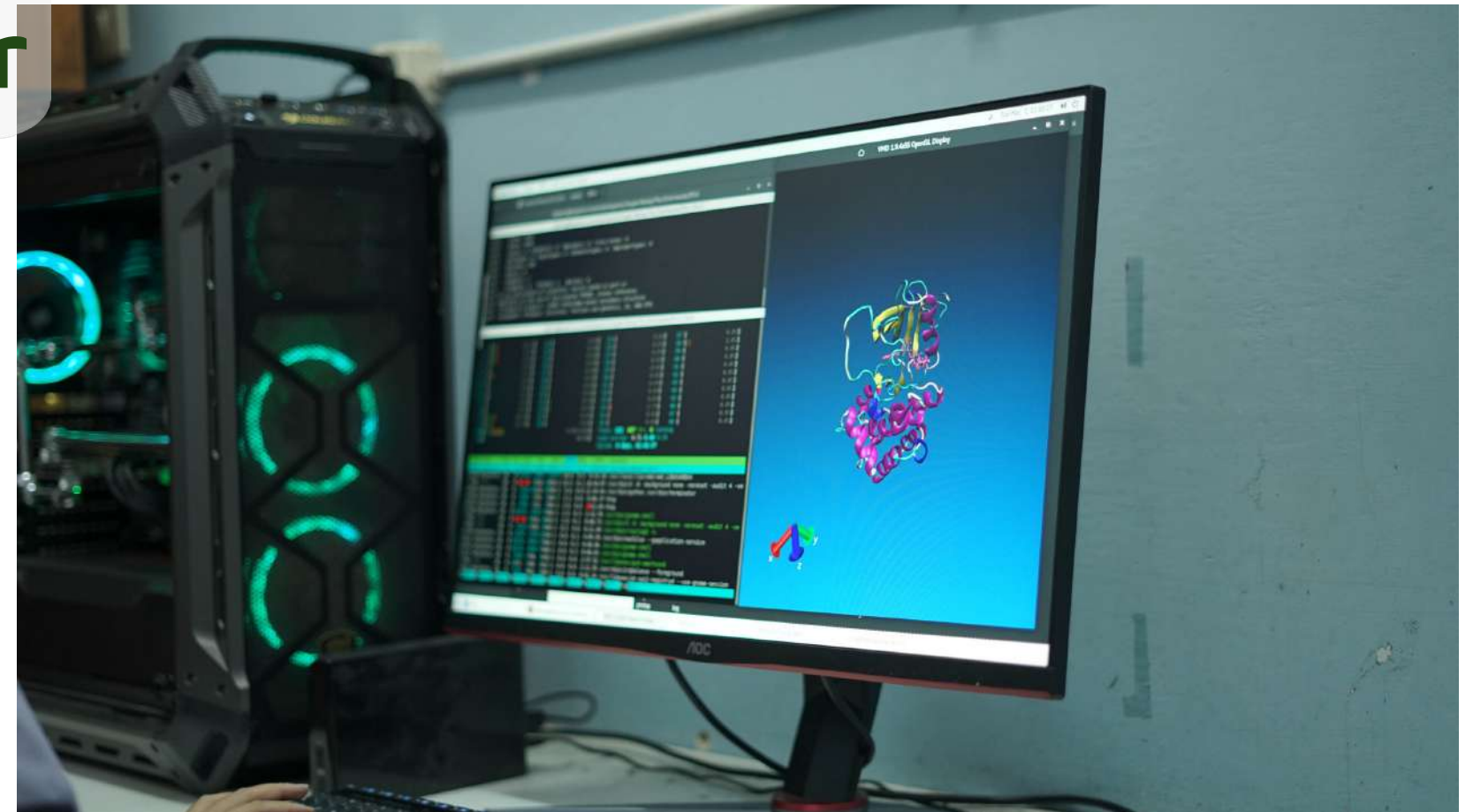
- Potensi memunculkan alergen baru pada tanaman termodifikasi

Solusi:

Strategi *pre-release testing*

mengidentifikasi dan mengkarakterisasi potensi efek yang tidak diinginkan melalui survei potensi alergen/toksin secara komputasional (*in siliko*) (Movahedi et al., 2023)

Lab. Komputasional & Lab. Molekuler



Lab. Kultur Jaringan





Bumitama Gunajaya Agro

**THANK
YOU**

—