

PERAN *CRISPR-CAS9* DALAM REKAYASA GENETIK TOMAT (*Solanum lycopersicum*) SEBAGAI UPAYA PENINGKATAN KETAHANAN PANGAN PADA BIOTEKNOLOGI PERTANIAN

Sri Wahyuni^{1,2}, Yusminah Hala³

¹Program Studi Pendidikan Biologi, Pascasarjana Universitas Negeri Makassar, Makassar, Sulawesi Selatan, Indonesia

²Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Muhammadiyah Bone, Sulawesi Selatan, Indonesia

³Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Negeri Makassar, Makassar, Sulawesi Selatan, Indonesia

Article History

Received: September 29, 2025

Revised: September 18, 2025

Accepted: September 19, 2025

Correspondence

Sri Wahyuni

e-mail:

alifaxwahyuni68@gmail.com

ABSTRACT

This study aims to review various scientific publications related to the application of CRISPR-Cas9 in tomato genetic engineering to enhance food security. The research method used is a literature from reputable databases such as Scopus, ScienceDirect, and PubMed. The results show that CRISPR-Cas9 offers several advantages, including high specificity, multiplexing capability, and flexibility in genome editing. Its applications in tomatoes involve improving resistance to biotic stress (pathogens and diseases) and abiotic stress (drought, extreme temperatures), enhancing nutritional quality, extending fruit shelf life, and increasing productivity. These improvements are directly linked to food security by ensuring stable production, reducing postharvest losses, and increasing crop resilience to climate change. Therefore, CRISPR-Cas9 technology provides an innovative strategy for sustainable agricultural biotechnology development and global food security enhancement.

Keywords: *CRISPR-CAS9, Genetic Engineering, Tomato, Food security, Agricultural Biotechnology*

PENDAHULUAN

Perkembangan bioteknologi modern telah melahirkan berbagai metode yang memungkinkan manipulasi genetik dilakukan dengan lebih cepat, akurat, dan efisien. Salah satu terobosan terbesar dalam bidang rekayasa genetika adalah hadirnya teknologi *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* (CRISPR), sebuah sistem pertahanan alami bakteri terhadap infeksi virus yang kemudian diadaptasi menjadi alat pengeditan gen. Teknologi ini menawarkan kemudahan dalam memodifikasi DNA organisme dengan tingkat presisi tinggi, sehingga membuka peluang besar dalam penelitian dasar maupun aplikasi praktis di bidang pertanian, kesehatan, dan industri pangan (Chaudhuri et al., 2022).

Sistem CRISPR-Cas merupakan bagian dari sistem imun adaptif bakteri dan arkea, yang melindungi mereka dari asam nukleat invasif seperti virus dengan membelah DNA asing secara bergantung pada urutannya. Kekebalan ini diperoleh melalui integrasi fragmen pendek DNA invasif yang dikenal sebagai spacer di antara dua pengulangan yang berdekatan di ujung proksimal lokus CRISPR. Rangkaian CRISPR, termasuk spacer, ditranskripsi selama pertemuan berikutnya dengan DNA invasif dan diproses menjadi RNA CRISPR pengganggu kecil (crRNA) dengan panjang sekitar 40 nt, yang bergabung dengan RNA CRISPR pengaktif (tracrRNA) untuk mengaktifkan dan memandu nuklease Cas9 (Shlush et al., 2021).

Dari berbagai varian sistem CRISPR, CRISPR/Cas9 menjadi yang paling populer dan banyak digunakan. Cas9 merupakan enzim endonuklease yang berperan sebagai “gunting molekuler” untuk memotong DNA pada lokasi yang ditentukan oleh *guide RNA*. Kombinasi keduanya memungkinkan pemotongan genetik yang sangat spesifik sehingga gen tertentu dapat dihapus, dimodifikasi, atau diganti sesuai tujuan penelitian. Keunggulan CRISPR/Cas9 dibandingkan metode lain seperti TALEN atau ZFN adalah kesederhanaannya, biaya yang relatif lebih rendah, serta efisiensi dalam menghasilkan mutasi yang diinginkan (Wang et al., 2016).

Salah satu sektor yang sangat diuntungkan oleh hadirnya CRISPR-Cas9 adalah pertanian, khususnya dalam perbaikan sifat tanaman hortikultura. Teknologi ini memungkinkan para peneliti dan pemulia tanaman untuk meningkatkan kualitas hasil, mempercepat waktu panen, serta memperbaiki ketahanan terhadap stres biotik maupun abiotik. Aplikasi ini sangat relevan pada tanaman yang memiliki nilai ekonomi tinggi, salah satunya adalah tomat (*Solanum lycopersicum* L.) (Macovei et al., 2018).

Tomat merupakan komoditas hortikultura global dengan permintaan yang terus meningkat karena nilai gizi dan manfaat kesehatannya. Kandungan senyawa bioaktif seperti likopen dan vitamin menjadikan tomat tidak hanya penting sebagai bahan pangan, tetapi juga sebagai sumber nutrisi fungsional (Murugavelu et al., 2025). Namun, produktivitas tomat sering kali menghadapi kendala, baik akibat serangan hama penyakit, keterbatasan adaptasi lingkungan, maupun tuntutan kualitas buah di pasar.

Teknik penyuntingan genom berbasis CRISPR-Cas9 telah menunjukkan keberhasilan besar pada tanaman famili Solanaceae, dengan menghasilkan perbaikan nyata pada sifat-sifat penting seperti resistensi terhadap penyakit, mutu buah, dan toleransi terhadap cekaman lingkungan (Tiwari et al., 2023). Seiring dengan berkembangnya teknologi ini, peluang untuk mengoptimalkan ketahanan tanaman semakin terbuka, memberikan manfaat bagi petani maupun konsumen (Ezin & Symonds, 2023).

Lima publikasi telah muncul yang membahas penggunaan perdana metode CRISPR/Cas9 dalam penyuntingan genom pada tumbuhan (Feng et al., 2013; Li et al., 2013; Nekrasov et al., 2013; Shan et al., 2013; Xie & Yang, 2013). Sistem CRISPR-Cas9 terbukti bekerja pada akar rambut tomat setelah transformasi dengan *Agrobacterium rhizogenes* (Ron et al., 2015). Menariknya, empat kelompok independen telah menunjukkan bahwa sistem CRISPR-Cas9 dapat menginduksi mutasi bialelik atau homozigot secara langsung pada generasi pertama transforman padi dan tomat, yang menyoroti efisiensi sistem yang sangat tinggi pada spesies-spesies ini (Brooks, , et al., 2014; Shan et al., 2013; Zhang et al., 2014; Zhou et al., 2014). Pada tomat juga ditunjukkan bahwa perubahan genetik yang diinduksi oleh Cas9/gRNA terdapat pada

galur benih dan tersegregasi secara normal pada generasi-generasi berikutnya tanpa modifikasi lebih lanjut.

Meskipun berbagai penelitian telah berhasil menunjukkan efektivitas sistem CRISPR-Cas9 dalam menghasilkan mutasi genetik yang stabil, kebanyakan studi terdahulu masih berhenti pada aspek efisiensi dan validasi teknis. Kajian-kajian tersebut belum banyak membahas bagaimana penerapan hasil rekayasa genetik tersebut berdampak langsung terhadap ketahanan pangan global, terutama dalam konteks adaptasi terhadap perubahan iklim dan peningkatan kualitas gizi tanaman.

Oleh karena itu, tinjauan ini memiliki kebaruan (*novelty*) pada upaya mengintegrasikan temuan-temuan teknis CRISPR-Cas9 dengan perspektif bioteknologi pertanian berkelanjutan, serta menekankan urgensi penelitian ini sebagai strategi ilmiah untuk menghadapi tantangan ketahanan pangan di era modern. Dengan demikian, artikel ini bertujuan untuk menganalisis dan mensintesis informasi mengenai peran teknologi CRISPR-Cas9 khususnya pada tanaman tomat dalam hal peningkatan produktivitas, kualitas buah dan ketahanan stress lingkungan sebagai upaya peningkatan ketahanan pangan.

METODE

Metode penelitian yang digunakan adalah *Systematic Literature Review* (SLR) dengan mengacu pada pedoman PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*) dan pendekatan kualitatif deskriptif. Studi kepustakaan dilakukan dengan menelaah dan mensintesis berbagai hasil penelitian yang relevan dengan topik peran CRISPR-Cas9 dalam rekayasa genetik tomat untuk mendukung ketahanan pangan (Hardinah et al., 2025). Pencarian literatur dilakukan melalui beberapa basis data ilmiah, yaitu Google Scholar, ScienceDirect, SpringerLink, dan PubMed, menggunakan kata kunci "*CRISPR-Cas9*", "*tomato genome editing*", dan "*Solanum lycopersicum*" dengan rentang publikasi 2015-2025. Proses seleksi mengikuti tahapan *identification, screening, eligibility, and inclusion* sesuai PRISMA, kemudian data di analisis untuk mengidentifikasi tentang peningkatan produktivitas, kualitas buah, ketahanan stress biotik dan abiotik yang berkaitan dengan kualitas hasil pertanian untuk prospek pengembangan bioteknologi pertanian secara berkelanjutan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Keunggulan CRISPR-Cas9

Pada beberapa tahun terakhir, teknologi penyuntingan gen telah berkembang pesat dan menawarkan berbagai peluang baru dalam bidang biologi molekuler maupun pemuliaan tanaman. Di antara berbagai metode yang tersedia, sistem CRISPR/Cas9 menempati posisi penting karena efektivitas serta kemudahan penggunaannya. Hal ini semakin memperkuat perannya sebagai alat utama dalam riset maupun aplikasi praktis. Keunggulan CRISPR-Cas9 yang jelas dalam hal kesederhanaan, aksesibilitas, biaya, dan fleksibilitas (Wang et al., 2015).

Keunggulan utama teknologi CRISPR-Cas9 adalah kemampuan untuk melakukan penyuntingan gen spesifik lokasi dengan efisiensi tinggi dengan efek off-target minimal (Berman et al., 2025). Berbeda dengan metode lain, sistem CRISPR-Cas9 tidak memerlukan tahapan rekayasa protein yang kompleks, sehingga pengujian berbagai *guide RNA* (gRNA) pada gen target menjadi lebih praktis. Selain itu, untuk mencapai spesifisitas target yang berbeda, hanya diperlukan perubahan sekitar 20 nukleotida pada urutan gRNA, sehingga proses kloning tidak lagi dibutuhkan. gRNA dapat disintesis dengan mudah melalui transkripsi *in vitro* menggunakan dua oligonukleotida

komplementer yang dianil (Munir et al., 2024). Kemudahan ini memungkinkan pembangunan pustaka gRNA berskala besar dengan biaya rendah, sehingga teknologi CRISPR-Cas9 dapat diterapkan dalam studi genomik fungsional dengan throughput tinggi, bahkan di laboratorium biologi molekuler dengan anggaran terbatas.

Salah satu keunggulan utama dari sistem CRISPR-Cas9 adalah kemampuannya melakukan *multiplexing*. Melalui mekanisme ini, pemotongan ganda (*double-strand breaks/DSB*) dapat diperkenalkan secara bersamaan pada beberapa lokasi dalam genom, sehingga memungkinkan pengeditan banyak gen dalam satu waktu (Tian et al., 2021; Tran et al., 2021). Pendekatan ini sangat bermanfaat untuk menonaktifkan gen-gen yang bersifat redundan maupun jalur metabolik yang berjalan paralel. Teknik yang sama juga dapat dimanfaatkan untuk merekayasa delesi maupun inversi skala besar dengan menargetkan dua lokasi pemotongan yang berjauhan pada kromosom yang sama (Xie et al., 2015; Zhou et al., 2024).

Keunggulan-keunggulan tersebut menjadikan CRISPR-Cas9 bukan hanya sekadar alat rekayasa genetik, tetapi juga strategi efisien untuk mempercepat inovasi pemuliaan tanaman pangan. Dalam konteks ketahanan pangan, kecepatan dan efisiensi ini sangat penting untuk menghasilkan varietas unggul yang tahan terhadap perubahan iklim, hama, dan penyakit, sehingga produktivitas pangan global dapat ditingkatkan dengan waktu yang lebih singkat dan biaya lebih rendah.

Spesifitas CRISPR-Cas9

Salah satu dari sedikit kritik terhadap teknologi CRISPR-Cas9 adalah frekuensi mutasi di luar target yang relatif tinggi yang dilaporkan dalam beberapa penelitian sebelumnya (Fu et al., 2013; Hsu et al., 2013; Jiang et al., 2013; Mali et al., 2013; Pattanayak et al., 2013). Meskipun urutan 20 nt dalam gRNA awalnya dianggap perlu untuk menentukan spesifisitas, kemudian ditunjukkan bahwa hanya 8–12 nt pada ujung 3' (urutan benih) yang diperlukan untuk pengenalan dan pembelahan situs target, sedangkan beberapa ketidakcocokan di wilayah PAM-distal dapat ditoleransi, tergantung pada jumlah total dan susunannya (Tripathi & Tripathi, 2024). Mekanisme genom berbasis CRISPR-Cas9 gRNA berisi 20 nukleotida yang komplementer dengan DAN target, *Protospacer Adjacent Motif* (PAM) hanya memotong DNA yang bersebelahan dengan PAM (Anand et al., 2025).

Urutan DNA yang mengandung basa tambahan (tonjolan DNA) atau basa yang hilang (tonjolan gRNA) di berbagai lokasi sepanjang urutan gRNA yang sesuai juga telah terbukti menginduksi pembelahan di luar target (Li et al., 2018). Spesifisitas yang longgar dari kompleks CRISPR-Cas9 pada posisi non-benih dalam pengatur jarak crRNA tampaknya merupakan sifat intrinsik yang mengurangi kemungkinan penghindaran sistem imun oleh virus dengan mutasi titik (Shen et al., 2017).

Spesifisitas CRISPR-Cas9 yang terus disempurnakan menjadikannya semakin andal dalam perbaikan sifat tanaman tanpa menimbulkan mutasi yang merugikan. Dalam kerangka ketahanan pangan, ini berarti pengeditan gen dapat dilakukan secara aman dan stabil, menghasilkan tanaman yang lebih unggul tanpa risiko menurunkan kualitas genetik varietas unggul yang sudah ada.

Pengeditan Genom CRISPR-Cas9

Teknologi penyuntingan gen telah merevolusi rekayasa genetika, serta bidang pemuliaan tanaman. Sistem CRISPR/Cas9 dapat digunakan untuk beberapa tujuan selain penyuntingan genom, misalnya, regulasi ektopik ekspresi gen, yang dapat memberikan

informasi bermanfaat tentang fungsi gen dan juga dapat digunakan untuk merekayasa sirkuit regulasi genetik baru untuk aplikasi biologi sintetik (Hieu & Toan, 2023). Kontrol eksternal ekspresi gen biasanya bergantung pada penggunaan promotor yang dapat diinduksi atau direpresi, yang memerlukan pengenalan promotor baru dan perlakuan khusus (fisik atau kimia) untuk aktivasi atau represi promotor. Nuklease yang dinonaktifkan dapat digunakan untuk mengatur ekspresi gen karena mereka masih dapat berikatan dengan urutan DNA targetnya. Hal ini terjadi pada versi Cas9 yang tidak aktif secara katalitik yang dikenal sebagai Cas9 mati (dCas9) (Ricroch, 2019). Protein ini tidak dapat memotong DNA, tetapi masih dapat direkrut ke urutan DNA spesifik oleh gRNA.

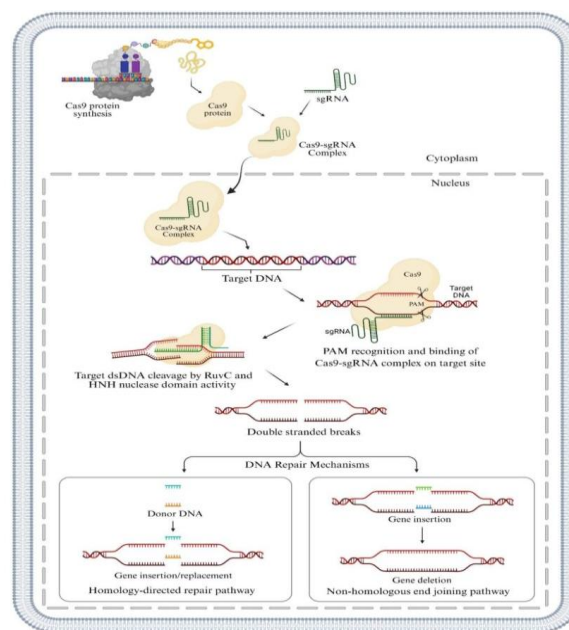
Pemanfaatan dCas9 dalam mengatur ekspresi gen tertentu menawarkan alternatif menarik, terutama pada spesies yang belum memiliki sistem ekspresi yang terkontrol. Ketika beberapa gRNA diarahkan ke promotor yang sama, hasilnya dapat menimbulkan efek sinergis, sehingga tingkat regulasi transkripsi dapat disesuaikan melalui strategi ini. Selain itu, penggunaan gRNA yang menargetkan promotor berbeda memungkinkan pengaktifan secara bersamaan pada sejumlah gen (Mishra & Zhao, 2018). Pendekatan ini kemudian dikembangkan lebih lanjut oleh dua kelompok penelitian independen dengan menambahkan perangkat regulator CRISPR berbasis aktivator transkripsi (Nguyen et al., 2023) maupun represor (Kondo & Taguchi, 2022), sehingga terbentuk sirkuit kaskade yang fungsional. Dalam kerangka ini, keunggulan lain dari sistem CRISPR/Cas9 adalah kemampuannya memanfaatkan protein Cas9 ortolog untuk menjalankan penyuntingan genom sekaligus regulasi gen secara bersamaan dalam satu sel.

Pendekatan ini membuka peluang besar dalam rekayasa metabolisme tanaman pangan, seperti peningkatan kandungan gizi, perpanjangan umur simpan buah, atau pengurangan kebutuhan pupuk kimia. Dengan demikian, CRISPR bukan hanya berfungsi memperbaiki gen rusak, tetapi juga *mendesain ulang* karakter tanaman agar lebih adaptif dan berkelanjutan.

Tabel 1. Daftar gen yang ditargetkan oleh pengeditan genom yang dimediasi CRISPR/Cas9 pada kultivar tomat untuk meningkatkan hasil, nilai gizi dan toleransi terhadap stres biotik dan abiotik

Alat	Gen	Kultivar Tomat	Memengaruhi	Referensi
CRISPR	<i>IAA9</i>	Micro-Tom, Ailsa Craig	Regenerated mutants exhibited morphological changes in leaf shape and seedless fruit a characteristic of parthenocarpic tomato	(Ueta et al., 2017)
CRISPR	<i>PMR4</i>	Moneymoker	Mutants showed increased resistance against powdery milde	(Santillán Martínez et al., 2020)
CRISPR	<i>PETA3</i>	Ailsa Craig	Susceptibility to gray mold disease	(Zhang et al., 2018)
CRISPR	<i>DLC2b</i>	Ailsa Craig	Susceptibility to Tomato Mosaic virus (ToMV)	(Wang et al., 2018)
CRISPR	<i>JAZ2</i>	Moneymoker	Resistance to banana streak virus	(Ortigosa et al., 2019)
CRISPR	Homolog dari	M82	Modifed inflorescence and	(Rodríguez-Leal

	<i>Arabidopsis SP, CLV3</i>		plant architectures, Increase in locule number and fruit weight	et al., 2017)
CRISPR	<i>SP, WUS</i>	<i>S. pimpinellifolium</i>	Growth habit determination, enlargefr	(Li et al., 2018)
CRISPR	<i>RIN</i>	Ailsa Craig	Fruit ripening	(Ito et al., 2020)
CRISPR	<i>ORRM4</i>	Micro-Tom	Fruit ripening	(Yang et al., 2017)
CRISPR	<i>AGL4</i>	Line MP-1 (TYLCV tolerant)	Parthenocarp	(Klap et al., 2017)
CRISPR	<i>PSY1</i>	M82, <i>Yellow flesh e³⁷⁵⁶, Bicolor³⁸³, S. pimpinellifolium</i>	Yellow colored fruits	(Hayut et al., 2017)
CRISPR	<i>AGO7</i>	M82	Change in leaf shape	(Brooks, , et al., 2014)
CRISPR	<i>BOP1, BOP2, BOP3, TFAM1, TFAM2</i>	M82	Loss of foral organ abscission, defects in fruit shape, Altered leaf complexity	(Xu et al., 2016)
CRISPR	<i>DELLA</i>	Micro-Tom	Reduction in serrated leaflets	
CRISPR	<i>PDS</i>	Micro-Tom	Albino phenotype	(Pan et al., 2016)
CRISPR	<i>SHR</i>	<i>Solanum spp.</i>	Short root	(Ran et al., 2015)



Gambar 1. Tampilan skema mekanisme di balik teknik penyuntingan genom berbasis CRISPR-Cas9 pada tomat (Anand *et.al*, 2025)

Pengaturan penyuntingan genom multipleks yang paling sederhana menargetkan beberapa sekuens yang berkaitan erat secara bersamaan, seperti anggota famili gen atau beberapa alel dari gen yang sama. Strategi ini menjadi lebih rumit ketika banyak target yang berbeda dipilih. Namun, nuklease dan gRNA yang berbeda yang mendasari sistem CRISPR-Cas9 menawarkan fleksibilitas yang jauh lebih besar untuk mengedit beragam target karena menyediakan beberapa gRNA relatif lebih mudah dan murah (Komor et al., 2017). Seiring bertambahnya jumlah target, Cas9 menjadi terbatas. Namun, penggunaan promotor yang lebih kuat untuk mengaktifkan gen Cas9 dapat mengatasi masalah ini. Untuk mengatasi masalah efek off-target, para ilmuwan menggunakan dimer Cas9, yang membutuhkan ekspresi dua gRNA secara bersamaan. Kotransfeksi protein Cas9 yang dimuat dengan berbagai gRNA: Ini adalah metode penyuntingan genom tanpa DNA, tidak memerlukan plasmid atau DNA lain untuk ekspresinya. gRNA yang ditranskripsi secara *in vitro* digabungkan dengan endonuklease Cas9 yang dimurnikan untuk menghasilkan ribonukleoprotein endonuklease berpemandu RNA yang telah dirakit sebelumnya. Protein ini mengubah genom dan cepat terurai setelah dimasukkan ke dalam sel. Meskipun masih tergolong baru, sistem CRISPR/Cas9 multipleks telah dimanfaatkan pada tomat untuk meningkatkan nilai gizinya (Armario Najera et al., 2019).

Penerapan CRISPR/CAS9 dalam rekayasa genetika buah tomat

Sistem CRISPR/Cas9 untuk pemuliaan tahan dan peningkatan kualitas tomat

Penggunaan metode ini bertujuan untuk memungkinkan pengeditan gen maupun genom sehingga dapat dihasilkan tanaman dengan sifat baru yang diinginkan. Cas9 merupakan representasi protein dari sistem CRISPR/Cas, khususnya tipe II, yang berfungsi sebagai enzim nuklease untuk memotong DNA target pada urutan yang berdekatan dengan Protospacer Adjacent Motif (PAM). Aktivitas ini dimungkinkan karena protein Cas9 memiliki dua domain homolog, yaitu RuvC dan HNH, yang masing-masing berperan dalam memotong salah satu untai dari DNA berdupleks. Pada kasus tanaman tomat (*Solanum lycopersicum* L.), pemotongan yang dilakukan Cas9 bersifat tumpul, sehingga memungkinkan terjadinya penyuntingan genom sesuai target (Anand et al., 2025). Teknologi genome editing CRISPR/Cas9 merupakan sistem yang banyak digunakan untuk modifikasi genom target karena sifatnya yang lebih efisien, lebih murah, lebih mudah digunakan dan tidak terlalu rumit. Sistem CRISPR-CAS9 didasarkan pada kombinasi nuklease buatan dengan guide RNA (gRNA) yang disisipkan ke dalam vektor *Escherichia coli* (Shimatani et al., 2017).

CRISPR/Cas9 menonjol karena fleksibilitasnya dalam mengedit DNA dan RNA, memungkinkan perubahan presisi pada genom tanaman melalui penghapusan, penggantian, atau penyisipan urutan spesifik yang terarah. Tomat rekayasa genetika memiliki kelebihan kandungan vitamin yang tinggi dengan menggunakan perbaikan dan modifikasi tanaman. Teknologi penyuntingan gen akan membuat satu sifat yang menguntungkan dengan lebih efisien dan tepat karena struktur genetik tomat (Chandrasekaran et al, 2016).

Adanya fleksibilitas ini, tomat menjadi model ideal bagi penelitian tanaman pangan. Modifikasi genetik yang presisi mempercepat proses perbaikan sifat penting untuk mencapai produktivitas pertanian yang stabil dan berkelanjutan dalam menghadapi perubahan iklim dan keterbatasan lahan.

Resistensi Terhadap Stres Abiotik

CRISPR/Cas9 terbukti menjadi alat yang berharga untuk mengidentifikasi pengatur stres abiotik yang sebelumnya tidak diketahui pada tanaman tomat. Hormon tanaman brassinosteroid diketahui berkaitan dengan berbagai proses perkembangan dan fisiologis seperti pembelahan sel, pemanjangan sel, reproduksi, dan perkecambahan biji (Maccaro et al., 2021). Yin dan rekan-rekannya menunjukkan bahwa senyawa yang resisten terhadap brassinazole 1 (BZR1) merupakan komponen penting pensinyalan brassinosteroid pada tomat dan mengatur Respiratory Burst Oxidase Homolog1 (RBOH1) yang selanjutnya mengendalikan produksi hidrogen peroksida (H_2O_2) apoplastik dan toleransi terhadap stres panas (Yin et al., 2018).

Mutan CRISPR-npr1 menunjukkan peningkatan bukaan stomata, kebocoran elektrolit yang lebih tinggi, dan penurunan toleransi kekeringan dibandingkan dengan tanaman tipe liar. Zsögön dan timnya menargetkan Kinase Protein yang Diaktifkan Mitogen (SIMAPK3) pada tomat, yang menunjukkan perannya dalam respons stres kekeringan melalui modulasi transkripsi gen terkait stres lainnya dan dengan melindungi membran sel dari kerusakan oksidatif (Zsögön et al., 2018). Mutagenesis tertarget yang dimediasi CRISPR/ Cas9 pada domain batas organ lateral (SILBD40) menghasilkan peningkatan toleransi kekeringan pada tomat (Shu et al., 2020).

Resistensi terhadap Stres Biotik

Mikroba patogen seperti bakteri, jamur, atau virus menyebabkan kerusakan parah pada produksi tanaman. Tanaman pintar yang tahan penyakit dapat menjadi satu-satunya cara berkelanjutan untuk memenuhi permintaan pangan yang sangat besar di seluruh dunia. Penelitian ekstensif telah dilakukan selama 25 tahun terakhir untuk mengidentifikasi gen-gen kunci yang memberikan ketahanan terhadap penyakit pada tanaman. CRISPR/Cas9 secara signifikan mengurangi tingkat ekspresi gen pertahanan penyakit dan gen yang terkait dengan jalur asam jasmonat, menunjukkan peran utamanya dalam resistensi penyakit yang diinduksi metil jasmonat pada tomat. Knockout SIMYC2 Metil jasmonat berperan penting dalam proses perkembangan dan respons pertahanan tanaman terhadap berbagai patogen seperti *Botrytis cinerea*. Faktor transkripsi SIMYC2 Pembungaan pada tanaman sangat bergantung pada periode panjang hari, yang bervariasi dari satu musim ke musim lainnya. Sensitivitas panjang hari ini membatasi jangkauan geografis budidaya dan hasil panen. Mutagenesis yang dimediasi CRISPR/Cas9 pada Self-Pruning 5G (SP5G) menyebabkan hilangnya galur tomat yang sensitif terhadap panjang hari dengan pembungaan cepat dan peningkatan hasil panen, yang menggambarkan kekuatan alat penyunting genom ini dalam perbaikan tanaman (Rath, 2015). Resistance 6 (SIDMR6-1) menghasilkan protein terpotong prematur yang memberikan ketahanan terhadap berbagai macam patogen seperti *P. syringae*, *P. capsici*, dan *Xanthomonas* spp. (Schaart et al., 2021).

Salah satu penyakit paling merusak pada tomat adalah penyakit layu fusarium yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) yang menyebabkan kerugian besar dalam produksi tomat di seluruh dunia. Strategi komplementasi dan knockout menggunakan CRISPR/Cas9 mengungkapkan gen tomat baru Solyc08g075770 sebagai alasan utama di balik toleransi terhadap layu fusarium (Prihatna dkk. 2018). Kelompok peneliti lain menunjukkan potensi sistem CRISPR/CAS9 untuk menargetkan urutan protein mantel (CP) genom virus keriting daun kuning tomat (TYLCV) pada tomat dan menginduksi interferensi virus yang stabil dan efisien yang tetap aktif selama beberapa generasi (Ali et al., 2015).

Temuan-temuan ini membuktikan bahwa CRISPR-Cas9 secara langsung mendukung stabilitas hasil pangan. Dengan meningkatkan daya tahan tanaman terhadap cekaman lingkungan dan patogen, produksi tomat dapat dipertahankan bahkan dalam kondisi ekstrem untuk menjaga ketersediaan pangan jangka panjang.

Peningkatan Hasil dan Kualitas Nutrisi

Pembungaan pada tanaman sangat bergantung pada periode panjang hari, yang bervariasi dari satu musim ke musim lainnya. Sensitivitas panjang hari ini membatasi jangkauan geografis budidaya dan hasil panen. Mutagenesis yang dimediasi CRISPR/Cas9 pada Self-Pruning 5G (SP5G) menyebabkan hilangnya galur tomat yang sensitif terhadap panjang hari dengan pembungaan cepat dan peningkatan hasil panen, yang menggambarkan kekuatan alat penyunting genom ini dalam perbaikan tanaman. Umur simpan yang panjang tidak diragukan lagi merupakan karakteristik paling elit bagi pemulia tomat untuk penyimpanan dan produk pasca panen. Pembungaan pada tanaman sangat bergantung pada panjang hari, yang bervariasi dari satu musim ke musim lainnya (Hilton et al., 2015).



Gambar 2. Sifat dan gen terkait yang ditargetkan menggunakan penyuntingan genom berbasis CRISPR-Cas9 pada tomat (Anand *et.al*, 2025)

Karotenoid adalah pigmen utama pada tumbuhan yang berkontribusi terhadap perkembangan warna. Pematangan buah merupakan proses kompleks yang melibatkan banyak gen. Peran gen *SISGR1* dalam pematangan buah ditemukan menggunakan rekayasa CRISPR-Cas9 pada tanaman tomat. Kandungan klorofil dan karotenoid yang lebih tinggi diamati pada galur mutan *SISGR1* (Bhoomika et al., 2024). *SNAC 9* Mutan yang dikembangkan menggunakan teknologi CRISPR-Cas9 menunjukkan pematangan buah yang tertunda. Laju degradasi klorofil, kandungan karotenoid, dan likopen berkurang pada mutan-mutan ini (Tomlinson et al., 2019). Hal ini juga mengubah ekspresi banyak gen lain seperti *PSY1*, *CRTISO*, *Z-ISO*, *SGR1*, *LCYE*, *DXS2*, *LCYE*, *PDS*, *LCYB*, dan *CrtR-b2*, yang terlibat dalam pematangan buah. Knockout *RIN* oleh sistem CRISPR-Cas9 menunjukkan bahwa gen *RIN* tidak hanya terlibat dalam pematangan buah. Peningkatan umur simpan dan kandungan nutrisi memiliki dampak nyata terhadap ketahanan pangan dan gizi masyarakat. Buah yang lebih tahan lama mengurangi *food loss* pascapanen, sementara peningkatan kandungan vitamin dan likopen berkontribusi terhadap kualitas konsumsi pangan yang lebih sehat dan bergizi.

Perkembangan teknologi penyuntingan genom berbasis CRISPR-Cas9 telah membawa perubahan mendasar dalam biologi molekuler dan pemuliaan tanaman, khususnya pada tomat sebagai tanaman model. Keunggulannya dalam hal presisi, efisiensi, fleksibilitas, serta kemampuan multiplexing menjadikan CRISPR-Cas9 sebagai alat yang sangat efektif untuk memodifikasi gen target tanpa mengganggu latar genetik varietas unggul. Penerapan teknologi ini terbukti mampu meningkatkan ketahanan tanaman terhadap cekaman biotik dan abiotik, memperbaiki hasil dan kualitas nutrisi buah, serta memperpanjang umur simpan pascapanen. Selain itu, pemanfaatan sistem dCas9 memperluas fungsi CRISPR dari sekadar penyuntingan genom menjadi pengatur ekspresi gen yang presisi dan reversibel. Secara keseluruhan, CRISPR-Cas9 tidak hanya mempercepat proses perakitan varietas unggul, tetapi juga berkontribusi signifikan terhadap penguatan ketahanan pangan dan keberlanjutan pertanian di tengah tantangan perubahan iklim dan pertumbuhan populasi global.

SIMPULAN

Teknologi penyuntingan gen berbasis CRISPR/Cas9 telah membuka peluang besar dalam pengembangan bioteknologi pertanian, khususnya pada rekayasa genetik tomat (*Solanum lycopersicum*). Hasil kajian menunjukkan bahwa CRISPR mampu meningkatkan produktivitas, ketahanan terhadap cekaman biotik maupun abiotik serta memperbaiki kualitas nutrisi dan umur simpan buah tomat. Keunggulan utama CRISPR terletak pada presisi, efisiensi, serta fleksibilitasnya dalam melakukan modifikasi genetik dibandingkan metode konvensional. Dengan demikian, penerapan CRISPR tidak hanya berkontribusi terhadap peningkatan nilai ekonomi dan gizi tomat, tetapi juga menjadi strategi inovatif dalam mendukung ketahanan pangan global yang berkelanjutan.

REFERENSI

- Ali, Z., Abulfaraj, A., Idris, A., Ali, S., Tashkandi, M., & Mahfouz, M. M. (2015). CRISPR/Cas9-mediated viral interference in plants. *Genome Biology*, 16(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13059-015-0799-6>
- Anand, S., Visakh, R. L., Shrithar Bhalaji, B. K., Parvathy, Reddy, N. R. S., & Rajasekharan, A. (2025). Current Trends in CRISPR-Cas System Based Genome Editing in Tomato (*Solanum lycopersicum*). *Plant Breeding*, 1–23. <https://doi.org/10.1111/pbr.70023>
- Armario Najera, V., Twyman, R. M., Christou, P., & Zhu, C. (2019). Applications of multiplex genome editing in higher plants. *Current Opinion in Biotechnology*, 59, 93–102. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.02.015>
- Berman, A., Su, N., Li, Z., Landau, U., Chakraborty, J., Gerbi, N., Liu, J., Qin, Y., Yuan, B., Wei, W., Yanai, O., Mayrose, I., Zhang, Y., & Shani, E. (2025). Construction of multi-targeted CRISPR libraries in tomato to overcome functional redundancy at genome-scale level. *Nature Communications*, 16(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-59280-6>
- Bhoomika, S., Salunkhe, S. R., Sakthi, A. R., Saraswathi, T., Manonmani, S., Raveendran, M., & Sudha, M. (2024). CRISPR-Cas9: Unraveling Genetic Secrets to Enhance Floral and Fruit Traits in Tomato. *Molecular Biotechnology*. <https://doi.org/10.1007/s12033-024-01290-8>

- Brooks, C., Nekrasov, V., Lippman, Z. B., & Van Eck, J. (2014). Efficient Gene Editing in Tomato in the First Generation Using the Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR-Associated9 System. *Plant Physiology*, 166(3), 1292–1297. <https://doi.org/10.1104/pp.114.247577>
- Brooks, C., Nekrasov, V., Lippman, Z. B., & Van Eck, J. (2014). Efficient gene editing in tomato in the first generation using the clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated9 system. *Plant Physiology*, 166(3), 1292–1297. <https://doi.org/10.1104/pp.114.247577>
- Chandrasekaran J et al (2016) Development of broad virus resistance in non-transgenic cucumber using CRISPR/Cas9 technology. *Mol Plant Pathol* 17:1140–1153. <https://doi.org/10.1111/mpp.12375>
- Chaudhuri, A., Halder, K., & Datta, A. (2022). Classification of CRISPR/Cas system and its application in tomato breeding. *Theoretical and Applied Genetics*, 135(2), 367–387. <https://doi.org/10.1007/s00122-021-03984-y>
- Ezin, V., & Symonds, R. (2023). *Genome Editing of Tomato Crop with CRISPR/Cas Systems: Past, Present, and Future* (pp. 191–238). <https://doi.org/10.1201/9781003331759-10>
- Feng, Z., Zhang, B., Ding, W., Liu, X., Yang, D. L., Wei, P., Cao, F., Zhu, S., Zhang, F., Mao, Y., & Zhu, J. K. (2013). Efficient genome editing in plants using a CRISPR/Cas system. *Cell Research*, 23(10), 1229–1232. <https://doi.org/10.1038/cr.2013.114>
- Fu, Y., Jennifer A. Foden, Khayter, C., Maeder, M. L., Reyon, D., Joung, J. K., & Sander, J. D. (2013). High frequency off-target mutagenesis induced by CRISPR-Cas nucleases in human cells. *International Review on Modelling and Simulations*, 4(2), 851–857. <https://doi.org/10.1038/nbt.2623>
- Hardinah, N. A., Miranda, S., & Melisa, A. O. (2025). Tinjauan Literatur: Penerapan Model Pembelajaran Berbasis Proyek untuk Meningkatkan Kemampuan Berpikir Kreatif Siswa pada Pembelajaran Biologi SMA. *Spizaetus: Jurnal Biologi Dan Pendidikan Biologi*, 6(1), 167–179. <https://doi.org/10.55241/spibio.v6i1.533>
- Hayut, S. F., Bessudo, C. M., & Levy, A. A. (2017). Targeted recombination between homologous chromosomes for precise breeding in tomato. *Nature Communications*, 8(May), 1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms15605>
- Hieu, P. V., & Toan, T. B. (2023). Agricultural Development Based On CRISPR-CAS9 And Retrons Techniques: A Perspective Application On Tomato. *SABRAO*, 55(1), 237–253.
- Hilton, I. B., Vockley, C. M., Pratiksha, I., Crawford, G. E., Reddy, T. E., Gersbach, C. A., Carolina, N., States, U., Biology, C., Carolina, N., Carolina, N., Carolina, N., & Carolina, N. (2015). Activates Genes From Promoters and Enhancers. *Nature Biotechnology*, 33(5), 510–517. <https://doi.org/10.1038/nbt.3199>
- Hsu, P. D., Scott, D. A., Weinstein, J. A., Ran, F. A., Konermann, S., Agarwala, V., Li, Y., Fine, E. J., Wu, X., Shalem, O., Cradick, T. J., Marraffini, L. A., Bao, G., & Zhang, F. (2013). DNA targeting specificity of RNA-guided Cas9 nucleases. *Nature Biotechnology*, 31(9), 827–832. <https://doi.org/10.1038/nbt.2647>
- Ito, Y., Sekiyama, Y., Nakayama, H., Nishizawa-Yokoi, A., Endo, M., Shima, Y., Nakamura, N., Kotake-Nara, E., Kawasaki, S., Hirose, S., & Toki, S. (2020). Allelic Mutations in the Ripening -Inhibitor Locus Generate Extensive Variation in Tomato Ripening . *Plant Physiology*, 183(1), 80–95. <https://doi.org/10.1104/pp.20.00020>
- Jiang, W., Zhou, H., Bi, H., Fromm, M., Yang, B., & Weeks, D. P. (2013). Demonstration of CRISPR/Cas9/sgRNA-mediated targeted gene modification in Arabidopsis, tobacco, sorghum and rice. *Nucleic Acids Research*, 41(20), 1–12.

- <https://doi.org/10.1093/nar/gkt780>
- Klap, C., Yeshayahou, E., Bolger, A. M., Arazi, T., Gupta, S. K., Shabtai, S., Usadel, B., Salts, Y., & Barg, R. (2017). Tomato facultative parthenocarpy results from SIAGAMOUS-LIKE 6 loss of function. *Plant Biotechnology Journal*, 15(5), 634–647. <https://doi.org/10.1111/pbi.12662>
- Komor, A. C., Zhao, K. T., Packer, M. S., Gaudelli, N. M., Waterbury, A. L., Koblan, L. W., Kim, Y. B., Badran, A. H., & Liu, D. R. (2017). Improved base excision repair inhibition and bacteriophage Mu Gam protein yields C:G-to-T:A base editors with higher efficiency and product purity. *Science Advances*, 3(8), 1–9. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aao4774>
- Kondo, K., & Taguchi, C. (2022). Japanese Regulatory Framework and Approach for Genome-edited Foods Based on Latest Scientific Findings. *Food Safety*, 10(4), 113–128. <https://doi.org/10.14252/foodsafetyfscj.d-21-00016>
- Li, D., Qiu, Z., Shao, Y., Chen, Y., Guan, Y., Liu, M., Li, Y., Gao, N., Wang, L., Lu, X., Zhao, Y., & Liu, M. (2013). Heritable gene targeting in the mouse and rat using a CRISPR-Cas system. *Nature Biotechnology*, 31(8), 681–683. <https://doi.org/10.1038/nbt.2661>
- Li, X., Wang, Y., Chen, S., Tian, H., Fu, D., Zhu, B., Luo, Y., & Zhu, H. (2018). Lycopene is enriched in tomato fruit by CRISPR/Cas9-mediated multiplex genome editing. *Frontiers in Plant Science*, 9(April), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00559>
- Maccaro, A., Piaggio, D., Pagliara, S., & Pecchia, L. (2021). The role of ethics in science: a systematic literature review from the first wave of COVID-19. *Health and Technology*, 11(5), 1063–1071. <https://doi.org/10.1007/s12553-021-00570-6>
- Macovei, A., Sevilla, N. R., Cantos, C., Jonson, G. B., Slamet-Loedin, I., Čermák, T., Voytas, D. F., Choi, I. R., & Chadha-Mohanty, P. (2018). Novel alleles of rice eIF4G generated by CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis confer resistance to Rice tungro spherical virus. *Plant Biotechnology Journal*, 16(11), 1918–1927. <https://doi.org/10.1111/pbi.12927>
- Mali, P., Yang, L., Esvelt, K. M., Aach, J., Guell, M., DiCarlo, J. E., Norville, J. E., & Church, G. M. (2013). RNA-guided human genome engineering via Cas9. *Science*, 339(6121), 823–826. <https://doi.org/10.1126/science.1232033>
- Mishra, R., & Zhao, K. (2018). Genome editing technologies and their applications in crop improvement. *Plant Biotechnology Reports*, 12(2), 57–68. <https://doi.org/10.1007/s11816-018-0472-0>
- Munir, A., Amin, I., Zahoor, M. K., Majeed, H. N., Almoammar, H., Ghaffar, A., & Ahmad, A. (2024). Chapter 8 - Multiplex genome editing in plants through CRISPR-Cas. In K. A. Abd-Elsalam, A. Ahmad, & B. B. T.-Crispr. H. C. Zhang (Eds.), *Genome Modified Plants and Microbes in Food and Agriculture* (pp. 127–142). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-13229-2.00012-0>
- Murugavelu, G. S., Harish Chandar, S. R., Sakthivel, S. K., Ramaswamy, M., Swaminathan, A., & Chinnaswamy, A. (2025). Progress and Updates of CRISPR/Cas9-Mediated Genome Editing on Abiotic Stress Tolerance in Agriculture: A Review. *Sugar Tech*, 27(1), 29–43. <https://doi.org/10.1007/s12355-024-01448-3>
- Nekrasov, V., Staskawicz, B., Weigel, D., Jones, J. D. G., & Kamoun, S. (2013). Targeted mutagenesis in the model plant *Nicotiana benthamiana* using Cas9 RNA-guided endonuclease. *Nature Biotechnology*, 31(8), 691–693. <https://doi.org/10.1038/nbt.2655>

- Nguyen, N. H., Bui, T. P., Le, N. T., Nguyen, C. X., Le, M. T. T., Dao, N. T., Phan, Q., Van Le, T., To, H. M. T., Pham, N. B., Chu, H. H., & Do, P. T. (2023). Disrupting Sc-uORFs of a transcription factor bZIP1 using CRISPR/Cas9 enhances sugar and amino acid contents in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Planta*, 257(3), 57. <https://doi.org/10.1007/s00425-023-04089-0>
- Ortigosa, A., Gimenez-Ibanez, S., Leonhardt, N., & Solano, R. (2019). Design of a bacterial speck resistant tomato by CRISPR/Cas9-mediated editing of SlJAZ2. *Plant Biotechnology Journal*, 17(3), 665–673. <https://doi.org/10.1111/pbi.13006>
- Pan, C., Ye, L., Qin, L., Liu, X., He, Y., Wang, J., Chen, L., & Lu, G. (2016). CRISPR/Cas9-mediated efficient and heritable targeted mutagenesis in tomato plants in the first and later generations. *Scientific Reports*, 6(April), 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep24765>
- Pattanayak, V., Lin, S., Guilinger, J. P., Ma, E., Doudna, J. A., & Liu, D. R. (2013). High-throughput profiling of off-target DNA cleavage reveals RNA-programmed Cas9 nuclease specificity. *Physiology & Behavior*, 176(5), 139–148. <https://doi.org/10.1038/nbt.2673>. High-throughput
- Prihatna, C., Barbetti, M. J., & Barker, S. J. (2018). A Novel Tomato Fusarium Wilt Tolerance Gene. *Frontiers in microbiology*, 9, 1226. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01226>
- Ran, F. A., Hsu, P. D., Wright, J., Agarwala, V., Scoot, D. A., & Zhang, F. (2015). Genome engineering using the CRISPR-Cas9 system. *Nature Protocols*, 8(11), 1–10. <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.143>. Genome
- Rath D, Amlinger L, Rath A, Lundgren M (2015) The CRISPR- Cas immune system: biology, mechanisms and applications. *Biochimie* 117:119–128. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2015.03.025>
- Ricroch, A. (2019). Global developments of genome editing in agriculture. *Transgenic Research*, 28(2), 45–52. <https://doi.org/10.1007/s11248-019-00133-6>
- Rodríguez-Leal, D., Lemmon, Z. H., Man, J., Bartlett, M. E., & Lippman, Z. B. (2017). Engineering Quantitative Trait Variation for Crop Improvement by Genome Editing. *Cell*, 171(2), 470–480.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.08.030>
- Ron, M., Kajala, K., Pauluzzi, G., Wang, D., Reynoso, M. A., Zumstein, K., Garcha, J., Winte, S., Masson, H., Inagaki, S., Federici, F., Sinh, N., Deal, R. B., Bailey-Serres, J., & Brady, S. M. (2015). Hairy root transformation using *Agrobacterium rhizogenes* as a tool for exploring cell type-specific gene expression and function using tomato as a model. *Plant Physiology*, 166(2), 455–469. <https://doi.org/10.1104/pp.114.239392>
- Santillán Martínez, M. I., Bracuto, V., Koseoglou, E., Appiano, M., Jacobsen, E., Visser, R. G. F., Wolters, A. M. A., & Bai, Y. (2020). CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis of the tomato susceptibility gene PMR4 for resistance against powdery mildew. *BMC Plant Biology*, 20(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02497-y>
- Schaart, J. G., van de Wiel, C. C. M., & Smulders, M. J. M. (2021). Genome editing of polyploid crops: prospects, achievements and bottlenecks. *Transgenic Research*, 30(4), 337–351. <https://doi.org/10.1007/s11248-021-00251-0>
- Shan, Q., Wang, Y., Li, J., Zhang, Y., Chen, K., Liang, Z., Zhang, K., Liu, J., Xi, J. J., Qiu, J.-L., & Gao, C. (2013). Targeted genome modification of crop plants using a CRISPR-Cas system. *Nature Biotechnology*, 31(8), 686–688. <https://doi.org/10.1038/nbt.2650>
- Shen, L., Hua, Y., Fu, Y., Li, J., Liu, Q., Jiao, X., Xin, G., Wang, J., Wang, X., Yan, C., & Wang, K. (2017). Rapid generation of genetic diversity by multiplex CRISPR/Cas9 genome editing in rice. *Science China Life Sciences*, 60(5), 506–515.

- <https://doi.org/10.1007/s11427-017-9008-8>
- Shimatani, Z., Kashojiya, S., Takayama, M., Terada, R., Arazoe, T., Ishii, H., Teramura, H., Yamamoto, T., Komatsu, H., Miura, K., Ezura, H., Nishida, K., Ariizumi, T., & Kondo, A. (2017). Targeted base editing in rice and tomato using a CRISPR-Cas9 cytidine deaminase fusion. *Nature Biotechnology*, 35(5), 441–443. <https://doi.org/10.1038/nbt.3833>
- Shlush, I. Ben, Samach, A., Melamed-Bessudo, C., Ben-Tov, D., Dahan-Meir, T., Filler-Hayut, S., & Levy, A. A. (2021). Crispr/cas9 induced somatic recombination at the crtiso locus in tomato. *Forests*, 12(1), 1–12. <https://doi.org/10.3390/genes12010059>
- Shu, P., Li, Z., Min, D., Zhang, X., Ai, W., Li, J., Zhou, J., Li, Z., Li, F., & Li, X. (2020). CRISPR/Cas9-Mediated SIMYC2 Mutagenesis Adverse to Tomato Plant Growth and MeJA-Induced Fruit Resistance to Botrytis cinerea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(20), 5529–5538. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b08069>
- Tian, Y., Liu, X., Fan, C., Li, T., Qin, H., Li, X., Chen, K., Zheng, Y., Chen, F., & Xu, Y. (2021). Enhancement of Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) Seed Lipid Content for Biodiesel Production by CRISPR-Cas9-Mediated Knockout of NtAn1. *Frontiers in Plant Science*, 11(January), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.599474>
- Tiwari, J. K., Singh, A. K., & Behera, T. K. (2023). CRISPR / Cas genome editing in tomato improvement: Advances and applications. *Frontiers*, 10(3389), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1121209>
- Tomlinson, L., Yang, Y., Emenecker, R., Smoker, M., Taylor, J., Perkins, S., Smith, J., MacLean, D., Olszewski, N. E., & Jones, J. D. G. (2019). Using CRISPR/Cas9 genome editing in tomato to create a gibberellin-responsive dominant dwarf DELLA allele. *Plant Biotechnology Journal*, 17(1), 132–140. <https://doi.org/10.1111/pbi.12952>
- Tran, M. T., Doan, D. T. H., Kim, J., Song, Y. J., Sung, Y. W., Das, S., Kim, E., Son, G. H., Kim, S. H., Van Vu, T., & Kim, J.-Y. (2021). CRISPR/Cas9-based precise excision of SlHyPRP1 domain(s) to obtain salt stress-tolerant tomato. *Plant Cell Reports*, 40(6), 999–1011. <https://doi.org/10.1007/s00299-020-02622-z>
- Tripathi, L., & Tripathi, V. O. N. dan J. N. (2024). Penerapan penyuntingan gen berbasis CRISPR / Cas untuk pengembangan pisang yang lebih baik. *Bioengineering and Biotechnology*, 12, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2024.1395772>
- Ueta, R., Abe, C., Watanabe, T., Sugano, S. S., Ishihara, R., Ezura, H., Osakabe, Y., & Osakabe, K. (2017). Rapid breeding of parthenocarpic tomato plants using CRISPR/Cas9. *Scientific Reports*, 7(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00501-4>
- Wang, H., La Russa, M., & Qi, L. S. (2016). CRISPR/Cas9 in Genome Editing and Beyond. *Annual Review of Biochemistry*, 85, 227–264. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060815-014607>
- Wang, J. W., Wang, A., Li, K., Wang, B., Jin, S., Reiser, M., & Lockey, R. F. (2015). CRISPR/Cas9 nuclease cleavage combined with Gibson assembly for seamless cloning. *BioTechniques*, 58(4), 161–170. <https://doi.org/10.2144/000114261>
- Wang, T., Deng, Z., Zhang, X., Wang, H., Wang, Y., Liu, X., Liu, S., Xu, F., Li, T., Fu, D., Zhu, B., Luo, Y., & Zhu, H. (2018). Tomato DCL2b is required for the biosynthesis of 22-nt small RNAs, the resulting secondary siRNAs, and the host defense against ToMV. *Horticulture Research*, 5(1). <https://doi.org/10.1038/s41438-018-0073-7>

- Xie, K., Minkenberg, B., & Yang, Y. (2015). Boosting CRISPR/Cas9 multiplex editing capability with the endogenous tRNA-processing system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(11), 3570–3575. <https://doi.org/10.1073/pnas.1420294112>
- Xie, K., & Yang, Y. (2013). RNA-Guided genome editing in plants using a CRISPR-Cas system. *Molecular Plant*, 6(6), 1975–1983. <https://doi.org/10.1093/mp/sst119>
- Xu, C., Park, S. J., Van Eck, J., & Lippman, Z. B. (2016). Control of inflorescence architecture in tomato by BTB/POZ transcriptional regulators. *Genes and Development*, 30(18), 2048–2061. <https://doi.org/10.1101/gad.288415.116>
- Yang, Y., Zhu, G., Li, R., Yan, S., Fu, D., Zhu, B., Tian, H., Luo, Y., & Zhu, H. (2017). The RNA editing factor SLORRM4 is required for normal fruit ripening in tomato1. *Plant Physiology*, 175(4), 1690–1702. <https://doi.org/10.1104/pp.17.01265>
- Yin, Y., Qin, K., Song, X., Zhang, Q., Zhou, Y., Xia, X., & Yu, J. (2018). BZR1 Transcription Factor Regulates Heat Stress Tolerance Through FERONIA Receptor-Like Kinase-Mediated Reactive Oxygen Species Signaling in Tomato. *Plant & Cell Physiology*, 59(11), 2239–2254. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcy146>
- Zhang, H., Zhang, J., Wei, P., Zhang, B., Gou, F., Feng, Z., Mao, Y., Yang, L., Zhang, H., Xu, N., & Zhu, J.-K. (2014). The CRISPR/Cas9 system produces specific and homozygous targeted gene editing in rice in one generation. *Plant Biotechnology Journal*, 12(6), 797–807. <https://doi.org/10.1111/pbi.12200>
- Zhang, S., Wang, L., Zhao, R., Yu, W., Li, R., Li, Y., Sheng, J., & Shen, L. (2018). Knockout of SIMAPK3 Reduced Disease Resistance to Botrytis cinerea in Tomato Plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(34), 8949–8956. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b02191>
- Zhou, L., Sun, Z., Hu, T., Chen, D., Chen, X., Zhang, Q., Cao, J., Zhu, B., Fu, D., Zhu, H., & Qu, G. (2024). Increasing flavonoid contents of tomato fruits through disruption of the SISPL-CNR, a suppressor of SIMYB12 transcription activity. *Plant Biotechnology Journal*, 22(2), 290–292. <https://doi.org/10.1111/pbi.14214>
- Zhou, Y., Zhu, S., Cai, C., Yuan, P., Li, C., Huang, Y., & Wei, W. (2014). High-throughput screening of a CRISPR/Cas9 library for functional genomics in human cells. *Nature*, 509(7501), 487–491. <https://doi.org/10.1038/nature13166>
- Zsögön, A., Čermák, T., Naves, E. R., Notini, M. M., Edel, K. H., Weinl, S., Freschi, L., Voytas, D. F., Kudla, J., & Peres, L. E. P. (2018). De novo domestication of wild tomato using genome editing. *Nature Biotechnology*, 36(12), 1211–1216. <https://doi.org/10.1038/nbt.4272>