

Deteksi Penyebaran Geografis Penyakit CVPD di Bali Utara dengan Metode *Polymerase Chain Reaction*

Dwiastuti, M.E.¹⁾, A. Triwiratno¹⁾, A. Supriyanto¹⁾, M. Garnier²⁾, dan J.M. Bove²⁾

¹⁾ Loka Penelitian Tanaman Jeruk dan Hortikultura Subtropik

Jl. Raya Tlekung Junrejo, Kotak Pos 22, Batu, Malang, 65301

²⁾ INRA, Bordeaux, Perancis

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi penyebaran geografis penyakit *citrus vein phloem degeneration* pada tanaman jeruk di Bali Utara hasil rehabilitasi jeruk, dilakukan di sepanjang Bali Utara pada ketinggian 10-1.000 m di atas permukaan laut dari berbagai keparahan gejala. Teknik deteksi CVPD yang digunakan adalah dengan metode *polymerase chain reaction* dengan tiga primer (oligonukleotida) spesifik CVPD O11, O12, dan OA1 yang sesuai untuk *Liberobacter asiaticum* dan *Liberobacter africanum*. Pelacakan DNA sampel yang teramplifikasi dilakukan pada 0,7% agarose dengan elektroforesis horisontal. Hasil observasi menunjukkan bahwa semua sampel asal pohon yang tidak bergejala memberikan reaksi PCR negatif. Sampel-sampel dengan gejala visual spesifik CVPD memberikan reaksi PCR positif. Hasil reaksi PCR selalu positif pada sampel-sampel dari pertanaman jeruk keprok tejakula pada ketinggian 10-700 m dpl. Pada ketinggian di atas 700 m dpl. tidak ditemukan hasil positif deteksi dengan PCR. Hasil penelitian ini dapat dimanfaatkan untuk menentukan strategi pengendalian CVPD di wilayah terinfeksi.

Kata kunci: *Citrus* sp; CVPD; Deteksi; PCR; Penyebaran geografi.

ABSTRACT. Dwiastuti, M. E., A. Triwiratno, A. Supriyanto, M. Garnier, and J.M. Bove. 2003. **Detection of geographical distribution of CVPD disease in North Bali with polymerase chain reaction.** The objective of this research was to evaluate the present status of CVPD disease on citrus trees after the citrus rehabilitation. This research was conducted along North Bali on 10-1,000 m above sea level. The technique of CVPD detection used was polymerase chain reaction with three specific primers (oligonucleotide) of CVPD O11, O12, and OA1 that are sensitive for both *Liberobacter asiaticum* and *Liberobacter africanum*. Identity of samples DNA amplified that were appeared on 0.7% agarose with horizontal electrophoresis. The result of observation showed of all samples from 11 symptomless samples on infected trees gave negative PCR reaction. The samples with specific symptom of CVPD gave positive PCR reaction. Based on the observation, the positive result was always obtained from orchards with altitude 10-700 m above sea level, but no reaction sign of PCR on samples from orchards above 700 m above sea level. This research result can be used to arrange the control strategy of CVPD in infected areas. The detection technique can be used to determine a strategy for controlling CVPD in that areas.

Keywords: *Citrus* sp; CVPD; Detection; PCR; Geographical distribution.

Bali Utara merupakan pusat penghasil jeruk keprok tejakula, salah satu unggulan jenis keprok nasional dan mempunyai populasi jeruk lebih dari enam juta pohon atau lebih dari 15.000 ha dalam tahun 1984. Sentra pertanaman adalah di Buleleng dan Karangasem. Berdasarkan survai tahun 1984 ditemukan 98% tanaman jeruk di Kabupaten Buleleng dan 60% di Kabupaten Karangasem terinfeksi oleh penyakit CVPD. Berdasarkan *outbreak* CVPD tersebut, diadakan eradikasi besar-besaran sampai mencapai hampir 100% pada tahun 1990. Meskipun demikian dari laporan konsultan FAO tahun 1991, ternyata sebagian kebun jeruk di Tejakula memproduksi sendiri bibit-bibit baru yang akan digunakan sebagai pengganti dan berasal dari mata-tempel pohon di kebunnya. Kenyataan ini terbukti pada tahun 1994, telah ada 985.851 pohon dari berbagai umur ditanam kembali di 10 desa (Dinas Pertanian Tanaman Pangan Bali 1994). Padahal

baru pada tahun 1993/1994, dua juta bibit jeruk bebas penyakit yang dilepas dari blok penggandaan mata tempel (BPMT). Data ini ditunjang dari hasil penelitian Triwiratno *et al.* (1995) terhadap tiga kelompok penangkar bibit yang menunjukkan bahwa dari bibit yang diusahakan penangkar binaan menggunakan sumber mata tempel bebas penyakit tidak ada yang terinfeksi CVPD, sebaliknya bibit penangkar nonbinaan yang menggunakan sumber mata tempel liar menunjukkan 33,3% terinfeksi CVPD. Hal tersebut menunjukkan bahwa komponen strategi pengendalian CVPD tidak dilakukan secara utuh. Kenyataan tersebut didukung pula dengan data hasil survai oleh Masyarakat Ekonomi Eropa pada tahun 1995 bahwa terjadi serangan ulang CVPD sebesar 40-60% di kawasan sepanjang Bali Utara (Dinas Pertanian Tanaman Pangan Bali 1995).

Penyakit CVPD yang saat ini secara internasional namanya telah dibakukan menjadi *huang lung bin* (HLB) disebabkan oleh *candidatus Liberobacter asiaticum* (Jaquoux et al. 1994; 1996) termasuk bakteri gram negatif (Garnier et al. 1984) dan dapat ditularkan oleh serangga vektor *Diaphorina citri* (Tirtawidjaja 1983). Selain itu penyakit tersebut dapat menular ke tanaman tapak doro melalui perantara tali putri (Garnier et al. 1983). Pada dasarnya pengendalian terhadap penyakit ini telah diformulasikan dan harus diterapkan secara utuh yaitu menggunakan bibit jeruk bersertifikasi bebas penyakit, pengendalian serangga vektor, melakukan sanitasi kebun secara konsekuen, pemeliharaan secara optimal, serta penerapan teknologi secara terpadu dalam kelompok pada suatu wilayah pengembangan (Supriyanto 2000). Salah satu kendala dalam penerapan strategi pengendalian tersebut adalah sanitasi kebun, keterbatasan kemampuan petani atau petugas menentukan gejala CVPD di lapang menyebabkan tertundanya eradikasi dan sanitasi kebun. Sampai saat ini deteksi secara visual masih sulit dilakukan dengan tepat mengingat gejala serangan mirip defisiensi unsur hara seng (Zn) atau bercampur dengan gejala fisiologis lain. Di samping itu, infeksi CVPD juga menyebabkan gejala kekurangan unsur hara karena gangguan metabolisme dan translokasi fotosintat dan hara dalam jaringan tanaman.

Berdasarkan kegagalan-kegagalan rehabilitasi jeruk di Bali yang disebabkan antara lain karena kekurangpahaman terhadap deteksi gejala di lapang, maka dilakukan cara deteksi CVPD menggunakan teknologi canggih dengan penggandaan DNA patogen CVPD. Deteksi tersebut dikenal sebagai teknik *polymerase chain reaction* (PCR). Prinsip dasar dari metode ini adalah perbanyak DNA dari sedikit menjadi jutaan sehingga dapat dilacak dengan mudah melalui karakterisasi pita pada gel elektroforesis. Oligonukleotida *Liberobacter* penyebab CVPD telah ditemukan dan mempunyai kriteria pada 1.160 *base pair* (Jaquoux et al. 1996).

Penelitian ini bertujuan mendeteksi penyebaran geografi penyakit CVPD di Bali Utara pascarehabilitasi kedua dengan menggunakan PCR. Diduga penyebaran geografis CVPD tidak sampai di dataran tinggi kawasan Bali Utara.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan dari bulan Juli-Desember 1999 di Laboratorium Balai Proteksi Tanaman Pangan Tanguwisia dan Laboratorium Seluler Molekuler Biologi, INRA, Bordeaux. Sampel diambil dari pertanaman jeruk sepanjang lokasi proyek irigasi dan sumber air Bali Utara dari berbagai ketinggian antara 10-1.250 m dpl. Kedelapanbelas desa yang diambil sampelnya adalah sebagai berikut: Tegallingah, Banjarasem, Karanganyar, Julah, Tejakula, Les, Penuktukan, Sambirenteng, Tembok, Tianyar, Bandolem, Dusa, Kubutambahan, Panelokan, Baturiti, Seririt, Busungbiu, dan Sukasade. Penentuan pohon sampel berdasarkan gejala visual CVPD yang dicurigai. Tiap pohon diambil daunnya secara acak pada bagian cabang yang bergejala.

Sampel-sampel yang diambil, dianalisis menggunakan teknik amplifikasi DNA dengan PCR. Tiga oligonukleotida sebagai primer amplifikasi DNA yang digunakan adalah spesifik untuk CVPD, yaitu O11, O12 dan OA1 sesuai untuk *L. asiaticum* dan *L. africanum*.

Sebanyak 0,3 g dari sampel yang diambil dicacah dalam kondisi steril dengan pisau sekali pakai dalam 1 ml bufer ekstrak (10 mM tris pH 8,0 400 mM EDTA, 1% SDS) yang mengandung 0,25 mg proteinase-K. Setelah dipindahkan pada ependorf diinkubasi selama dua jam pada 65°C dan disentrifuse selama 15 menit pada 12.000 g supernatan yang dihasilkan di vakum dengan 1 ml resin miniprep purifikasi DNA kemudian dibilas dengan isopropanol 80%. DNA sampel yang terpisah pada resin dipindahkan pada ependorf baru dengan penambahan 50 µl air panas (80°C) sebanyak dua kali.

Proses amplifikasi DNA sampel dalam mesin PCR terdiri dari 35 siklus masing-masing pada 92°C selama 40 detik (tahap denaturasi) dan 72°C selama 90 detik untuk pencetakan primer baru dan pemanjangan. Pada setiap proses disertai pembanding dari *Liberobacter* sp. (kontrol positif) dan tanaman sehat (kontrol negatif). Hasil dari proses PCR yang disebut produk PCR dilacak fragmen pita yang terbentuk dengan elektroforesis horisontal pada gel agarose 0,7% dalam TAE IX (0,04 M tris HCl; 0,02 M sodium asetat; 0,001 M EDTA pH 7,8). Setiap lubang diisi dengan 0,8 µl produk PCR

kemudian di-*runing* pada 80-100 volt, 175 mA selama 30 menit. Pewarnaan menggunakan ethidium bromide 10 mg/ml. Pembacaan dibawah transiluminator UV.

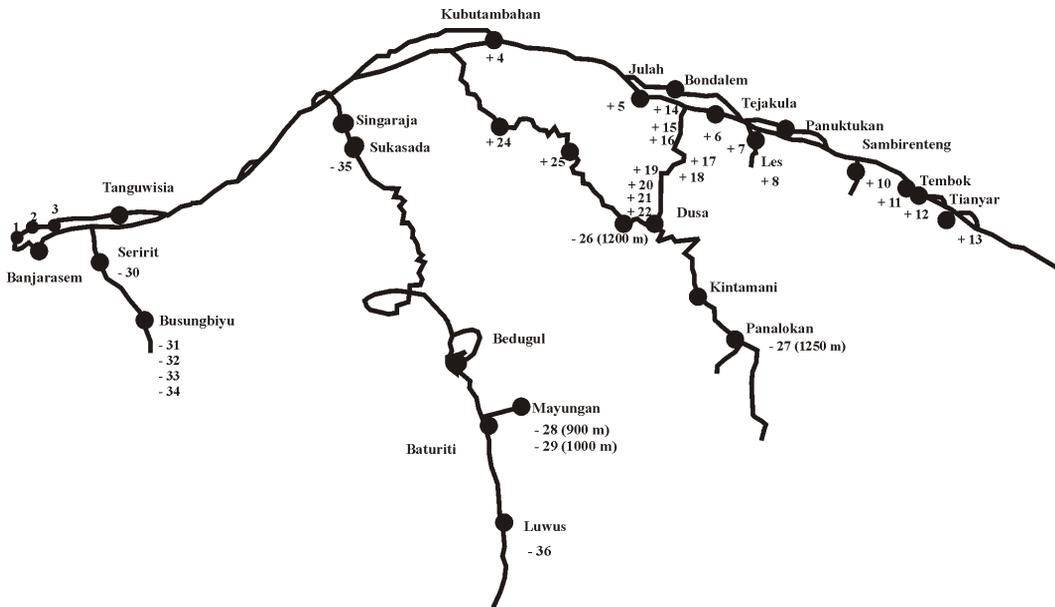
HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1 dan Gambar 1, menyajikan gambaran kebun-kebun jeruk komersial yang disurvei dari ketinggian antara 0-1.250 m dpl. Dari 19 lokasi kebun yang disurvei dan dianalisis sampelnya, lokasi-lokasi tersebut diantaranya merupakan lokasi proyek irigasi dan penyediaan air Bali Utara yang dilengkapi dengan sumur air (Gambar 1). Pada daerah tersebut gejala-gejala visual CVPD berat ditemukan pada hampir semua kebun (Tabel 1) antara lain Julah, Tejakula, Penuntukan, Sambirenteng, Tembok, Tianyar dan Tianyar Timur. Ada 15 sampel daun tidak bergejala CVPD yang dikoleksi untuk deteksi dengan PCR baik yang berasal dari pohon bergejala CVPD maupun pohon yang tidak

bergejala (No. 7, 10, 14, 15, 21, 30, 31, 32, 33, 34, 39, 52, 62, 63, dan 64).

Sebagian besar gejala karakteristik *huang lung bin* di dunia adalah *mottle* atau *blotching* yaitu belang-belang menguning yang berpola tidak teratur, dan pada umumnya gejala *mottle* paling jelas pada jenis jeruk manis (Garnier & Bove 1993). Namun kenyataannya banyak pohon jeruk keprok tejakula menunjukkan gejala *mottle* daun sangat jelas dan terbukti sampel-sampel dari pohon tersebut terinfeksi berat oleh *Liberobacter* berdasarkan hasil PCR (Gambar 2, 3, dan 4). Beberapa tanaman jeruk tejakula tidak bergejala *mottle* tetapi daunnya mengecil dan menguning seperti yang ditemukan pada beberapa tanaman pantai utara Bali tetapi tidak pada seluruh daun sampel (No. 25, 27, 35, 38, 39, 42, 51, 53, dan 58).

Sebagian besar sampel yang dianalisis berasal dari keprok tejakula yaitu 47 sampel dari 63 sampel. Empat puluh tiga dari 47 menunjukkan gejala daun (*mottle*, daun



Gambar 1. Peta Bali Utara yang menunjukkan lokasi kebun jeruk yang disurvei dan penyebaran geografi huang lung bin (Map of North Bali showing the location of citrus orchards surveyed and the geographical distribution of huang lung bin).

Tabel 1. Penyebaran geografi penyakit CVPD di Bali Utara (*Geographical distribution of CVPD in North Bali*)

No. Sampel (No. of sample)	Lokasi (Location)	Ketinggian tempat (Altitude) m	Kultivar (Cultivar)	Gejala visual daun (Visual symptom)	Hasil analisis (Result of analysis)
1	Julah	10	Tejakula ph 1	<i>mottle</i> berat	5+
2	Julah	10	Tejakula ph 2	<i>mottle</i> berat pd daun atas	5+
3	Julah	10	Tejakula ph 2	<i>mottle</i> berat pd daun bawah	5+
4	Julah	10	Tejakula ph 3	<i>mottle</i> berat	4+
5	Tejakula	10	Tejakula ph 1	<i>mottle</i> berat	4+
6	Tejakula	10	Tejakula ph 2	<i>mottle</i> berat	4+
7	Tejakula	10	Tejakula ph 2	tidak ada	3+
8	Les	100	Rangpurlime	<i>mottle</i>	3+
9	Les	100	Tejakula ph 1	<i>mottle</i>	3+
10	Les	100	Tejakula ph 2	tidak ada	-
11	Les	100	Tejakula ph 2	<i>mottle</i>	3+
12	Les	100	Tejakula ph 3	<i>mottle</i>	4+
13	Les	150	Tejakula	<i>mottle</i>	5+
14	Seririt-Busungbiu	300	Lime	tidak ada	-
15	Seririt-Busungbiu	300	<i>C. amblicarpa</i>	tidak ada	-
16	Seririt-Busungbiu	70	Tejakula	<i>mottle</i> ringan	4+
17	Kubutambahan	50	Tejakula ph 1	<i>mottle</i> ringan	4+
18	Kubutambahan	50	Tejakula ph 2	<i>mottle</i> ringan	2+
19	Kubutambahan	50	Mexican lime 1	<i>mottle</i> berat	2+
20	Kubutambahan	50	Mexican lime 2	<i>mottle</i> berat	2+
21	Kubutambahan	50	Mexican lime 3	tidak spesifik	-
22	Kubutambahan	50	Jeruk manis	<i>mottle</i>	3+
23	Kubutambahan	50	Tejakula	<i>mottle</i>	3+
24	Penuktukan	50	Tejakula ph 1	<i>mottle</i>	3+
25	Penuktukan	50	Tejakula ph 2	<i>mottle</i> , menguning	3+
26	Sambirenteng	76	Tejakula ph 1	<i>mottle</i>	3+
27	Sambirenteng	76	Tejakula ph 2	<i>mottle</i> , menguning	3+
28	Tembok	180	Tejakula ph 2	<i>mottle</i>	2+
29	Tianyar Timur	10	Lime	<i>mottle</i>	-
30	Baturiti ke Mayungan	900	Siem	tidak ada	-
31	Baturiti ke Mayungan	1.000	Manis punten	tidak ada	-
32	Baturiti ke Mayungan	1.000	K. tempel siem	tidak ada	-
33	Bondalem ke Dusa	850	K. tempel siem	tidak ada	-
34	Dusa	1.250	K. tempel siem	tidak ada	-
35	Kalanganyar	10	Tejakula	kecil, menguning	5+
36	Kalanganyar	10	Tejakula	kecil, menguning	5+
37	Banjarasem	10	Tejakula	kecil, menguning	5+
38	Tegallingah	10	Tejakula	kecil, menguning	5+
39	Pemb. jeruk Luwus	450	Tejakula	tidak ada	-
40	Kubutambahan ke Panelokan	700	Tejakula	<i>mottle</i>	+
41	Kubutambahan ke Panelokan	700	Jeruk manis	<i>mottle</i>	4+
42	Kubutambahan ke Panelokan	650	<i>C. amblicarpa</i>	<i>mottle</i>	4+
43	Bandolem ke Dusa	550	Tejakula	<i>mottle</i> , menguning	4+
44	Bandolem ke Dusa	500	Tejakula	<i>mottle</i> ringan	4+
45	Bandolem ke Dusa	400	Tejakula	<i>mottle</i> ringan	3+
46	Bandolem ke Dusa	400	Tejakula ph 1	<i>mottle</i> ringan	3+

Lanjutan ...

No. Sampel (No. of sample)	Lokasi (Location)	Ketinggian tempat (Altitude) m	Kultivar (Cultivar)	Gejala visual daun (Visual symptom)	Hasil analisis (Result of analysis)
47	Bandolem ke Dusa	400	Tejakula ph 2	<i>mottle</i>	1+
48	Bandolem ke Dusa	310	Tejakula ph 3	<i>mottle</i>	1+
49	Bandolem ke Dusa	200	Tejakula	kecil, menguning	1+
50	Bandolem ke Dusa	200	Tejakula ph 1	<i>mottle</i>	2+
51	Bandolem ke Dusa	200	Tejakula ph 4	kecil, menguning	3+
52	Bandolem ke Dusa	200	Tejakula ph 4	tidak ada	1+
53	Bandolem ke Dusa	160	Tejakula	kecil, menguning	1+
54	Bandolem ke Dusa	100	Tejakula	kecil, menguning	1+
55	Bandolem ke Dusa	10	Tejakula	kecil, menguning	1+
56	Tejakula	10	Tejakula ph 3	<i>mottle</i> berat	4+
57	Tejakula	10	Tejakula ph 1	<i>mottle</i> berat	4+
58	Julah	10	Tejakula ph 4	<i>mottle</i> berat	4+
59	Tejakula	10	Tejakula ph 3	<i>mottle</i>	3+
60	Penuktukan	60	Tejakula ph 3	<i>mottle</i>	4+
61	Tianyar Timur	10	Tejakula ph 1	<i>mottle</i>	4+
62	Tianyar Timur	10	Tejakula ph 1	tidak ada	2+
63	Panelokan	1.250	K. siem	tidak ada	-
64	Panelokan	1.250	Jeruk manis	tidak ada	-

Mottle ringan = belang-belang kuning tidak teratur pada 1/4 bagian daun

Mottle = belang-belang kuning tidak teratur pada 1/2 bagian daun

Mottle berat = belang-belang kuning tidak teratur >1/2 bagian daun

Menguning = seluruh bagian daun menguning

Tabel 2. Kejadian dan keparahan penyakit CVPD di Bali Utara berdasarkan uji PCR (Incidence and disease severity of CVPD in North Bali, base on PCR test)

Lokasi (Location)	Ketinggian (Altitude) m	Pohon diamati (Observed trees)	Kejadian penyakit (Disease incidence) (%)	Keparahan penyakit (Disease severity) %
Julah	10	4	100,0	95,0
Tianyar timur	10	3	66,7	40,0
Tejakula	10	3	100,0	73,3
Kalanganyar	10	3	100,0	100,0
Banjarasem	10	3	66,7	93,3
Tegallingsah	10	3	66,7	93,3
Kubutambahan	50	7	85,7	57,14
Penuktukan	50-60	3	100,0	66,6
Sambirenteng	76	2	100,0	60,0
Les	100-150	6	83,3	60,0
Bandolem	100-200	5	100,0	28,0
Bandolem-Dusa	310-400	4	100,0	25,0
Kubutambahan-Panelokan	450-550	3	100,0	66,6
Bandolem-Dusa	450-550	3	100,0	66,6
Kubutambahan-Panelokan	650-700	3	100,0	80,0
Bandolem-Dusa	650-700	3	100,0	80,0
Baturiti-Mayungan	850-1.000	4	0,0	0,0
Dusa-Panelokan	1.250	3	0,0	0,0

Gambar 2, 3, 4. *Gel elektroforesis DNA Liberobacter teramplifikasi dengan PCR dari ekstrak daun jeruk*
baris (M) = marker 1 KB; baris (0) = tidak ada DNA pada reaksi campuran PCR (kontrol air); baris (-) = ekstrak wizard dari daun jeruk sehat (kontrol negatif); baris (+) = ekstrak wizard dari *Liberobacter* yang menginfeksi daun jeruk (kontrol positif); Baris (1-23) = ekstrak wizard dari sampel daun no 1-23 (gambar 2); baris (24-44) = ekstrak wizard dari sampel daun no 24-44 (gambar 3); baris (45-63) = ekstrak wizard dari sampel daun no 45-63 (Gambar 4) (*Gel eletrophoresis of Liberobacter DNA amplified by PCR from wizard extract of citrus leaf. Lane M = size marker 1 KB; Lane (0) = no DNA in PCR reaction micture (water control); Lane (-) = wizard extract from healthy citrus leaves (negatif control); Lane (+) = wizard extract from Liberobacter infected leaf (control negative); Lane (1-23) = wizard extract from leaf samples 1-23 (figure 2); Lane (24-44) = wizard extract from leaf samples 24-44 (figure 3); Lane (45-63) = wizard extract from samples 24-44 (figure 4).*

menguning, dan mengecil) dan semuanya menghasilkan reaksi PCR positif dengan intensitas 5+, 4+, 3+, dan 2+ kecuali enam sampel keprok tejakula menghasilkan intensitas terendah yaitu 1+ (sampel no. 47, 48, 49, 53, 54,

dan 55). Hasil-hasil ini menunjukkan bahwa deteksi HLB *Liberobacter* dengan PCR sangat sesuai untuk jeruk keprok tejakula. Intensitas hasil PCR yang rendah (1+) pada daun bergejala HLB (CVPD) kemungkinan dapat disebabkan

oleh kandungan patogen *Liberobacter* dalam daun tersebut sudah banyak yang lisis atau tertranslokasi ke daun atau bagian tanaman yang lain, sehingga meskipun sudah dilipatgandakan dalam jumlah jutaan melalui proses PCR masih menghasilkan intensitas pita yang rendah atau tipis.

Sejumlah tiga sampel daun tidak bergejala (no. 7, 52, dan 62) yang berasal dari pohon bergejala memberikan reaksi PCR positif (3+, 1+, 2+). Hasil ini mengidentifikasi bahwa teknik PCR dapat digunakan untuk mendeteksi HLB *Liberobacter* pada daun-daun tidak bergejala dari tanaman yang terinfeksi. Hasil ini menunjukkan bahwa daun bergejala mengecil, kuning, belang-belang kuning (*mottle*) dari tanaman sakit merupakan gejala infeksi lanjut, sedang daun tidak bergejala atau *mottle* ringan merupakan gejala infeksi awal.

Distribusi geografis dan kejadian penyakit HLB di Bali Utara

Gambar 1 menunjukkan distribusi geografi HLB di Bali Utara yang dideteksi dengan PCR dan gejala awal visual HLB menyebar di daerah pantai dari Tegallingah (lokasi 1), Singaraja Timur ke Tianyar Timur (lokasi 13), Singaraja Barat (lokasi 1-14 dan 30). Pada daerah ini hanya ditanam satu kultivar saja yaitu keprok tejakula. Hasil selengkapnya disajikan pada Tabel 2.

Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa tanaman jeruk yang ditanam pada ketinggian 10-700 m dpl terinfeksi HLB dengan tingkat kerusakan penyakit antara 40-95% dan kejadian penyakit antara 66,7-100%, sedang pada lokasi Baturiti-Mayungan, Dusa, dan Panelokan dengan ketinggian diatas 700 m yaitu 850-1.250 m dpl. tidak ada tanaman yang terinfeksi CVPD. Pada saat survai, vektor penular CVPD yaitu *D.citri* sangat mudah ditemukan pada semua kebun dari lokasi 1-21 (Gambar 1) dengan ketinggian antara (10-550 m dpl.). Hal ini menunjukkan bahwa pada dataran rendah, pengendalian vektor masih belum cukup efektif dilakukan mengingat perkembanganbiakan *D. citri* sangat agresif di dataran rendah. Siklus hidup hanya berlangsung 16-18 hari, sedang seekor betina bertelur sebanyak 300 butir selama hidupnya sehingga dalam satu tahun mampu menghasilkan 9-10 generasi, sedang pada kondisi dingin sampai 45 hari (Catling 1970).

Hasil penelitian ini seiring juga penelitian Catling (1970) bahwa pada daerah yang semakin tinggi semakin sedikit ditemukan *D.citri* bahkan tidak ada sama sekali pada daerah dengan ketinggian 1.250 m dpl., sedangkan hasil survai Aubert *et al.* (1985) melaporkan bahwa *D. citri* mampu hidup pada ketinggian 10-1.200 m dpl.

KESIMPULAN

1. Penyebaran geografis penyakit CVPD di Bali Utara dapat diketahui dengan cepat menggunakan teknik deteksi PCR.
2. Penyebaran CVPD di Bali Utara terdapat di daerah dengan ketinggian 10-700 m dpl. Pada daerah penanaman jeruk dengan ketinggian 850-1.250 m dpl. tidak ditemukan CVPD.
3. Deteksi CVPD dengan PCR sangat sesuai untuk mendeteksi CVPD pada jeruk keprok tejakula yang bergejala spesifik *mottle*, *blotching*, maupun yang tidak bergejala.

PUSTAKA

1. Dinas Pertanian Tanaman pangan Bali. 1994. *Laporan tahunan Dinas Pertanian Tanaman Pangan Propinsi Tk. I Bali.*
2. _____. 1995. Strategi *Pemda Tk. I Bali dalam pengendalian penyakit CVPD guna mendukung proyek pengembangan air tanah Bali Utara* (CEC-ALA/91/19).
3. Aubert, B; M. Garnier; D. citri Guillaumin, B. Gergayandono, Setiobudi, and Nurhadi. 1985. Greening a serious threat for the citrus production of the Indonesian Archipelago. Future prospects of intregated control. *Fruits* 40(0):549-563.
4. Bove JM, M. Garnier, YS Alhawatz, and A. Varina. 1993. Detection of Asian strain greening BLO by DNA-hybridization in field trees and *D. citri* psyllids. p. 258-263 in Proc. 12th IOCV. IOCV Riverside.
5. Catling, S.D. 1970. Distribution of the psyllid vectors of citrus greening disease with notes on the biology and bionomics of *Diaphorina citri* Kuw. *Plant Protec. Bull.* 18(1):8-15.
6. Garnier, M. and J. M. Bove. 1983. Transmission of the organism associated with citrus greening disease from sweet orange to peri winkle by dodder. *Phytopathol.* 73:1358-1363.
7. _____, M. Daniels, and J.M. Bove. 1984. The greening organism is a gram negative bacteria. *IOCV 9th* p:115-124.

8. Jaqueix S., J.M Bove, and M. Garnier. 1994. The phloem limited bacterium of greening disease of citrus is as member of the alpha subdivision of pootobacteria. *International J. Systemic Bacteriol.* 44:397-86.
9. _____, 1996. PCR detection of the two candidatus *Liberobacter* species associated with greening disease of citrus. *Molecular and Cellular Probes.* 10:43-50.
10. Supriyanto, A., M.E. Dwiastuti, A. Triwiratno, O. Endarto dan Sutopo. 2000. *Pengendalian penyakit CVPD dengan penerapan pengelolaan terpadu kebun jeruk sehat (PTKJS)*. Petunjuk Teknis Rakitan Teknologi BPTP Karangploso. Hlm 23-31.
11. Tirtawidjaja, S. 1983. CVPD penyakit yang sangat merusak jeruk. *J. Penel. dan Pengemb.Pert.* II(1):36-41.
13. Triwiratno A, Roesmiyanto, dan N.F. Devy. 1995. Evaluasi hasil indeksing CVPD dan CTV pada pembibitan jeruk petani penangkar di Propinsi Bali. *Pros. Konggres Nasional XII dan Seminar Ilmiah PFI*, Yogyakarta 6-8 Sept. 1993.Hlm 684-689.