
PERKEMBANGAN BIOTEKNOLOGI CRISPR/CAS9 DALAM PEMULIAAN TANAMAN MENTIMUN

Oleh

Moch. Rosyadi Adnan¹, Alvianti. M, Hendri Kurniawan², Nurul Aini³, Gevin Oktaval⁴, M Ainur⁵, M Ari Firdaus⁶, Moh Gilang Mauludy⁷

^{1,2,3,4,5,6,7} Program Studi Teknik Produksi Benih Politeknik Negeri Jember

E-mail: ¹moch.rosyadi@polije.ac.id¹

Article History:

Received: 16-12-2023

Revised: 09-01-2024

Accepted: 16-01-2024

Keywords:

Genome editing,
Rekayasa genetika,
Hortikultura,
Breeding

Abstract: Perkembangan bioteknologi dalam pemuliaan tanaman memungkinkan peningkatan karakter penting tanaman dengan waktu yang lebih cepat. Salah satunya melalui teknologi clustered regularly interspaced palindromic repeats (CRISPR) / CRISPR-associated protein 9 (Cas9). Penggunaan bioteknologi ini mampu mengedit gen tanaman untuk perbaikan karakter pada tanaman mentimun seperti untuk mengatur karakter agronomis seperti bentuk buah, rasa, tampilan buah, hingga perawakan tanaman. Selain itu teknologi ini genome editing dengan CRISPR/Cas9 juga memungkinkan peningkatan ketahanan tanaman mentimun terhadap stress abiotik seperti salinitas dengan modulasi gen *CsAKT1* yang mengatur transport ion K^+ , serta ketahanan terhadap stress biotik seperti penyakit jamur tepung (Powdery Mildew) dengan modulasi gen ketahanan Powdery Mildew (*CsMLO8*) dan virus mosaik pada mentimun dengan modulasi gen Eukaryotic Initiation Transcription Factor 4e (*eIF4E*).

PENDAHULUAN

Mentimun (*Cucumis sativus* L.) merupakan salah satu tanaman sayuran yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Tanaman yang termasuk dalam famili labu labuan (*Cucurbitaceae*) ini berasal dari kawasan Asia Selatan, khususnya India dan telah didomestikasi sekitar 30 abad yang lalu dari tipe liarnya *Cucumis sativus* var. *hardwickii* [1]). Mentimun memiliki kandungan air yang tinggi dan kadar kalori, lemak, dan garam yang rendah. Selain itu, mentimun kaya akan zat saponin, mineral seperti kalsium, fosfor, besi, belerang, magnesium, serta beberapa jenis vitamin seperti A, B1, dan C sehingga termasuk buah yang menyehatkan [2], [3]. Buah mentimun dapat dikonsumsi sebagai sayur lalap, acar, salad, asinan, bahan kosmetik, hingga obat.

Tanaman mentimun termasuk dalam kategori tanaman semusim yang tumbuh menjalar. Mentimun dapat tumbuh pada dataran rendah hingga tinggi dengan ketinggian berkisar 0 – 1000 m di atas permukaan laut [4]. Tanaman mentimun memiliki ciri morfologi batang herbaceous, berbulu serta berbuku-buku. Mentimun dapat tumbuh dengan tinggi tanamannya mencapai 50 – 250 cm dengan sulur di sisi tangkai daun yang membantu perlekatannya pada tempat rambatannya. Daun mentimun berbentuk bulat lebar serta perakarannya tunggang dengan daya tembusnya relatif dangkal sekitar 30 – 60 cm [5].

Perkembangan morfologi mentimun dari tipe liarnya yang memiliki fenotipe buah

berukuran kecil serta rasa pahit sehingga menjadi berbagai jenis mentimun yang tersedia dan mudah dikonsumsi sekarang tidak lepas dari proses domestikasi dan pemuliaan tanaman mentimun [6]. Hal ini penting mengingat keragaman varietas mentimun komersial yang terbatas sehingga perlu dilakukan kegiatan penelitian dan pemuliaan untuk meningkatkan jumlah keragaman varietas publik untuk mentimun [7]. Kegiatan pemuliaan tanaman berkontribusi positif pada keragaman genetik tanaman mentimun. Semakin luas keragaman genetik yang dapat dilihat dari penampilan tanaman atau perbedaan keragaman maka semakin besar ruang seleksi untuk memilih karakter sesuai dengan yang diinginkan oleh publik.

Beberapa metode dalam pemuliaan tanaman untuk mendapatkan karakter yang diinginkan antara lain melalui pemuliaan konvensional dan modern. Pemuliaan konvensional dilakukan melalui persilangan tradisional dan mutasi, sedangkan pada pemuliaan modern dilakukan melalui bioteknologi. Persilangan tradisional masih merupakan standar untuk melihat performa agronomis tanaman baik di skala greenhouse maupun lapang. Diantara beberapa metode persilangan tradisional meliputi single seed descent, mass selection, simple backcross, hybrid crossing dan pedigree selection. Sementara itu, metode pemuliaan menggunakan mutasi dapat menggunakan paparan radiasi ionik maupun non-ionik termasuk penggunaan bahan kimia yang dapat menginduksi terjadinya mutasi. Terjadinya mutasi pada DNA genom tanaman menyebabkan perubahan susunan nukleotida atau bagian kromosom yang dapat diwariskan sehingga memunculkan karakter baru yang belum muncul pada program pemuliaan yang dilakukan pada varietas sebelumnya [8], [9].

Perkembangan bioteknologi memungkinkan peningkatan pemuliaan tradisional melalui penggunaan marka molekuler untuk menandai alel atau gen-gen yang berkontribusi positif dalam peningkatan sifat tanaman mentimun (*marker assisted breeding*). Metode ini memungkinkan seleksi pada fase pertumbuhan yang lebih awal apabila asosiasi antara marka dengan fenotipe tertentu sudah ditemukan. Hal ini akan mempercepat proses seleksi sehingga beberapa karakter yang dicari dapat lebih cepat ditemukan dan diseleksi lebih awal (Singh Jat et al. 2020).

Selain itu, pemanfaatan bioteknologi rekayasa genetika melalui transformasi genetik juga mengambil peran dalam peningkatan diversitas mentimun [10], [11]. Dengan teknologi *Clustered Regularly Inter Space Palindromic Sequence (CRISPR)-CRISPR associated protein 9* atau lazim disebut CRISPR/Cas9, kini dapat dilakukan pengeditan gen pengendali karakter penting mentimun pada tingkat genom [12]. Keberadaan bioteknologi khususnya teknologi *genome editing* melalui CRISPR/Cas9 menjadi kunci penting dalam revolusi pemuliaan sehingga memungkinkan akselerasi munculnya keragaman varietas baru yang unggul dengan lebih cepat. Pada *review* ini akan dibahas beberapa metode pemuliaan yang menggunakan basis bioteknologi untuk merakit tanaman mentimun yang unggul dan tahan terhadap cekaman abiotik maupun biotik

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan terdiri dari adalah dengan mengoleksi sumber referensi yang berasal dari jurnal, artikel ilmiah dan buku (10 tahun terakhir), serta situs resmi dari pemerintah. Artikel tersebut dapat berupa artikel nasional maupun internasional dengan

kata kunci: mentimun, pemuliaan, *review*, *trend* dan perkembangan, *advance*, *progress*, *breeding*, dan kata kunci terkait lainnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemuliaan Mentimun untuk Peningkatan Karakter Agronomis

Karakter agronomi yang penting pada pemuliaan tanaman mentimun umumnya berfokus pada karakter morfologi dan rasa buah, umur berbunga, dan ukuran buah. Adanya rasa pahit pada buah mentimun dikendalikan oleh gen *Bitter Fruit (Bt)* yang menyandikan faktor transkripsi pengendali biosintesis Cucurbitacin, senyawa triterpentene penyebab rasa pahit pada buah mentimun. Pada varietas modern, dipilih alel *bt* yang termutasi atau rendah ekspresinya sehingga menghilangkan atau menekan rasa pahit buah mentimun. Pada umur berbunga, mentimun awalnya merupakan *short-day plant* yang teradaptasi pada kondisi dengan panjang hari yang pendek kemudian melalui program breeding dikembangkan menjadi *neutral-day plant* sehingga dapat teradaptasi dengan baik pada lingkungan tropis. Sementara itu, karakter ukuran buah, panjang buah, dan bobot buah dirakit berdasarkan nilai yang diminati oleh kelompok pasar tertentu [1], [7], [11]

Karakter agronomi mentimun yang unggul dalam program pemuliaan tanaman umumnya dapat dicapai melalui perakitan varietas hibrida dengan memanfaatkan prinsip heterosis. Prinsip heterosis ini menggunakan tetua dua tanaman atau lebih yang memiliki karakter unggul dan berbeda sehingga menggabungkan karakter vigornya kepada keturunan F1 nya [1], [13]. Sifat heterozigositas yang dimiliki varietas hibrida menjadikannya memiliki sifat superior dibandingkan dengan varietas non hibrida dengan susunan genetik homozigot [4].

Peningkatan dan penurunan nilai heterosis dapat dimanfaatkan untuk mengestimasi peningkatan atau penurunan genetik yang terbawa pada suatu tanaman hibrida. Peningkatan nilai kemajuan genetik dapat ditandai dengan adanya gen-gen dominan suatu karakter dari tetua secara komplementer pada hibrida yang dapat terekspresi dengan baik. Sementara itu, apabila terjadi dominansi parsial pada alel tertentu maka akan terjadi interaksi antar alel yang dapat bersifat saling aditif, sehingga karakter fenotipe hibrida terbentuk diantara tetuanya dalam keadaan intermediate (Sobir dan Syukur, 2015). Dalam penelitian [4] disebutkan bahwa perakitan varietas hibrida pada buah mentimun dengan tetua Toska x Mercy dan Mercy x Toska menunjukkan nilai heterosis positif untuk panjang buah, diameter buah, jumlah buah/tanaman, bobot/buah, bobot buah/tanaman, serta bobot buah/Ha. Selain itu, hibrida Toska x Mercy memiliki keunggulan pada tingkat kemanisan buah dan tingkat kerenyahan lebih baik dari hibrida Mercy x Toska [4]. Beberapa lokus berperan dalam mengatur ukuran dan bentuk buah antara lain *Fruit Size/Shape (FS5.3)* yang terletak di kromosom 5. Adapun warna buah diatur oleh gen *Accumulation and Replication of Chromosome 5 (CsARC5)* mengatur warna kulit buah hijau muda, sedangkan gen (*Chlorotic seedlings 3) CsCs3* menyebabkan perubahan warna buah hijau tua menjadi hijau muda [7].



Gambar 1 Tanaman Mentimun Varietas Renes Usia 34 Hari Setelah Tanam (HST)

Skala putih = 10 cm

Pemanfaatan bioteknologi CRISPR/Cas9 pada pemuliaan mentimun terlihat pada penelitian [14] yang menunjukkan bahwa ukuran buah ditentukan oleh gen *Short Fruit 1 (SF1)* yang berperan dalam mengatur biosintesis etilen. Biosintesis etilen berperan penting dalam pembentukan dan penentuan panjang buah. Dengan menggunakan genome editing, panjang ukuran buah mentimun dapat disesuaikan dengan minat dan tujuan pasar. Selain itu, fenotipe perawakan merupakan target pemuliaan tanaman mentimun. Salah satu faktor penting dalam perawakan tanaman adalah percabangan. Pada produksi buah mentimun, cabang lateral termodifikasi menjadi tendril salah satunya diatur oleh gen *TENDRIL (TEN)*. Modifikasi ekspresi gen pengatur tendril *TEN* dengan CRISPR/Cas9 dapat mengakibatkan tanaman mentimun tidak memiliki tendril, sehingga perawakannya menjadi menjalar secara horizontal [15]. Pada kadar yang tepat, sifat ini dapat dimanfaatkan untuk mengurangi kebutuhan terhadap tiang penyangga dan juga mengefisienkan proses pemanenan meski terdapat resiko mentimun yang tumbuh menjalar di tanah lebih rentan terkena penyakit. Selain karakter tersebut, pada produksi tanaman mentimun hibrida dengan menggunakan genome editing untuk memutasi gen (*Wip Protein 1*) *CsWIP1* dapat dihasilkan mentimun betina. Mentimun yang sebelumnya adalah tanaman yang monoesius (berumah satu) dapat diinduksi menjadi tanaman yang hanya menghasilkan buah betina. Sehingga hal ini akan menghemat alokasi energi tanaman untuk menghasilkan buah serta meniadakan proses emaskulasi yang umum dilakukan pada produksi benih mentimun secara hibrida [16]

Pemuliaan Mentimun untuk Resilien Iklim

Salah satu tantangan dalam pemuliaan tanaman selain meningkatkan kualitas adalah meningkatkan resiliensi tanaman terhadap cekaman stress, salah satunya adalah stress salinitas. Stress salinitas adalah kondisi dimana konsentrasi garam terlarut dalam media tanam dalam jumlah besar yang dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman. Mentimun adalah tanaman yang cukup sensitif terhadap cekaman salinitas, khususnya pada fase perkecambahan dan pertumbuhan vegetatif awal. Rata-rata panjang hipokotil kecambah mentimun menunjukkan bahwa varietas Metavy dan Monza serta varietas Lokal panda mempunyai panjang hipokotil lebih tinggi dibandingkan varietas atau galur yang lain [17]

Pemberian bakteri rhizosfer pada tanah non salin tidak berpengaruh terhadap

parameter jumlah bunga jantan. Namun pada tanah salin aplikasi bakteri rhizosfer dapat meningkatkan jumlah bunga jantan pada tanaman. Aplikasi bakteri pada tanah non salin memiliki rata-rata jumlah bunga betina yang tidak berbeda nyata. Sedangkan aplikasi bakteri rhizosfer pada tanah salin mampu menunjukkan peningkatan jumlah bunga betina pada tanaman mentimun [18]. Perlakuan salinitas menyebabkan penurunan bobot buah per buah. Namun dengan aplikasi bakteri rhizosfer mampu membantu tanaman dalam meningkatkan hasil produksi [18]. Tingkat toleransi beberapa varietas mentimun terhadap cekaman salinitas yaitu Pada tingkat salinitas sedang (5000 ppm) berdasarkan karakter panjang akar kecambah, panjang hipokotil, diameter buah dan berat buah sebagai penanda karakter terhadap cekaman salinitas terdapat perbedaan toleransi pada berbagai varietas antara lain, varietas toleran terdiri dari Lokal Blitar, Metavy dan Lokal Panda [17] Varietas semi toleran terdiri dari Mercy dan Monza. Varietas tidak toleran adalah Lokal Jember. Pada cekaman salinitas tinggi (10000 ppm) berdasarkan karakter diameter buah sebagai penanda karakter terhadap cekaman salinitas terdapat perbedaan [17]

CRISPR/Cas9 adalah teknologi penyuntingan gen yang memungkinkan para ilmuwan untuk mengubah DNA secara tepat dan efisien. Teknologi ini telah banyak digunakan dalam pemuliaan tanaman, salah satunya untuk meningkatkan toleransi garam dan resistensi virus pada mentimun. Salinitas adalah salah satu faktor utama yang membatasi pertumbuhan dan hasil tanaman. Tanaman mentimun yang diberi perlakuan dengan nanopartikel cerium oksida (nanoceria) menunjukkan peningkatan toleransi garam. Nanoceria meningkatkan penyerapan kalium dan mengurangi stres oksidatif pada tanaman mentimun di bawah tekanan salinitas.

Penelitian [19] menunjukkan bahwa gen *Kalium Transporter (CsAKT1)* memainkan peran penting dalam peningkatan toleransi garam mentimun pada nanoceria. Gen ini mengontrol penyerapan kalium dan metabolisme asam amino. Pemanfaatan teknologi CRISPR/Cas9 untuk mengedit gen *CsAKT1* pada tanaman mentimun membuktikan pentingnya keberadaan gen *CsAKT1* bagi tanaman dalam pertahanannya menghadapi cekaman kadar garam yang tinggi dengan dimediasi oleh nanoceria.

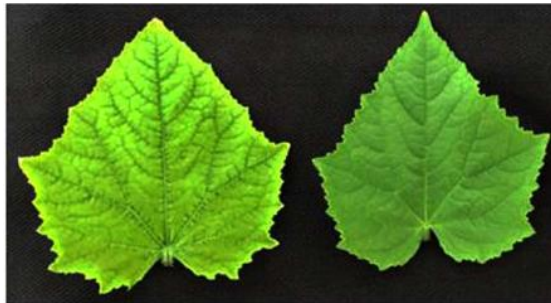
Pemuliaan Mentimun untuk Peningkatan Nutrien

Hibrida UL 14-256 unggul pada karakter kerenyahan buah dari tetua Mercy dan kedua varietas pembanding, serta produksi buah (hasil buah/ha) dari tetua Toska. Hibrida UL 14-265 unggul pada karakter kerenyahan dan kemanisan buah dari tetua Mercy dan kedua varietas pembanding [4]. Mentimun dipanen dua minggu setelah berbunga dan apabila terlambat sejak berwarna kuning matang akan menimbulkan rasa pahit dan masam [20]. Rasa pahit pada mentimun didominasi oleh senyawa Cucurbitacin. Mentimun hanya mengandung satu bentuk Cucurbitacin yaitu Cucurbitacin C. Kandungan senyawa CuC dalam mentimun berbanding lurus dengan rasa pahit. Faktor lingkungan yang mempengaruhi peningkatan senyawa CuC harus dikelola dalam budidaya tanaman mentimun. Suhu dan kelembaban perlu dijaga agar tanaman mentimun tidak tercekam sehingga terjadi sintesis senyawa CuC. Faktor internal yang dapat mempengaruhi kandungan senyawa metabolit sekunder pada mentimun ialah dari segi genetik atau kultivar dan fisiologis [21]. Rasa pahit pada tanaman mentimun dipengaruhi secara genetik oleh gen *Bi (Bitter)* dan *Bt (Bitter fruit)*. Gen *Bi* mengendalikan sintesis *CuC* pada tanaman sedangkan gen *Bi* dan *Bt* mengendalikan sintesis *CuC* pada buah mentimun [22]. Berdasarkan rasa pahit yang turun-temurun dari berbagai generasi, tanaman mentimun dapat diklasifikasikan menjadi tiga kategori: organ

vegetatif dan buah memiliki rasa pahit (*BiBiBtBt*), organ vegetatif memiliki rasa pahit namun buahnya tidak pahit (*BiBibtbt*), serta antara organ vegetatif dan buah tidak memiliki rasa pahit (*bibibtbt*)

Pemuliaan Mentimun untuk Tahan Hama dan Penyakit

Pemuliaan tanaman untuk meningkatkan ketahanannya terhadap hama dan penyakit merupakan salah satu tujuan dari pemuliaan untuk melindungi kualitas mentimun. Diantara penyakit yang sering menyerang mentimun adalah jamur tepung atau *Powdery Mildew (PM)* yang sering disebabkan oleh dua spesies yaitu *Podosphaera xanthii* dan *Golovinomyces cichoracearum*. Selain itu, kemunculan dan keparahan PM dipengaruhi oleh kondisi lingkungan sehingga meningkatkan kesulitan dalam pemuliaan varietas tahan PM. Karakter resistensi pada PM diketahui bersifat kuantitatif dan dikendalikan oleh beberapa gen resesif [23]. Penelitian [24] menjelaskan bahwa pada tanaman gandum, *genome editing* menggunakan CRISPR/Cas9 pada 3 alel gen *MILDEW RESISTANCE LOCUS (MLO)* berhasil menciptakan resistensi PM pada tanaman gandum. Hal ini mendorong [25] mencoba teknologi tersebut di mentimun. Pada tanaman mentimun *knock out* gen *CsaMLO8* menggunakan CRISPR/Cas9 berhasil merakit varietas baru tanaman mentimun yang resisten terhadap penyakit PM.



Gambar 2. Penampakan daun mentimun mutan CRISPR/Cas9 pada gen *eif4e* heterozigot (kiri) mutan homozigot (kanan). Mutan *eif4e* homozigot menunjukkan resistensi yang lebih kuat dibandingkan dengan mutan heterozigotnya [26]

Selain PM, beberapa penyakit pada mentimun disebabkan oleh virus, antara lain *Cucumber vein yellowing virus (CVYV)*, *Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV)*, dan *Papaya ring spot mosaic virus-W (PRSV-W)* yang sering diperantarai oleh serangan serangga. Penyakit ini umumnya menyebabkan terjadinya gejala mosaik pada daun, batang, dan buah yang ditandai dengan adanya semburat kekuningan atau warna hijau pucat yang tersebar diantara warna hijau asli dari organ tersebut (mosaik). Penelitian yang dilakukan oleh [26] dengan CRISPR/Cas9 berhasil mengembangkan resistensi dan imunitas pada mentimun terhadap penyakit mosaik yang disebabkan oleh virus ini. Dalam penelitiannya, gen *eukaryotic translation initiation factor 4E (eIF4E)* berhasil mentargetkan delesi pada bagian C-terminal dan N-terminal gen penyandi eIF4E. Hal ini menyebabkan tanaman mentimun menjadi imun terhadap CVYV, resisten terhadap ZYMV dan PRSV-W.

PENGAKUAN/ACKNOWLEDGEMENTS

Terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penulisan manuskrip khususnya peserta mata kuliah perakitan galur tanaman menyerbuk silang

DAFTAR PUSTAKA

- [1] G. Singh Jat, T. Kanti Behera, S. Lata, and S. Kumar, 'Classical Genetics and Traditional Breeding in Cucumber (*Cucumis sativus* L.)', in *Cucumber Economic Values and Its Cultivation and Breeding*, 2020. [Online]. Available: www.intechopen.com
- [2] H. S. Arakelyan, 'Cucumber (*Cucumis sativus*) - 1. Healthy Vegetables. - Mother Nature Healing.', 2019.
- [3] P. Akhtar, I. Ahmad, A. Jameela, M. Ashfaque, Z. Begum, and A. Professor, 'Energizing Effectiveness of Cucumber (Khayarain) For Health. A Review Article', *JETIR*, 2020. [Online]. Available: www.jetir.org
- [4] B. Ardian *et al.*, 'EVALUASI DAYA HASIL MENTIMUN HIBRIDA PERSILANGAN DUA VARIETAS MENTIMUN', 2016.
- [5] D. A. Febriani, A. Darmawati, and E. Fuskah, 'Pengaruh Dosis Kompos Ampas Teh Dan Pupuk Kandang Ayam Terhadap Pertumbuhan Dan Produksi Mentimun', 2021.
- [6] G. Che and X. Zhang, 'Molecular basis of cucumber fruit domestication', *Current Opinion in Plant Biology*, vol. 47. Elsevier Ltd, pp. 38–46, Feb. 01, 2019. doi: 10.1016/j.pbi.2018.08.006.
- [7] Y. Weng, 'Cucumis sativus Chromosome Evolution, Domestication, and Genetic Diversity: Implications for Cucumber Breeding', in *Plant Breeding Reviews*, Wiley, 2020, pp. 79–111. doi: 10.1002/9781119717003.ch4.
- [8] M. de la L. Riviello-Flores *et al.*, 'Use of Gamma Radiation for the Genetic Improvement of Underutilized Plant Varieties', *Plants*, vol. 11, no. 9. MDPI, May 01, 2022. doi: 10.3390/plants11091161.
- [9] D. A. Widyapangesthi, I. R. Moeljani, and D. P. Soedjarwo, 'KERAGAMAN GENETIK DAN HERITABILITAS M1 MENTIMUN (*Cucumis sativus* L.) LOKAL MADURA HASIL IRADIASI SINAR GAMMA 60 CO GENETIC DIVERSITY AND HERITABILITY OF M1 Cucumber (*Cucumis sativus* L.) LOCAL MADURA RESULTS OF 60 CO GAMMA IRADIATION', *Jurnal Agrium*, vol. 19, no. 2, pp. 191–196, 2022, [Online]. Available: <https://ojs.unimal.ac.id/index.php/agrium>
- [10] J. Tan *et al.*, 'Recent Progress in the Regeneration and Genetic Transformation System of Cucumber', *Applied Sciences (Switzerland)*, vol. 12, no. 14. MDPI, Jul. 01, 2022. doi: 10.3390/app12147180.
- [11] R. Grumet, Y. C. Lin, S. Rett-Cadman, and A. Malik, 'Morphological and Genetic Diversity of Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Fruit Development', *Plants*, vol. 12, no. 1. MDPI, Jan. 01, 2023. doi: 10.3390/plants12010023.
- [12] C. Liu *et al.*, 'Genomic Prediction and the Practical Breeding of 12 Quantitative-Inherited Traits in Cucumber (*Cucumis sativus* L.)', *Front Plant Sci*, vol. 12, Aug. 2021, doi: 10.3389/fpls.2021.729328.
- [13] M. Syukur, S. Sujiprihati, and R. Yuniati, *Teknik Pemuliaan Tanaman*, Revisi. Jakarta: Penebar Swadaya, 2015.
- [14] T. Xin *et al.*, 'Genetic regulation of ethylene dosage for cucumber fruit elongation', *Plant Cell*, vol. 31, no. 5, pp. 1063–1076, May 2019, doi: 10.1105/tpc.18.00957.
- [15] X. Yang *et al.*, 'Regulation of plant architecture by a new histone acetyltransferase targeting gene bodies', *Nat Plants*, vol. 6, no. 7, pp. 809–822, Jul. 2020, doi: 10.1038/s41477-020-0715-2.
- [16] B. Hu *et al.*, 'Engineering Non-transgenic Gynoecious Cucumber Using an Improved

- Transformation Protocol and Optimized CRISPR/Cas9 System', *Molecular Plant*, December 2017, pp. 1575–1578, 2017, [Online]. Available: <https://www.researchgate.net/publication/334824708>
- [17] R. Aditya Pratama and R. dan Sri Lestari Purnamaningsih, 'TINGKAT TOLERANSI BEBERAPA VARIETAS MENTIMUN (*Cucumis sativus* L.) TERHADAP CEKAMAN SALINITAS THE TOLERANCE LEVELS SEVERAL OF CUCUMBER (*Cucumis sativus* L.) VARIETIES TOWARD SALINITY', *Jurnal Produksi Tanaman*, vol. 5, no. 10, pp. 1608–1616, 2018.
- [18] R. Alfya, A. Cahyaty, N. Aini, T. Sumarni, and K. Kunci, 'Pengaruh Salinitas dan Aplikasi Bakteri Rhizosfer Toleran Salin Terhadap Komponen Hasil Tanaman Mentimun', 2017.
- [19] Y. Peng *et al.*, 'CsAKT1 is a key gene for the CeO₂ nanoparticle's improved cucumber salt tolerance: a validation from CRISPR-Cas9 lines', *Environ Sci Nano*, vol. 575, no. 11, Oct. 2022, doi: 10.1039/d2en00688j.
- [20] C. Hu *et al.*, 'Identification of conserved and diverse metabolic shift of the stylar, intermediate and peduncular segments of cucumber fruit during development', *Int J Mol Sci*, vol. 19, no. 1, Jan. 2018, doi: 10.3390/ijms19010135.
- [21] W. Y. Astuti and D. W. Respatie, 'Kajian Senyawa Metabolit Sekunder pada Mentimun (*Cucumis sativus* L.)', *Vegetalika*, vol. 11, no. 2, p. 122, May 2022, doi: 10.22146/veg.60886.
- [22] B. Liu *et al.*, 'Selection footprints reflect genomic changes associated with breeding efforts in 56 cucumber inbred lines', *Hortic Res*, vol. 6, no. 1, Dec. 2019, doi: 10.1038/s41438-019-0209-4.
- [23] J. Nie, Q. Yuan, W. Zhang, and J. Pan, 'Genetics, resistance mechanism, and breeding of powdery mildew resistance in cucumbers (*Cucumis sativus* L.)', *Hortic Plant J*, vol. 9, no. 4, pp. 603–615, Aug. 2023, doi: 10.1016/j.hpj.2023.05.013.
- [24] Y. Wang *et al.*, 'Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew', *Nat Biotechnol*, vol. 32, no. 9, pp. 947–951, Sep. 2014, doi: 10.1038/nbt.2969.
- [25] Y. Shnaider *et al.*, 'Development of Powdery Mildew Resistance in Cucumber Using CRISPR/Cas9-Mediated Mutagenesis of *CsaMLO8*', *Phytopathology*, vol. 113, no. 5, pp. 786–790, May 2023, doi: 10.1094/PHYTO-06-22-0193-FI.
- [26] J. Chandrasekaran *et al.*, 'Development of broad virus resistance in non-transgenic cucumber using CRISPR/Cas9 technology', *Mol Plant Pathol*, vol. 17, no. 7, pp. 1140–1153, Sep. 2016, doi: 10.1111/mpp.12375.