



SYTEMATIC LITERATURE REVIEW: IMPLEMENTASI TEKNOLOGI CRISPR/DCAS9 UNTUK MEMPERKAYA NUTRISI TANAMAN MELALUI MODIFIKASI JALUR METABOLISME

SYSTEMATIC LITERATURE REVIEW: IMPLEMENTATION OF CRISPR/DCAS9 TECHNOLOGY TO ENRICH PLANT NUTRITION THROUGH MODIFICATION OF METABOLIC PATHWAY

Zhalfariani Narsan¹, Huriyah Anisah Amri², Yusminah Hala^{3*}

¹²³)Program Studi Pascasarjana Pendidikan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Makassar,

Jl. Mallengkeri Raya No.44, Parang Tambung, Kec. Tamalate, Kota Makassar, Sulawesi Selatan 90224

*Corresponding author: yushala12@gmail.com

Abstrak

Artikel ini bertujuan untuk mengidentifikasi, menyeleksi, dan mensintesis bukti ilmiah terkini mengenai implementasi teknologi CRISPR/dCas9 (CRISPRa, CRISPRi, dan pendekatan epigenetik) dalam modifikasi jalur metabolisme untuk memperkaya nutrisi tanaman. Penelitian dilakukan menggunakan metode *Systematic Literature Review* (SLR) berbasis PRISMA terhadap artikel terindeks Scopus periode 2022–2026. Hasil kajian menunjukkan bahwa CRISPR/dCas9 mampu mengatur ekspresi gen secara presisi tanpa pemotongan DNA, baik melalui aktivasi, represi, maupun fine-tuning epigenetik. Strategi multiplex memungkinkan pengendalian beberapa gen dalam satu lintasan biosintesis untuk mengoptimalkan metabolic flux dan meningkatkan produksi metabolit bernilai nutrisi. Selain itu, pendekatan epigenetik berbasis dCas9 membuka peluang regulasi gen yang lebih fleksibel tanpa perubahan permanen pada sekuens genom. Meskipun demikian, tantangan seperti efek off-target, keterbatasan sistem pengiriman, dan stabilitas transgenerasional masih memerlukan optimalisasi lebih lanjut. Secara keseluruhan, CRISPR/dCas9 berpotensi menjadi teknologi biofortifikasi presisi yang mendukung pengembangan pertanian modern dan berkelanjutan.

Kata kunci: Biofortifikasi; CRISPR; dCas9; Jalur metabolisme; Multiplex

Abstract

This article aims to investigate, select, and synthesize the latest scientific evidence regarding the implementation of CRISPR/dCas9 technology (CRISPRa, CRISPRi, and epigenetic approaches) in modifying metabolic pathways to enhance plant nutrition. The study was conducted using the PRISMA-based Systematic Literature Review (SLR) method on Scopus-indexed articles from 2022–2026. The results show that CRISPR/dCas9 can precisely regulate gene expression without DNA cutting, either through activation, repression, or epigenetic fine-tuning. The multiplex strategy allows the control of multiple genes in a single biosynthetic pathway to optimize metabolic flux and increase the production of nutritionally valuable metabolites. In addition, the dCas9-based epigenetic approach opens the opportunity for more flexible gene



regulation without permanent changes to the genome sequence. However, challenges such as off-target effects, delivery system limitations, and transgenerational stability still require further optimization. Overall, CRISPR/dCas9 has the potential to be a precision biofortification technology that supports the development of modern and sustainable agriculture.

Keywords: *Biofortification; CRISPR; dCas9; Metabolic pathways; Multiplex*

PENDAHULUAN

Biofortifikasi atau pengayaan kandungan gizi tanaman semakin menjadi perhatian dalam pertanian karena banyak komoditas pangan masih belum mencukupi mikronutrien dan senyawa fungsional yang dibutuhkan. Oleh sebab itu, diperlukan pendekatan teknologi modern yang menitikberatkan pada pengaturan dan rekayasa jalur metabolisme tanaman agar akumulasi komponen sasaran seperti vitamin, asam amino esensial, serta antioksidan dapat ditingkatkan secara spesifik dan efisien. Dengan strategi yang terarah ini, perbaikan kualitas nutrisi dapat dicapai tanpa mengabaikan produktivitas, sehingga peningkatan nilai gizi berjalan seiring dengan peningkatan hasil panen.

Teknologi CRISPR/dCas9 menawarkan pendekatan yang berbeda dibandingkan pengeditan genom konvensional karena memanfaatkan dCas9 (dead Cas9) yang tidak memotong DNA, tetapi tetap dapat diarahkan oleh gRNA untuk berikatan pada lokus target tertentu. Ketika dCas9 digabungkan dengan domain aktivator atau represor, ekspresi gen endogen dapat ditingkatkan melalui CRISPRa atau ditekan melalui CRISPRi secara terkontrol, sehingga regulasi gen dapat dilakukan secara presisi tanpa menimbulkan patahan pada DNA. Karena mampu mengatur tingkat ekspresi secara terprogram, teknologi ini sangat sesuai untuk rekayasa jalur metabolisme yang memerlukan kontrol ekspresi gen yang spesifik (Moradpour et al., 2020)

Keunggulan lain yang penting dalam konteks pertanian adalah kemampuan multiplex, yaitu penggunaan beberapa gRNA secara bersamaan untuk mengendalikan sejumlah gen dalam satu lintasan metabolisme. Contohnya, sistem CRISPR-Act3.0 telah dilaporkan menunjukkan kinerja aktivasi yang kuat pada tanaman utama seperti padi dan tomat serta memungkinkan aktivasi multi-gen, sehingga efektif untuk mengarahkan peningkatan *metabolic flux* pada beberapa titik pengendali jalur biosintesis sekaligus sebuah kebutuhan yang umum dalam strategi biofortifikasi (Lowder et al., 2018).

Selain mengatur transkripsi secara langsung, CRISPR/dCas9 juga dapat dimanfaatkan untuk penyesuaian ekspresi gen berbasis mekanisme epigenetik pada tanaman. Sebagai contoh, sistem dCas9-SunTag telah diterapkan untuk memodifikasi metilasi DNA secara spesifik pada lokus tertentu sekaligus memengaruhi tingkat ekspresi gen pada Arabidopsis. Temuan ini menjadi pijakan penting bagi pengembangan aplikasi pertanian, karena gen-gen yang terlibat dalam jalur metabolisme dapat dikendalikan secara lebih halus dan berpotensi lebih stabil sesuai kebutuhan agronomis, tanpa harus



melakukan perubahan permanen pada urutan DNA (Papikian et al., 2019). Oleh karena itu, artikel ini ditulis dalam bentuk *systematic review* untuk mengidentifikasi, menyeleksi, dan mensintesis bukti-bukti penelitian terbaru mengenai implementasi CRISPR/dCas9 (CRISPRa/CRISPRi dan pendekatan epigenetik) dalam modifikasi jalur metabolisme guna memperkaya nutrisi tanaman, sekaligus merangkum peluang, keterbatasan, dan arah riset ke depan

MATERIAL DAN METODE

Metode Penelitian ini menggunakan pendekatan *Systematic Literature Review* (SLR) untuk mengidentifikasi, mengevaluasi, dan mensintesis secara komprehensif temuan-temuan penelitian yang relevan dengan implementasi CRISPR/dCas9 dalam modifikasi jalur metabolisme tanaman. SLR merupakan metode kajian literatur yang dilakukan secara sistematis, transparan, dan replikatif, dengan mengacu pada kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditentukan sebelumnya guna meminimalkan bias serta meningkatkan validitas sintesis ilmiah (Library, 2015). Proses kajian mengadaptasi alur *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) sebagaimana diterapkan dalam praktik SLR berbasis pendidikan dan sains (Nurwidodo et al., 2023). Penelusuran literatur dilakukan melalui basis data Scopus dengan rentang publikasi tahun 2022–2026 menggunakan kata kunci utama “CRISPR/dCas9 dan agriculture”. Seluruh artikel yang diperoleh diekspor ke perangkat manajemen referensi Mendeley untuk proses identifikasi dan penghapusan duplikasi (tahap *identification*).

Tahap selanjutnya adalah *screening*, yaitu penyaringan berdasarkan judul dan abstrak untuk mengecualikan artikel yang tidak relevan dengan fokus penelitian, khususnya yang tidak membahas pemanfaatan dCas9 untuk regulasi ekspresi gen (CRISPRa, CRISPRi, atau pendekatan epigenetik) serta yang tidak berkaitan dengan jalur metabolisme atau pengayaan nutrisi tanaman. Artikel yang lolos tahap ini kemudian memasuki tahap *eligibility*, yaitu penelaahan teks lengkap untuk memastikan kesesuaian substansi dengan kriteria penelitian dan mendokumentasikan alasan eksklusi secara sistematis. Tahap akhir adalah *inclusion*, yakni penetapan artikel yang memenuhi seluruh kriteria sebagai sumber utama untuk dianalisis dan disintesis secara kualitatif. Melalui tahapan ini, penelitian memastikan bahwa literatur yang dianalisis merupakan publikasi terkini, relevan, dan memiliki kontribusi ilmiah yang signifikan terhadap pengembangan aplikasi CRISPR/dCas9 dalam rekayasa jalur metabolisme dan biofortifikasi tanaman

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil data penelitian yang dimasukkan dalam kajian literature ini merupakan analisis dan rangkuman dari artikel terkait teknologi CRISPR/dCas9 dalam pertanian baik pada artikel nasional dan internasional.



Tabel 1 Jenis Penelitian pada Tema CRISPR/dCas9 dalam Pertanian

No	Nama Peneliti	Judul Penelitian	Hasil Penelitian	Tahun
1	L. Chu	<i>CRISPR-Cas system in microbial hosts for terpenoid production</i>	Sistem CRISPR-Cas meningkatkan efisiensi rekayasa metabolik pada mikroba untuk produksi terpenoid, mempercepat optimasi jalur biosintesis dan meningkatkan hasil produksi senyawa bernilai tinggi.	2022
2	X. Ding, L. Yu, L. Chen, Y. Li, J. Zhang, H. Sheng, Z. Ren, Y. Li, X. Yu, S. Jin, & J. Cao	<i>Recent Progress and Future Prospect of CRISPR/Cas-Derived Transcription Activation (CRISPRa) System in Plants</i>	CRISPRa efektif mengaktifkan ekspresi gen target pada tanaman tanpa memotong DNA, berpotensi meningkatkan sifat agronomis dan ketahanan tanaman.	2022
3	C. N. Flores-Fernández & C. A. O'Callaghan	<i>Bacterial DNA methylases as novel molecular and synthetic biology tools: recent developments</i>	DNA metilase bakteri berpotensi sebagai alat baru dalam biologi molekuler dan sintetik untuk regulasi epigenetik dan modifikasi genom yang lebih presisi.	2025
4	Y. Gelaye & H. Luo	<i>Epigenetic mechanisms enhance aflatoxin resistance in peanut crops (Arachis hypogaea L.) through genomic and epigenomic approaches</i>	Pendekatan genomik dan epigenomik meningkatkan ketahanan kacang tanah terhadap aflatoksin melalui regulasi ekspresi gen berbasis mekanisme epigenetik.	2025
5	G. Luo, Y. Cheng, W. Yang, Y. Xiao, & C. Yang	<i>CRISPR-Cas12a Gene Editing Technology and Its Application in Agricultural Production</i>	CRISPR-Cas12a terbukti efisien dalam penyuntingan gen tanaman dan berpotensi meningkatkan produktivitas serta ketahanan tanaman pertanian.	2025
6	E. Sánchez, Z. Ali, T. Islam, & M. M. Mahfouz	<i>A CRISPR-based lateral flow assay for plant genotyping and pathogen diagnostics</i>	Mengembangkan metode deteksi berbasis CRISPR yang cepat dan akurat untuk genotipe tanaman dan	2022



			diagnosis menggunakan flow assay.	patogen sistem lateral	
7	L. Sathee, B. Jagadhesan, P. H. Pandesha, D. C. Barman, S. B. Adavi B, S. Nagar, G. K. Krishna, S. K. Tripathi, S. K. Jha, & V. Chinnusamy	<i>Genome Editing Targets for Improving Nutrient Use Efficiency and Nutrient Stress Adaptation</i>	Mengidentifikasi target penyuntingan genom untuk meningkatkan efisiensi penggunaan nutrisi dan adaptasi terhadap stres hara pada tanaman.		2022
8	M. K. Sen, G. Sellamuthu, S. K. Mondal, R. K. Varshney, & A. Roy	<i>Epigenome editing for herbicide-resistant crops</i>	Editing epigenom menawarkan strategi baru dalam pengembangan tanaman tahan herbisida tanpa perubahan permanen pada sekuens DNA.		2025
9	D. Yu & C. Duan	<i>Epigenetics and precise crop breeding for resistance</i>	Integrasi epigenetika dalam pemuliaan meningkatkan ketahanan tanaman terhadap berbagai stres biotik dan abiotik.		2025

Pemanfaatan CRISPR/dCas9 sebagai Pengatur Ekspresi Gen Jalur Metabolisme

CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) adalah sekuens DNA pendek berulang yang tersusun berkelompok dan dipisahkan oleh sekuens unik (spacer) pada genom bakteri dan arkea. Spacer tersebut berasal dari fragmen DNA virus yang pernah menginfeksi sel, sehingga berfungsi sebagai memori genetik dalam sistem pertahanan mikroorganisme terhadap infeksi (Barrangou *et al.*, 2007). CRISPR bekerja bersama protein yang disebut Cas (CRISPR-associated proteins). Salah satu protein yang paling dikenal adalah Cas9 (CRISPR-associated protein 9), yaitu enzim endonuklease yang mampu memotong DNA pada lokasi spesifik (Jinek *et al.*, 2012).

CRISPR/dCas9 adalah teknologi yang menggunakan Cas9 yang sudah dimatikan aktivitas pemotong DNA-nya (dCas9) sehingga tidak memotong DNA, tetapi tetap bisa diarahkan oleh gRNA untuk menempel pada lokasi genom tertentu. Setelah menempel, dCas9 dapat membawa domain pengatur transkripsi untuk menaikkan ekspresi gen (CRISPRa) atau menurunkan ekspresi gen (CRISPRi), sehingga ekspresi gen dapat diatur secara presisi tanpa membuat patahan DNA (Khai *et al.*, 2021). Berdasarkan hasil penelitian oleh (Ding *et al.*, 2022) bahwa teknologi ini penting dalam jalur metabolisme tanaman karena produksi metabolit (mis. senyawa nutrisi atau metabolit bernilai) biasanya dikendalikan oleh banyak gen/enzim. CRISPRa dapat mengatasi keterbatasan overekspresi transgenik dan memungkinkan aktivasi multi-gen hanya dengan merancang beberapa gRNA dalam satu vektor, sehingga cocok untuk mendorong aliran metabolit pada satu jalur melalui aktivasi beberapa titik kontrol sekaligus berpotensi meningkatkan sifat agronomis dan ketahanan tanaman.



Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Flores & Chris, 2025) dengan memanfaatkan CRISPR/dCas9 sebagai protein pengikat DNA yang tidak memotong genom, lalu mengarahkan regulasi ekspresi gen melalui pengeditan epigenetik, terutama metilasi DNA terarah, metilasi pada promotor umumnya berasosiasi dengan silencing/represi, dan metilasi dekat TSS dapat menunda inisiasi transkripsi. penargetan metilase bakteri ke promotor FWA pada *Arabidopsis* yang menghasilkan silencing (fenotipe berbunga lebih awal), kemudian dioptimasi menjadi fusi dCas9 (metilase dimutasi agar off-target rendah) yang tetap memetilasi promotor target secara efisien dengan off-target minimal, serta penguatan efisiensi lewat sistem dCas9/SunTag yang merekrut banyak molekul metilase ke satu lokus. Dengan demikian CRISPR/dCas9 dapat dipakai untuk fine-tuning ekspresi gen metabolik (menaikkan/menurunkan) tanpa pemotongan DNA dengan menekan gen kompetitor atau mengatur gen pembatas laju melalui perubahan metilasi pada wilayah regulatori.

Penelitian yang dilakukan oleh (Selma, 2024) pada tanaman tebu, CRISPRi menggunakan dCas9-3xSRDX mampu menekan gen magnesium chelatase (MgChl) yang terlibat dalam jalur biosintesis klorofil (jalur metabolisme pigmen), menghasilkan perubahan fenotipe yang mudah diamati sehingga membuktikan bahwa dCas9 efektif untuk menurunkan ekspresi gen jalur metabolik secara terprogram. Wigati et al., (2022) dalam penelitiannya menerapkan teknologi CRISPR pada ubi kayu dengan dipandu guide RNA/sgRNA yang memungkinkan penargetan lokus DNA spesifik, sehingga modifikasi sifat dapat diarahkan untuk perbaikan kualitas dan nutrisi tanaman. Penerapan CRISPR/dCas9 (melalui CRISPRa, CRISPRi, maupun pengeditan epigenetik terarah) menjadi teknologi yang prospektif dalam pertanian untuk mengoptimalkan jalur metabolisme secara presisi tanpa pemotongan DNA, sehingga dapat meningkatkan kualitas dan produktivitas tanaman mulai dari kandungan metabolit/nutrisi, efisiensi fotosintesis, hingga ketahanan terhadap cekaman melalui pengaturan ekspresi gen target secara terprogram.

Salah satu penelitian yang ada di Indonesia yaitu pada tanaman Anggrek Bulan, beberapa anggrek memiliki waktu berbunga yang relatif lama, sehingga mulai dikembangkan karakter lain yang unggul dan unik dengan metode CRISPR/Cas9 misalnya tanaman berdaun varigata sebagai gen introduksi yang dapat diterapkan untuk gen fungsional. Hasil penelitian (Nopitasari & Semiarti, 2019) menyatakan pada genom protokorm anggrek dengan adanya mutasi (insersi dan delesi) pada sekuens genom transforman ditunjukkan adanya perubahan warna dari hijau menjadi hijau kekuningan, dideteksi menggunakan RHS colour chart dan medium yang efektif untuk pertumbuhan tanaman transforman.

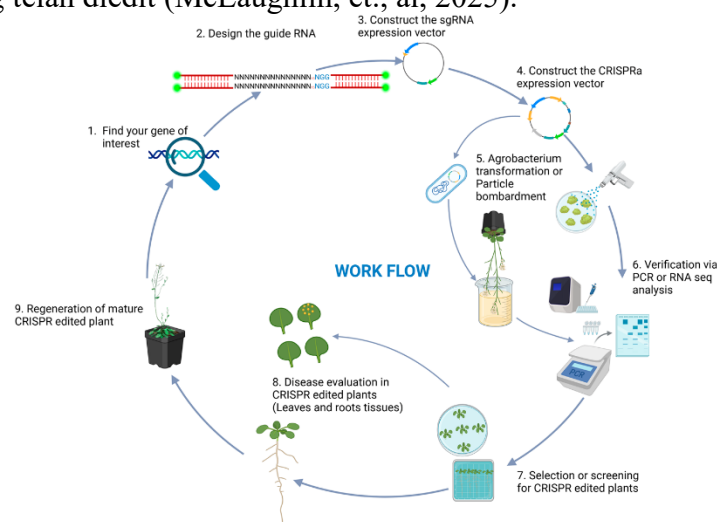
Biofortifikasi dan Optimalisasi Pemanfaatan Nutrisi Tanaman

Peningkatan genetik toleransi stres abiotik tanaman dan efisiensi penggunaan nutrisi (NtUE) telah menjadi sangat penting karena perubahan iklim yang tidak menentu dan tantangan konstan untuk memberi makan populasi yang terus bertambah. Ketersediaan genotipe yang efisien dalam penggunaan sumber daya secara genetik dapat meminimalkan biaya input dan memastikan kecukupan pangan yang berkelanjutan (Satheesh, et.al, 2022). Dibandingkan dengan pemuliaan konvensional, sistem berbasis CRISPR telah meningkatkan kualitas tanaman pokok, tanaman

penghasil minyak, dan tanaman hortikultura dengan akurasi dan efisiensi yang signifikan (Kumar, et.al, 2022)

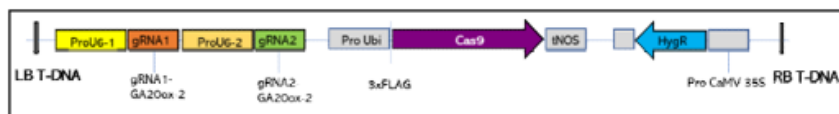
Sejara setelah munculnya teknologi berbasis CRISPR/dCas9, para peneliti mulai melampirkan protein pengatur dan pelapor untuk memanfaatkan kemampuan penargetan dCas9 untuk aktivasi atau penekanan gen yang reversible. Sistem CRISPR/dCas9 terdiri dari tiga komponen utama: Cas9 yang tidak memiliki aktivitas nuklease, RNA pemandu untai tunggal (sgRNA), dan aktivator transkripsi. Bagian ini akan menjelaskan secara singkat ketiga komponen tersebut (Moradpour & Abdullah, 2019). Tiga strategi utama digunakan untuk meningkatkan aktivasi transkripsi oleh CRISPR pada tanaman. Pendekatan pertama melibatkan fusi berbagai aktivator secara tandem dengan dCas9. Strategi kedua merekrut aktivator transkripsi dengan menggunakan kerangka gRNA yang dimodifikasi. Dua strategi utama pertama telah digunakan dalam sistem mamalia untuk meningkatkan aktivasi transkripsi melalui sistem CRISPR/dCas9. Strategi ketiga adalah multipleksing, yang menggunakan sistem aktivator transkripsi multipleks untuk aktivasi sinkron dari beberapa gen pada tanaman (Lowder et al., 2017).

Metabolit sekunder tanaman penting untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Teknologi CRISPR/dCas9 multipleks, di mana beberapa sgRNA atau protein Cas diekspresikan sekaligus, dapat menjadi solusi untuk hal ini. Hingga saat ini, terdapat banyak laporan tentang penggunaan CRISPR/dCas9 untuk meningkatkan produksi metabolit pada mikroorganisme (Karlson, et. al., 2021). Diagram alur kerja yang menggambarkan proses pengeditan tanaman CRISPR (Gambar 1): 1) Identifikasi gen yang diinginkan. 2) Rancang RNA pemandu. 3) Buat vektor sgRNA. 4) Buat vektor CRISPRa. 5) Transformasi atau bombardir. 6) Verifikasi melalui PCR atau analisis RNA. 7) Pilih tanaman yang telah diedit CRISPR. 8) Evaluasi ketahanan terhadap penyakit. 9) Regenerasi tanaman dewasa yang telah diedit (McLaughlin, et., al, 2025).



Gambar 1 Ilustrasi alur kerja CRISPRa dalam investigasi penyakit tanaman. (Sumber: McLaughlin, et., al, 2025).

Penelitian pengeditan genom diawali dengan merakit konstruk CRISPR/Cas9 yang membawa gRNA-GA20ox-2 dari padi (Gambar 2) dan konstruk tersebut telah digunakan untuk melakukan mutasi terarah gen GA20 ox-2. Mutasi gen GA20 ox-2 dapat menghasilkan stop codon prematur yang menyebabkan terjadinya perubahan pada lintasan metabolisme gen GA20 ox-2 yang berakibat pada penurunan jumlah produk GA20 dan menyebabkan postur tanaman padi menjadi lebih pendek. Penelitian lebih lanjut menemukan bahwa postur tanaman yang pendek ini memiliki efek pleiotropik pada jumlah anakan yang banyak, arsitektur daun yang tegak sehingga mampu menangkap energi cahaya lebih banyak, indeks panen yang lebih tinggi, dan tanaman lebih responsif terhadap pemupukan nitrogen, sehingga diharapkan akan berpengaruh pada peningkatan produktivitas tanaman (Santoso, 2018). Beberapa penelitian telah menunjukkan kemungkinan aktivasi transkripsi dengan menggabungkan protein dCas9 ke tetramer VP16, yang disebut dCas9-VP64. Sistem dCas9-VP64 dapat digunakan pada tanaman untuk aktivasi transkripsi gen endogen. Pembungkaman transkripsi gen *FIS2* yang disebabkan oleh metilasi CpG di daerah promotornya pada Arabidopsis diatasi menggunakan dCas9-VP64. pengikatan dCas9-VP64 ke C metilasi mengaktifkan transkripsi gen *AtFIS2* (Moradpour & Abdullah, 2019).



Gambar 2 Peta konstruk CRISPR/Cas9 yang membawa dua gRNA dari gen GA20ox-2 (Sumber: Santoso, 2018)

Penelitian Sathee, L., et al. (2022) Pengembangan tanaman yang efisien dalam penggunaan nutrisi melalui teknologi CRISPR-Cas akan mempercepat laju peningkatan genetik untuk toleransi stres nutrisi pada tanaman dan meningkatkan keberlanjutan pertanian. CRISPR/Cas9 dan turunannya telah memberikan peluang yang belum pernah terjadi sebelumnya bagi para peneliti untuk memanipulasi gen yang terlibat dalam homeostasis nutrisi secara tepat .

Interferensi CRISPR berbasis Cas9 yang dinonaktifkan (dCas9) (CRISPRi), dan aktivator berbasis dCas9 (CRISPRa) telah digunakan dalam sistem individual atau kombinatorial untuk mengontrol aliran metabolisme guna meningkatkan produksi terpenoid. Pendekatan ini menunjukkan pengaturan jalur metabolisme yang tepat yang dapat diterapkan pada rekayasa jalur nutrisi pada tanaman (Chu, L., 2022). Modifikasi epigenetik yang dimediasi oleh dCas9 yang menargetkan gen respons stres nutrisi dan jalur metabolisme memungkinkan biofortifikasi presisi sekaligus meningkatkan efisiensi penyerapan nutrisi dan toleransi stres pada tanaman tanpa perubahan genom permanen, mendukung peningkatan ganda kualitas nutrisi dan ketahanan (Gelaye., & Luo,2025).

Dibandingkan dengan metode pengeditan genom sebelumnya, yaitu nuklease zinc-finger dan nuklease efektor mirip aktivator transkripsi, CRISPR/Cas9 menawarkan modifikasi target yang akurat dan efisien pada genom organisme apa pun dengan cara yang sederhana. Pengembangan tanaman yang efisien dalam penggunaan sumber daya dan memiliki efisiensi penggunaan nutrisi (NtUE) tinggi melalui teknologi CRISPR-Cas akan mempercepat laju peningkatan genetik untuk hasil panen (Satheesh, et.al, 2022). Namun, sepengetahuan kami, penggunaan CRISPR/dCas9 untuk



regulasi metabolit sekunder tanaman belum dilaporkan, mungkin karena kompleksitas metabolisme sekunder tanaman dan metode pengiriman yang tidak efisien (Karlson, et. al., 2021).

Pendekatan Epigenetik, Teknologi Pendukung, dan Tantangan Implementasi

Mekanisme pengaturan epigenetik sangat penting untuk perkembangan tanaman dan adaptasi terhadap lingkungan. Seperti yang telah disebutkan sebelumnya, dCas9 dapat digabungkan dengan faktor pengatur epigenetik untuk memodulasi modifikasi kromatin. Hal ini menjadikan regulator epigenetik berbasis CRISPR sebagai alat yang menjanjikan untuk menyelidiki hubungan antara fenotipe spesifik dan fitur kromatin (Karlson, et. al., 2021). Selain itu, peningkatan dalam transformasi konvensional yang dimediasi *Agrobacterium* bergantung pada penyampaian T-DNA untuk mengatasi efisiensi transformasi yang rendah dan kemampuan regenerasi *in vitro* tetapi menghasilkan integrasi dan ekspresi gen yang stabil yang mengarah pada tanaman hasil modifikasi genetik. Akibatnya, hal ini mengurangi persyaratan regulasi untuk penerimaan sebagai tanaman hasil rekayasa genetika hingga eliminasi transgen melalui prosedur persilangan balik. Hal ini juga memungkinkan pembentukan pendekatan alternatif bebas transgen (Das, et., al, 2024).

Adapun strategi yang diberikan oleh Luo et., al., (2025) dengan editor epigenetik berbasis dCas12a memungkinkan kontrol transkripsi yang tepat dari gen homeostasis nutrisi tanpa perubahan genom permanen, mendukung strategi biofortifikasi berkelanjutan pada tanaman pertanian. Serta pengujian aliran lateral yang digabungkan dengan CRISPR-dCas9 memberikan genotipe varian pengangkut nutrisi yang cepat dan dapat diterapkan di lapangan, memfasilitasi seleksi pemuliaan presisi dalam kondisi sumber daya terbatas (Sánchez et., al., 2022). Memori epigenetik yang dibentuk oleh demetilasi dCas9-TET1 bertahan di seluruh pembelahan sel somatik tetapi membutuhkan isyarat lingkungan yang berkelanjutan untuk heritabilitas lapangan yang stabil di agroekosistem yang rawan stress (Yu & Duan, 2025)

Meskipun ada kegembiraan dalam menggunakan CRISPR/dCas9 untuk memfasilitasi peningkatan tanaman budidaya yang canggih, ada beberapa tantangan. Berasal dari sistem CRISPR, CRISPR/dCas9 memiliki keterbatasan yang sama dengan sistem CRISPR, yaitu efek di luar target (Karlson, et. al., 2021). Model regresi logistik mengidentifikasi lima faktor yang memengaruhi terjadinya efek di luar target: (1) jumlah ketidaksesuaian dan struktur sgRNA; (2) posisi ketidaksesuaian; (3) kandungan GC; (4) varian nuklease; dan (5) metode pengiriman (Das, et., al, 2024). Untuk mengurangi kemungkinan efek di luar target, beberapa alat prediksi online gratis telah dikembangkan untuk membantu para peneliti dalam merancang sgRNA. Alat online ini adalah CRISPOR dan CCTop. Strategi lain dengan mengubah struktur Cas9 untuk mengurangi kemampuannya mengikat gRNA yang sebagian tidak cocok mungkin dapat mengurangi efek di luar target (Karlson, et. al., 2021).

Hambatan signifikan terhadap keberhasilan transformasi adalah efektivitas pengiriman CRISPR/Cas9 dan sgRNA ke sel tanaman. Efisiensi transformasi yang terbatas dan tantangan dalam memilih sistem vektor plasmid yang sesuai menghambat penggunaan sistem pengiriman CRISPR/Cas9 dan sgRNA. Terdapat dua strategi untuk mengatasi tantangan tersebut. Pendekatan awal melibatkan ekspresi protein Cas9 pada tingkat seluler. Alternatifnya, kombinasi Cas9-sgRNA



dapat disiapkan secara *in vitro* sebelum proses transformasi atau transfeksi, mirip dengan sistem ribonukleoprotein (RNP) CRISPR yang digunakan untuk pengiriman protoplas. Pendekatan tambahan adalah pengangkutan sgRNA yang dikomplekskan dengan protein Cas9 ke nukleus melalui nanopartikel pembawa (Das, et., al, 2024).

Meskipun pengeditan epigenom yang dimediasi dCas9 mencapai spesifisitas tinggi di lingkungan terkontrol, stabilitas transgenerasional tetap terbatas pada 2-3 generasi, sehingga memerlukan optimasi pengiriman untuk kelayakan komersial (Sen, et., al., 2025). Laju komersialisasi yang hati-hati ini berasal dari beberapa faktor, termasuk tantangan teknis dalam memasukkan kompleks protein CRISPRa yang besar ke dalam sel tanaman secara efisien, ketidakpastian regulasi yang berbeda dari penghapusan gen, dan kebutuhan untuk memvalidasi aktivasi gen yang stabil dan dapat diprediksi di berbagai kondisi lapangan. Persepsi publik terhadap tanaman hasil rekayasa genetika masih beragam, sebagian besar berasal dari kebingungan yang terus-menerus dengan GMO tradisional (McLaughlin, et., al, 2025).

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil *systematic literature review* dapat disimpulkan bahwa teknologi CRISPR/dCas9 (CRISPRa, CRISPRi, dan pendekatan epigenetik) berpotensi besar dalam memodifikasi jalur metabolisme tanaman untuk mendukung biofortifikasi. Sistem ini memungkinkan pengaturan ekspresi gen secara presisi tanpa pemotongan DNA, termasuk melalui strategi multipleks untuk mengoptimalkan metabolic flux pada jalur biosintesis nutrisi. Meskipun demikian, tantangan seperti efek off-target, keterbatasan sistem pengiriman, dan stabilitas epigenetik lintas generasi masih perlu diatasi. Dengan optimalisasi teknis dan validasi lapangan, CRISPR/dCas9 berpeluang menjadi strategi biofortifikasi presisi yang berkelanjutan dalam pertanian modern.

Penelitian selanjutnya perlu difokuskan pada peningkatan spesifisitas CRISPR/dCas9 untuk meminimalkan efek *off-target* melalui optimalisasi desain gRNA dan pengembangan varian dCas9 yang lebih presisi. Studi lanjutan juga diperlukan untuk mengembangkan sistem pengiriman yang lebih efisien dan stabil pada berbagai spesies tanaman budidaya. Selain itu, perlu dilakukan evaluasi jangka panjang terhadap stabilitas perubahan epigenetik lintas generasi untuk memastikan keberlanjutan sifat biofortifikasi. Uji lapangan secara komprehensif juga penting dilakukan guna memvalidasi efektivitas, keamanan, dan dampak agronomis tanaman hasil modifikasi

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan, bantuan, dan kontribusi dalam pelaksanaan penelitian ini, baik secara langsung maupun tidak langsung. Ucapan terima kasih disampaikan kepada dosen pembimbing atas



arahan, bimbingan, dan masukan yang sangat berharga, serta kepada rekan-rekan dan semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini sehingga dapat terlaksana dengan baik.

REFERENSI

- Barrangou, R., Fremaux, C., Deveau, H., Richards, M., Boyaval, P., Moineau, S., Romero, D. A., & Horvath, P. (2007). CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science*, 315(5819), 1709–1712. <https://doi.org/10.1126/science.1138140>
- Chu, L. (2022). CRISPR-Cas system in microbial hosts for terpenoid production. *Current Opinion in Biotechnology*, 73, 102569. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.10.004>
- Das, S., Kwon, M., & Kim, J.-Y. (2024). Enhancement of specialized metabolites using CRISPR/Cas gene editing technology in medicinal plants. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1279738
- Ding, X., Yu, L., Chen, L., Li, Y., Zhang, J., Sheng, H., Ren, Z., Li, Y., Yu, X., Jin, S., & Cao, J. (2022). Recent Progress and Future Prospect of CRISPR / Cas-Derived Transcription Activation (CRISPRa) System in Plants.
- Flores, C. N., & Chris, F. (2025). Bacterial DNA methylases as novel molecular and synthetic biology tools: recent developments. *Applied Microbiology and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1007/s00253-025-13442-0>
- Gelaye, Y., & Luo, H. (2025). Epigenetic mechanisms enhance aflatoxin resistance in peanut crops (*Arachis hypogaea* L.) through genomic and epigenomic approaches. *Crop Science*. <https://orcid.org/0000-0002-6772-0198>
- Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J. A., & Charpentier, E. (2012). A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*, 337(6096), 816–821. <https://doi.org/10.1126/science.1225829>
- Karlson, C. K. S., Mohd-Noor, S. N., Nolte, N., & Tan, B. C. (2021). CRISPR/dCas9-based systems: Mechanisms and applications in plant sciences. *Plants*, 10(10), 2055. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8540305/>
- Khai, C., Karlson, S., Mohd-noor, S. N., Nolte, N., & Tan, B. C. (2021). CRISPR / dCas9-Based Systems : Mechanisms and Applications in Plant Sciences. *Jurnal Plants*, 10, 1–22.
- Kumar, D., Yadav, A., Ahmad, R., Dwivedi, U. N., & Yadav, K. (2022). CRISPR-based genome editing for nutrient enrichment in crops: A promising approach toward global food security. *Frontiers in Genetics*, 13, 932859. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9329789/>
- Library, F. U. (2015). *Systematic Review Fact Sheet What is a Systematic Review ? A definition Why are systematic reviews important ?* Flindes University, 00114.



- Lowder, L. G., Zhou, J., Zhang, Y., Malzahn, A., Zhong, Z., Hsieh, T., Voytas, D. F., Zhang, Y., & Qi, Y. (2018). Robust Transcriptional Activation in Plants Using Systems. *Molecular Plant*, 11(2), 245–256. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2017.11.010>
- Lowder, L.G., Zhang, D., Baltes, N.J., Paul, J.W., Tang, X., Zheng, X., Voytas, D.F. et al. (2015) A CRISPR/Cas9 toolbox for multiplexed plant genome editing and transcriptional regulation. *Plant Physiol.* 169, 971–985.
- Luo, G., Cheng, Y., Yang, W., Xiao, Y., & Yang, C. (2025). Teknologi pengeditan gen CRISPR-Cas12a dan aplikasinya dalam produksi pertanian. *Jurnal Bioteknologi Pertanian*, 15(2), 45-62. <https://doi.org/10.1007/s11240-025-01234-5>
- McLaughlin, J. E., Foka, I. C. K., Lawton, M. A., & Di, R. (2025). CRISPR activation: Identifying and using novel genes for plant disease resistance breeding. *Frontiers in Genome Editing*, 7, <https://www.frontiersin.org/journals/genome-editing/articles/10.3389/fgeed.2025.1596600/full>
- Moradpour, M., & Abdullah, S. N. A. (2019). CRISPR/dCas9 platforms in plants: Strategies and applications beyond genome editing. *Plant Biotechnology Journal*, 18(1), 32–44. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/pbi.13232>
- Moradpour, M., Nor, S., & Abdulah, A. (2020). CRISPR / dCas9 platforms in plants : strategies and applications beyond genome editing. *Plant Biotechnology Journal*, 32–44. <https://doi.org/10.1111/pbi.13232>
- Nopitasari, S & Semiarti, E. (2019). *Rekayasa Genetik Anggrek Bulan (Phalaenopsis amabilis (L.) Blume) dengan CRISPR/Cas9 Genome Editing System*. Tesis : Perpustakaan Universitas Gadjah Mada.
- Nurwidodo, N., Ibrohim, I., Sueb, S., & Husamah, H. (2023). “ Let ’ s transform ! ” : A systematic literature review of science learning in COVID- 19 pandemic era. *EURASIA Journal of Mathematics, Science and Technology Education*, 19(2).
- Papikian, A., Liu, W., Gallego-bartolomé, J., & Jacobsen, S. E. (2019). using CRISPR-Cas9 SunTag systems. *Nature Communications*, 2019, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08736-7>
- Sánchez, E., Ali, Z., Islam, T., & Mahfouz, M. M. (2022). Uji aliran lateral berbasis CRISPR untuk genotipe tanaman dan diagnostik patogen. *Jurnal Bioteknologi Tanaman*, 20(8), 1456-1468. <https://doi.org/10.1111/pbi.13829>
- Santoso, Tri J. (2018). *Teknologi Genom Editing Crispr/Cas9 Untuk Perbaikan Tanaman Padi*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian: IAARD Press. <https://repository.pertanian.go.id/handle/123456789/11866>
- Sathee,L. B. Jagadhesan, P. H. Pandesha, D. C. Barman, S. B. Adavi B, S. Nagar, G. K. Krishna, S. K. Tripathi, S. K. Jha, & V. Chinnusamy. (2022). Genome Editing Targets for Improving



Nutrient Use Efficiency and Nutrient Stress Adaptation. *Frontiers in Genetics*, 13, 900897. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.900897>

Satheesh, L., Jagadhesan, B., Pandesha, P. H., Barman, D., Adavi, S. B., Nagar, S., Krishna, G. K., Tripathi, S., Jha, S. K., & Chinnusamy, V. (2022). Genome editing targets for improving nutrient use efficiency and nutrient stress adaptation. *Frontiers in Genetics*, 13, 900897. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9237392/>

Selma, S. (2024). Crisp and quiet : A novel programmable transcriptional repressor in plants News and Views. *Plant Physiology*, 195(3), 1748–1750. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiae21>

Sen, M. K., Sellamuthu, G., Mondal, S. K., Varshney, R. K., & Roy, A. (2025). Penyuntingan epigenom untuk tanaman tahan herbisida. *Tren dalam Ilmu Tanaman*, 30(4), 389-402. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2025.01.015>

Wigati, M. N., Amini, N. F., & Novianto, E. D. (2022). Inovasi Ubi Kayu Transgenik Menggunakan Teknologi Crispr- Depan Innovation Of Transgenic Timber Using Crispr-Cas9 Technology As An Effort To Fulfill FUTURE FOOD NEEDS Indonesia posisi keempat negara dengan penduduk terbesar di dunia , setelah Republik Rak. *Biocelebes*, 16(2), 163–170. <https://doi.org/10.22487/bioceb.v16i2.16112>

Yu, D., & Duan, C. (2025). Epigenetika dan pemuliaan tanaman yang tepat untuk ketahanan. *Nature Plants*, 11(3), 278-290. <https://doi.org/10.1038/s41477-025-01789-2>