

**HUBUNGAN KEKERABATAN DAN BIOGEOGRAFI PISANG RAJA
(*Musa x paradisiaca* L.) DI PULAU JAWA BERDASARKAN GEN *rbcl*
(*large subunit ribulose 1,5 biphospat carboxylase/oxygenase*)**

SKRIPSI

Oleh:

AHMAD AFFAN ALI MURTADLO

NIM. 14620074/S-1



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

2018

**HUBUNGAN KEKERABATAN DAN BIOGEOGRAFI PISANG RAJA
(*Musa x paradisiaca* L.) DI PULAU JAWA BERDASARKAN GEN *rbcl*
(*large subunit ribulose 1,5 biphosphat carboxylase/oxygenase*)**

SKRIPSI

Diajukan Kepada:

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam

Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S. Si)

Oleh:

AHMAD AFFAN ALI MURTADLO

NIM. 14620074/S-1

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

2018

**HUBUNGAN KEKERABATAN DAN BIOGEOGRAFI PISANG
RAJA (*Musa x paradisiaca* L.) DI PULAU JAWA
BERDASARKAN GEN *rbcl* (large subunit ribulose 1,5 biphospat
carboxylase/oxygenase)**

SKRIPSI

Oleh:
AHMAD AFFAN ALI MURTADLO
NIM. 14620074/S-1

Telah disetujui oleh:

Pembimbing I

Didik Wahyudi, M. Si
NIP. 198601022018011001

Pembimbing II

Umayyatus Svarifah, M.A
NIP. 198209252009012005

Tanggal, 26 Juli 2018

Mengetahui
Ketua Jurusan Biologi



Komaidi, M. Si., D. Sc
NIP. 198102012009011019

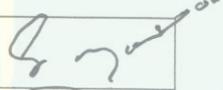
**HUBUNGAN KEKERABATAN DAN BIOGEOGRAFI PISANG RAJA
(*Musa x paradisiaca* L) DI PULAU JAWA BERDASARKAN GEN *rbcl* (large
subunit ribulose 1,5 biphosphat carboxylase/oxygenase)**

SKRIPSI

Oleh:

**AHMAD AFFAN ALI MURTADLO
NIM. 14620074**

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan
Dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 26 Juni 2018

Penguji Utama	: Suyono, M.P NIP. 19710622 200312 1 001	
Ketua Penguji	: Azizatur Rahmah, M.Sc NIDT. 19860930201601082065	
Sekretaris Penguji	: Didik Wahyudi, M.Si NIP. 19860102201801 1001	
Anggota Penguji	: Umayyatus Syarifah, M.A NIP. 198209252009012 005	

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi




Romaidi, M.S., D.Sc

NIP. 19810201 200901 1019

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ahmad Affan Ali Murtadlo
NIM : 14620074
Jurusan/Fakultas : Biologi/Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Hubungan Kekerabatan dan Biogeografi Pisang Raja (*Musa x paradisiaca* L.) di Pulau Jawa berdasarkan Gen *rbcl* (*large subunit ribulose 1,5 biphosphat carboxylase/oxygenase*)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia dikenakan sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 26 Juli 2018

Yang membuat pernyataan,



Ahmad Affan Ali Murtadlo

NIM. 14620074

MOTTO

“Happiness depends on your mindset and attitude”

-- Roy T. Bennett, The Light in the Heart --

Ujian dan peristiwa apapun yang terjadi, tetaplah berpikiran positif. Segala hal yang terjadi merupakan akibat dari mindset dan sikap kita dalam menghadapi suatu masalah.

ادْعُوا اللَّهَ وَأَنْتُمْ مُوقِنُونَ بِالْإِجَابَةِ وَاعْلَمُوا أَنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَجِيبُ دُعَاءَ
مِنْ قَلْبٍ غَافِلٍ لَاهٍ

“Berdoalah kalian kepada Allah dengan penuh keyakinan akan dikabulkan, dan ketahuilah bahwa Allah tidak mengabulkan doa dari hati yang lalai.”

-- Nabi Muhammad SAW --

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan mengucap syukur

الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

Bapak & Ibu tercinta

Bapak Machsus dan Ibu Umi Shofiah Hanik

Mereka adalah orang tua hebat yang telah membesarkan dan mendidiku dengan penuh kasih sayang dan kesabaran

Terimakasih atas pengorbanan, nasehat dan do'a yang tiada hentinya kalian berikan kepadaku selama ini.

Para peneliti pisang

Dengan harapan hasil penelitian dan naskah sederhana ini bisa sebagai bahan pertimbangan untuk melakukan penelitian selanjutnya.

KATA PENGANTAR



Puji dan Syukur penulis panjatkan kepada kehadiran Allah SWT yang telah memberikan nikmat yang melimpah sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si). Shalawat serta salam selalu tercurahkan kepada besar Muhammad SAW yang telah membimbing umatnya dari zaman jahiliyah sampai menjadi terang benderang melalui penyebaran cahaya iman, islam dan ilmu pengetahuan yang hakiki.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini telah mendapatkan banyak bantuan dan semangat dari berbagai pihak, oleh karena itu dengan segala kerendahan dan ketulusan hati, penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M. Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M. Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M. Si, D. Sc selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Didik Wahyudi, M. Si selaku Dosen Pembimbing skripsi yang telah banyak meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan dengan penuh kesabaran.
5. Umairatus Syarifah, M. A selaku Dosen Pembimbing Agama yang telah memberikan pengarahan dan pelajaran bersubstansi nilai-nilai moral kepada penulis.
6. Shinta, S. Si, M. Si selaku Dosen Wali yang telah membimbing penulis baik akademik maupun non akademik dan selalu memberikan motivasi

agar penulis tetap semangat dalam menempuh studi di Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

7. Bapak dan ibu, adik-adik, nenek dan semua keluargaku tercinta yang telah mendidik dan membimbing serta mendampingi dengan penuh kasih sayang dan kesabaran, serta selalu memberikan do'a kepada penulis dalam menuntut ilmu. Semoga rahmat dan karunia Allah SWT selalu melindungi mereka dan mendapat keridhoan-nya.
8. Dinas Pertanian dan Pangan Kota Yogyakarta, yang telah memberikan izin kepada penulis untuk pengambilan sampel di Kebun Plasma Nutfah Pisang Yogyakarta.
9. Teman-teman "Banana Resaearch Team" (Rasyadan Taufiq P., Lutfiana Hasanah, dan Nurul Izatul Adnin", atas segala bantuan dan supportnya. Terimakasih juga karena selalu "gupuhi" agar segera revisi.
10. Teman-teman seperjuangan di Biologi UIN Malang "TELOMER 2014" atas segala bantuan, do'a, dan semangatnya.
11. Sahabat Biologi D 2014, berkat kalian penulis bisa melupakan stress dan malas dalam pengerjaan skripsi ini.
12. Sahabat kamar A-10 Pondok Pesantren Anwarul Huda, atas bantuan do'a dan semangatnya.

Akhirnya, penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini. Karena kesempurnaan hanya milik Allah SWT. Untuk itu, saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan bagi para pembaca pada umumnya. *Amiin Yaa Allah Ya Rabbal'alamiin.*

Malang, 26 Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	iiii
<u>HALAMAN MOTTO</u>	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
المخلص.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.3 Hipotesis.....	7
1.4 Manfaat Penelitian	8
1.5 Batasan Masalah.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Pisang (Musa x paradisiaca L.)	10
2.1.1 Morfologi Pisang	12
2.1.2 Identifikasi Pisang berdasarkan Genom	16
2.1.3 Biogeografi Pisang.....	18
2.2 Gen <i>rbcl</i>	20

2.3 Variasi Genetik.....	23
2.4 Hubungan Kekerbatan.....	23
BAB III METODE PENELITIAN	29
3.1 Rancangan Penelitian	29
3.2 Waktu dan Tempat	29
3.3 Alat dan Bahan	29
3.4 Pengambilan Sampel.....	30
3.5 Ekstraksi DNA	31
3.6 Uji kualitatif dan Kuantitatif DNA	32
3.7 Amplifikasi dan <i>Sequencing</i> Gen <i>rbcl</i>	33
3.8 Analisis Data	34
3.8.1 Analisis Sekuen dan Variasi Genetik.....	34
3.8.2 Analisis Filogenetik	34
3.8.3 Analisis <i>Haplotype</i>	35
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	35
4.1 Hubungan Kekerbatan Pisang Raja Berdasarkan Gen <i>rbcl</i>	36
4.2 Biogeografi Pisang Raja	41
BAB V PENUTUP	46
5.1 Kesimpulan	46
5.2 Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN.....	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Posisi sistematik famili Musaceae	11
Gambar 2. 2 Penampakan Umum Tanaman Pisang	12
Gambar 2. 3 Keragaman warna batang semu.....	13
Gambar 2. 4 Keragaman warna daun	14
Gambar 2. 5 Penampakan a) Jantung pisang (male bract) dan b) bunga	15
Gambar 2. 6 Penampakan a) ovarium pisang inferus dan b) tiga ruang pada ovarium	16
Gambar 2. 7 Peta Genom kloroplas pisang	21
Gambar 2. 8 Pohon kekerabatan dan polarisasi karakter dalam analisis filogenetika	24
Gambar 4. 1 Pohon Hasil analisis DNA Pisang Raja berdasarkan gen <i>rbcl</i>	38
Gambar 4. 2 Haplotype sampel <i>ingroup</i> dan <i>outgroup</i>	43

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Pengelompokan Pisang Kultivar berdasarkan akumulasi skor	18
Tabel 3. 1 Nama lokal dan asal daerah sampel pisang Raja	30



ABSTRAK

Murtadlo, Ahmad Affan Ali. 2018. **EVOLUSI MOLEKULER DAN BIOGEOGRAFI PISANG RAJA DI PULAU JAWA BERDASARKAN GEN *rbcl* (large subunit ribulose 1,5 biphospat carboxylase/oxygenase)**. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing (I): Didik Wahyudi, M.Si. (II) Umayiyatus Syarifah, M.A.

Kata Kunci: Pisang Raja, gen *rbcl*, Pohon filogenetik, Evolusi, Biogeografi

Pisang raja merupakan pisang kultivar yang umum dikonsumsi di Indonesia. Pisang kultivar pada mulanya merupakan keturunan dari 2 jenis pisang liar yang melalui banyak proses yang berperan dalam evolusi tanaman pisang. Evolusi ini menghasilkan kultivar pisang dengan beberapa tingkat ploidi dengan variasi kombinasi genom dari dua spesies tetua. Dari 200 jenis kultivar pisang di Indonesia, hanya 10% yang dimanfaatkan untuk ekspor, hal ini disebabkan salah satunya karena kurangnya data biogeografi pisang yang dapat digunakan para petani untuk acuan dalam budidaya pisang.

Penelitian ini bersifat deskriptif eksploratif kualitatif dan studi literatur tentang pisang Raja, dengan sampel yang digunakan adalah 7 jenis pisang Raja yang berasal dari Pulau Jawa yang digunakan sebagai sampel *ingroup* dan 2 spesies dari genus *Ensete* dari *genbank* yang digunakan sebagai sampel *outgroup*. Gen *rbcl* sampel *ingroup* yang berhasil dibaca urutan basa nukleotidanya kemudian dibuat pohon filogenetik dengan menggunakan metode *Maximum parsimony* (MP), *Neighbor joining* (NJ), dan *Maximum likelihood* (ML) dan Bayesian. Analisis biogeografi dilakukan berdasarkan analisis haplotype menggunakan software *network v.2.0*.

Hubungan kekerabatan antar kultivar pisang Raja yang paling menggambarkan keadaan pisang adalah pohon berdasarkan metode *Bayesian*, NJ, dan ML. Raja Bali dari Bantul dan Raja Lini dari Gunungkidul berkerabat dekat dengan Raja Kisto yang berasal dari Banyuwangi. Raja Delima yang berasal dari Malang berkerabat dekat dengan R. Kutuk dari Purworejo, R. Brentel dari Sukoharjo, dan R. Gareng dari Temanggung. Pengelompokan klad tersebut diduga berdasarkan ketinggian daerah asal masing-masing pisang Raja. R. Delima, R. Kutuk, R. Brentel, dan R. Gareng yang berasal dari daerah dataran tinggi, sedangkan R. Lini, R. Bali, dan R. Kisto yang berasal dari daerah dataran rendah. Dataran tinggi memiliki suhu lingkungan yang lebih rendah dibandingkan dengan dataran rendah, hal ini diduga menyebabkan enzim *rubisco* terpacu untuk beradaptasi agar kebutuhan energi yang dihasilkan selama fotosintesis tercukupi. Adaptasi enzim *rubisco* diduga dilakukan dengan cara mutasi pada gen *rbcl* yang mengkode enzim ini. Mutasi yang terjadi menyebabkan terjadinya evolusi pada enzim *rubisco* pada tanaman pisang Raja. Namun, mutasi yang terjadi pada urutan DNA sangat sedikit karena kesamaan peran enzim ini pada tumbuhan tingkat tinggi.

ABSTRACT

Murtadlo, Ahmad Affan Ali. 2018. **MOLECULAR EVOLUTION AND BIOGEOGRAPHY OF PISANG RAJA IN JAVA ISLAND BASED ON GEN *rbcl* (large subunit ribulose 1.5 biphospat carboxylase/oxygenase)**. Essay. Department of Biology Faculty of Science and Technology State Islamic University (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Advisor (I): Didik Wahyudi, M.Si. (II) Umaiatus Syarifah, M.A.

Keywords: Banana King, *rbcl* gene, Phylogenetic Tree, Evolution, Biogeography

Pisang Raja is a banana cultivar commonly consumed in Indonesia. Banana cultivars are originally descended from two types of wild bananas through many processes that play a role in the evolution of banana. This evolution produces banana cultivars with multiple ploidy levels that causes variations of genomic combinations. In Indonesia, there are about 200 types of banana cultivars, but only 10% are used for export commodity, this is due to lack of biogeographic data of bananas that farmers can use for reference in banana cultivation.

This research is descriptive explorative qualitative and literature study about pisang Raja. Seven kinds of pisang Raja from Java island as a ingroup sample and 2 species of genus *Ensete* from genbank as outgroup sample. The *rbcl* gene from ingroup samples which was successfully read the nucleotide base sequence was then reconstruction phylogenetic tree with Maximum parsimony (MP), Neighbor joining (NJ), and Maximum likelihood (ML) and Bayesian methods. Biogeographic analysis was performed based on haplotype analysis using network software v.2.0.

That best description of relationship between pisang Raja cultivars are a tree based on Bayesian, NJ, and ML methods. The R. Bali from Bantul and R. Lini from Gunungkidul are closely related to R. Kisto from Banyuwangi. The R. Delima from Malang is closely related to R. Kutuk from Purworejo, R. Brentel from Sukoharjo, and R. Gareng from Temanggung. Grouping of the klad is allegedly based on the altitude of origin location of each pisang Raja. R. Delima, R. Kutuk, R. Brentel, and R. Gareng from plateau, while R. Lini, R. Bali, and R. Kisto came from lowland areas. Highlands have a lower environmental temperature than the lowlands, it is thought to cause the enzyme Rubisco to adapt so that the requirements of the energy that produced during photosynthesis will fulfilled. Adaptation of Rubisco enzyme allegedly by a mutation in the *rbcl* gene that codes for this enzyme. Mutations lead to the evolution of Rubisco enzyme in banana plants King in a long time. However, mutations that occur pasa very little because the DNA sequence similarity role of this enzyme in higher plants.

الملخص

المرتضى، أحمد عفان. 2018. التطور الجزيئي والسيرة الذاتية موز راجا في جزيرة جاوا على أساس جينة *rbcl* (*large subunit ribulose 1,5 biphosphat karboxylase*). بحث علمي. قسم علم الأحياء كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم مالانج الإسلامية الحكومية. تحت الإشراف (1) ديديك وحيودي الماجستير و(2) عمية الشريفة الماجستير.

الكلمات الرئيسية : موز راجا وجينة *rbcl* وشجرة التطور والتطور والسيرة الذاتية

موز راجا أحد أصناف الموز الذي يستهلكه الإندونيسيون. وهو أحد أصناف الموز من النوعين البري من خلال العمليات التي تدور في تطور نبات الموز. هذا التطور ينتج أصناف الموز بمستويات متعددة مع وجود اختلافات الوجدينات من النوعين. وكان 10 % من 200 نوع من أصناف الموز في إندونيسيا الذي يستخدم للتصدير فقط لأن ليس هناك السيرة الذاتية للموز الذي يمكن للمزارعين استخدامها كمرجع في زراعة الموز.

هذا البحث بحث وصفي أدبي نوعي حول موز راجا. وكانت عينات البحث المستخدمة سبعة أنواع من موز راجا في جزيرة جاوا المستخدمة بصفته المجموعة الداخلية و نوعين من جنس *Ensete* من *genbank* المستخدمة بصفته المجموعة الخارجية. وكانت جينة *rbcl* بصفته عينة المجموعة الداخلية المعروفة النوكليوتيدية مستخدم الشجرة القصوى (*Maximum parsimony*)، انضمام الجوار (*Neighbor joining*)، والحد الأقصى من الاحتمال (*Maximum likelihood*) و *Bayesian* وتحليل السيرة الذاتية قائم على أساس تحليل النمط الفردي باستخدام برنامج الشبكة. v.2.0. العلاقة القرابة بين أصناف موز راجا التي تصف حالة الموز هي شجرة تعتمد على طريقة *Bayesian Neighbor joining* و *Maximum likelihood*. وهناك علاقة وثيقة بين موز بالي من بانتول وراجا لينبي من جونونجكيدول بالموز كيستو من بانيووانجي. وكذلك موز الرمان من مالانج بموز راجا كوتوك من بوروريجو وموز راجا برنتل من سوكوهارجو وموز راجا جارنغ من تيمانجونج وكلها من الأراضي المرتفعة. وما موز راجا وموز من الأراضي المنخفضة. للمرتفعات درجة حرارة بيئية أقل من الأراضي المنخفضة التي تسبب خميرة *rubisco* لتلبية متطلبات الطاقة الناتجة أثناء عملية التمثيل الضوئي. وتكيف خميرة *rubisco* يتم بواسطة طفرة في وجينة *rbcl* يشفر هذه الوجدية. الطفرات التي تحدث تؤدي إلى تطور الوجدينات *rubisco* في نباتات موز راجا. ومع ذلك، فإن الطفرات التي تحدث في تسلسل الحمض النووي صغيرة جدا بسبب تشابه دور هذه الوجدينات إلى النبات الأعلى.

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara dengan keanekaragaman flora yang melimpah, karena banyak jenis tanaman dapat tumbuh di Indonesia. Segala jenis tumbuhan yang ada di bumi telah diciptakan Allah SWT dengan berbagai karakteristik morfologi maupun molekuler yang spesifik yang dapat digunakan untuk membedakan antar jenis tumbuhan. Sesuai dengan firman Allah SWT dalam surah Al-An'am (6) ayat 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا
تُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ
وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي
ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ۙ

Artinya: Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman (Al-An'am (6) 99).

Lafadz **نبات** pada ayat di atas menunjukkan makna *jama'* yang berarti banyak jenis tumbuhan yang meliputi berbagai macam bentuk, ciri khas, warna, rasa, dan memiliki banyak manfaat yang berbeda-beda. Sementara itu, lafadz **انظروا** menunjukkan kata perintah yang berarti “perhatikanlah”. Berdasarkan ayat di atas,

Allah SWT memerintahkan manusia untuk memperhatikan berbagai jenis tumbuhan yang ada di bumi karena pada tumbuhan tersebut terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah SWT. Berdasarkan ayat tersebut juga terdapat kalimat لايت لقوم يؤمنون yang berarti bahwa tanda-tanda kekuasaan Allah SWT tersebut hanya dapat diketahui, diperhatikan, dan diamati oleh orang-orang yang beriman yang selalu berfikir dan memahami tanda-tanda kekuasaan Allah SWT (Jazairi, 2007).

Salah satu tanaman yang mempunyai tingkat keragaman genetik tinggi di Indonesia adalah pisang. Pisang merupakan tanaman herba yang dapat tumbuh di hampir seluruh jenis agroekosistem (Busaidi, 2013), sehingga persebarannya sangat luas. Secara umum terdapat dua jenis pisang, yaitu pisang liar dan pisang kultivar (budidaya) (Purwaradia, 2006).

Indo-Malesia merupakan wilayah pusat asal-usul dan pusat keragaman pisang di dunia yang kemudian menyebar ke seluruh wilayah tropis dan subtropis di Asia, Amerika, Afrika, dan Australia (Simmonds & Shepherd, 1955; De Langhe et al., 2009). Di Indonesia, pusat keragaman pisang tersebar di wilayah Sulawesi, Sumatera, Madura dan termasuk Jawa (Ochsee, 1931).

Kultivar pisang yang ada di Indonesia mencapai lebih dari 200 kultivar yang tersebar di seluruh daerah di Indonesia dengan nama yang berbeda-beda pada tiap daerahnya (Nasution dan Yamada, 2009). Beberapa pisang kultivar yang ditemukan di Indonesia diantaranya adalah pisang Ambon, pisang Barangan, pisang Raja, pisang Kepok Kuning, pisang Susu, pisang Tanduk, dan pisang Nangka (Nasution dan Yamada, 2001). Namun, dari banyaknya kultivar pisang tersebut, hanya 10% yang dimanfaatkan untuk komoditas ekspor, sedangkan sisanya hanya digunakan

untuk konsumsi lokal saja (Nuryati dan Noviati, 2014). Hal ini disebabkan oleh banyak faktor, salah satunya yaitu kurangnya data biogeografi pisang yang dapat digunakan para petani untuk acuan dalam budidaya pisang. Data biogeografi tersebut dapat berupa daerah persebaran dan habitat yang sesuai untuk beberapa kultivar pisang (Dwinay dan Anniza, 2017).

Pisang kultivar merupakan keturunan dari dua jenis pisang liar, yaitu *Musa acuminata* (donor genom A) dan *Musa balbisiana* (donor genom B). Persilangan dari dua spesies ini menyebabkan variasi genetik melalui banyak proses yang berperan dalam evolusi tanaman pisang (Sudarnadi, 1995). Evolusi ini dapat terjadi melalui beberapa cara, seperti mutasi (INIBAB, 2003), seleksi manusia (Kaemmar, *et al.*, 1997), dan persilangan alami antar jenis maupun persilangan balik dengan induknya (Simmonds, 1953). Evolusi ini menghasilkan kultivar pisang dengan beberapa tingkat ploidi dengan variasi kombinasi genom dari dua spesies tetua (Stover & Simmonds 1987; Pillay *et al.* 2006).

Pisang raja merupakan tanaman asli Indonesia yang kultivar-kultivarnya banyak ditemukan di pulau Jawa (Zuhairini, 1997). Pisang Raja dapat tumbuh pada daerah dengan suhu rata-rata sepanjang tahun antara 22°C hingga 29°. Pisang Raja di Pulau Jawa dapat ditemukan di beberapa tempat, seperti Raja Bali di Yogyakarta, Raja Delima di Malang, Raja Gareng di Temanggung, Raja Kisto di Banyuwangi, Raja Seribu di Jakarta, dan banyak jenis pisang Raja yang lain (Dinas Pertanian Kota Yogyakarta, 2016). Namun, dari banyaknya nama pisang raja tersebut menyebabkan adanya kemungkinan perbedaan nama pada satu jenis pisang. Hal ini

menjadi permasalahan dalam tata nama taksonomi pisang raja pada khususnya dan pisang kultivar pada umumnya (Singhs, *et al.*, 2001).

Penamaan pisang pada awalnya diperkenalkan oleh Linneus dalam bukunya yang berjudul “*Species Plantarum*” yang dipublikasikan pada tahun 1753. Linneus mendeskripsikan bahwa tata nama pisang berdasarkan buahnya yang mengandung banyak pati walaupun sudah matang sempurna, sehingga perlu dimasak terlebih dahulu sebelum dikonsumsi. Pisang jenis ini digolongkan dalam *Musa paradisiaca*. Kemudian, pada tahun 1759 Linneus mendeskripsikan pisang yang dapat langsung dikonsumsi dalam keadaan segar saat sudah matang. Pisang jenis ini digolongkan dalam *Musa sapientum* (Valmayor *et. al.*, 2000). Namun, tata penamaan ini tidak cocok digunakan di Asia Tenggara karena merupakan pusat keragaman pisang yang memiliki banyak kultivar pisang (Simmonds, 1959; Espino *et al.*, 1992), sehingga pada tahun 1955 Simmonds dan Shepherd mengusulkan penggunaan tata nama genom yang telah ditetapkan secara konsensus pada tahun 1999 (Valmayor *et. al.*, 2000; INIBAP, 2006).

Komposisi genom dan tingkat ploidi pisang kultivar pada awalnya ditentukan menggunakan sistem skoring berdasarkan karakter/penanda morfologi dari *Musa acuminata* (donor genom A) dan *Musa balbisiana* (donor genom B). Sistem skoring ini terdiri dari 15 karakter pembeda dengan taraf skor 1-5 dimana pisang yang memiliki karakter mendekati karakter *Musa acuminata* diberi skor 1, pisang yang menyerupai karakter *Musa balbisiana* diberi skor 5, dan pisang yang memiliki karakter antara *Musa acuminata* dan *Musa balbisiana* diberi skor 3.

Identifikasi kelompok genom digolongkan berdasarkan akumulasi nilai skor (Valmayor *et al.*, 2000; INIBAP, 2006).

Penanda morfologi untuk menentukan genom pisang telah banyak digunakan dalam pengelompokan organisme berdasarkan kesamaan fenetiknya dan hubungan kekerabatan (Jumari dan Pudjoarinto, 2000; Surahman, *et al.*, 2005; Selatsa, *et al.*, 2009). Namun hasilnya sering kali kurang akurat karena bersifat subyektif dan perbedaan antar spesies yang berkerabat dekat seringkali sulit diamati. Selain itu, umumnya sifat kuantitatif dikendalikan oleh banyak gen dan sangat dipengaruhi oleh lingkungan, sehingga penentuan Genom pisang akan lebih akurat menggunakan penanda molekular (Maftuchah, 2005). Pendekatan molekular yang akhir-akhir ini sering digunakan adalah menggunakan sekuen DNA (Janssens *et al.*, 2016; Pachuau, 2014). Sekuen DNA yang sering digunakan dalam analisis hubungan kekerabatan pada tumbuhan berasal dari Genom kloroplas dan Genom inti (Sedayu, 2010).

Genom kloroplas merupakan DNA yang terdapat dalam kloroplas tumbuhan. Genom ini bersifat stabil secara struktur, haploid, non-rekombinan dan pada sebagian besar tumbuhan diwariskan dari induk betina (Small *et al.*, 2004). Beberapa Genom kloroplas yang telah digunakan untuk analisis keragaman genetik diantaranya adalah *rbcl* (McIvor, *et al.*, 2001), *matK* (Sang *et al.*, 1997; Braukmann *et al.*, 2017), intron *trnK* (Sang *et al.*, 1997), dan intron *trnL-F* (Sang *et al.*, 1997; Janssens *et al.*, 2016). Namun demikian, gen *rbcl* merupakan gen lebih banyak digunakan dalam studi keragaman genetik (Judd *et al.*, 2002), seperti pada

penelitian Ritland & Clegg (1987); Zurawski & Clegg (1987); Newmaster dkk (2006); Kang dkk (2017); dan Janssens (2016).

Gen *ribulose 1, 5 biphosphate carboxylase/oxygenase (rbcl)* merupakan genom yang terdapat pada kloroplas yang berfungsi untuk mengkode ribulose 1,5-bifosfat karboksilase/oksigenase (*rubisco*) (Clegg, 1993). Gen ini mempunyai panjang sekitar 1430 pasang basa yang terletak pada DNA kloroplas yang jarang mengalami insersi maupun delesi (Soltis dan Soltis, 1998) sehingga mempunyai tingkat konservatif yang tinggi. Gen *rbcl* merupakan lokus yang tepat untuk digunakan dalam studi hubungan filogenetik interspesifik diantara beberapa tumbuhan darat (Ritland & Clegg, 1987; Zurawski & Clegg, 1987, dan Hilu et al., 1999) dan histori evolusi biogeografi (Janssens *et al.*, 2016).

Gen *rbcl* mudah untuk dideteksi karena protein *rubisco* yang dihasilkan jumlahnya sangat melimpah dalam sel tumbuhan, yaitu 15% dari total protein tumbuhan (Lane, 1984), dan lebih dari 50% dari total protein dalam kloroplas (Alberts et al., 2002). Selain itu, Consortium Barcode of Live (CBOL) juga merekomendasikan gen *rbcl* sebagai salah satu penanda untuk identifikasi tumbuhan secara umum (CBOL, 2009). Hal ini didasarkan pada eksistensi, efektifitas dan kelestarian dari laju mutasi yang lambat dari gen ini pada hampir seluruh spesies tumbuhan.

Adanya informasi tentang keragaman genetik pada suatu populasi dapat digunakan sebagai dasar dalam pemuliaan dan konservasi tanaman (Restu & Mukrimin, 2007). Selain itu, hasil dari analisis menggunakan pendekatan molekular juga bermanfaat dalam bidang pertanian khususnya budidaya pisang seperti

penentuan variasi dalam plasma nutfah (Sunaryo, 2015). Hasil dari analisis kekerabatan pada pisang juga diharapkan bisa untuk membedakan genom antar pisang kultivar, sehingga dapat digunakan sebagai acuan dalam tata nama pisang kultivar (Simmonds & Shepherd, 1955) selain dari pendekatan secara morfologi. Hal ini dikarenakan penelitian secara molekular tergolong lebih akurat dibandingkan penelitian berdasarkan penanda morfologi. Oleh karena itu dalam penelitian ini akan dilakukan analisis kekerabatan dan biogeografi dari pisang raja berdasarkan gen *rbcl*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah.

1. Bagaimana hubungan kekerabatan antar kultivar pisang raja di pulau Jawa berdasarkan gen *rbcl*?
2. Bagaimana biogeografi pisang raja di pulau Jawa berdasarkan gen *rbcl*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah.

1. Untuk menjelaskan hubungan kekerabatan antar kultivar pisang raja di pulau Jawa dari gen *rbcl*.
2. Untuk menjelaskan biogeografi pisang raja di pulau Jawa dari gen *rbcl*.

1.3 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah.

1. Hubungan kekerabatan antar jenis pisang Raja berdasarkan gen *rbcl* adalah berkerabat dekat pada seluruh sampel karena masih dalam satu jenis.

2. Biogeografi pisang Raja di pulau Jawa berdasarkan gen *rbcl* yaitu setiap sampel pisang Raja mempunyai daerah tempat tumbuh yang berbeda-beda sesuai dengan keadaan lingkungan (suhu, kadar O₂ dan CO₂ di udara).

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini diantaranya adalah.

1. Informasi tentang keragaman genetik antar kultivar pisang raja dapat digunakan sebagai dasar dalam pemuliaan dan konservasi.
2. Hasil dari analisis dapat dimanfaatkan untuk konservasi plasma nutfah dan penentuan bibit unggul.
3. Hasil dari analisis kekerabatan pada pisang juga diharapkan bisa untuk membedakan genom antar pisang kultivar, sehingga dapat digunakan sebagai acuan dalam tata nama pisang kultivar.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini diantaranya adalah.

1. Sampel yang digunakan adalah 7 jenis pisang Raja yaitu Raja Delima, Raja Kisto, Raja Bali, Raja Gareng, Raja Kutuk, Raja Brentel, dan Raja Lini.
2. Tujuh sampel pisang Raja diambil dari Kebun koleksi plasma nutfah pisang Dinas Pertanian dan Pangan Yogyakarta.
3. Sampel yang digunakan adalah daun pisang yang masih muda dan menggulung.
4. Urutan DNA didapatkan dari sampel DNA yang dikirim ke 1st BASE Singapura.

5. Evolusi dan biogeografi ditentukan dari perubahan urutan DNA pada gen *rbcl*.
6. Analisis pohon filogenetik dilakukan dengan menggunakan algoritma Maximum parsimony, Neighbor Joining, Maximum likelihood, dan Bayesian.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pisang (*Musa x paradisiaca* L.)

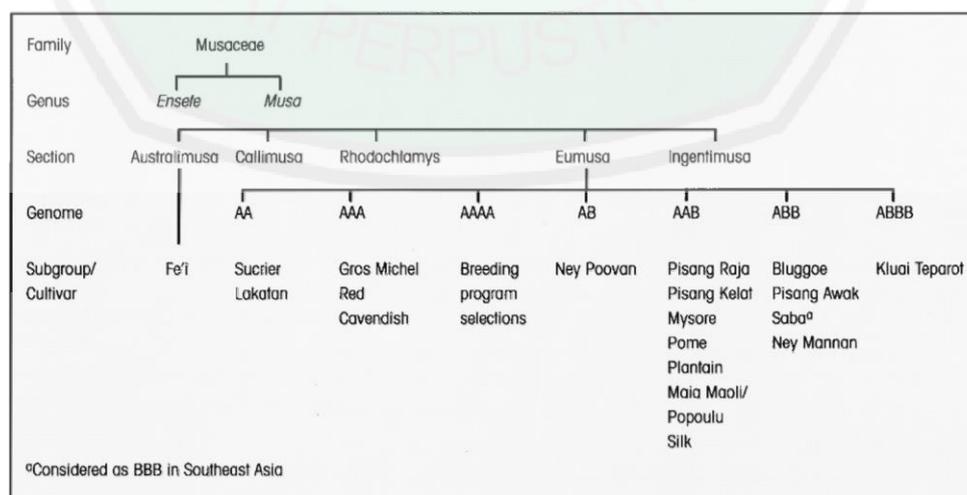
Tumbuhan pisang termasuk salah satu buah yang disebut dalam al-Quran sebagai buah surga, yaitu dalam al-Quran surat al-Waqi'ah (56): 27-29:

وَأَصْحَابُ الْيَمِينِ مَا أَصْحَابُ الْيَمِينِ ۚ فِي سِدْرٍ مَّخْضُودٍ ۚ وَطَلْحٍ مَّنضُودٍ ۚ

Artinya : Dan golongan kanan, alangkah bahagianya golongan kanan itu. Berada di antara pohon bidara yang tak berduri, dan pohon pisang yang bersusun-susun (buahnya) (Qs.Al-Waqi'ah /56: 27-29).

Kata *طَلْح* (*Tahl*) ditafsirkan sebagai pohon pisang atau pohon kurma. Namun, banyak juga yang melukiskan sebagai pohon dengan batang yang sangat kuat, dahannya panjang dan tinggi, daunnya sangat hijau, memiliki aroma yang harum (Shihab, 2002). Selain itu, Kata *طَلْح* (*Tahl*) diartikan sebagai pohon yang mempunyai bayangan yang dapat digunakan untuk berteduh manusia dan unta, daunnya sedikit berwarna sangat hijau, memiliki tangkai yang panjang dan mempunyai tunas/batang satu yang besar (Mandzur, 1993). Namun, berdasarkan ciri-ciri tersebut, ada yang mengartikan sebagai pohon pisang yang merupakan salah satu pohon surga yang memiliki pohon yang lembut dahannya dan dekat antar buahnya. Hal ini berdasarkan syair dari Ibnu Jarir bahwa pohon ini adalah pohon pisang. Sedangkan kata *منضود* menurut Ibnu Jarir merupakan buah yang bersusun-susun, yaitu buah pisang (Katsir, 2004).

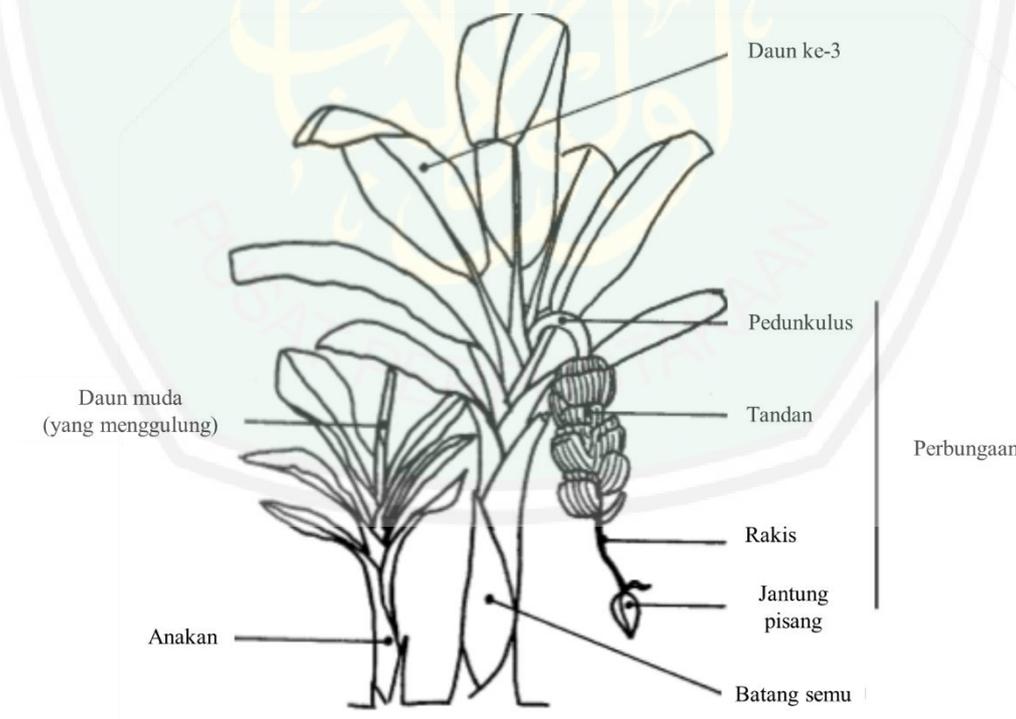
Pisang termasuk dalam genus *Musa* yang merupakan anggota dari family Musaceae bersama dengan genus *Ensete* (Gambar 2.1) (Stover dan Simmond, 1987). Genus *Musa* mempunyai 5 section yaitu Australimusa, Callimusa, Eumusa, dan Rhodochlamis (Gambar 2.1). Kelompok Australimusa memiliki lima hingga enam spesies yang tersebar di daerah Queensland hingga Filipina, memiliki jumlah kromosom sepuluh, dan kebanyakan dimanfaatkan untuk diambil serat dan buahnya. Callimusa memiliki lima hingga enam spesies yang digunakan sebagai ornamental atau pisang hias, tersebar di dataran Indochina hingga Indonesia, dan memiliki jumlah kromosom sepuluh. Rhodochlamis memiliki jumlah kromosom sebelas, terdapat lima hingga enam spesies yang digunakan sebagai tanaman hias. Rhodochlamis tersebar di daerah India hingga Indochina. Eumusa memiliki jumlah kromosom sebelas, terdapat sembilan hingga sepuluh spesies yang digunakan sebagai sayur, diambil buahnya, dan seratnya. Eumusa tersebar di daerah India selatan hingga Jepang dan Samoa (Simmonds, 1959). Pisang kultivar termasuk dalam kelompok Eumusa (Daniells, 2001).



Gambar 2.1 Posisi sistematik famili Musaceae (dimodifikasi dari Stover dan Simmond, 1987)

2.1.1 Morfologi Pisang

Pisang merupakan tanaman herba perennial besar yang mirip pohon dengan ketinggian hingga 2-9 m (Gambar 2.2). Pisang mempunyai sistem perakaran adventif (Siemonsma dan Piluek, 1994) dengan tipe serabut (Satuhu dan Supriyadi, 1999). Sistem perakaran serabut ini-lah yang membuat pisang digolongkan dalam kelas Liliopsida (Simpson, 1953). Pisang memiliki akar muda yang berwarna putih dan saat dewasa berwarna coklat (Sumardi dan Wulandari, 2010). Akar pisang tumbuh memencar secara lateral sejauh 5.5 m dan membentuk lapisan horizontal yang padat 15 cm di atas tanah (Simpson, 1953). Akar pisang mampu tumbuh mencapai kedalaman 75 cm di dalam tanah (Siemonsma dan Pileuk, 1994).



Gambar 2. 2 Penampakan Umum Tanaman Pisang (IPGRI, 1996)

Batang pisang berukuran pendek yang biasa disebut bonggol (*corm*) yang berada di bawah tanah. Pada bonggol pisang akan tumbuh beberapa rimpang pendek yang akan tumbuh menjadi tunas baru di sekeliling pohon induk (Siemonsma dan Pileuk, 1994). Pisang memiliki batang semu (*pseudostem*) yang berada di atas tanah yang tumbuh mengelompok dalam rumpun (Siemonsma dan Pileuk, 1994). Batang semu ini terbentuk dari pelepah yang saling menutup dan saling menekan satu sama lain (Dasuki, 1991). Batang semu pada tanaman pisang berwarna hijau kekuningan sampai merah keunguan dan pada beberapa spesies terdapat lapisan lilin (Gambar 2.3). Batang semu ini juga sering kali mengeluarkan getah yang berwarna bening atau putih susu (IPGRI, 1996). Rongga udara sering kali dijumpai pada batang semu dan tulang daun tanaman pisang yang merupakan ciri khas dari ordo Zingiberales (Simpson, 1953).



Gambar 2. 3 Keragaman warna batang semu (Dok. Pribadi)

Daun pisang berbentuk lonjong hingga lanset berukuran 100-500 cm x 25-100 cm dengan tulang daun yang kuat (Siemonsma dan Pileuk, 1994). Daun pisang sering terdapat lapisan lilin dengan bagian dorsal berwarna hijau kekuningan sampai hijau tua dengan bercak merah keunguan, sedangkan bagian ventral berwarna hijau kekuningan hingga merah keunguan (Gambar 2.4) (IPGRI, 1996). Daun pisang memiliki lamina melebar dan urat daun pinnatus yang paralel satu sama lain (Dasuki, 1991) yang merupakan salah satu sifat apomorfi dari ordo

Zingiberales (Simpson, 1953). Tepi daun pisang rata dan ujung daunnya terbelah (IPGRI, 1996). Daun pisang tumbuh menggulung dengan rapat dari tengah batang semu berlawanan dengan arah jarum jam (Barker dan Steward, 1962). Daun pisang menggulung ketika masih muda yang merupakan ciri lain Anggota Zingiberales (Simpson, 1953). Daun pisang tersusun spiral (Dasuki, 1991) yang membedakan famili musaceae dengan famili lainnya pada ordo Zingiberales (Simpson, 1953).

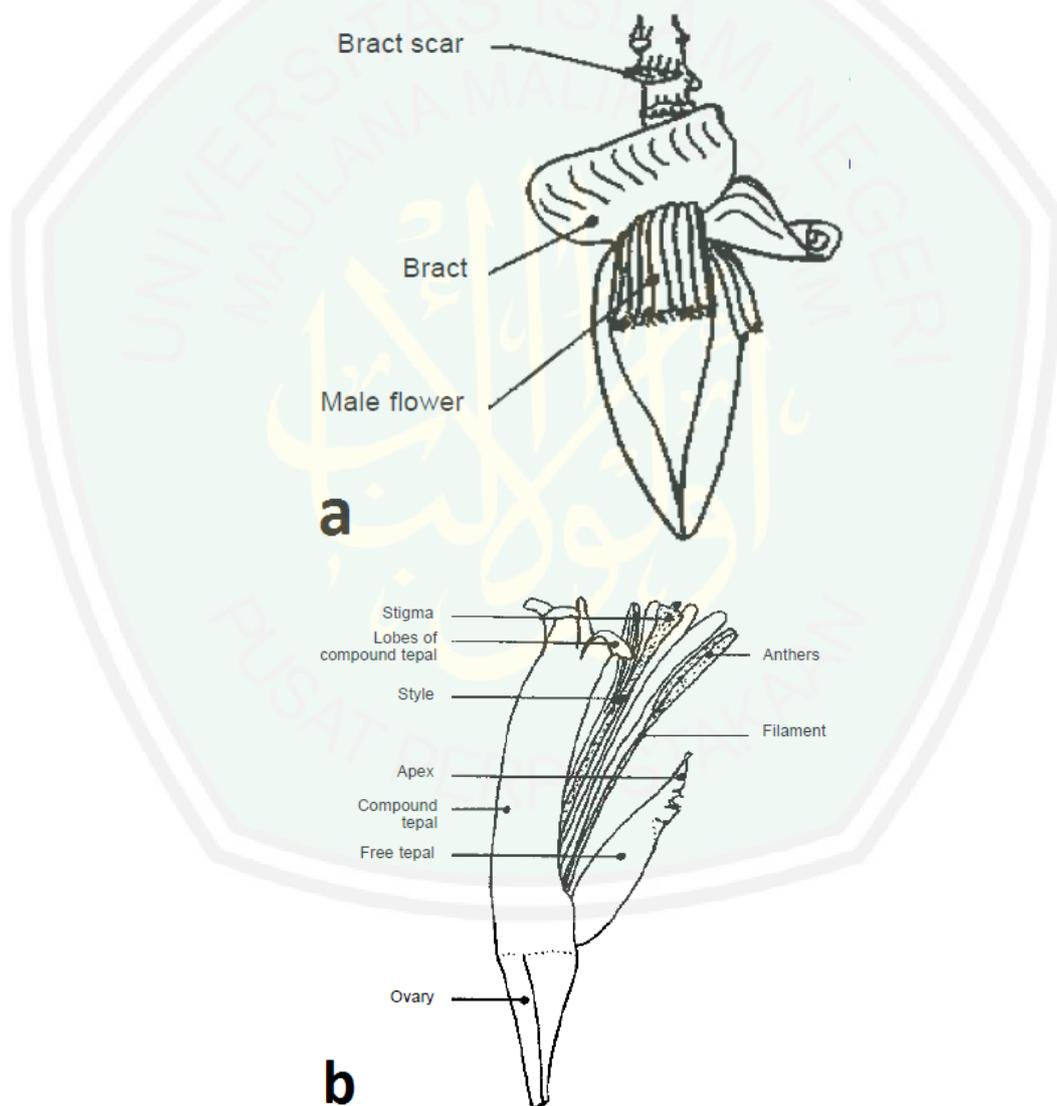
Gambar 2. 4 Keragaman warna daun (Dok. Pribadi)



Perbungaan pada tanaman pisang tumbuh dari rhizoma (Backer dan Brink, 1968). Perbungaan tumbuh ke atas melewati batang semu yang biasanya membelok satu arah atau terkulai (Dasuki, 1991). Bunga pisang terletak pada rakis yang tersusun dalam simosa monokhasium (sisir) dimana setiap susunan bunga dilindungi oleh braktea yang besar (Gambar 2.3a) (Simpson, 1953). Braktea tersebut tersusun rapat yang akan membuka pada waktu antesis (Dasuki, 1991).

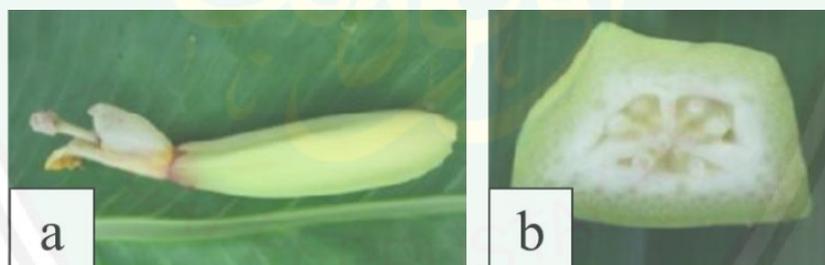
Bunga jantan terletak pada bagian atas, sedangkan bunga betina terletak pada bagian bawah (Simpson, 1953). Posisi bunga terbalik karena posisi perbungaan yang terkulai (Dasuki, 1991). Bunga pisang memiliki tepal 6 dalam lingkaran, namun 3 sepal dan 2 petal bersatu (*compound tepal*), sedangkan petal adaksial lepas (tepal bebas) (Gambar 2.3b). Stamen berjumlah 5 atau 6 buah

(Dasuki, 1991). Ginasium memiliki 3 karpel, membentuk ovarium yang inferus 3 ruang. Anggota Zingiberales mempunyai bakal buah yang terletak pada bagian bawah dasar bunga/inferus (Gambar 2.4a) (Simpson, 1953). Ovula yang terdapat dalam ovarium berjumlah sebanyak jumlah ruang dengan plasenta aksilaris, stilus 1, dan stigma 3 lobus (Gambar 2.4b) (Dasuki, 1991).



Gambar 2. 5 Penampakan a) Jantung pisang (*male bract*) dan b) bunga (IPGRI, 1999)

Buah pisang merupakan *berry* (buah buni) yang biasa dikenal sebagai buah “jari”. Setiap sisir dari tangkai buah disebut sebagai “tangan” dan kumpulan dari seluruhnya dikenal dengan “tandan”. Lapisan pelindung buah paling luar disebut dengan “kulit”, yang merupakan penyatuan dari *hypanthium* (reseptakel bunga) dan lapisan luar (*eksokarp*) dari *perikarp* (Simmond, 1953). Kulit ini mudah untuk dikupas (Dasuki, 1991) dari daging buah yang sebagian besar berasal dari *endokarp* (lapisan paling dalam dari *perikarp*) (Simmond, 1953). Pisang kultivar mempunyai buah yang berdaging dan kadang tidak berbiji, sedangkan pisang liar hanya sedikit berdaging dan dipenuhi dengan biji hitam (lebar 23-16 mm) (Morton, 1987) berbentuk bulat tidak beraturan atau berbentuk lensa, atau silindris (Nasution dan Yamada, 2001). Buah pada pisang kultivar bersifat partenokarpi dengan bakal biji yang mengeriput sebelum terjadi.



Gambar 2. 6 Penampakan a) ovarium pisang inferus dan b) tiga ruang pada ovarium (Hapsari, et al., 2015)

2.1.2 Identifikasi Pisang berdasarkan Genom

Klasifikasi dan identifikasi pisang kultivar pada awalnya menggunakan tata nama binomial yang dikenalkan oleh Linneus dalam bukunya yang berjudul “Species Plantarium” yang dipublikasikan pada tahun 1753. Linneus mendeskripsikan bahwa tata nama pisang berdasarkan ciri-ciri morfologi buahnya

yang mengandung banyak pati, sehingga perlu dimasak terlebih dahulu sebelum dikonsumsi. Namun, tata penamaan ini tidak cocok digunakan di Asia Tenggara karena merupakan pusat keragaman pisang yang kaya memiliki jenis pisang kultivar melimpah (Simmonds, 1959; Espino *et al.*, 1992). Hal ini mendorong Simmonds dan Shepherd pada tahun 1955 untuk mengusulkan perubahan klasifikasi dan cara identifikasi pisang kultivar. Tata penamaan berdasarkan Simmonds dan Shepherd ini menggunakan Genom sebagai dasar penamaan pisang kultivar dan telah ditetapkan secara konsensus pada tahun 1999 (Valmayor *et. al.*, 2000; INIBAP, 2006).

Komposisi Genom dan tingkat ploidi pisang kultivar pada awalnya ditentukan menggunakan sistem skoring berdasarkan karakter morfologi dari *Musa acuminata* (donor genom A) dan *Musa balbisiana* (donor Genom B). Sistem skoring ini terdiri dari 15 karakter pembeda dengan taraf skor 1-5. Pisang yang memiliki karakter mendekati karakter *Musa acuminata* diberi skor 1, pisang yang menyerupai karakter *Musa balbisiana* diberi skor 5, dan pisang yang memiliki karakter antara *Musa acuminata* dan *Musa balbisiana* diberi skor 3. Identifikasi kelompok Genom digolongkan berdasar akumulasi nilai skor pada kartu skor (Tabel 2.1) (Valmayor *et. al.*, 2000; INIBAP, 2006).

Tabel 2. 1 Pengelompokan Pisang Kultivar berdasarkan akumulasi skor (Hapsari, 2015)

Kelompok Genom	Total Skor	Contoh Pisang Kultivar di Indonesia
AA / AAA	15 – 25	Pisang Cici, Mas, Berlin, Ambon, Lilin
AAB	26 – 46	Pisang Raja
AB / AABB	47 – 49	-
ABB	59 – 63	Pisang Kepok, Ebung, Awak
ABBB	67 – 69	-
BB / BBB	70 – 75	Pisang Klutuk

2.1.3 Biogeografi Pisang

Asal dari pisang kultivar belum diketahui dengan tepat, namun terdapat teori yang mengemukakan bahwa pisang berasal dari Milanesia. Milanesia secara biogeografi termasuk di dalamnya Malay Peninsula, Indonesia, Philipina, New Guinea dan India. Malay Peninsula, Indonesia, Philipina dan New Guinea merupakan pusat primer dari pisang kultivar, sedangkan India merupakan pusat sekunder (Simmond dan Shepherd, 1955). Hal ini menunjukkan bahwa penyebaran keluar Asia kemungkinan berhubungan dengan perpindahan manusia (Daniells et al., 2001).

Pulau Jawa merupakan salah satu pulau yang berada di Indonesia. Pulau Jawa memiliki luas sekitar 126.700 km² (Monk, *et al.*, 1996). Pulau Jawa memiliki 38 gunung yang seluruhnya pada waktu tertentu pernah menjadi gunung aktif. Gunung-gunung dan dataran tinggi terletak berjauhan sehingga membantu wilayah pedalaman menjadi beberapa daerah yang terisolasi dan cocok untuk persawahan

dan perkebunan lahan basah (Ricklefs, 1991). Suhu rata-rata sepanjang tahun antara 22°C hingga 29°C dengan kelembaban rata-rata 75%. Suhu tersebut merupakan suhu dimana pisang dapat tumbuh dengan baik. Tanaman pisang dapat tumbuh dengan baik pada suhu antara 25°C - 38°C, sedangkan suhu optimum untuk pertumbuhannya adalah pada 27°C (Cahyono, 2002).

Pembentukan pulau Jawa dimulai dari periode tersier. Kerak bumi yang membentuk pulau Jawa pada awalnya berada di bawah permukaan laut. Kerak bumi ini terangkat dari dasar laut sehingga membentuk pulau Jawa karena adanya aktivitas orogenis yang intensif mulai dari masa Oligosen dan Miosen. Wujud pulau Jawa sudah mulai terbentuk pada masa Pliosen dan Pleistosen. Sisa-sisa dasar laut masih tampak yang membentuk kawasan karst (daerah batuan kapur) yang berada di selatan pulau Jawa seperti pada daerah selatar Banyuwangi, kabupaten Bantul, dan Gunungkidul yang berada pada garis selatan pulau Jawa (Bemmelen, 1949).

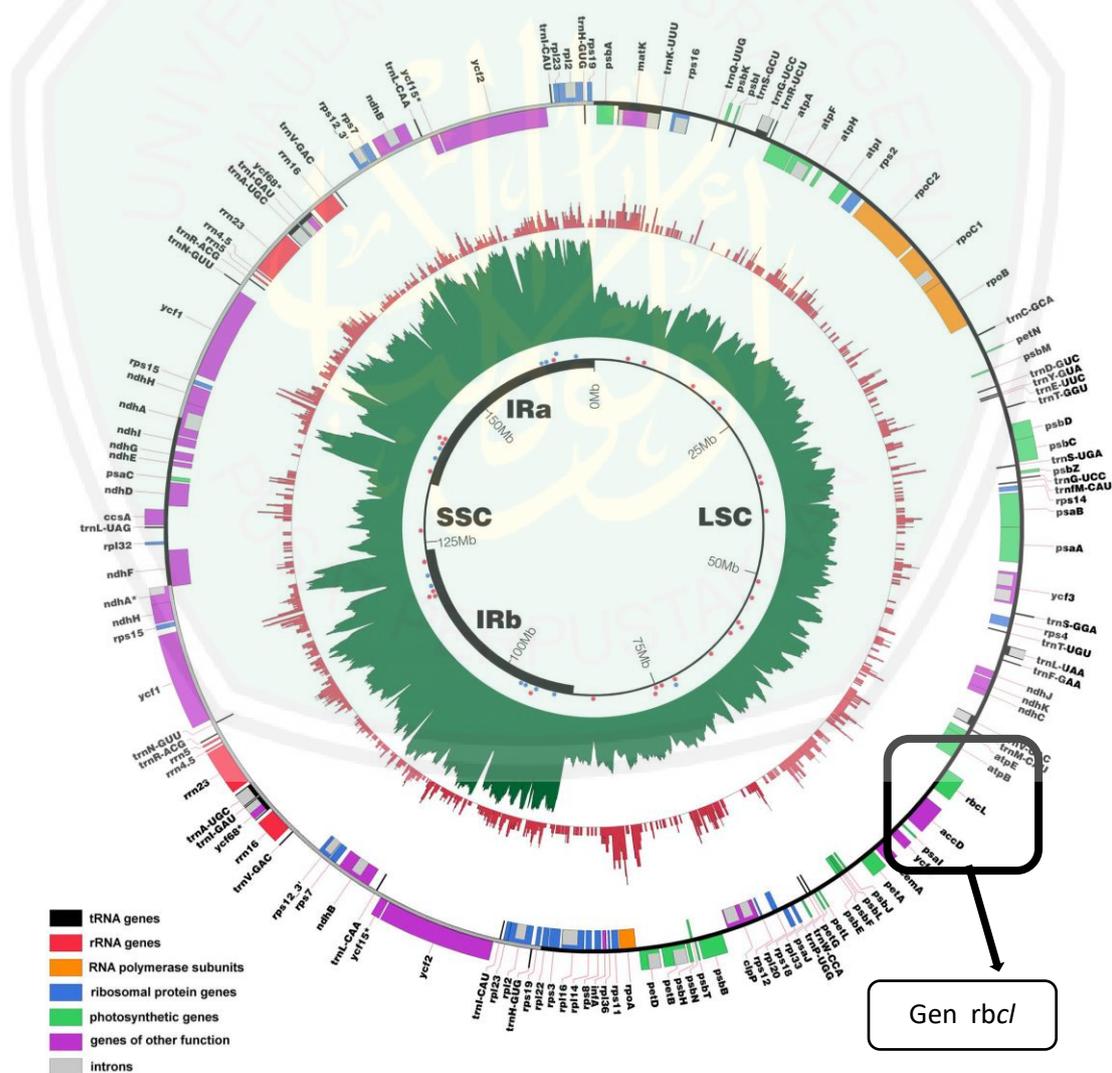
Jenis tanah kapur adalah alkalin yang memiliki pH di atas 7 dan bersifat basa. Kadar mineral terbesarnya ialah kalsium yang berada dalam bentuk CaCO_3 (kalsium karbonat) (Buckman dan Brady, 1982). PH tanah yang tinggi dapat menyebabkan beberapa unsur esensial akan cenderung lebih sedikit sehingga akan mempengaruhi kesuburan tanah (Hanafiah, 2005). Tanah yang subur akan berpengaruh baik pada besar dan panjangnya tandan pisang, sedangkan tanah yang tidak subur akan mengakibatkan tandan pisang kecil dan pendek (Satuhu dan Supriyadi, 2000).

2.2 Gen *rbcl*

Gen *rbcl* mempunyai panjang sekitar 1430 pasang basa yang berfungsi untuk mengkode *ribulose 1,5-bifosfat karboksilase/oksigenase (rubisco)*. *Ribulose 1, 5 biphosphate carboxylase/oxygenase (rubisco)* merupakan enzim yang bertanggungjawab dalam fiksasi CO₂ pada siklus *calvin* di banyak varietas organisme fotosintesis. Enzim *ribulose 1,5-bifosfat karboksilase/oksigenase* yang mengkatalisis pembentukan fosfoglisarat, dapat bereaksi dengan O₂, sehingga pada kondisi demikian enzim ini disebut ribulosa bifosfat oksigenase. Aktivitas ribulosa bifosfat oksigenase adalah mengubah satu molekul ribulosa bifosfat menjadi satu molekul asam fosfoglikolat dan satu molekul asam fosfoglisarat, bukan menjadi dua molekul asam fosfoglisarat jika CO₂ yang difiksasi. Dengan demikian digunakan nama enzim *rubisco* (ribulosa bifosfat karboksilase/oksigenase) untuk menyatakan keterlibatan enzim tersebut dalam fiksasi CO₂ dan O₂ (Campbell, 2006).

Enzim *rubisco* merupakan protein yang paling banyak ditemukan dalam kloroplas. Pada tanaman tingkat tinggi dan tingkat rendah, termasuk alga, enzim ini disusun dari delapan *large subunits* (Mr *ca* 55.000) dan delapan *small subunits* (Mr *ca* 15.000). Protein *large subunits* yang merupakan tempat proses katalisis, ditranslasi pada poliribosom kloroplastik (Blair et al., 1973; Gooding et al., 1973) sedangkan *small subunits* ditanslasi pada sitoplasmik poliribosom (Roy et al., 1976). Hal ini menunjukkan bahwa *small subunits* dikode oleh Genom inti/*nuclear* pada tanaman dan *large subunits* dikode oleh Genom kloroplas.

Gen *ribulose 1, 5 biphosphate carboxylase/oxygenase (rbcL)* merupakan sekuen DNA yang terdapat pada kloroplas. DNA kloroplas merupakan molekul DNA yang tersusun secara sirkular yang terdapat pada kloroplas tanaman (Frankham et al., 2010). DNA kloroplas bersifat stabil secara struktur, haploid, non-rekombinan dan pada sebagian besar tumbuhan diwariskan dari induk betina (Small et al., 2004). Oleh karena itu, DNA kloroplas sering digunakan untuk mengetahui hubungan kekerabatan pada tumbuhan (Taberlet et al., 1991).



Gambar 2. 7 Peta Genom kloroplas pisang (Martin, *et al.*, 2013)

Gen *rbcl* terletak pada DNA kloroplas, tepatnya berada diantara gen *atpB* dan *accD* (gambar 2.8) (Martin et al., 2013). Gen *rbcl* jarang mengalami insersi maupun delesi (Soltis dan Soltis, 1998) sehingga mempunyai tingkat konservatif yang tinggi. Tingkat mutasi yang rendah ini memberikan keuntungan untuk penelitian lebih lanjut tentang variasi genetik dan filogenetik intraspecies. Hal ini disebabkan karena hanya pada ujung 3' dari sekuen gen ini yang mungkin dapat mengalami mutasi yang panjang (Tandon, et al., 2013).

Gen *rbcl* digunakan dalam filogenetik tumbuhan karena gen ini mudah untuk diisolasi. Hal ini berdasarkan dari protein *rubisco* yang dihasilkan oleh gen *rbcl*. Protein *rubisco* jumlahnya sangat melimpah dalam sel tumbuhan, yaitu 15% dari total protein tumbuhan (Lane, 1984), dan lebih dari 50% dari total protein dalam kloroplas (Alberts et al., 2002).

Consortium Barcode of Live (CBOL) merekomendasikan bahwa gen *rbcl* merupakan salah satu penanda pada identifikasi tumbuhan secara umum (CBOL, 2009). Rekomendasi ini didasarkan pada eksistensi, efektifitas dan kelestarian dari laju mutasi gen ini pada hampir seluruh spesies tumbuhan. Pada bidang sistematika, gen ini dapat digunakan dalam identifikasi spesies tumbuhan dan analisis filogenetik. Laju mutasi gen *rbcl* lebih lambat jika dibandingkan dengan gen kloroplas lainnya, sehingga gen *rbcl* diperkirakan masih membawa informasi gen nenek moyang lebih banyak. Lambatnya laju mutasi gen *rbcl* diperkirakan berkaitan dengan fungsinya yang sangat esensial bagi tumbuhan sebagai pengkode enzim *rubisco* (Hajibabaei et al., 2007).

2.3 Variasi Genetik

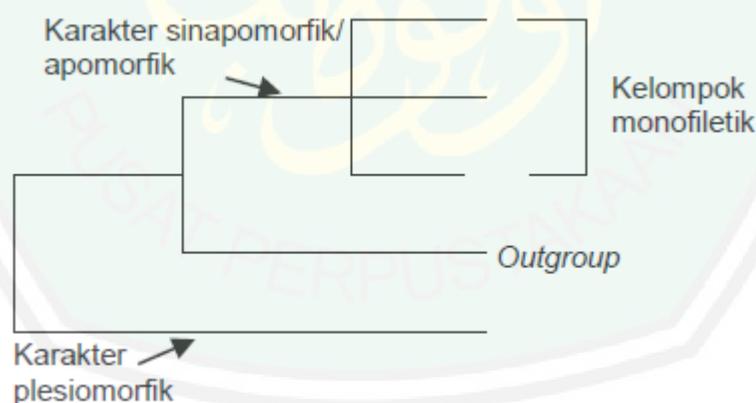
Variasi atau keragaman genetik dapat diartikan sebagai variasi gen dan genotip antar spesies maupun dalam spesies. Variasi genetik dapat disebabkan karena mutasi gen, rekombinasi, pemisahan dan pengelompokan alel secara acak selama meiosis, serta perubahan struktur kromosom. Variasi ini akan menyebabkan perubahan-perubahan susunan dan jumlah genetik yang menyebabkan perubahan fenotip (Crowder, 1997).

Variasi genetik yang terbentuk secara alami merupakan sumber utama dalam program pemuliaan tanaman. Variasi ini dapat dimanfaatkan sebagai acuan dalam introduksi secara sederhana dalam program persilangan tanaman atau dengan rekombinasi genetik (Welsh, 1991). Sebelum melakukan seleksi dalam program pemuliaan, perlu diketahui terlebih dahulu luas sempitnya variabilitas genetik pada tanaman yang akan diuji. Variabilitas genetik yang luas akan menambah peluang untuk mendapatkan kultivar unggul. Jika keragaman genetik memiliki variabilitas yang sempit, maka setiap individu yang ada dalam populasi tersebut dapat dikatakan hampir seragam. Individu yang seragam dalam suatu populasi akan menyebabkan tidak mungkinnya dilakukan pemuliaan tanaman melalui seleksi karena akan menghasilkan keturunan dengan kualitas yang sama dengan tanaman induk (Ruchjaningsih *et al.*, 2002).

2.4 Hubungan Kekerabatan

Hubungan kekerabatan merupakan suatu metode yang digunakan dalam analisis sistematika untuk memahami keanekaragaman makhluk hidup melalui rekonstruksi hubungan kekerabatan (Hidayat dan Pancoro, 2008). Suatu kelompok

organisme dalam sebuah pohon filogenetik yang anggotanya memiliki banyak kesamaan sifat atau karakter dianggap mempunyai hubungan kekerabatan yang dekat dan diperkirakan diturunkan dari satu nenek moyang. Seluruh anggota kelompok ini akan membentuk sebuah kelompok monofiletik (Gambar 2.1), sehingga dapat diasumsikan bahwa sifat atau pola genetik dan biokimia sama (Topik, 2005). Analisis hubungan kekerabatan sangat membutuhkan kelompok *outgroup* yang dapat menyebabkan polarisasi karakter (apomorfik, plesiomorfik, dan sinapomorfik). Karakter apomorfik adalah karakter yang berubah dan diturunkan yang terdapat pada *ingroup*. Karakter plesiomorfik merupakan karakter primitif yang terdapat pada *outgroup*. Karakter sinapomorfik merupakan karakter yang diturunkan yang terdapat pada kelompok monofiletik (Hidayat dan Pancoro, 2008).



Gambar 2. 8 Pohon kekerabatan dan polarisasi karakter dalam analisis filogenetika

Pohon filogenetik dapat direkonstruksi dengan dua cara, yaitu berdasarkan karakter morfologi dan karakter molekular (Tjitrosoepomo, 2009). Karakter morfologi telah lama digunakan dalam banyak penelitian tentang hubungan kekerabatan. Namun hasilnya sering kali kurang akurat karena perbedaan antar

spesies yang berkerabat dekat seringkali sulit diamati. Selain itu, umumnya sifat kuantitatif yang dikendalikan oleh banyak gen dan sangat dipengaruhi oleh lingkungan, sehingga hasilnya akan lebih akurat menggunakan penanda molekular (Maftuchah, 2001). Penelitian saat ini lebih banyak menggunakan karakter molekular seiring dengan pesatnya perkembangan teknik dalam biologi molekular seperti *polymerase chain reaction* (PCR) dan *DNA sequencing*. Hubungan kekerabatan berdasarkan karakter molekular mengkombinasikan antara teknik biologi molekular dengan statistik yang digunakan untuk merekonstruksi hubungan kekerabatan (Hidayat dan Pancoro, 2008).

Menurut Hills (1996), hubungan kekerabatan molekular menggunakan sumber data dari urutan asam deoksiribonukleat (DNA), asam ribonukleat (RNA), dan protein. Beberapa pertimbangan digunakannya urutan DNA adalah karena urutan DNA merupakan struktur pengkode sifat secara genetik yang sangat penting dalam organisme, mudah untuk diekstrak, mudah dilakukan penggabungan, mudah untuk membuat model dari peristiwa evolusi secara komparatif dan memuat banyak informasi yang beragam (Hills et al., 1996).

Urutan DNA memberikan data yang akurat melalui pengujian homologi yang lebih baik terhadap karakter- karakter tertentu (Baldwin *et al.* 1995). Selain itu, urutan DNA mengkode banyak *character states* yang muncul karena perbedaan laju perubahan basa-basa nukleotida (Hills dan Moritz 1996). Selain itu, hasil hubungan kekerabatan yang didapat dari urutan DNA menunjukkan hasil yang lebih alami (Chase *et al.* 1993, Topik et al., 2005). Beberapa persyaratan yang harus

dipenuhi sebelum menggunakan data sekuen DNA untuk analisis hubungan kekerabatan diantaranya adalah (Hershkovitz dan Leipe, 1998):

1. Urutan DNA berasal dari sumber yang spesifik, yaitu dari inti sel (nDNA), kloroplas (cpDNA) atau mitokondria (mtDNA),
2. Urutan DNA bersifat homolog yang berarti diturunkan dari satu nenek moyang,
3. Urutan DNA mempunyai sejarah evolusi yang sama (misalnya bukan dari campuran nDNA dan mtDNA).

Analisis hubungan kekerabatan pada umumnya melalui tiga tahap, yaitu: *Alignment*, rekonstruksi pohon filogenetik, dan evaluasi pohon filogenetika dengan uji statistik. *Alignment* digunakan untuk mengetahui keberadaan sifat homolog antar urutan DNA. Tahap ini sangat menentukan keberhasilan dari analisis filogenetik. Hasil dari tahap *alignment* umumnya terdapat *gap* yang merupakan hasil dari adanya insersi maupun delesi karena mutasi (Mount, 2001).

Rekonstruksi pohon filogenetik dapat dikelompokkan dalam dua kategori untuk mendapatkan pohon filogenetika terbaik, yaitu *distance based method* dan *character based method*. *Distance based method* merupakan metode yang didasarkan pada indeks *p-distance* (jarak perbedaan dari dua sekuen) sehingga didapat ukuran dekat/jauhnya kekerabatan antar organisme dalam pohon. Semakin besar indeks *p-distance* maka semakin jauh tingkat kekerabatannya. Metode yang termasuk dalam metode ini yaitu *Neighbor-Joining* (NJ). *Character based method* merupakan metode yang didasarkan pada urutan basa nukleotida atau asam amino secara langsung untuk merekonstruksi pohon. Beberapa metode yang termasuk

dalam kelompok ini diantaranya adalah *Maximum-Parsimony* (MP), *Maximum-Likelihood* (ML), dan *Bayesian Inference* (BI) (Lemey, 2009).

A. *Neighbor joining*

Neighbor joining merupakan metode yang termasuk dalam *distance method* dimana pengelompokan taksa berdasarkan nilai jarak evolusioner pasangan-pasangan *operational taxonomy unit* dimana setiap percabangan berevolusi pada kecepatan yang berbeda (Hartl, 1989). Metode ini tidak membangun *cluster* melainkan langsung menghitung jarak ke nodus internal.

B. *Maximum parsimony*

Metode *Maximum parsimony* berdasarkan pada anggapan bahwa pohon yang paling nyata adalah salah satu pohon yang memiliki nilai perubahan basa dari hasil *alignment*. Metode ini mempunyai beberapa kelebihan, yaitu merupakan metode yang menggunakan jenis data *character based* yang cukup akurat dengan waktu perhitungan yang relatif lebih cepat dari metode *character based* yang lainnya. Selain itu, kelebihan dari metode ini yaitu pohon yang direkonstruksi pada umumnya terbebas dari asumsi-asumsi model substitusi nukleotida yang diterapkan pada algoritma lain seperti *distance matrix* atau *maximum likelihood*. Dengan kebebasan asumsi ini, MP dianggap lebih dapat menggambarkan hubungan kekerabatan yang sebenarnya ketika divergensi antar urutan DNA cukup rendah (Holder dan Lewis, 2003).

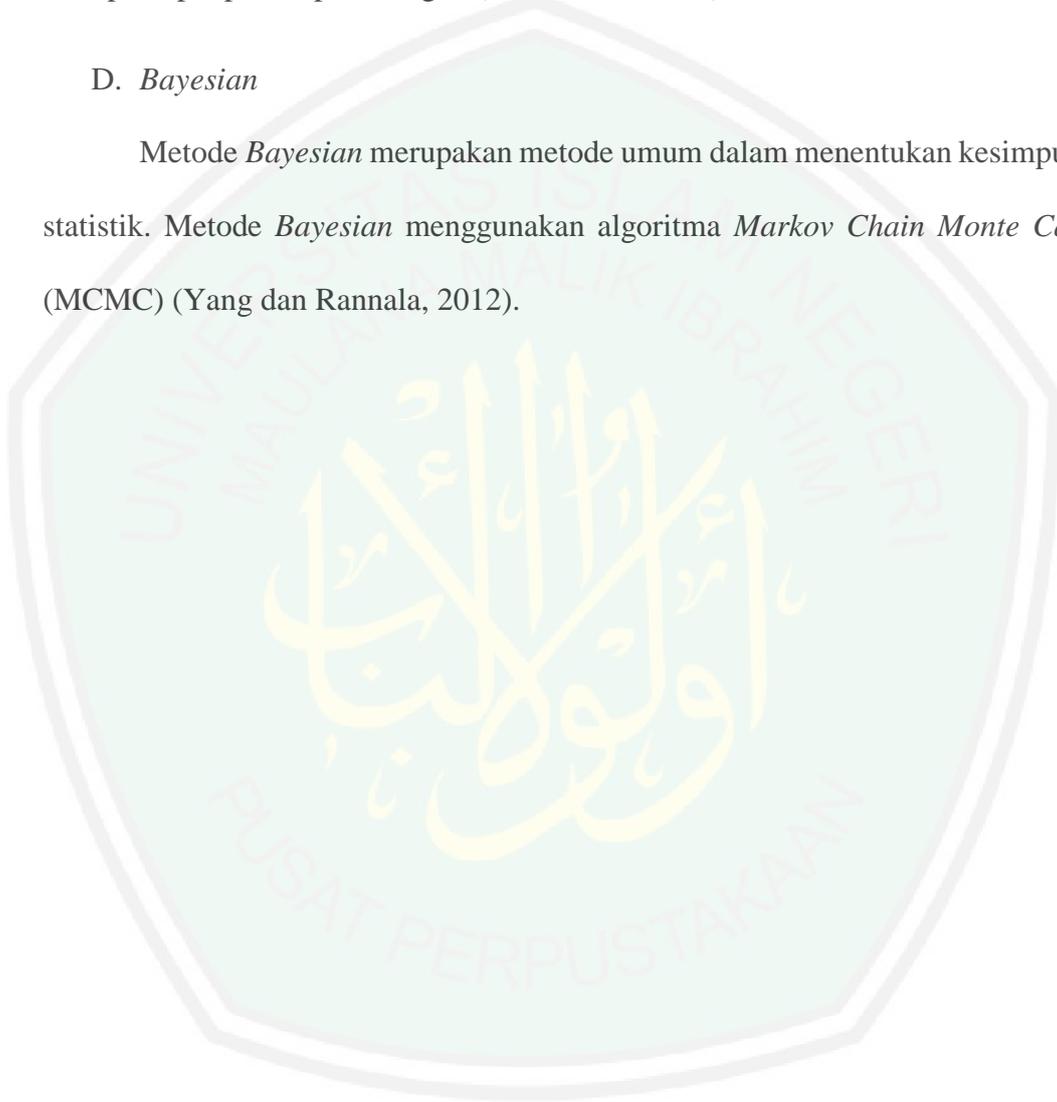
C. *Maximum likelihood*

Maximum likelihood menggunakan prinsip bahwa perubahan-perubahan diantara seluruh basa nukleotida dianggap sebanding. Metode ini memiliki

kelemahan yaitu membutuhkan waktu yang lama untuk menghitung, walaupun telah dikembangkan telah dikembangkan algoritma baru yang bertujuan untuk mempercepat proses perhitungan (Felsenstein, 1981).

D. *Bayesian*

Metode *Bayesian* merupakan metode umum dalam menentukan kesimpulan statistik. Metode *Bayesian* menggunakan algoritma *Markov Chain Monte Carlo* (MCMC) (Yang dan Rannala, 2012).



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif eksploratif kualitatif dan studi literatur tentang pisang Raja. Objek Penelitian ini adalah pisang Raja dari beberapa lokasi di Pulau Jawa sebagai sampel *ingroup* dan dua spesies dari genus *Ensete* sebagai *outgroup*.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2017 sampai bulan Maret 2018. Pengambilan sampel dilakukan di kebun koleksi plasma nutfah pisang Dinas Pertanian dan Perikanan Kota Yogyakarta, sedangkan Isolasi DNA sampel, PCR, elektroforesis dan analisis data dilakukan di laboratorium Genetika dan Molekular Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan alat-alat diantaranya adalah gunting *ICE tempered stainless 701 - 5 $\frac{1}{2}$* , *tube eppendorf* 0,5 mL dan 1,5 mL, rak tube, mortar dan *pestle*, *waterbath memmert*, mikropipet *BIO-RAD* (5-10 μ l, 2-20 μ l, 20-200 μ l, 100-1000 μ l), blue tip *ONEMED*, yellow tip *ONEMED*, white tip *ONEMED*, vortex *Barnstead Thermolyne*, sentrifuge *HIRAEUS Pico17*, spatula, neraca analitic *sartorius*, gelas ukur *PYREX IWAKI*, *Erlenmeyer PYREX IWAKI*, microwave *U-ROLUX*, cetakan agar, perangkat elektroforesis *Mupid*, power suply *BIO-RAD*,

Molecular Imager® Agar Doc™ XR System *BIO-RAD*, AE-200 Nano Nucleic Acid Analyzer, dan MyCycler™ Thermal Cycler *BIO-RAD*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah The Wizard® Genomic DNA Purification Kit Promega (Cell Lysis Solution, Nuclei Lysis Solution, Protein Precipitation Solution, DNA Rehydration Solution, dan RNase A Solution), isopropanol, ethanol 70%, tissue *PASSEO*, agarose, Tris-Boric EDTA (TBE) *Jena Bioscience*, loading dye, ddH₂O *Otsu - Wi*, Ethidium Bromide (EtBr) *SIGMA-ALDRICH*, alkohol 70%, *Intron Biotechnology* PCR Master Mix, primer *rbcl1-F*, dan primer *rbcl1-R*.

3.4 Pengambilan Sampel

Penelitian ini menggunakan sampel daun pisang yang diambil dari kebun koleksi plasma nutfah pisang kebun koleksi plasma nutfah pisang Dinas Pertanian dan Perikanan Kota Yogyakarta (Tabel 3.1). Sampel daun pisang yang digunakan adalah daun yang masih muda dan menggulung. Daun muda yang telah diambil kemudian disimpan dalam kantong plastik berisi *silica gel* dan diberi label nama sampel.

Tabel 3. 1 Nama lokal dan asal daerah sampel pisang Raja

Kode	Nama Sampel	Asal
R2	Raja Delima	Kabupaten Malang
R4	Raja Kisto	Giri, Banyuwangi
R5	Raja Bali	Kabupaten Bantul

R7	Raja Gareng	Tembarak, Temanggung
R11	Raja Kutuk	Kabupaten Purworejo
R12	Raja Brentel	Kabupaen Sukoharjo
R13	Raja Lini	Kabupaten Gunung Kidul

3.5 Ekstraksi DNA

Genom DNA diekstraksi dengan menggunakan The Wizard® Genomic DNA Purification Kit Promega. Sampel daun dibekukan dengan direndam dalam larutan nitrogen dan digerus hingga menjadi serbuk dengan menggunakan mortar dan alu. Lisis sel dilakukan dengan dimasukkan 40 mg serbuk sampel ke dalam tube 1,5 ml kemudian ditambahkan 600 µl larutan *nuclei Lysis* dan divortex 1-3 detik. Suspensi sampel diinkubasi pada suhu 65°C selama 15 menit kemudian ditambahkan 3 µl larutan RNase. Selanjutnya, Suspensi dicampur dengan cara tube dibolak-balik 2-5 kali kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit. Suspensi didiamkan hingga dingin pada suhu ruang selama 5 menit.

Proses selanjutnya adalah presipitasi DNA pada suspensi. Suspensi ditambah dengan 200 µl *Protein Precipitation Solution* dan divortex selama 20 detik. Suspensi disentrifus selama 30 menit pada 13.000 – 16.000 x g dan diambil supernatan dengan hati-hati kemudian dipindahkkan ke tube baru. Supernatan ditambah dengan 600 µl Isopropanol (suhu ruang) lalu dihomogenkan perlahan dengan cara dibolik-balik. Larutan disentrifus pada kecepatan 13.000 – 16.000 x g

selama 1 menit pada suhu ruang. Setelah selesai, supernatan dibuang dengan menggunakan mikropipet sehingga hanya tersisa pelet.

Tahap selanjutnya adalah purifikasi DNA. Pelet pada tube ditambahkan 600 μl ethanol 70% (suhu ruang) dan dibolak-balik perlahan untuk mencuci DNA. Larutan disentrifus pada kecepatan 13.000 – 16.000 x g selama 1 menit pada suhu ruang. Supernatan dibuang dengan menggunakan mikropipet dengan hati-hati (pelet DNA mudah lepas pada tahap ini sehingga harus dilakukan dengan sangat hati-hati). Pelet dikering-anginkan selama 15 menit. Pelet ditambahkan 100 μl DNA Rehydration Solution dan diinkubasi pada suhu 65°C selama 1 jam kemudian dihomogenkan. Sampel DNA disimpan pada suhu 2-8°C untuk digunakan pada uji selanjutnya.

3.6 Uji kualitatif dan Kuantitatif DNA

Uji kualitatif DNA hasil ekstraksi dilakukan dengan menggunakan elektroforesis agar agarose 1%. Agarose sebanyak 200 mg ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik kemudian dimasukkan kedalam agaras beaker dan ditambahkan 20 mL Tris-Boric EDTA (TBE). Larutan agar dipanaskan menggunakan *mikrowave* dan diaduk menggunakan *stirrer* hingga larutan menjadi bening kemudian ditunggu hingga suhu larutan sekitar 35°C. Ethidium Bromide (EtBr) 100% ditambahkan sebanyak 1 μL pada larutan agar dan dihomogenkan. Larutan agar dicetak dalam cetakan agar (pastikan bersih dan pada posisi rata) dan dipasang sisir cetakan *wells* kemudian ditunggu selama 15 menit hingga agar mengeras. Agar dimasukkan dalam tangki elektroforesis dan ditambahkan TBE $\frac{1}{2}$

X hingga agar terendam. Sebanyak 2 μ L marker Thermo scientific GeneRuler 100 bp dihomogenkan dengan 1 μ l *loading dye* kemudian dimasukkan kedalam sumuran agar. Sampel DNA hasil ekstraksi masing-masing diambil 5 μ l lalu dimasukkan kedalam sumuran agar. *Running* elektroforesis dilakukan dengan tegangan 100 V selama 25 menit. Visualisasi hasil elektroforesis dilakukan dengan menggunakan Molecular Imager[®] Agar Doc[™] XR System BIO-RAD dan ditampilkan pada komputer.

Uji kuantitatif DNA dilakukan dengan menggunakan AE-200 Nano Nucleic Acid Analyzer. Masing-masing sampel DNA sebanyak 1 μ L digunakan untuk pembacaan kemurnian DNA hasil ekstraksi. Kemurnian DNA dibaca dengan panjang agarombang A260 dan A280. Kemurnian DNA diketahui dengan acuan A260/280 rasio >1.8 (Psifidi et al., 2010). Konsentrasi DNA diukur dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{DNA} = \text{A260} \times 50 \times \text{faktor pengenceran}$$

Keterangan:

A260 = Nilai absorbansi pada λ 260 nm

50 = larutan dengan nilai absorbansi 1.0 sebanding dengan 50 μ g untai ganda DNA per ml

3.7 Amplifikasi dan *Sequencing* Gen *rbcl*

Amplifikasi gen *rbcl* dilakukan dengan total larutan 30 μ l yang berisi 15 μ l PCR *Master Mix Intron Biotechnology*, 6 μ l ddH₂O, 3 μ l sampel DNA, 3 μ l 10 pm/ μ l setiap primer *rbcl1* (TGTCACCAAAAACAGAGACT) dan *rbcl2* (TTCCATACTTCACAAGCAGC) (Parani et al., 2000) Suspensi sampel dibersihkan dari gelembung dengan menggunakan *spindown*. Reaksi PCR

dilakukan dengan menggunakan Thermal Cycler MyCycler™ BIO-RAD. Predenaturasi pada suhu 98⁰ C selama 45 detik, kemudian diikuti dengan 35 siklus yang terdiri dari denaturasi 98°C selama 45 detik, annealing 55°C selama 30 detik, elongasi 72°C selama 40 detik. Setelah selesai, proses amplifikasi diakhiri dengan post-elongasi 74°C selama 10 menit. Hasil amplifikasi dikonfirmasi dengan elektroforesis menggunakan gel agarose 1,5%. Proses sekuensing dilakukan untuk mengetahui urutan sekuen DNA yang didapat dari proses amplifikasi. Sekuensing dilakukan dengan menggunakan jasa *sequencing 1st Base* Singapura.

3.8 Analisis Data

3.8.1 Analisis Sekuen dan Variasi Genetik

Data hasil sekuensing dibaca dengan menggunakan *software Sequence Scanner* v1.0. Sekuen DNA hasil sekuensing disejajarkan menggunakan *software ClustalX2* (Larkin M. A., et al., 2007) dengan *default* parameter. Selanjutnya, data disimpan dalam format FASTA dan NEXUS. Hasil pensejajaran digunakan untuk mengetahui variasi genetik dan sekuen yang mengalami mutasi (jenis, letak, dan jumlah) yang dianalisis menggunakan *software DNASP* versi 6.0.

3.8.2 Analisis Filogenetik

Analisis filogenetik dilakukan dengan menentukan model substitusi yang sesuai terlebih dahulu. Penentuan model evolusi terbaik untuk urutan DNA gen *rbcl* pisang Raja menggunakan *software Mega6*. Pada pilihan Model, pilih *find best DNA/protein models* (ML). Penentuan model berdasarkan AIC (Akaike Information Criterion) (Akaike, 1973) dengan *correction* dan BIC (Bayesian Information Criterion) (Schwarz, 1978).

Analisis kekerabatan antar sampel Pisang Raja dan *outgroup* dilihat dengan menggunakan metode *Maximum parsimony* (MP), *Neighbor joining* (NJ), dan *Maximum likelihood* (ML) dan *Bayesian*. Analisis kekerabatan dilakukan dengan tiga metode (*Maximum parsimony*, *Neighbor joining*, dan *Maximum likelihood*) dengan metode *bootstrap* sebanyak 1000 *bootstrap*, Analisis ini dijalankan menggunakan *software* Mega6. Metode *Bayesian* dilakukan dengan menggunakan *software* BEAUti v1.8.4 untuk membuat bahasa pemrograman dengan format XML, *software* BEAST v.1.8.4 (Drummond dan Rambaut, 2007), dan *software* figtree v.1.4.3 untuk visualisasi pohon filogenetik. Analisis Bayesian dilakukan dengan menggunakan perhitungan MCMC (*Monte Carlo Markov Chain*) dilakukan setiap 5000 generasi dengan total 20 juta generasi (Janssens et al., 2016).

3.8.3 Analisis Haplotype

Analisis biogeografi dilakukan untuk mengetahui aliran gen dan pola distribusi pisang Raja di Pulau Jawa. Sekuen gen *rbcl* yang telah disejajarkan disimpan dalam format RDF (*Resource Description Framework*) dengan menggunakan *software* DNASP versi 6.0. Kemudian dilakukan analisis *haplotype* untuk mengetahui aliran gen *rbcl* dari tetua pisang Raja dengan menggunakan *software* *network* v5.0. Analisis dilakukan dengan *option* *median joining* (MJ) kemudian disimpan dalam format OUT. Hasil analisis *haplotype* ditampilkan dengan menggunakan *draw network*.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hubungan Kekerbatan Pisang Raja Berdasarkan Gen *rbcl*

Hubungan kekerabatan dari tujuh sampel pisang Raja dilakukan berdasarkan perbedaan urutan DNA gen *rbcl*, sehingga dapat diketahui hubungan kekerabatan antar sampel. Perbedaan urutan DNA gen *rbcl* merupakan salah satu contoh beragamnya ciptaan Allah S.W.T., sebagaimana yang dijelaskan dalam al-Quran surat Faatir (35): 28:

وَمِنَ النَّاسِ وَالْدَّوَابِّ وَالْأَنْعَامِ مُخْتَلِفٌ أَلْوَانُهُ وَكَذَلِكَ إِنَّمَا يَخْشَى اللَّهَ مِنْ عِبَادِهِ
الْعُلَمَاءُ إِنَّ اللَّهَ عَزِيزٌ غَفُورٌ ۲۸

Artinya: Dan demikian (pula) di antara manusia, makhluk bergerak yang bernyawa, dan hewan-hewan ternak ada yang bermacam-macam warnanya (dan jenisnya). Di antara hamba-hamba Allah yang takut kepada-Nya, hanyalah para ulama. Sungguh, Allah Maha Perkasa, Maha Pengampun.

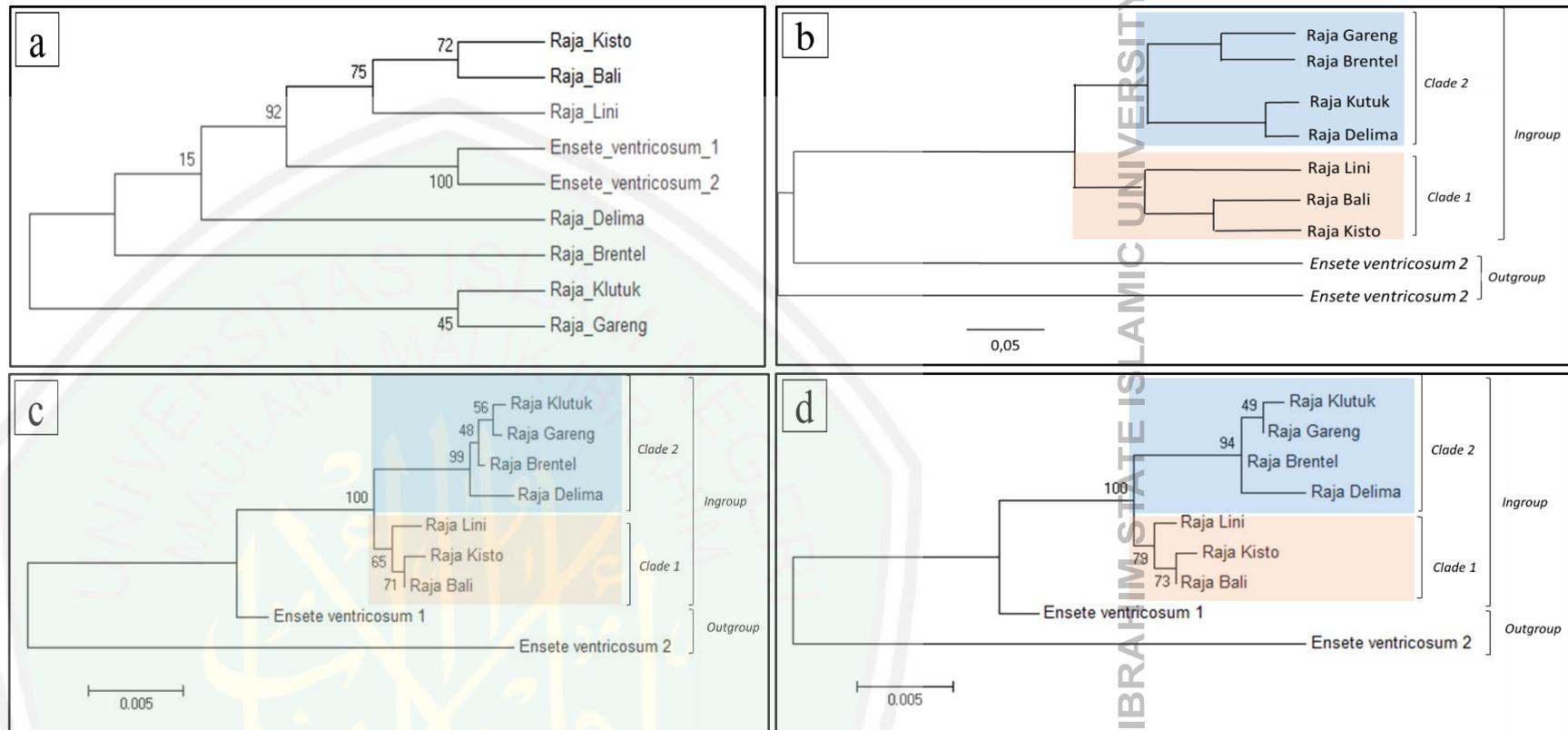
Kata *mukhtalifun* oleh banyak ulama dipahami bahwa keragaman itu juga terdapat pada seluruh makhluk hidup. Pada ayat tersebut dijelaskan tentang manusia, binatang-binatang ternak seperti unta, domba, dan sapi yang bermacam-macam bentuk, jenis, dan warnanya. Sama halnya dengan keragaman pada satu jenis tumbuhan yang memiliki banyak keragaman mulai dari warna, jenis, ukuran, hingga genetiknya (Shihab, 2002).

Ayat tersebut juga menekan bahwa kesatuan sumber materi yang menghasilkan aneka perbedaan. Dalam hal ini dapat diibaratkan pada gen *rbcl* yang memiliki beberapa perbedaan antar individu pisang Raja. Ayat ini pun mengisyaratkan bahwa faktor genetik yang menjadikan keragaman sehingga setiap individu memiliki ciri khasnya masing-masing sehingga dapat dibedakan dan dikelompokkan berdasarkan ciri tersebut (Shihab, 2002). Pada akhir ayat

disebutkan bahwa hanya para ulama' yang takut kepada Allah. Hal ini menunjukkan bahwa para ulama', dimana dalam hal ini bisa diibaratkan sebagai seseorang yang berhasil memperkirakan tentang hubungan kekerabatan tersebut, takut kepada Allah karena semakin mengetahui keagungan Allah S.W.T (Katsir, 2004).

Analisis hubungan kekerabatan tujuh sampel pisang Raja dilakukan pada urutan DNA gen *rbcl* tujuh sampel Pisang. Urutan DNA gen *rbcl* berhasil diamplifikasi (Lampiran 1) sehingga dapat dilakukan proses *sequencing* DNA gen *rbcl*. Hasil *sequencing* menunjukkan kualitas hasil *sequencing* yang bagus berdasarkan nilai QV^{+20} (Lampiran 2 dan Lampiran 3). Nilai QV^{+20} merupakan nilai total dari seluruh sampel yang mempunyai nilai kualitas basa nukleotida lebih dari 20 dengan nilai keakuratan hasil *sequencing* lebih dari 99% (Pallez, *et al.*, 2014).

Hubungan kekerabatan tujuh sampel pisang Raja dianalisis dengan menggunakan empat metode. Hasil analisis menunjukkan hubungan kekerabatan yang berbeda yang digambarkan pada gambar 4.1.



Gambar 4. 1 Pohon Hasil analisis DNA Pisang Raja berdasarkan gen *rbcL* menggunakan 4 metode, a. *Maximum parsimony*; b. *Bayesian*; c. *Neighbor joining*; d. *Maximum likelihood*.

Pohon yang dihasilkan dari empat metode menunjukkan bahwa, terbentuk topologi pohon yang berbeda-beda. Namun, metode *Bayesian*, NJ, dan ML menunjukkan bahwa terbentuk dua klad dari tujuh sampel pisang Raja. Topologi pohon berdasarkan metode MP membentuk pohon filogenetik dimana sampel *outgroup* berada diantara sampel *ingroup* (Gambar 4.1). *Ensete* merupakan genus dari famili Musaceae yang memiliki nenek moyang berbeda dengan pisang Raja. Selain itu, *Ensete* merupakan genus dari famili Musaceae bersama dengan genus *Musa* dimana genus *Musa* merupakan genus yang lebih modern dibandingkan dengan *Ensete* (Simpsons, 1953), sehingga metode MP kurang sesuai digunakan untuk analisis hubungan kekerabatan pisang Raja berdasarkan gen *rbcl*.

Pohon yang dihasilkan dari metode *Bayesian*, NJ, dan ML membentuk 3 klad, dimana satu klad terdiri dari sampel *outgroup* dan dua klad terdiri dari sampel *ingroup* (Gambar 4.1bcd). Klad 2 pada tiga metode (*Bayesian*, NJ, dan ML) menunjukkan hasil yang sama dengan nilai *bootstrap* yang berbeda-beda. Nilai *bootstrap* merupakan tolak ukur dalam menentukan tingkat kepercayaan terhadap pohon filogenetik. Penggunaan metode *bootstrap* untuk penentuan tingkat kepercayaan berdasarkan pada fakta bahwa distribusi karakter pada data dipengaruhi oleh efek acak (*stochastic*) (Nei dan Kumar, 2000). Jika nilai *bootstrap* semakin tinggi, maka nilai kepercayaan topologi pohon yang dihasilkan akan semakin tinggi pula (Nei dan Kumar, 2000).

Klad 2 pada pohon filogenetik metode *Bayesian*, NJ, dan ML terdapat R. Lini dengan nenek moyang dari R. Bali dan R. Kisto, sedangkan R. Bali dan R. Kisto berada pada subklad dari klad 2. Hasil analisis menunjukkan bahwa diduga

dahulu R. Bali dan R. Kisto berevolusi dari R. Lini. Klad 3 menunjukkan hasil yang berbeda-beda pada metode *Bayesian*, NJ, dan ML seperti pada gambar (Gambar 4.1bcd). Pohon metode *Bayesian*, NJ, dan ML menunjukkan bahwa R. Delima merupakan pisang lebih primitif dibandingkan R. Kutuk, R. Brentel, dan R. Gareng. Namun, posisi R. Kutuk, R. Brentel, dan R. Gareng pada tiga metode menunjukkan posisi yang berbeda-beda.

Metode NJ merupakan metode yang didasarkan pada indeks *p-distance* (jarak perbedaan dari dua sekuen) untuk merekonstruksi pohon, sehingga didapat ukuran dekat/jauhnya kekerabatan antar organisme dalam pohon (Lemey, 2009). Indeks *p-distance* gen *rbcl* antar tujuh sampel memiliki nilai yang sangat rendah, yaitu kurang dari 0,1 (Lampiran 4). Metode ML merupakan *Character based method* yang didasarkan pada urutan basa nukleotida atau asam amino secara langsung untuk merekonstruksi pohon (Lemey, 2009). Metode *Bayesian* merupakan metode umum dalam menentukan kesimpulan statistik dengan menggunakan algoritma *Markov Chain Monte Carlo* (MCMC) dalam penentuan pohon terbaiknya (Yang dan Rannala, 2012). Analisis Metode Bayesian didasarkan pada algoritma likelihood, namun untuk penentuan pohon dipilih berdasarkan asumsi yang mendekati fakta hubungan kekerabatan antar pisang Raja yang ada di alam. Metode *Maximum parsimony* berdasarkan pada anggapan bahwa pohon yang paling nyata adalah salah satu pohon yang memiliki nilai perubahan basa dari hasil *alignment* (Hall, 1994),

Berdasarkan gen *rbcl* R. Kisto yang berasal dari Banyuwangi, Jawa timur merupakan sampel yang berkerabat dekat dengan R. Lini dan R. Bali yang berasal

dari Bantul dan Gunungkidul karena berada pada klad 2. Hal ini diduga bahwa tiga sampel ini dahulu berasal dari daerah yang sama, dimana R. Kisto berasal dari Yogyakarta atau sebaliknya. R. Delima yang berasal dari Malang Jawa Timur merupakan sampel yang berkerabat dekat dengan R. Brentel, R. Gareng, dan R. Kutuk (berada dalam klad 3). Hal ini diduga dahulu R. Delima berasal dari daerah yang sama dimana R. Delima berasal dari Jawa Tengah atau sebaliknya. Analisis pohon filogenetik menunjukkan bahwa kemungkinan pisang Raja dalam klad 2 muncul terlebih dahulu dibandingkan pisang Raja dalam klad 3, hal ini didasarkan pada panjang cabang pada klad 2 yang lebih panjang dibandingkan panjang cabang pada klad 3 (Gambar 4.1bcd)..

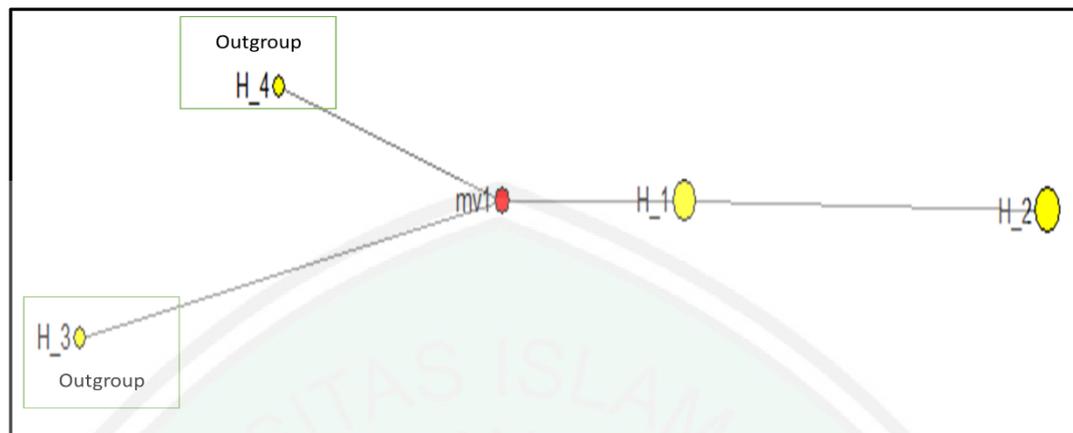
Tujuh sampel pisang Raja mengelompok dalam dua kelompok yang diduga berdasarkan perbedaan ketinggian daerah asalnya (dataran tinggi dan dataran rendah) yang akan mempengaruhi suhu lingkungannya. Kelompok pertama merupakan kelompok klad 1 yang terdiri dari R. Kisto, R. Bali, dan R. Lini yang berasal pada daerah dataran rendah dengan suhu rata-rata tinggi. Kelompok kedua yang merupakan subklad dari klad satu terdiri dari R. Delima, R. Brentel, R. Gareng, dan R. Kutuk yang berasal dari daerah dataran tinggi dengan suhu rata-rata yang lebih rendah.

4.2 Biogeografi Pisang Raja

Analisis Biogeografi pada pisang Raja didasarkan pada *haplotype* dengan *software network v.2.0*. Hasil analisis menunjukkan bahwa tujuh sampel dengan 2 *outgroup* membentuk 4 *haplotype* (Gambar 4.6) dengan keragaman *haplotype* 0,75. *Haplotype* adalah kelompok urutan DNA tertentu pada suatu *cluster* gen yang

cenderung diwariskan bersama sebagai sebuah kelompok (Gusfield, 2001). *Haplotype 2 (H_2)* merupakan *haplotype* yang paling banyak individu yang mengisi, yaitu terdiri dari R. Delima, R. Gareng, R. R. Kutuk, dan R. Brentel. *Haplotype 1 (H_1)* diisi oleh 3 individu yaitu R. Bali, R. Kisto, dan R. Lini. *Haplotype 3 dan 4 (H_3 dan H_4)* masing-masing diisi dengan *outgroup* yaitu *Ensete glaucum* dan *Ensete ventricosum*.

Hasil tersebut sesuai dengan pohon filogenetik yang menggunakan metode MP dan *Bayesian*. Beberapa sampel pisang Raja dari Jawa Tengah (R. Gareng, R. Kutuk, dan R. Brentel) tampak mengelompok dalam H_2 bersama dengan R. Delima yang berasal dari Malang Jawa Timur. H_1 terdiri dari dua sampel pisang Raja yang berasal dari Yogyakarta (R. Bali dan R. Lini) bersama dengan R. Kisto yang berasal dari Banyuwangi Jawa Timur. Hal ini menunjukkan bahwa R. Delima dan 3 sampel yang berasal dari Jawa Tengah mengalami evolusi yang lebih cepat dibandingkan dengan R. Kisto dan 2 sampel yang berasal dari Yogyakarta. Sampel *outgroup* yang berasal dari *genbank* membentuk *haplotype* masing-masing, hal ini disebabkan karena masing-masing *outgroup* mempunyai variasi genetik yang sangat berbeda dengan sampel *ingroup* sehingga akan membedakan dengan *haplotype ingroup*.



Gambar 4. 2 Haplotype sampel *ingroup* dan *outgroup*, H_1: R. Bali, R. Kisto, dan R. Lini; H_2: R. Delima, R. Gareng, R. R. Kutuk, dan R. Brentel; H_3: *Ensete glaucum* (*Outgroup*); H_4: *Ensete ventricosum* (*Outgroup*)

Kabupaten Banyuwangi dan kabupaten Malang yang berada dalam satu provinsi merupakan dua daerah yang berbeda berdasarkan ketinggiannya. Kecamatan Giri kabupaten Banyuwangi yang merupakan daerah asal R. Kisto merupakan daerah yang sebagian besar merupakan daerah dataran rendah yang berada pada ketinggian 0 – 500 meter di atas permukaan laut (mdpl) dengan suhu rata-rata 25,5 – 29,6 °C (Pemerintah kabupaten Banyuwangi), sedangkan Malang merupakan daerah dataran tinggi yang berada pada ketinggian 250 – 3600 (mdpl) dengan suhu rata-rata 17 – 27,6°C (Pemerintah kabupaten Malang). Hal ini diduga menjadi faktor penentu mengelompoknya R. Kisto dengan R. Lini dan R. Bali yang berasal dari Bantul dan Gunungkidul. Bantul dan Gunungkidul merupakan dua kabupaten yang berada dalam provinsi Yogyakarta yang terletak di sisi selatan pulau Jawa. Kabupaten Bantul merupakan daerah dataran rendah yang berada pada ketinggian 0 – 500 meter di atas permukaan laut dengan suhu rata-rata 30°C (Pemerintah kabupaten Bantul). Kabupaten Gunungkidul juga merupakan daerah

dataran rendah yang berada pada ketinggian 0 – 700 (mdpl) dengan suhu rata-rata 23,2 – 32,4°C (Pemerintah kabupaten Gunungkidul).

Raja Delima yang berasal dari Malang membentuk *haplotype* dengan R. Gareng (Temanggung), R. Kutuk (Purworejo) dan R. Brentel (Sukoharjo). Malang merupakan daerah dataran tinggi yang berada pada ketinggian 250 – 3600 (mdpl) dengan suhu rata-rata 17 – 27,6°C (Pemerintah kabupaten Malang). Temanggung berada pada ketinggian 400 – 3000 (mdpl) dengan suhu rata-rata 22 – 23,6 °C (Pemerintah kabupaten Temanggung). Purworejo berada pada ketinggian 0 – 235 (mdpl) dengan suhu rata-rata 19 – 28°C (Pemerintah kabupaten Purworejo). Sukoharjo pada ketinggian 80 - 125 (mdpl) dengan suhu rata-rata 26,3°C (Pemerintah kabupaten Sukoharjo). Kabupaten Malang, Temanggung, Purworejo, dan Sukoharjo merupakan daerah dataran tinggi dan mempunyai suhu rata-rata yang relatif lebih rendah dibandingkan dengan kabupaten Banyuwangi, Bantul, dan Gunungkidul yang merupakan daerah dataran rendah.

Ketinggian suatu daerah akan sangat mempengaruhi suhu lingkungan suatu daerah (Sitorus, *et al.*, 2014). Suhu lingkungan akan memacu enzim *rubisco* untuk beradaptasi dengan kondisi lingkungan tersebut dalam aktivitasnya (Kapralov, *et al.*, 2012). Proses adaptasi yang sangat lama diduga menyebabkan terjadinya mutasi pada urutan DNA gen *rbcl*. Namun karena kesamaan peran enzim ini pada tumbuhan tingkat tinggi, sehingga evolusi yang disebabkan oleh kondisi lingkungan yang terjadi sangat sedikit, hal ini terlihat pada variasi genetik yang rendah (Lampiran 5).

Enzim *rubisco* merupakan enzim fotosintesis yang berperan dalam siklus *calvin* (Clegg, 1993). Aktivitas enzim ini sangat dipengaruhi oleh suhu dimana terdapat suhu optimum, sehingga jika berada pada lingkungan dengan suhu yang terlalu tinggi atau terlalu rendah aktivitasnya akan menurun. Menurunnya aktivitas enzim ini akan menurunkan laju fotosintesis pada tanaman pisang, sehingga tanaman harus beradaptasi dengan keadaan ini untuk memenuhi kebutuhan energinya (Sopandie, 2013). Salah satu cara beradaptasi adalah dengan menyesuaikan enzim *rubisco* yang diproduksi sehingga dapat bekerja secara optimum pada suhu lingkungan yang berbeda. Proses adaptasi pada enzim *rubisco* diduga terjadi karena adanya mutasi pada gen *rbcl* yang berperan dalam sintesis enzim ini. Namun, mutasi yang terjadi hanya sedikit (beberapa basa nukleotida), sehingga tidak merubah struktur dan fungsi dari enzim *rubisco* secara signifikan.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini yaitu:

- A. Berdasarkan gen *rbcl*, Raja Bali dan Raja Lini yang berasal dari Yogyakarta sangat berkerabat dekat dengan Raja Kisto yang berasal dari Jawa Timur, sedangkan Raja Delima yang berasal dari Malang berkerabat dekat dengan pisang Raja yang berasal dari Jawa Tengah, yaitu R. Kutuk, R. Brentel, dan R. Gareng.
- B. Berdasarkan gen *rbcl*, pohon filogenetik yang terbentuk menunjukkan bahwa pisang Raja sampel mengelompok dalam dua klad, dimana pengelompokan klad tersebut diduga berdasarkan suhu daerah asal masing-masing pisang Raja. R. Delima, R. Kutuk, R. Brentel, dan R. Gareng yang berasal dari daerah dataran tinggi yang memiliki suhu rata-rata rendah, sedangkan R. Lini, R. Bali, dan R. Kisto berasal dari daerah dataran rendah yang memiliki suhu rata-rata lebih tinggi.

5.2 Saran

Perlu untuk dilakukan penelitian lebih lanjut dengan sampel yang lebih bervariasi baik dari jenisnya maupun daerah asal agar lebih bisa menelusuri lebih banyak tentang kekerabatan dan biogeografi pisang Raja.

DAFTAR PUSTAKA

- Akaike, H. 1973. Information Theory And An Extension Of The Maximum Likelihood Principle. In: B.N. petrov and F. Csaki (eds) 2nd international symposium of information theory:267-81 budapest: Akademiai Kiado.
- Alberts, B., Johnson, and A., Lewis, J., 2002, *Molecular Biology of the Cell*, 4th ed., Garland Science, New York.
- Baldwin, B.G., M.J. Sanderson, J.M. Porter, M.F. Wojciechowski, C.S. Campbell, and M.J. Donoghue. 1995. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: A valuable source of evidence on Angiosperm phylogeny. *Annual Missouri Botanic Garden* 82:247-277.
- Barker WG, Steward FC. 1962. Growth and development of the banana plant. the growing regions of the vegetative shoot. *Ann. Bot.* 26: 386-411.
- Bemmelen, R.W van. 1949. *The Geology of Indonesia*. The Hague. Government Printing Office.
- Blair, G. E. & Ellis, R. J. (1973) *Biochim. Biophys. Acta* 319, 224-234.
- Buckman, H. O. Dan N. C. Brady. 1982. *Pengantar Ilmu Tanah*. Jakarta: penerbit Bhatara Aksara.
- Busaidi. 2013. Banana Domestication on the Arabian Peninsula: Review of Their domestication history. Directorate General of Agriculture and Livestock research. *J. Academi.* 5 (11).
- Cahyono, B. 2002. *Pisang Usaha Tani dan Penanganan Pascapanen*. Yogyakarta: Kanisius.
- Campbell, N.A., J.B. Reece & L.G. Mitchell. 2006. *Biology. Concepts & Connections*. 5th Ed. Addison Wesley Longman Inc. pp 118.
- CBOL (Consortium for the Barcode of Life) Plant Working Group. 2009. A DNA Barcode for Land Plant. *Proceeding of the National Academy of Sciences.* 106: 12794-12797.
- Chase, M.W., D.E. Soltis, and R.G. Olmstead. 1993. Phylogenetics of seed plants: An analysis of nucleotide sequences from the plastid gene *rbcL*. *Annual Missouri Botanic Garden* 80:528-580.
- Clegg, Michael T. 1993. Chloroplast gene sequences and the study of plant evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 90, pp. 363-367.
- Crowder, L. V. 1997. *Genetika Tumbuhan*. Terjemahan Lilik Kusdiarti. UGM Press, Yogyakarta.
- Daniells J, Jenny C, Karamura D, Tomekpe K. 2001. *Musalogue: a catalogue of Musa germplasm*. Montpellier: INIBAP.
- Dasuki, U. A. 1991. *Sistematik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: Pusat Antar Universitas Bidang Ilmu Hayati ITB.
- De Langhe, E., L. Vrydaghts, P. 2009. Why Bananas matter: An Introduction to the History of Banana Domestication. *Ethnobot, Res. & Appl.* 7.
- Dinas Pertanian Kota Yogyakarta. 2016. *Daftar Koleksi Pisang Di Kebun Plasma Nutfah Pisang Berdasarkan Nama Lokal Pisang Di Daerah Asal*.
- Drummond AJ dan Rambaut. 2007. BEAST: Bayesian Evolutionary Analysis by Sampling Trees. *BMC Biology.* 7 (214).

- Dwivany, Fenny dan Anniza Nurrahmah. 2017. Review Article: Pentingnya Data Pisang Indonesia. Bunga Rampai Forum Peneliti Muda Indonesia.
- Espino, R. R. C., S. H. Jamaludin, B., Silayoi dan R. E. Nasution. 1992. *Musa L.* (Edible cultivars) dalam Verheiji, E. W. M. dan R. E. Coronel (Eds.). *Plant Resources of South-East Asia No. 2: Edible fruits and nuts*. Bogor: Prosea Foundation.
- Felsenstein J. 1981. Evolutionary Trees from DNA Sequences: A *Maximum likelihood* Approach. *J Mol Evol* 17:68-76.
- Gooding, L. R., Roy, H. & Jagendorf, A. T. (1973) Arch. Biochem. Biophys. 159, 324-3.
- Gusfield, Dan. 2001. Haplotype inference. <http://csiflabs.cs.ucdavis.edu/~gusfield/gusfieldorzack.pdf>. Diakses tanggal 9 April 2015.
- Hajibabaei, M, Singer, G.A.C, Hebert, P.D.N, and Hickey, D.A. (2007). DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *TRENDS in Genetics* Vol.xxx No.x: 1-6.
- Hanafiah, K. A. 2005. Dasar-Dasar Ilmu Tanah. Jakarta: PT Rja Grafindo Persada.
- Hapsari, L. Didik W., Rodiati A. 2015. Genome Identification of Bananas (*Musa L.*) from East Java Indonesia Assessed with PCR-RFLP of The Internal Transcribed Spacers Nuclear Ribosomal DNA. *International Journal of Biosciences*.7 (3).
- Hartl, D.L. and A.G. Clark. 1989. Principles of Population Genetics. 2nd ed. Sinauer Associates.
- Hershkovitz, M.A. and D.D. Leipe. 1998. Phylogenetic analysis. In Baxevanis, A.D. and B.F. Oullette (Eds.). *Bioinformatics a Practical Guide to The Analysis of Genes and Proteins*. John Wiley and Sons, New York.
- Hidayat T, Pancoro A. 2008. Kajian Filogenetika Molekuler dan Peranannya dalam Menyediakan Informasi Dasar untuk Meningkatkan Kualitas Sumber Genetik Anggrek. *Jurnal AgroBiogen*. 4.
- Hills, D. M., C. Moritz, dan B. K. Mable. 1996. *Molecular Systematic* second edition. Massachusetts: Sinauer Associates.
- Hilu KW, Alice LA, Liang H (1999) Phylogeny of Poaceae inferred from matK sequences. *Ann Missouri Bot Gard* 86:835–851
- Holder, M. and P.O. Lewis. 2003. Phylogeny Estimation: Traditional and Bayesian Approaches. *Nature Rev. Genetics* 4: 275-284.
- INIBAP (International Network for the Improvement of Banana and Plantain). 2006. *Global Conservation Strategy for Musa (Banana and Plantain)*. A consultative document prepared by INIBAP with the collaboration of numerous partners in the *Musa* research and development community. Montpellier, Perancis: International Network for the Improvement of Banana and Plantain.
- IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute). 1996. *Descriptors for banana (Musa spp)*. Perancis: International Plant Genetic, Resources Institute Rome Monllier.
- Janssens, Steven B, Filip Vandeloos. 2016. Evolutionary Dynamics And Biogeography of Musaceae Reveal A Correlation Between the

- Diversification Of The Banana family And The Geological And Climatic History of South The East Asia. *New Phytologist*. 210.
- Jazairi, Syaikh Abu Bakar Jabir. 2007. *Tafsir al-Qur'an Al-Aisar Jilid 4*, Ahli Bahasa: Suratman dan Fityan Amali. Jakarta: Darus Sunnah Press.
- Judd, W.S., Campbel, C.S., Kellog, E. A., Stevens, P. F., dan Donoghue, M. J. (2002) : Plant Systematics : Phylogenetic Approach, 2nd edition. Sinauer Associates, Inc. Publisher, Sunderland,Massachusetts-USA.
- Jumari dan A. Pudjoarianto. 2000. Keckerabatan Fenetik Kultivar Pisang Di Jawa. *Biologi* 2 (9).
- Kaemmer D, Fischer D, Jarret RL, Baurens FC, Grapin A, Dambler D, Noyer JL, Lanaud C, Kahl G, & Lagoda PJJ. 1997. Molecular breeding in the genus *Musa*: A strong case for STMC marker technology. *Euphytica* 96: 49-63.
- Kang, Yong, Zhiyan Deng, Runguo Zang dan Wenxing Long. 2017. DNA barcoding analysis and phylogenetic relationships of tree species in tropical cloud forests. *Nature Scientific Reports* 7: 12564.
- Kapralov, Maxim V., J. Andrew C. Smith, Dmitry A. Filatov. 2012. Rubisco Evolution in C4 Eudicots: An Analysis of Amaranthaceae. *Sensu Lato*. PLOS ONE. Vol. 7, Issue 12. e52974.
- Katsir, Ibnu. 2004. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 6*. Abdul Ghofur E.M. Jakarta : Pustaka Imam Assyafi'i.
- Lane, A. (1984) : *The Penguin Dictionary of Botany*. Penguin Book, Market House Books Ltd.
- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R, Thompson JD, Gibson TJ, Higgins DG. (2007). Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23, 2947-2948.
- Lemey P., Salemi M. & Vandamme A. M. .2009. *The Phylogenetic Handbook. Practical Approach to Phylogenetic Analysis and Hypotesis Testing*. Cambridge University Press.
- Maftuchah. 2005. Analisis variasi genetik mangga menggunakan penanda RAPD untuk perbaikan karakter kualitas buah. Laporan Penelitian Unggulan UMM.
- Mandzur, Asy-Syekh Abil Fadl Jamaluddin Muhammad bin Mukrom. 1993. *Lisanul 'Arob*. Bereut Lebanon: Darul Khutub.
- Martin, Guillaume Martin, Franc-Christophe Baurens, Ce' line Cardi, Jean-Marc Aury, Angelique D'Hont. 2013. The Complete Chloroplast Genome of Banana (*Musa acuminata*, Zingiberales): Insight into Plastid Monocotyledon Evolution. *Plos One*. Vol. 8, No. 6.
- Mcivor, Lynne, Christine A. Maggs, Jim Provan dan Michael J. Stanhope. 2001. rbcL sequences reveal multiple cryptic introductions of the Japanese red alga *Polysiphonia harveyi*. *Molecular Ecology* 10, 911–919.
- Monk,, K.A.; Fretes, Y., Reksodiharjo-Lilley, G. (1996). *The Ecology of Nusa Tenggara and Maluku*. Hong Kong: Periplus Editions Ltd. hlm. 7. ISBN 962-593-076-0.
- Morton JF. 1987. *Mangosteen*. In: Fruits of Wam Climates.

- Mount, D.W. 2001. Phylogenetic prediction. In: Bioinformatic, Sequence and Genome Analysis. Cold Spring Harbor laboratory. New York Press pp. 237 – 280.
- Nasution, R. E. dan I. Yamada. 2001. *Pisang-pisang Liar di Indonesia*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi-LIPI. Bogor: Balai Penelitian Botani, Herbarium Bogoriense.
- Nei, M., and Kumar S. 2000. Molecular evolution and phylogenetics. Oxford University Press. New York.
- Newmaster, S.G., A.J. Fazekas, and S. Ragupathy. 2006. DNA barcoding in land plants: evaluation of rbcL in a multigene tiered approach. *Canadian Journal of Botany* 84: 335–341.
- Nuryanti, L., Novianti. 2014. Outlook Komoditi Pisang. Pusat Data dan Informasi Pertanian, Sekretariat Jenderal Kementerian Pertanian.
- Ochsee, JJ. 1931. *Vegetable of the Dutch East Indies*. Bogor: Archipel Drukkerij.
- Pachau, L., Anupama DA., Robert T. 2014. Genome Classification of Musa Cultivar From Northeast India as Revealed by ITS and IRAP Markers. *Appl Biochem Biotechnol*
- Pallez, Marine, Matias Pasquali*, Torsten Bohn, Lucien Hoffmann and Marco Beyer. 2014. Validation of a Quick PCR Method Suitable for Direct Sequencing: Identification of Fusarium Fungal Species and Chemotypes for Preventive Approaches in Food Safety. *Biotechnol.* 52 (3) 351–358.
- Parani M, Lakshmi M, Ziegenhagen B (2000). Molecular phylogeny of mangroves VII. PCR-RFLP of trnS-psbC and rbcL gene regions in 24 mangrove and mangrove-associate species. *Theor. Appl. Genet.* 100: 454-460.
- Pillay MA, TenkuanoA, Ude G, Ortiz R. 2006. Molecular Characterization of Genomes in Musa and Amplifications. Nigeria: International Institute of Tropical Agriculture (IITA).
- Psifidi A., Dovas C.I. and Banos G. A.; 2010. Comparison of six methods for genomic DNA extraction suitable for PCR-based genotyping applications using ovine milk samples. *Mol. Cell. Probes.* 24(2):93-8.
- Purwaradia, Hadi, K. 2006. Issue and Solution of fresh Fruits Export in Indonesia. Indonesia: Department of Agricultural University. Res. 18:271-284.
- Restu, Muh dan Mukrimin. 2007. Keragaman Genetik Ebony (*Diospyros celebica* Bakh.) Provenansi Amaro Kabupaten Barru. *Jurnal Hutan dan Masyarakat*, 2 (3).
- Ricklefs, M.C. (1991). *A History of Modern Indonesia since c.1300 (2nd edition)*. London: MacMillan. hlm. 15. ISBN 0-333-57690-X.
- Ritland, K. & M. T. Clegg. 1987. Evolutionary analyses of plant DNA sequences. *Amer. Naturalist* 130: S74-S100.
- Roy, H., Patterson, R. & Jagendorf, A. T. (1976) *Arch. Biochem. Biophys.* 172, 64-73.
- Ruchjaningsih. 2002. *Penampilan Fenotipik dan Beberapa Parameter Genetik Delapan Kultivar Kacang Tanah Pada Lahan Sawah*. *Zuriat* Vol. 11, No.1, Hal 10.

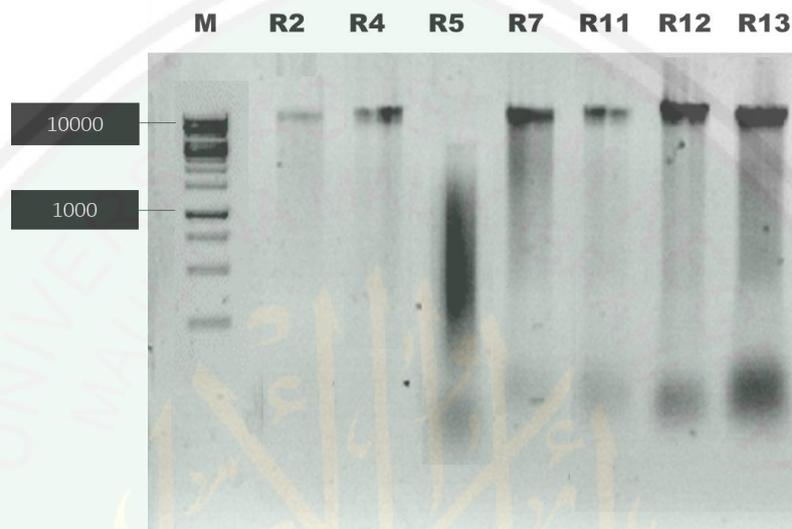
- Sang, Tao, Daniel J. Crawford, And Tod F. Stuessy. 1997. Chloroplast DNA Phylogeny, Reticulate Evolution, and Biogeography of Paeonia (Paeoniaceae). *American Journal of Botany* 84(9): 1120–1136.
- Satuhu, S., Supriyadi A. 2000. Pisang Budidaya, Pengolahan dan Prospek Pasar. Jakarta: Penerbit Swadaya.
- Schwarz, G. 1978. Estimating the dimension of the model. *Annals of statistics* 6: 461 – 464.
- Sedayu, Agung, M. C. M. Eurlings, B. Gravendeel and W. L. A. Hetterscheid. 2010. Morphological Character Evolution of Amorphophallus (Araceae) Based on a Combined Phylogenetic Analysis of trnL, rbcL and *LEAFY* Second Intron Sequences. *Botanical Studies* (2010) 51: 473-490.
- Selatsa, Awah Anna, Abdou Tenkouano, Emmanuel Njukwe, Roger Noel Iroume, dan Paila J. Bramel. 2009. Morphological Diversity of Plantain (Musa sp. L. AAB Group) in Cameroon: Relationship to Farmer's Cultural Practices. *The African Journal of Plant Science and Biotechnology*. 3(1), 51-58.
- Shihab, M.Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Volume 13. Jakarta : Lentera Hati
- Siemonsma, J.S., Kasem Piluek. 1994. Plant Resources of South-East Asia. Bogor: PROSEA. hal 218-220.
- Simmonds, N. M. 1959. Banana. New York: Longman Inc.
- Simmonds, N. W. dan K. Shepherd. 1955. The Taxonom and Origins of The Cultivated Bananas. *Journal of the Linnaean Society (Botany)*. 55.
- Simpson, Michael G. 1953. Plant Systematic. *Elsevier*. Elsevier Academic Express.
- Singh HP, Uma S. dan Sathiamoorthy S. 2001. *A tentative key for identification and classification of Indian bananas*. Tiruchirapali, India: National Research centre for Banana (NRCB).
- Sitorus Tulus B., Farel H. Napitupulu, dan Himsar Ambarita. 2014. Korelasi Temperatur Udara dan Intensitas Radiasi Matahari Terhadap Performansi Mesin Pendingin Siklus Adsorpsi Tenaga Matahari. *Jurnal Ilmiah Teknik Mesin Cylinder*, Vol. 1 No. 1. 8 – 17.
- Small, R. L., Cronn, R. C., Wendel, J. F. 2004. L. A. S. Johnson Review No. 2: Use of Nuclear Genes for Phylogeny Reconstruction in Plants. *Australian Systematic Botany* 17:145-170.
- Sopandie, didy. 2013. Fisiologi Adaptasi Tanaman terhadap Cekaman Abiotik pada Agroekosistem Tropika. Bogor: IPB press.
- Soltis DE, Soltis PS. 1998. Polyploidy: Origins of Species and Genome Evolution. *Trends in EcoL dan Evol*. 14.
- Stover, R.H., dan Simmonds, N.W. 1987. *Bananas. Tropica Agriculture Series Third Edition*. New York: Longman Scientific & Technical.
- Sudarnadi H. 1995. Tumbuhan Monokotil. Bogor: Penebar Swadaya.
- Sunaryo, Widi. 2015. Review: Aplikasi DNA barcoding untuk analisis keragaman genetik lai-durian (*Durio zibethinus x kutejensis*) asal Kalimantan Timur. *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON*. 1 (6).
- Surahman, M, Desta W., Sobir. 2005 .Analisis Kemiripan Kultivar Pisang Indonesia Berdasarkan Pada Penanda Fenotipik. *Stigma*. 8 (1).

- Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G., J. Bouvet. 1991. Universal Primers for Amplification of Three Non-coding Regions of Chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology* 17:1105-1109.
- Tandon G, Sharma R, Mishra AK, Chandrasekharan H (2013) Structural and Functional Annotation of Uncharacterized Protein in *Triticumaestivum*. *International Journal of Bioinformatics and Biological Science* 1: 209-219.
- Tjitrosoepomo, Gembong. 2009. Taksonomi Tumbuhan. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Topik, H., T. Yukawa, and M. Ito. 2005. Molecular phylogenetics of subtribe *Aeridinae* (*Orchidaceae*): Insights from plastid *matK* and nuclear ribosomal ITS sequences. *J Plant Res.* 18:271-284.
- Valmayor, R.V., S.H. Jamaluddin, B. Silayoi, S. Kusumo, L.D. Danh, O.C. Pascua dan R.R.C. Espino. 2000. *Banana cultivar names and synonyms in Southeast Asia*. Philippines: International Network for the Improvement of Banana and Plantain – Asia and the Pacific Office.
- Welsh J R. 1991. *Dasar-dasar Genetika dan Pemuliaan Tanaman*. Termahan Moge J.P. Erlangga. Jakarta.
- Yang, Ziheng dan Bruce Rannala. 2012. Molecular phylogenetics: principles and practice. *Nature reviews: genetics*. Volume 3.
- Zuhairini, E. 1997. *Budidaya Pisang Raja*. Trubus Agrisana. Surabaya.
- Zurawski, G. & M. T. Clegg. 1987. Evolution of higher-plant chloroplast DNA-coded genes: Implications for structure-function and phylogenetic studies. *Ann. Rev. Pl. Phys.* 38: 391-418.

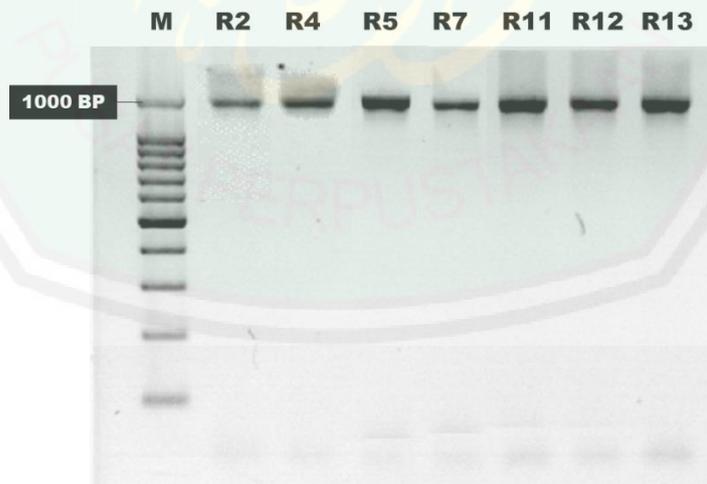
LAMPIRAN

Lampiran 1: Visualisasi elektroforesis

1. Hasil ekstraksi *whole* genom pisang Raja



2. Hasil amplifikasi gen *rbcl*



(R2: Raja Delima; R4: Raja Kisto; R5: Raja Bali; R7: Raja Gareng; R11: Raja Kutuk; R12: Raja Brentel; R13: Raja Lini)

Lampiran 2: urutan gen *rbcl* sampel *ingroup* hasil *sequencing*

Nilai QV^{+20} ditunjukkan dengan batang di atas tiap simbol basa, batang biru menunjukkan $QV^{+20} > 20$ dengan nilai keakuratan hasil *sequencing* lebih dari 99%.

1. Raja Delima (Malang, Jawa Timur)

Table of DNA sequence for Raja Delima with 961 rows and 1028 columns. The sequence is displayed in a grid format with colored bars above the characters indicating QV+20 values.

2. Raja Kisto (Banyuwangi, Jawa Timur)

Table of DNA sequence for Raja Kisto with 961 rows and 1028 columns. The sequence is displayed in a grid format with colored bars above the characters indicating QV+20 values.

3. Raja Bali (Bantul, Yogyakarta)

Table of DNA sequence for Raja Bali with 961 rows and 1028 columns. The sequence is displayed in a grid format with colored bars above the characters indicating QV+20 values.

4. Raja Gareng (Temanggung, Jawa Tengah)

Table of DNA sequence for Raja Gareng with 961 rows and 1028 columns. The sequence is displayed in a grid format with colored bars above the characters indicating QV+20 values.

5. Raja Kutuk (Purworejo, Jawa Tengah)

Table of DNA sequence for Raja Kutuk with 961 rows and 1028 columns. The sequence is displayed in a grid format with colored bars above the characters indicating QV+20 values.

6. Raja Brentel (Sukoharjo, Jawa Tengah)

Table of DNA sequence for Raja Brentel with 961 rows and 1028 columns. The sequence is displayed in a grid format with colored bars above the characters indicating QV+20 values.

7. Raja Lini (Gunungkidul, Yogyakarta)

Table of DNA sequence for Raja Lini with 1081 rows and 1121 columns. The sequence is displayed in a grid format with colored bars above the characters indicating QV+20 values.

Lampiran 3: Nilai QV^{+20} dari 7 sampel Pisang Raja**Lampiran 4:** Matrik kesamaan genetik (*uncorrected p-distance*) 7 sampel Pisang Raja berdasarkan gen *rbcl* (dalam bentuk %)

	R. Gar	R. Bre	R. Kis	R. Lin	R. Del	R. Bal	R. Klu
R. Gareng							
R. Brentel	0,002						
R. Kisto	0,007	0,007					
R. Lini	0,012	0,009	0,004				
R. Delima	0,008	0,008	0,001	0,005			
R. Bali	0,006	0,006	0,012	0,013	0,013		
R. Kutuk	0,012	0,009	0,004	0,002	0,005	0,012	

Lampiran 5: Tabel Variasi genetik

Jenis Variasi	Total Variasi	Urutan Basa Ke-
Inseri Delesi	1	3
GC konten	43%	-
<i>Conserv sites</i>	98,33%	-
<i>Singleton two variants</i>	3	5, 6, dan 8
<i>Parsimony-informative sites two variants</i>	3	3, 4, dan 41
<i>Parsimony informative sites three variants</i>	1	2
<i>Parsimony informative sites four variants</i>	1	1



KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK
IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Garazana No. 51 Malang 65144 Telp. Faks. (0341) 558911
Website: <http://www.uin-malang.ac.id> Email: info@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama Ahmad Affan Ali Murtadlo
NIM 14620074
Program Studi Biologi
Semester VIII TA 2018
Pembimbing Didik Wahyudi, M. Si
Judul/Skrpsi Hubungan Kekerabatan Pisang Raja (*Musa x paradisiaca* L.) di Pulau Jawa berdasarkan Gen *rbcl*

No	Tanggal	Materi Konsultasi	Ttd.
1	28 Maret 2018	Konsultasi: Penelitian (wet-lab)	
2	5 April 2018	Konsultasi hasil isolasi DNA	
3	11 April 2018	Konsultasi hasil amplifikasi PCR	
4	13 April 2018	Pengulangan sampel untuk primer yang tidak ada	
5	25 April 2018	Konsultasi sekuensing (pengepakan)	
6	1 Mei 2018	Konsultasi hasil sekuensing	
7	7 Mei 2018	Konsultasi pembahasan elfo dan amplifikasi	
8	11 Mei 2018	Pembahasan sekuensing	
9	20 Mei 2018	Pembahasan haplotype	
10	27 Mei 2018	Pembahasan QV dan distance	
13	2 Juni 2018	Konsultasi naskah	

Malang, 26 Juni 2018

Pembimbing Skripsi,

Didik Wahyudi, M. Si
NIP. 198601022018011001



Ketua Jurusan,

Romaidi W. S. D. Sc
NIP. 198102012009011019



KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK
IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./Faks (0341) 558933
Website <http://biologi.um-malang.ac.id> Email: biologi@um-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Ahmad Affan Ali Murtadlo
NIM : 14620074
Program Studi : Biologi
Semester : VIII TA 2018
Pembimbing : Umayyatus Syarifah, M. A
Judul Skripsi : Hubungan Kekerabatan Pisang Raja (*Musa x paradisiaca* L.) di Pulau Jawa berdasarkan Gen *rbcl*

No	Tanggal	MateriKonsultasi	Ttd.
1.	6 Juni 2018	Konsultasi Pembahasan Integrasi Ayat	

Malang, 26 Juni 2018

Pembimbing Skripsi,

Ketua Jurusan,

Umayyatus Syarifah, M. A
NIP. 198209252009012006

Romaidi, M. Si., D. Sc
NIP. 198102012009011019





KEMENTERIAN AGAMA
 UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
 FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
 Jl. Gajayana No. 50 Malang 558933 Telp. / Fax. (0341) 558933

PERMOHONAN SURAT IZIN
 PENELITIAN/PENGAMBILAN DATA

Kepada
 Yth. Wakil Dekan Bidang Akademik
 Fakultas SAINTEK UIN Malang

Assalamu'alaikum Wr.Wb

Dengan hormat, dalam rangka penyelesaian skripsi kami:

No	Nama	NIM	Judul Skripsi
1	Ahmad Affan Ali Murtadlo	14820074	Filogenetik dan Histori Biogeografi <i>Musa acuminata colla</i> di Indonesia Berdasarkan Gen <i>rbcl</i> (<i>Ribulose 1,5 Biphosphate</i> <i>Carboxylase Oxygenase</i>)
2	Lutfiana Hasanah Gusmiati	14620018	Dinamika Evolusi dan Filogeografi Pisang Liar <i>Musa acuminata</i> di Indonesia Berdasarkan Daerah ITS (<i>Internal Transcribed Spacer</i>)
3	Rasyadan Taufiq Probojati	14620033	Diversitas Genetik Pisang Liar <i>Musa acuminata colla</i> di Indonesia Berdasarkan Penanda RAPD (<i>Random Amplified</i> <i>Polymorphic DNA</i>)
4	Nurul Izatul Adnin	14620008	Keragaman Genetik Pisang Kultivar (<i>Musa spp</i>) di Pulau Jawa Berdasarkan Penanda RAPD (<i>Random Amplified</i> <i>Polymorphic DNA</i>)

Dosen Pembimbing : Didik Wahyudi, M.Si

Maka kami mohon dibuatkan surat ijin Penelitian/pengambilan data di :

Instansi : Dinas Pertanian Dan Pangan-Plasma Nutfah Pisang

Alamat : Giwangan, Umbulharjo, Kota Yogyakarta, Daerah Istimewa
 Yogyakarta 55163

Tgl Pelaksanaan : 25 Januari 2018



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

Jalan Gajayana 50 Malang 65144 Telpun/ Faksimile (0341) 558933
 Website: <https://www.saintek.uin-malang.ac.id> Email: saintek@uin-malang.ac.id

Lampiran Surat

Nomor : B- /FST.1/TL.00/02 /2018
 Tanggal : 06 Februari 2018
 Perihal : Pengambilan Data

DAFTAR SAMPEL DAUN PISANG YANG DIAMBIL

No	Nama Kultivar Pisang	No	Nama Kultivar Pisang
1.	Raja Bandung	16.	Ambon Jaran
2.	Raja Delima	17.	Ambon Kuning
3.	Raja Sereh	18.	Ambon Sepet
4.	Raja Kisto	19.	Ambon
5.	Raja Lini	20.	Ambon Emprit
6.	Raja Seribu	21.	Ambon Byok
7.	Raja Bali	22.	Ambon Hijau
8.	Raja Jambe	23.	Ambon Hong
9.	Raja Kutuk	24.	Ambon Lumut
10.	Raja Kriyak	25.	Ambon Merah
11.	Raja Madu	26.	Ambon Putih
12.	Raja Pulut	27.	Ambon Warangan
13.	Raja Gareng	28.	Ambon Kecil
14.	Becici Kuning	29.	Klutuk Wulung
15.	Mas Jambe	30.	Pisang Monyet



Dekan
 Wakil Dekan Bidang Akademik

Anton Prasetyo