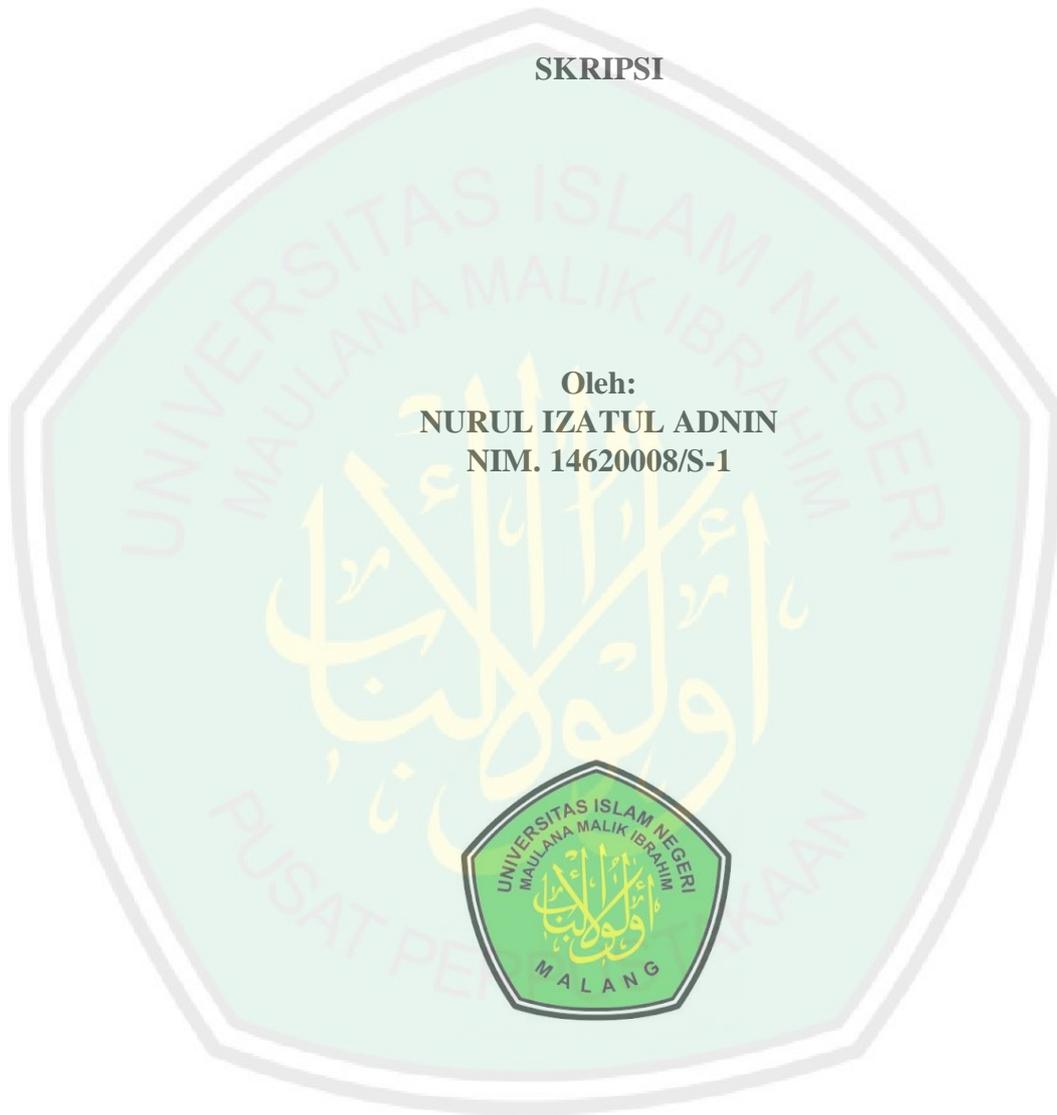


KERAGAMAN GENETIK 13 KULTIVAR PISANG AMBON (*Musa acuminata* grup AAA) DI JAWA TIMUR DAN JAWA TENGAH BERDASARKAN MARKA RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)

SKRIPSI

Oleh:
NURUL IZATUL ADNIN
NIM. 14620008/S-1



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2018**

KERAGAMAN GENETIK 13 KULTIVAR PISANG AMBON (*Musa acuminata* grup AAA) DI JAWA TIMUR DAN JAWA TENGAH BERDASARKAN MARKA RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)

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:
NURUL IZATUL ADNIN
NIM. 14620008/S-1

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2018**

KERAGAMAN GENETIK 13 KULTIVAR PISANG AMBON (*Musa acuminata* grup AAA) DI JAWA TIMUR DAN JAWA TENGAH BERDASARKAN MARKA RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)

SKRIPSI

Oleh:
NURUL IZATUL ADNIN
NIM. 14620008/S-1

Telah disetujui oleh:

Pembimbing I



Didik Wahyudi, M. Si
NIP. 198601022018011001

Pembimbing II



Umayiyatus Syarifah, M.A
NIP. 198209252009012005

Tanggal, Juli 2018

Mengetahui
Ketua Jurusan Biologi



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

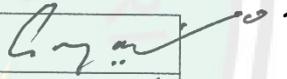
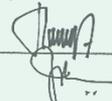
KERAGAMAN GENETIK 13 KULTIVAR PISANG AMBON (*Musa acuminata* grup AAA) DI JAWA TIMUR DAN JAWA TENGAH BERDASARKAN MARKA RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)

SKRIPSI

Oleh:
NURUL IZATUL ADNIN
NIM. 14620008/S-1

Telah Dipetahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan Diterima
Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

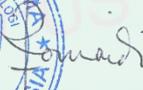
Tanggal, Juli 2018

Penguji Utama :	Suyono, M. P NIP. 197106222003121002	
Ketua Penguji :	Dr. Evika Sandi Savitri, M. P NIP. 197410183003122002	
Sekretaris Penguji :	Didik Wahyudi, M. Si NIP. 198601022018011001	
Anggota Penguji :	Umayyatus Syarifah, M. A NIP. 198209252009012005	

Mengesahkan,

Ketua Jurusan Biologi




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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nurul Izatul Adnin
NIM : 14620008
Jurusan/Fakultas : Biologi/Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Keragaman Genetik 13 Kultivar Pisang Ambon (*Musa acuminata* grup AAA) di Jawa Timur Dan Jawa Tengah Berdasarkan Marka RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)

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, 3 Juli 2018

Yang membuat pernyataan,



Nurul Izatul Adnin

NIM. 14620008

HALAMAN PERSEMBAHAN

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan taufik dan hidayahnya, sehingga penulis bisa menyelesaikan tugas akhir ini. Shalawat dan salam semoga selalu terlimpah curahkan kepada Nabi Muhammad SAW.

Terima kasih saya sampaikan kepada ibu saya Yayuk dan bapak saya Abdul Rohim yang telah mendidik dan membimbing saya, sehingga saya bisa menjadi seperti saat ini. Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada nenek saya Pujiati dan kakek saya Abdullah yang selalu memberikan kasih sayang kepada saya dan selalu memberikan dukungan kepada saya, semoga taufik dan hidayah selalu menyertinya. Amiin. Adik-adik saya M. Mu'alfan Ahmadillah, Maulidiya Alvin Alviona, Alda Fauzatun Nisa, dan Alysatul Gabbrillah yang selalu memberikn dukungan kepada saya, semoga selalu berbakti kedua orang tuanya, dan juga menjadi sukses dan berhasil kedepannya.

Tak lupa juga saya sampaikan terima kasih banyak kepada guru –guru saya dari mulai TK sampai jenjang sarjana semoga Allah SWT membalas semua jasa ibu bapak guru, Aamiin. Dan mudah-mudahan semua guru-guru saya yang sudah wafat diampuni segala dosanya dan ditempatkan di tempat yang paling mulia serta mendapatkan ridho dan surga Allah SWT, Aamiin.

Teman-teman Telomer 2014 yang selalu bersama dalam suka dan duka, teman-teman Biologi 2015-2017 yang selalu menyemangati saya, *My Banana Research Team* (Upik, Affan dan Taufiq) dan teman-teman yang lain yang tak bisa saya sebutkan semuanya, semoga selalu mendapatkan ridlo Allah SWT, Amiin yaa Robbal 'Alamiin.

MOTTO

**“Allah always with me, just trust if His plan is
the best for our life”**



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 sayarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si). Shalawat serta salam selalu turunkan 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 dan Anik Maunatin, M.P selaku konsultan yang telah banyak meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan dengan penuh kesabaran.
5. Umaiatus Syarifah, M. A selaku Dosen Pembimbing Agama yang telah memberikan pengarahan dan pelajaran bersubstansi nilai-nilai moral kepada penulis.
6. Dr. Eko Budi Minarno, S. Pd 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. Ayah, ibu, adik, kakek, 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.

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, Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
HALAMAN MOTTO	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
مستخلص البحث	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Manfaat Penelitian	7
1.5 Batasan Masalah	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Botani Umum Pisang	9
2.2 Karakteristik Pisang Ambon	15
2.3 Syarat Tumbuh Pisang	16
2.4 Persebaran dan Keragaman Genetik Pisang	17
2.5 Tata Nama dan Pengelompokan Pisang Kultivar	21
2.6 Keanekaragaman Genetik	23
2.7 Marka RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)	24
BAB III METODE PENELITIAN	27
3.1 Rancangan Penelitian	27
3.2 Waktu dan Tempat.....	27
3.3. Alat dan Bahan	27
3.3.1 Alat	27
3.3.2 Bahan	28
3.4. Prosedur Penelitian	29
3.4.1 Sampel Penelitian	29
3.4.2 Isolasi DNA Pisang	30
3.4.3 Uji Kualitatif dan Kuantitatif DNA.....	31
3.4.4 Amplifikasi PCR dan Visualisasi	32
3.5. Analisis Data	33
3.5.1 Skoring data	33

3.5.2 Analisis Kekuatan Primer	34
3.5.3 Analisis Pengelompokan	35
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	36
4.1 Ekstraksi DNA.....	36
4.2 Amplifikasi PCR-RAPD Pisang Ambon	38
4.3 Kekuatan Primer pada Marka RAPD.....	41
4.4 Keragaman Genetik dan Pengelompokan Pisang Ambon berdasarkan Marka RAPD	43
BAB V PENUTUP	50
5.1 Kesimpulan.....	50
5.2 Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	59

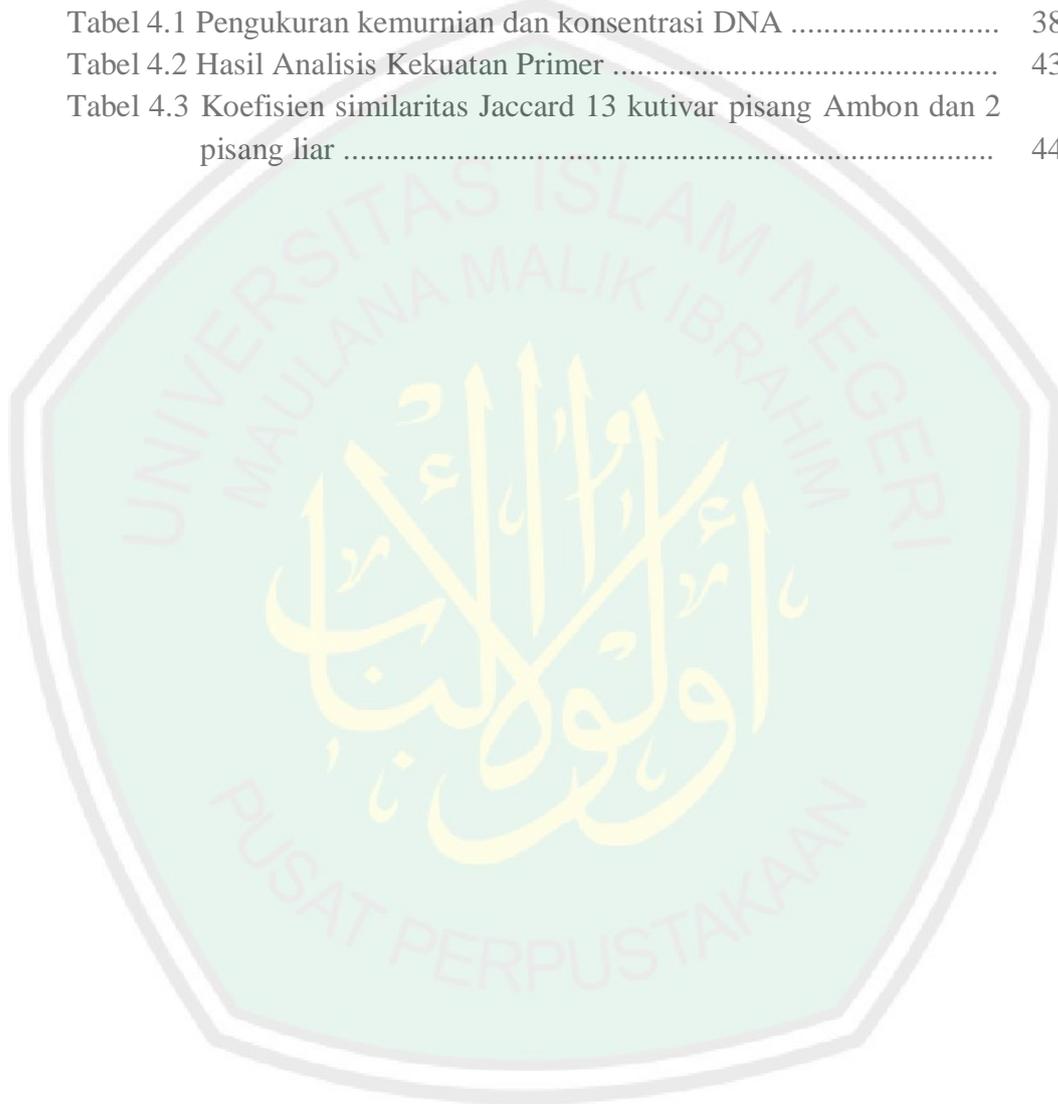


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Kedudukan Musaceae pada Ordo Zingiberales dengan sifat apomorfi terpilih	10
Gambar 2.2 Penampakan Umum Tanaman Pisang	11
Gambar 2.3 Variasi warna batang semu	12
Gambar 2.4 Bentuk dasar daun	13
Gambar 2.5 Penampakan a) Jantung pisang (<i>male bract</i>), b) bunga, c) posisi ovarium pisang yang inferus dan d) tiga ruang pada ovarium	14
Gambar 2.6 Keberadaan biji pada pisang	15
Gambar 2.7 Persebaran tiap <i>section</i> pada genus <i>Musa</i>	18
Gambar 2.8 Persebaran geografi <i>Musa acuminata</i> dan <i>Musa balbisiana</i> sebagai nenek moyang pisang kultivar	20
Gambar 2.9 Persebaran geografi pisang kultivar berdasarkan genomnya	21
Gambar 2.10 Penggunaan primer yang sama pada dua spesies yang berbeda	26
Gambar 3.1 Cara penilaian pita dengan sistem <i>scoring</i>	34
Gambar 4.1 Visualisasi Whole Genom	36
Gambar 4.2 Hasil seleksi amplifikasi DNA menggunakan marka RAPD ...	41
Gambar 4.3 Fenogram pengelompokan Pisang Ambon di Jawa Timur dan Jawa Tengah berdasarkan marka RAPD	47
Gambar 4.4 Pemetaan Pisang Ambon berdasarkan Marka RAPD	49

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Pengelompokan Pisang Kultivar berdasarkan Skor Total	23
Tabel 3.1 Identitas sampel yang digunakan	30
Tabel 3.2 Identitas Primer yang digunakan	33
Tabel 4.1 Pengukuran kemurnian dan konsentrasi DNA	38
Tabel 4.2 Hasil Analisis Kekuatan Primer	43
Tabel 4.3 Koefisien similaritas Jaccard 13 kultivar pisang Ambon dan 2 pisang liar	44



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Visualisasi Hasil Seleksi Amplifikasi menggunakan OPA 1-20	59
Lampiran 2. Karakter Morfologi 13 Pisang Ambon	62



ABSTRAK

Adnin, Nurul I. 2018. **Keragaman Genetik 13 Kultivar Pisang Ambon (*Musa acuminata* grup AAA) di Jawa Timur Dan Jawa Tengah Berdasarkan Marka RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)**. Skripsi. Jurusan Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: Didik Wahyudi, M. Si. dan Umayyatus Syarifah, M. A.

Kata Kunci: *Keragaman genetik, pisang ambon, Musa acuminata grup AAA, Jawa Timur, Jawa Tengah, RAPD*

Indonesia merupakan negara yang memiliki keragaman makhluk hidup yang tinggi, sehingga menjadi negara megabiodiversitas kedua di dunia setelah Brazil. Salah satu tumbuhan yang memiliki keragaman yang tinggi adalah pisang. Tata nama pisang kultivar menjadi masalah utama di negara-negara pusat keragaman pisang termasuk Indonesia. Selama ini penamaan pisang kultivar masih didasarkan pada marka morfologi. Namun penggunaan pendekatan morfologi bersifat subyektif, oleh sebab itu diperlukan penelitian berbasis molekuler (genetik) untuk mendapatkan hasil yang lebih valid. Teknik molekuler yang banyak digunakan antara lain adalah AFLP, PCR-RFLP, RAPD, DNA barkoding dengan penanda molekuler universal dan mikrosatelit . Selama ini marka RAPD merupakan marka molekuler yang paling sering digunakan untuk mengetahui tingkat taksonomi dan pengelompokan kultivar pisang sekaligus untuk mengetahui diversitas genetiknya.

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif eksploratif kualitatif, yang mengidentifikasi keragaman Pisang Ambon (*Musa acuminata* grup AAA) di Jawa Timur dan Jawa Tengah menggunakan marka RAPD. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 13 pisang Ambon dan 2 pisang liar. Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap, yaitu: pengambilan sampel, ekstraksi, uji kualitatif, uji kuantitatif, amplifikasi PCR menggunakan primer OPA 1-20 dan visualisasi hasil ekstraksi DNA. Kemudian hasil dari visualisasi tersebut dianalisis dengan beberapa parameter, yakni analisis kekuatan primer dan analisis pengelompokan.

Hasil amplifikasi menunjukkan bahwa primer OPA 3, OPA 4, dan OPA 18 mampu menghasilkan fragmen paling polimorfik ditinjau dari nilai PIC, EMR, MI dan Rp. Keragaman genetik pisang Ambon tergolong rendah yang disebabkan sampel pisang ambon yang digunakan memiliki nilai similaritas berkisar antara 0,323 – 0,758. Pisang Ambon di Jawa Timur dan Jawa Tengah mengelompok menjadi 3 grup utama.

ABSTRACT

Adnin, Nurul I. 2018. **Genetic Diversity of 13 Cultivar Pisang Ambon (*Musa acuminata* grup AAA) In East Java and Central Java Based on RAPD Marker (Random Amplified Polymorphic DNA)**. Essay. Department of Biology. Faculty of Science and Technology. State Islamic University (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Advisor: Didik Wahyudi, M. Si. and Umaiatus Syarifah, M. A.

Keywords: *Genetic diversity, Pisang Ambon, Musa acuminata grup AAA, East Java, Central Java, RAPD*

Indonesia is a country that has a high diversity of living creatures, making it the second megabiodiversity country in the world after Brazil. One plant that has a high diversity is bananas. The cultivar banana nomenclature is a major problem in many countries as center origin of banana diversity including Indonesia. So far the naming of banana cultivars is still based on morphological markers. However, the use of morphological approaches is subjective, therefore molecular-based (genetic) research is required to obtain more valid results. The most widely used molecular techniques include AFLP, PCR-RFLP, RAPD, DNA barcoding with universal molecular markers and microsatellites. RAPD markers are the most commonly used molecular markers to determine the level of taxonomy and cultivation of banana cultivars as well as to determine their genetic diversity.

This study is a qualitative explorative descriptive study, which identifies the diversity of Ambon Banana (*Musa acuminata grup AAA*) In East Java and Central Java using RAPD markers. The sample used in this research is 13 cultivar bananas of Ambon and 2 wild bananas. This research consists of several stages: sampling, extraction, qualitative test, quantitative test, PCR amplification using primary OPA 1-20 and visualization of DNA extraction results. Then the results of the visualization are analyzed with several parameters, namely the analysis of primary strength and grouping analysis.

The amplification results show that the OPA 3, OPA 4 dan OPA 18 primer is capable of producing the most polymorphic fragments in terms of PIC, EMR, MI and Rp. The genetic diversity of Ambon bananas is low due to the samples of bananas used to have a similarity value of 0.323 - 0.758. 3. Ambon bananas in East Java and Central Java grouped into 3 main groups.

مستخلص البحث

عدنين ، نور عزتول 2018. التنوع الوراثي 13 اصناف أمبون الموز (*Musa acuminata* AAA group) في جاوة الشرقية وجاوة الوسطى بناء على علامات RAPD (عشوائية تضخيم متعددة الحامض النووي). أطروحة. قسم علم الأحياء. كلية العلوم والتكنولوجيا. الدولة الإسلامية الجامعة (UIN) مولانا مالك إبراهيم مالانج. تحت الإشراف (1) ديديك وحيودي الماجستير و(2) عمية الشريفة الماجستير.

الكلمات المفتاحية: التنوع الوراثي ، الموز أمبون ، مجموعة موسى أكيوميناتا AAA ، جاوة الشرقية ، جافا الوسطى ، RAPD

إن إندونيسيا بلد لديها تنوع كبير في الكائنات الحية ، مما يجعلها ثاني بلد في مجال التنوع البيولوجي في العالم بعد البرازيل. مصنع واحد لديه تنوع كبير هو الموز. تعد تسمية الموز المصنّف مشكلة رئيسية في بلدان وسط تنوع الموز بما في ذلك إندونيسيا. حتى الآن لا يزال تسمية أصناف الموز يعتمد على علامات مورفولوجية. ومع ذلك ، فإن استخدام المنهج المورفولوجي هو نهج ذاتي ، لذا فإن البحث الجزيئي (الجيني) مطلوب للحصول على نتائج أكثر صلاحية. وتشمل التقنيات الجزيئية الأكثر استخدامًا AFLP ، و PCR-RFLP ، و RAPD ، و DNA barkoding مع علامات جزيئية عالمية وسواتل ميكروية. تعد علامات RAPD أكثر الواسمات الجزيئية شيوعًا لتحديد مستوى تصنيف وزراعة أصناف الموز بالإضافة إلى تحديد تنوعها الجيني. هذا البحث هو بحث وصفي استكشافي نوعي ، والذي يحدد تنوع أمبون الموز (مجموعة *Musa acuminata* AAA) في جاوة الشرقية وجاوة الوسطى باستخدام علامة RAPD. العينة المستخدمة في هذا البحث هي 13 أمبون الموز و الموز البرية 2. يتكون هذا البحث من عدة مراحل: أخذ العينات ، الاستخراج ، الاختبار النوعي ، الاختبار الكمي ، تضخيم PCR باستخدام OPA 1-20 الأساسيات وتصوير نتائج استخراج الحمض النووي. ثم يتم تحليل نتائج التصور مع العديد من المعلمات ، وهي تحليل القوة الأولية والتحليل التجميقي. تظهر نتائج التضخيم أن أكواد OPA 3 و OPA 4 و OPA 18 قادرة على إنتاج أكثر أجزاء متعددة الأشكال من حيث PIC و EMR و MI و Rp. التنوع الوراثي لموز الموز أمبون منخفض بسبب عينات من الموز المستخدمة في الحصول على قيمة تشابه 0.323 - 0.758. أمبون الموز في جاوة الشرقية وجاوة الوسطى مجمعة في 3 مجموعات رئيسية.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang memiliki keragaman makhluk hidup yang tinggi, sehingga menjadi negara megabiodiversitas kedua di dunia setelah Brazil. Hal ini dikarenakan terdapat berbagai macam spesies yang dapat hidup di Indonesia, baik hewan maupun tumbuhan (Persoon dan Weerd, 2006). Keragaman yang ada di muka bumi, termasuk Indonesia merupakan sunatullah yang Allah SWT jadikan untuk umat manusia. Salah satu keragaman yang Allah SWT ciptakan adalah beragamnya jenis tumbuh-tumbuhan, sebagaimana firman Allah SWT dalam surah al-An'am (6) : 99 sebagai berikut.

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ
حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا
وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَلِكُمْ 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** dalam ayat tersebut merupakan bentuk *jama'* yang memiliki arti bermacam-macam tumbuhan. Ayat tersebut menunjukkan beberapa jenis

tumbuhan antara lain kurma, anggur, delima dan zaitun yang masing-masing tumbuhan tersebut memiliki karakter yang beragam. Keragaman tersebut meliputi bentuk, warna, rasa, dan manfaat yang berbeda-beda. Sementara itu, lafadz *انظروا* menunjukkan kata perintah yaitu “*perhatikanlah*”, maksud dari kata tersebut adalah perhatikanlah bagaimana Allah SWT menciptakan awalnya terlihat serupa namun kemudian tumbuh dan berkembang menjadi sesuatu yang berbeda, sesungguhnya hal tersebut merupakan tanda kekuasaan Allah SWT. Lafadz *لايت لقوم يؤمنون* menunjukkan bahwa tanda-tanda kekuasaan Allah SWT tersebut dapat diketahui oleh orang-orang yang selalu berfikir dan percaya terhadap tanda-tanda kekuasaan Allah SWT (Jazairi, 2008).

Keragaman hayati atau keanekaragaman hayati adalah keanekaragaman makhluk hidup pada seluruh ekosistem baik ekosistem terestrial maupun ekosistem akuatik yang mencakup keanekaragaman dalam spesies, antarspesies, dan ekosistem (USDA, 2006). Terdapat tiga tipe keanekaragaman yang dapat disimpulkan dari ayat di atas yakni keanekaragaman ekosistem, keanekaragaman spesies dan keanekaragaman genetik. Keanekaragaman ekosistem sebagaimana pada lafadz *مَنْ أَعْنَابٍ* yang berarti “*dan kebun-kebun anggur*” dimana sebelumnya terdapat lafadz *طَلْعَهَا قِنَوَانٍ دَانِيَةً* yang berarti “*dari mayang kurma yang menjulai*”. Kedua lafadz tersebut menunjukkan bahwa Allah SWT menciptakan berbagai jenis lingkungan yang ditumbuhi oleh jenis tumbuhan yang berbeda, yang dapat menimbulkan adanya keanekaragaman ekosistem.

Keanekaragaman spesies pada ayat tersebut ditunjukkan pada lafadz *وَالرَّيْثُونَ* yang berarti “*dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima*”, lafadz

tersebut menunjukkan bahwa Allah menciptakan tumbuhan yang berjenis-jenis yang memiliki karakter yang berbeda. Hal tersebut yang nantinya akan memunculkan adanya keanekaragaman spsies. Keanekaragaman genetik ditunjukkan pada lafadz *مُشْتَبِهًا وَعَظِيمٍ مُتَشَابِهٍ* yang memiliki arti “yang serupa dan yang tidak serupa”, dalam lafadz tersebut Allah menunjukkan bahwa selain jenis yang berbeda-beda yang dapat diamati secara morfologi, terdapat juga keragaman pada tingkat yang lebih kecil yang menyebabkan perbedaan morfologi tersebut yakni gen. Keragaman gen inilah yang sebenarnya menyebabkan munculnya perbedaan morfologi. Gen yang saling berinteraksi akan menghasilkan penampakan morfologi yang berbeda.

Sebagaimana telah dijelaskan bahwa keragaman yang ada di muka bumi merupakan salah satu tanda kekuasaan Allah SWT, baik keragaman hewan maupun tumbuhan. Salah satu tumbuhan yang memiliki keragaman yang tinggi adalah pisang. Pisang termasuk komoditas hortikultura yang memiliki nilai sosial, ekonomi dan budaya yang tinggi di seluruh dunia (FAO, 2003; Megia, 2005, Hapsari *et al.*, 2017). Rata-rata produksi tahunan buah pisang dunia mencapai 105 juta ton (FAO, 2013). Ditinjau dari aspek perdagangan internasional, pisang merupakan komoditas yang menarik untuk dikembangkan dan ditingkatkan produksinya (Rusdiansyah, 2013). Pengembangan pisang pada saat ini terpusat pada budidaya pisang kultivar, karena pisang kultivar lebih banyak dimanfaatkan dan dikonsumsi masyarakat (Purwaradia, 2006).

Pisang kultivar merupakan keturunan dari jenis pisang liar *Musa acuminata* Colla dan *Musa balbisiana* Colla (Stover dan Simmonds, 1987) yang kemudian

mengalami proses evolusi sampai menjadi pisang yang dapat dikonsumsi. Pisang kultivar berdasarkan cara pengolahannya dibagi menjadi pisang olahan dan pisang buah. Hapsari (2011) menyatakan daging buah pisang buah memiliki rasa dominan manis ketika masak, sebagai hasil dari konversi pati menjadi gula; sedangkan daging buah pisang olahan mengandung banyak pati, sehingga pisang ini perlu dimasak atau diolah dahulu sebelum dikonsumsi. Buah pisang memiliki kandungan gizi yang tinggi. Tingginya kandungan karbohidrat, gula, vitamin C dan Kalium, serta kandungan protein yang cukup dan rendahnya kandungan lemak menjadikan buah pisang sebagai rekomendasi bahan makanan bagi orang-orang di segala usia (Hapsari & Lestari, 2016).

Indonesia sebagai salah satu daerah pusat asal usul serta pusat keragaman pisang yang memiliki lebih dari 200 jenis pisang baik pisang kultivar maupun pisang liar yang tersebar di seluruh daerah Indonesia (Nasution dan Yamada, 2001; INIBAP, 2006). Data Kementerian Pertanian (2016) menunjukkan bahwa terdapat 11 provinsi yang menjadi sentra produksi pisang di Indonesia antara lain Sumatera Utara, Sumatera Barat, Lampung, Sumatera Selatan, Banten, Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Bali, Nusa Tenggara Timur, dan Sulawesi Selatan. Pulau Jawa menyumbang 21,87 % - 19,22% dari produksi pisang di Indonesia.

Tata nama pisang kultivar menjadi masalah utama di negara-negara pusat keragaman pisang termasuk Indonesia. Masalah tersebut muncul karena banyaknya jenis pisang yang ada serta keragaman bahasa yang ada di Indonesia, seperti penyebutan pisang Ambon Hijau. Pisang Ambon Hijau dikenal di Jawa

Timur dengan sebutan Ambon Ijo, di Madura dikenal sebagai Pisang Biru (Hapsari, 2015b), sedangkan di Maluku dikenal dengan sebutan Pisang Meja (Irwanto, 2015). Oleh sebab itu, identifikasi dan klasifikasi pisang kultivar yang awalnya menggunakan tata nama binomial berkembang menggunakan tata nama genom yang telah ditetapkan pada tahun 1999 (Valmayor *et. al.*, 2000; INIBAP, 2006). Penentuan komposisi genom dan tingkat ploidi pada pisang kultivar dapat dilakukan dengan sistem skoring berdasarkan karakter morfologi (Simmonds dan Shepherd, 1955; Simmonds, 1959). Namun penggunaan pendekatan morfologi bersifat subyektif, selain itu karakter morfologi yang dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan dapat mempengaruhi validitas hasil (Guzow-Krzeminsk *et al.*, 2001). Oleh sebab itu diperlukan penelitian berbasis molekuler (genetik) untuk mendapatkan hasil yang lebih valid (Rao dan Hodgkin, 2002).

Teknik molekuler yang banyak dilakukan untuk mengetahui dan mempelajari keanekaragaman serta kekerabatan pisang kultivar dan pisang liar antara lain adalah AFLP (Wong *et. al.*, 2002), PCR-RFLP (Nwakanma *et. al.*, 2003; Ekasari *et. al.*, 2012), RAPD (Pillay *et. al.*, 2000; Sukartini, 2008), DNA barkoding dengan penanda molekular *universal* (Liu *et. al.*, 2010) dan mikrosatelit (de Jesus *et. al.*, 2013). Teknik RAPD merupakan marka yang paling sering digunakan untuk mengidentifikasi genotipe tumbuhan, karena memiliki kelebihan dalam pelaksanaan dan analisisnya. Dibandingkan dengan penanda DNA yang lain, teknik RAPD lebih murah, mudah dilakukan, cepat memberikan hasil, menghasilkan polimorfisme pita DNA dalam jumlah banyak, tidak memerlukan pengetahuan tentang latar belakang genom yang dianalisis dan mudah

memperoleh primer acak yang diperlukan untuk menganalisis genom semua jenis organisme (Tingey *et al.*, 1994).

Selama ini marka RAPD merupakan marka molekuler yang paling sering digunakan untuk mengetahui tingkat taksonomi dan pengelompokan kultivar pisang (Uma *et al.*, 2006; Brown *et al.*, 2009; Olivia *et al.*, 2010; Makunthakumar *et al.*, 2013; Kiran *et al.*, 2016; Nair, 2016) sekaligus untuk mengetahui diversitas genetiknya (Dayarani dan Dharini, 2014). Keragaman pisang yang terdapat di Indonesia merupakan sumber daya genetik yang perlu dilestarikan agar tetap tersedia di masa mendatang (BB Biogen, 2004). Keterbatasan penelitian tentang keragaman pisang di Indonesia, khususnya Pisang Ambon di wilayah Jawa Timur dan Jawa Tengah menjadi alasan dilakukan penelitian tentang Keragaman Genetik 13 Kultivar Pisang Ambon (*Musa acuminata* grup AAA) di Jawa Timur Dan Jawa Tengah Berdasarkan Marka RAPD. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat dijadikan acuan dalam pemuliaan tanaman pisang dan sebagai acuan penggunaan primer yang cocok untuk menganalisis keragaman pisang, khususnya pisang Ambon.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Manakah primer yang paling baik digunakan untuk mengetahui keragaman Pisang Ambon berdasarkan marka RAPD?

2. Bagaimana keragaman genetic dan pengelompokan 13 kultivar pisang Ambon (*Musa acuminata* grup AAA) di Jawa Timur dan Jawa Tengah berdasarkan penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui primer yang cocok digunakan untuk mengetahui keragaman genetik Pisang Ambon berdasarkan marka RAPD.
2. Mengetahui keragaman genetik dan pengelompokan 13 kultivar pisang (*Musa acuminata* grup AAA) di Jawa Timur dan Jawa Tengah berdasarkan penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).

1.4 Manfaat Penelitian

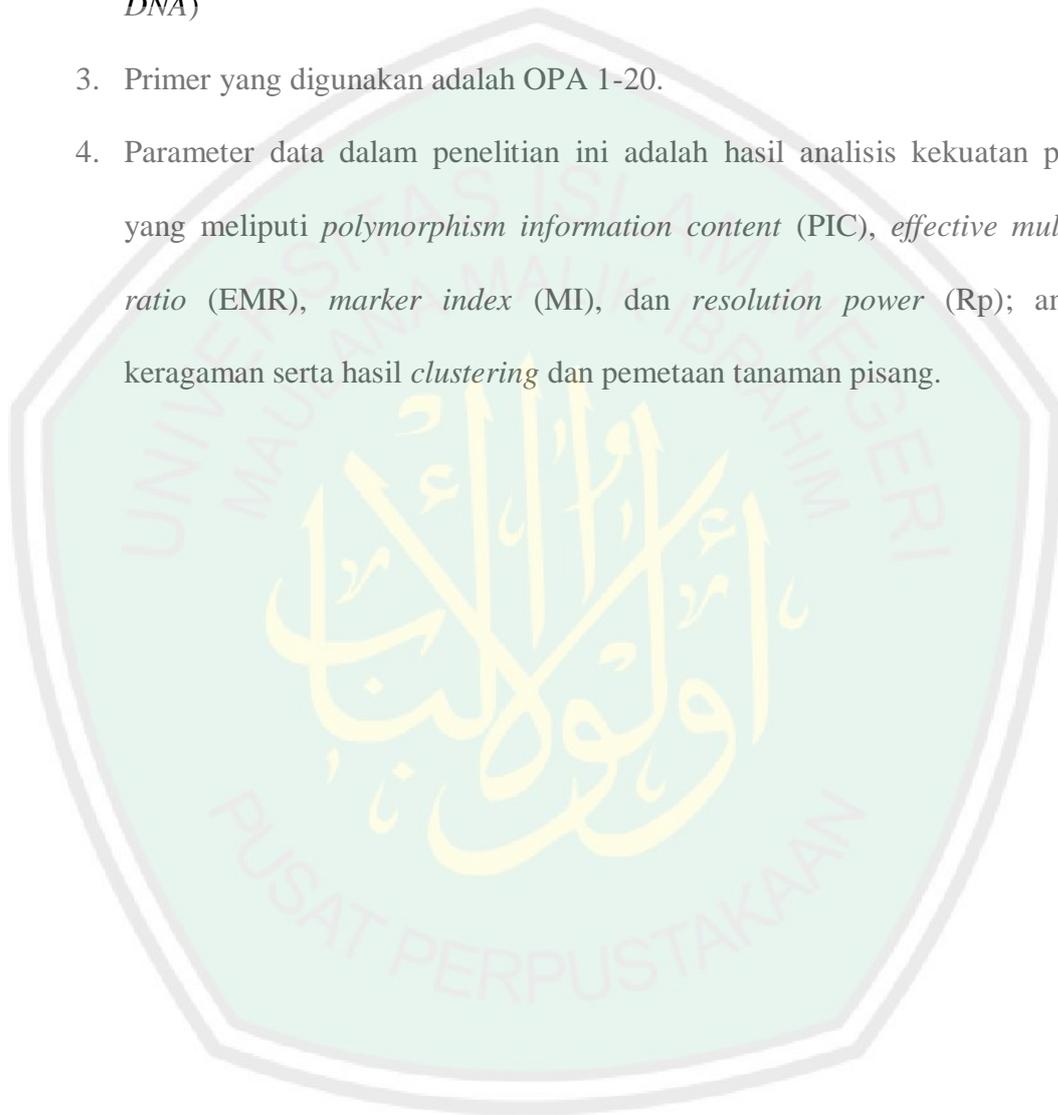
Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Dapat mengetahui keragaman genetik pisang Ambon di Jawa Timur dan Jawa Tengah berdasarkan marka RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).
2. Data keragaman genetik pisang Ambon dapat dijadikan referensi untuk kepentingan pemuliaan dan konservasi tanaman pisang, khususnya pisang Ambon.
3. Data kekuatan primer dapat dijadikan acuan untuk rekomendasi primer terbaik dalam menentukan keragaman genetik pisang Ambon.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini antara lain:

1. Sampel yang digunakan adalah daun pisang Ambon yang diambil dari Kebun Plasma Nutfah Dinas Pertanian dan Pangan Kota Yogyakarta.
2. Marka yang digunakan adalah marka RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)
3. Primer yang digunakan adalah OPA 1-20.
4. Parameter data dalam penelitian ini adalah hasil analisis kekuatan primer yang meliputi *polymorphism information content* (PIC), *effective multiplex ratio* (EMR), *marker index* (MI), dan *resolution power* (Rp); analisis keragaman serta hasil *clustering* dan pemetaan tanaman pisang.

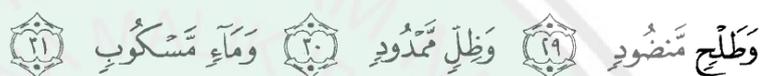


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Botani Umum Pisang

Pisang merupakan salah satu tumbuhan yang disebut dalam al-Qur'an yakni pada surat al Waqiah ayat 29-31 yang berbunyi:



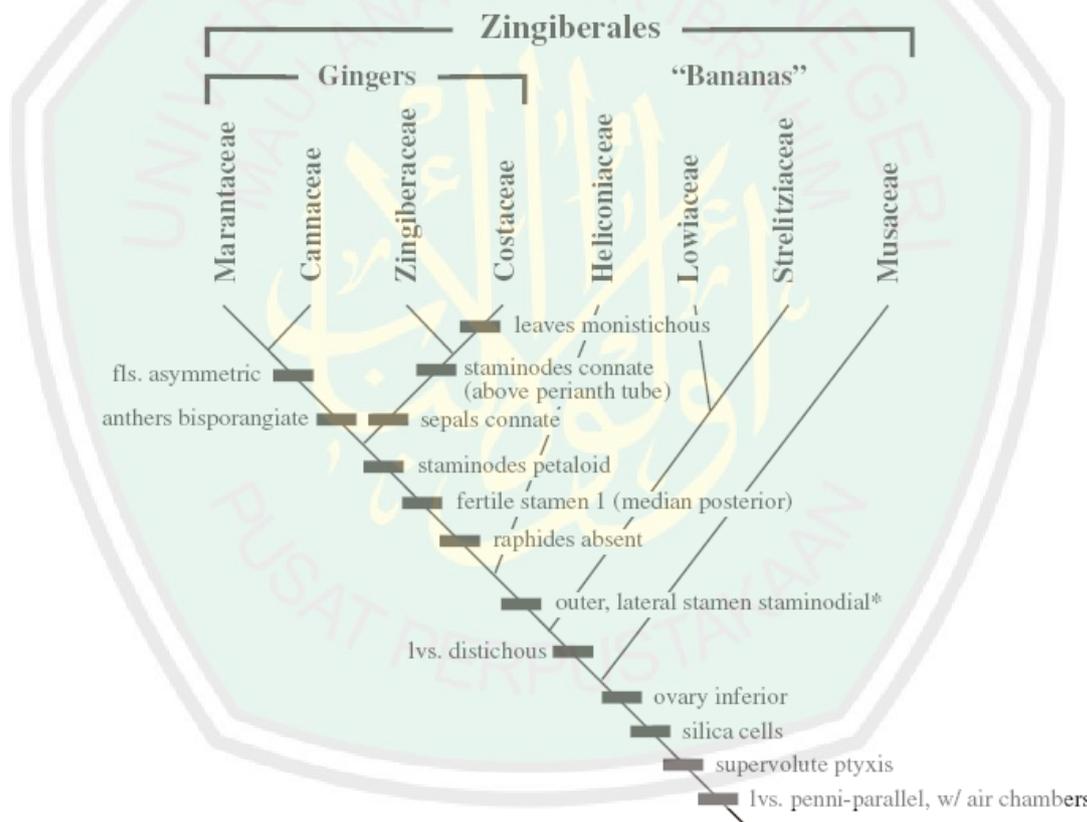
Artinya: " dan pohon pisang yang bersusun-susun (buahnya), dan naungan yang terbentang luas, dan air yang tercurah." (QS. Al-Waaqi'ah (57) : 29-31)

Lafadz طَلْحٍ (*Talh*) menurut Ibnu Katsir adalah pohon besar yang terdapat di daerah Hijaz, hal serupa juga diterangkan dalam kitab Lisanul Arab yang menjelaskan beberapa arti dari lafadz طَلْحٍ (*Talh*) yang terdapat di surat al Waqiah tersebut. Beberapa arti dari lafadz طَلْحٍ (*Talh*) tersebut menurut Mandzur (1993) antara lain adalah pohon besar yang terdapat di daerah Hijaz, kata طَلْحٍ (*Talh*) juga diartikan sebagai pohon yang memiliki sedikit daun, pohon yang bayang-bayangnya dapat dijadikan naungan atau tempat berteduh, serta kata طَلْحٍ (*Talh*) diartikan sebagai pohon yang memiliki buah yang memiliki rasa yang manis.

Lafadz طَلْحٍ (*Talh*) ada yang memahaminya dalam arti pohon pisang atau pohon kurma. Banyak juga yang menggambarkan طَلْحٍ (*Talh*) sebagai pohon yang memiliki batang yang sangat kuat, dahan yang panjang dan tinggi, daun yang sangat hijau, memiliki duri tetapi tidak mengganggu dan memiliki aroma yang

harum (Shihab, 2002). Ciri-ciri yang dimiliki pohon tersebut menyebabkan banyak yang lebih mengartikan طلع (*Talh*) sebagai pohon pisang (Ishaq, 2004).

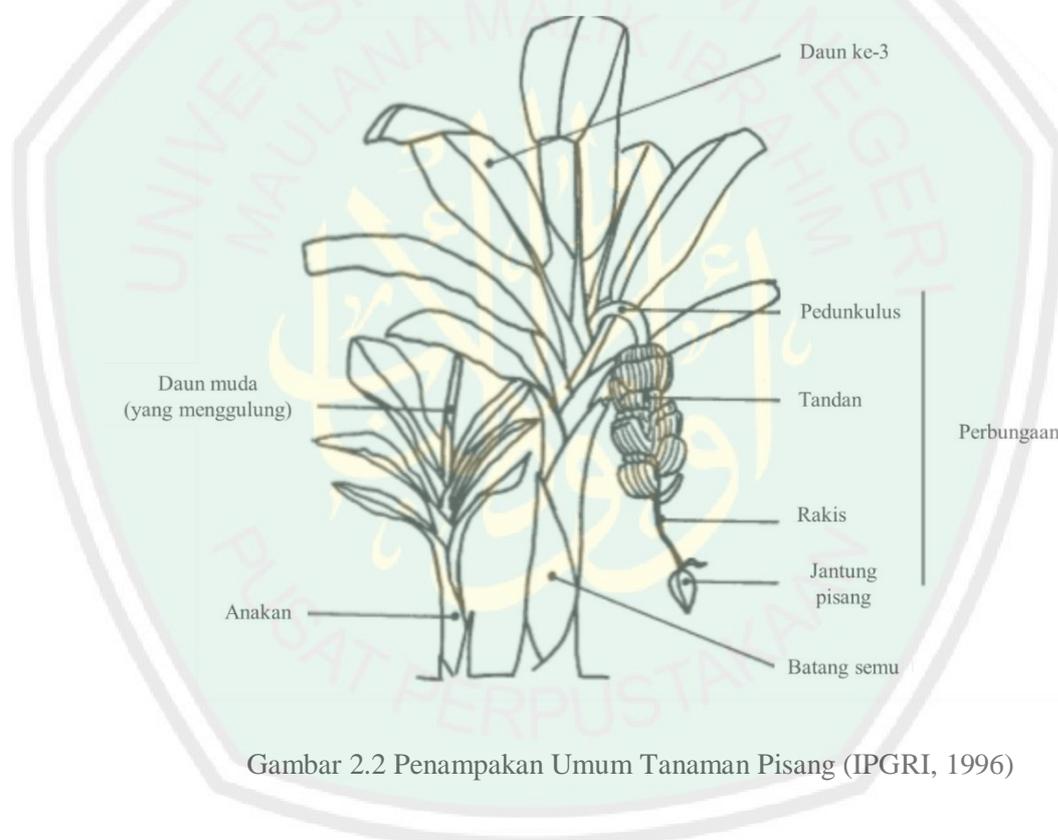
Pisang termasuk dalam famili Musaceae yang berkerabat dekat dengan Famili Heliconiaceae, Lowiaceae dan Strelitziaceae (Gambar 2.1) (Simpson, 2006). Famili Musaceae terbagi atas tiga *genus* yakni *Musa* (Pisang), *Ensete* dan *Musella*. Secara umum *genus Musa* memiliki empat *section* antara lain *Australimusa*, *Callimusa*, *Eumusa* dan *Rhodochlamys* (Busaidi, 2013).



Gambar 2.1 Kedudukan Musaceae pada Ordo Zingiberales dengan sifat apomorfi terpilih (Simpson, 1953)

Pisang merupakan tanaman herba perennial besar yang sering menyerupai pohon dengan tinggi mencapai 2-9 m (Gambar 2.2). Pisang memiliki perakaran

adventif (Siemonsma dan Piluek, 1994) yang bertipe akar serabut (Satuhu dan Supriyadi, 1999). Sistem perakaran serabut pada pisang menyebabkan organisme tersebut termasuk dalam kelas Liliopsida (Simpson, 1953). Akar muda berwarna putih dan ketika dewasa berwarna coklat (Sumardi dan Wulansari, 2010). Akar utama memiliki ketebalan 5 – 8 mm (Satuhu dan Supriyadi, 1999). Akar tanaman pisang berkembang dan memencar hingga 4-5 m secara leteral dan mampu mencapai kedalaman 75 cm (Siemonsma dan Piluek, 1994).



Gambar 2.2 Penampakan Umum Tanaman Pisang (IPGRI, 1996)

Batang tanaman pisang berada di bawah tanah, berukuran pendek dengan tipe percabangan simpodial (Espino *et. al.*, 1992) dan biasanya disebut dengan bonggol (*corm*). Dari bonggol tersebut akan tumbuh beberapa rimpang pendek yang kemudian dari rimpang tersebut tumbuh tunas baru di sekeliling pohon

induk. Dari bonggol tersebut akan tumbuh pelepah daun yang membentuk batang semu (Siemonsma dan Piluek, 1994).

Batang semu tumbuh mengelompok dalam rumpun (Siemonsma dan Piluek, 1994) yang terbentuk dari pelepah yang saling menutupi dan saling menekan satu sama lain (Dasuki, 1991). Batang semu memiliki penampakan ramping (*slender*) sampai besar (*robust*) (IPGRI, 1996) dan memiliki warna hijau kekuningan sampai merah keunguan (Gambar 2.3) serta pada beberapa spesies memiliki lapisan lilin. Batang semu sering kali mengeluarkan getah yang berwarna bening atau putih susu (Gambar 2.4 getah) (IPGRI, 1996). Batang semu pisang memiliki rongga udara yang merupakan ciri khas dari ordo Zingiberales (Simpson, 1953).



Gambar 2.3 Variasi warna batang semu (Dok. Pribadi)

Daun pisang tersusun atas pelepah daun (*vagina*), tangkai daun (*petiole*) dan lembaran daun (*lamina*) (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998). Daun pisang memiliki warna yang berbeda pada sisi dorsal dan ventralnya dan pada kedua sisinya sering kali terdapat lapisan lilin. Daun bagian dorsal memiliki warna hijau kekuningan sampai hijau tua dengan bercak merah keunguan, sedangkan warna daun bagian ventral memiliki warna hijau kekuningan sampai merah keunguan (IPGRI, 1996). Daun pisang berkembang dari daun muda yang menggulung (*cigar leaf*) (Gambar 2.2) menjadi sehelai daun besar berbentuk lonjong hingga lanset dengan ukuran 100-500 cm x 25-100 cm, dengan tulang daun yang kuat (Siemonsma dan Piluek,

1994). Daun muda yang menggulung pada tanaman pisang juga merupakan ciri khas dari dalam ordo Zingiberales (Simpson, 1953).

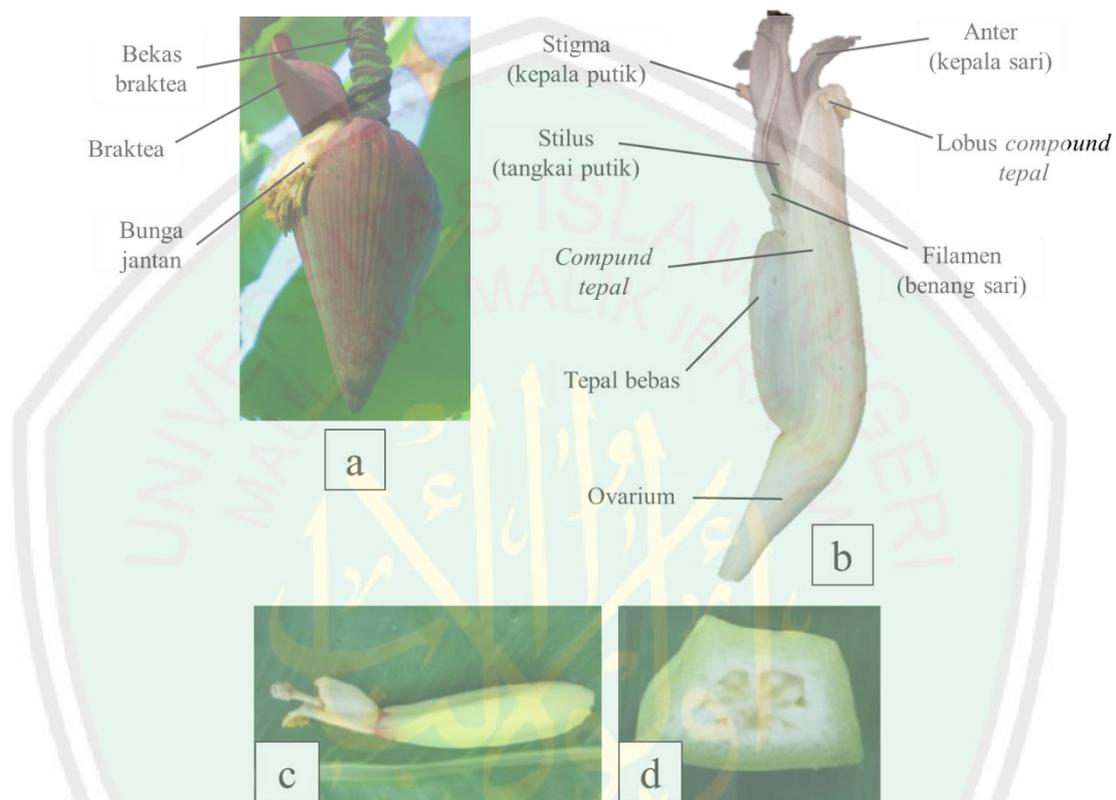
Daun pisang yang tersusun spiral (Dasuki, 1991), merupakan ciri khas dari famili Musaceae, menjadi ciri pembeda dengan famili lain pada ordo Zingiberales (Simpson, 1953). Daun pisang dengan lamina melebar dan urat daun pinnatus yang paralel satu sama lain (Dasuki, 1991) merupakan sifat yang diturunkan dari nenek moyang (apomorfi) dari ordo Zingiberales (Simpson, 1953). Pangkal daun pisang berbentuk meruncing di kedua sisi, meruncing disatu sisi dan membulat disisi lain, atau membulat di kedua sisi (Gambar 2.4) serta memiliki tepi daun rata dan ujung daun terbelah (IPGRI, 1996).



Gambar 2.4 Bentuk dasar daun. (a) membulat di kedua sisi, (b) meruncing disatu sisi dan membulat disisi lain, dan (c) meruncing di kedua sisi. (Dok. Pribadi)

Bunga pisang merupakan bunga majemuk (*inflorescence*). Perbungaan pisang tumbuh dari rhizoma (Backer dan Brink, 1968) dan berkembang membentuk buah (Espino *et. al.*, 1992). Perbungaan tumbuh ke atas melewati batang semu, biasanya membelok satu arah atau terkulai (Dasuki, 1991). Bunga pisang bersifat *epigius*, *zigomorf*, uniseksual dan memiliki nektar. Bunga terletak pada rakis tersusun dalam simosa monokhasium (sering disebut “sisir”) yang pada setiap susunan bunga dilindungi oleh braktea yang berukuran besar (Simpson, 1953). Braktea-braktea yang tersusun rapat akan membuka pada waktu antesis (Gambar

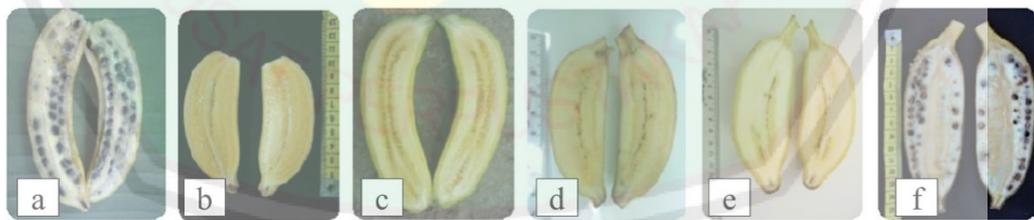
2.5 a) (Dasuki, 1991). Braktea pisang memiliki warna yang bervariasi pada setiap kultivar pisang. Braktea tersebut berfungsi untuk melindungi bunga yang ada di dalamnya.



Gambar 2.5 Penampakan a) Jantung pisang (*male bract*), b) bunga (Dok. Pribadi), c) posisi ovarium pisang yang inferus dan d) tiga ruang pada ovarium (Hapsari *et al.*, 2015a)

Bunga pisang tersusun atas tepal, stamen, stigma dan ovarium. Tepal pisang terdiri dari *compound tepal* (3 sepal dan 2 petal yang bersatu) dan tepal bebas (Gambar 2.5 b). Bagian dalam tepal terdapat stamen umumnya berjumlah 5 atau 6 buah (Gambar 2.5 b) (Dasuki, 1991) yang menempel pada stigma. Stigma memiliki 3 karpel (Gambar 2.5 d) yang di dalamnya terdapat ovarium bertipe inferus (Gambar 2.5 c).

Buah pisang termasuk buah tipe buni dengan eksokarp yang mudah lepas (Dasuki, 1991). Buah pisang memiliki tekstur keras hingga lunak dan memiliki rasa asam, sepat hingga manis. Pada pisang liar terdapat biji fertil di dalam buah (Gambar 2.6 a dan f), sedangkan pada pisang kultivar tidak memiliki biji fertil (Gambar 2.6 b-e). Buah pada pisang kultivar bersifat partenokarpi yang memiliki bakal biji mengeriput (abortif) sebelum terjadi proses pembuahan. Akan tetapi bakal biji yang abortif tersebut dapat dijumpai sebagai bintik-bintik kecil berwarna coklat dalam buah (Gambar 2.6 c-e) (Espino *et. al.*, 1992). Buah berkembang dari bunga betina yang telah mekar. Periode perkembangan buah terjadi sekitar 3-4 bulan, sesuai dengan kondisi cuaca. Setelah buah dalam tandan tersebut terbentuk, maka tanaman induk akan mati (Augustburger *et. al.*, 2001). Biji pisang liar memiliki testa yang keras, dengan *endosperm* serta *perisperm* yang beramilum (Dasuki, 1991), berwarna hitam atau coklat tua, berbentuk bulat tidak beraturan bisa juga berbentuk lensa, atau silindris (Nasution dan Yamada, 2001).



Gambar 2.6 Keberadaan biji pada pisang. a) Pisang Jantung Kuning (AAw), b) Pisang Trimulin (AA cv), c) Pisang Morosebo (AAA cv) , d) Pisang Triolin (AAB cv) , e) Pisang Saba Awu (ABB cv), f) Pisang Klutuk Ijo (BBw) (Hapsari *et al.*, 2015a)

2.2 Karakteristik Pisang Ambon

Karakteristik yang dimiliki pisang Ambon antara lain rumpun sedikit hingga sedang. Batang semu dari pisang Ambon cukup besar dan kokoh, warna batang semu hijau kekuningan. Batang semu pada beberapa kultivar pisang Ambon bersemu merah dan memiliki bercak berwarna coklat hingga hitam. Permukaan batang semu pisang ambon tidak berlilin. Tinggi tanaman pisang Ambon dapat mencapai 5 m, namun pada beberapa kultivar memiliki perawakan pendek (± 1 m) (Hapsari, 2015a).

Daun pisang Ambon lebar dan terkulai, dengan tepi tangkai daun melebar bersayap. Braktea berwarna merah kekuningan dan menggulung. Bunga jantan berwarna krem. Tandan buah berukuran besar, berorientasi menjuntai karena berat dengan sisir buah yang simetris, berisi 5 – 12 sisir. Buah berukuran sedang hingga besar, berbentuk melengkung, berkulit tebal, berwarna hijau hingga kuning pada saat masak, beberapa kultivar berwarna kemerahan. Daging buah berwarna putih, krem hingga kuning bertekstur keras hingga lembut, dengan rasa yang manis dan sedikit beraroma harum (Hapsari, 2013).

2.3 Syarat Tumbuh Pisang

Pisang merupakan tanaman pionir yang dapat tumbuh di berbagai jenis lingkungan, bahkan pada lingkungan yang tergolong ekstrim (Hapsari *et al.*, 2015b). Tanaman pisang di Indonesia dapat tumbuh dan ditanam hingga ketinggian 2000 mdpl dengan curah hujan yang cukup serta mampu bertahan hingga suhu 15 °C (Nasution dan Yamada, 2001). Kondisi optimal untuk

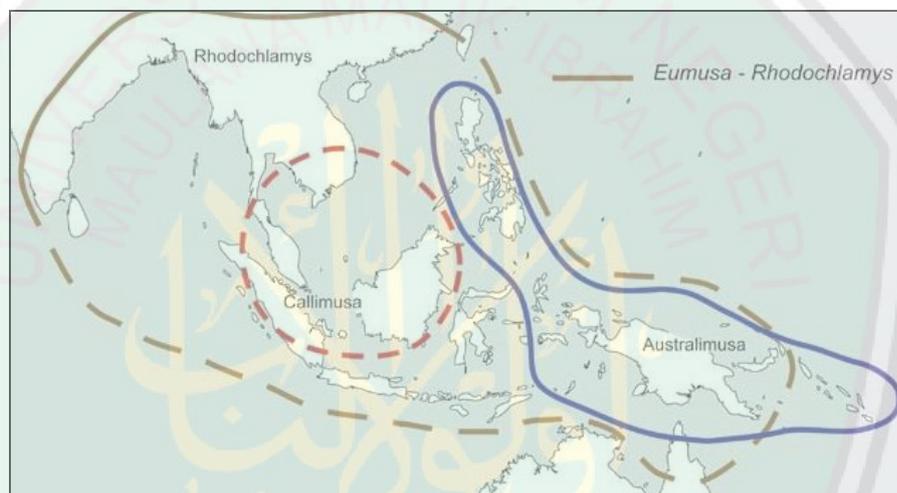
pertumbuhan pisang adalah pada tanah datar dengan ketinggian 500 mdpl, tingkat keasaman tanah 4,5 – 7,5. Suhu harian berkisar antara 25°C – 27°C dengan intensitas curah hujan 2000 – 3000 mm/tahun (Cahyono, 1996; Suhardiman, 1997).

Tanaman pisang memiliki sistem perakaran yang dangkal, sehingga dibutuhkan tanah yang subur, gembur dan mengandung banyak unsur hara untuk pertumbuhan yang optimal (Rukmana, 1999). Pisang tahan terhadap kondisi kekeringan atau minim air, hal ini dikarenakan pada daerah perakaran mengandung banyak air. Namun demikian, pemberian air pada waktu musim kemarau tetap diperlukan terutama saat tanaman pisang sedang berbunga dan berbuah. Jenis tanah yang sesuai untuk penanaman pisang adalah tanah liat yang mengandung kapur atau tanah alluvial. Tanaman pisang dapat tumbuh pada daerah dengan musim kering 4 – 5 bulan apabila kedalaman air tidak melebihi 150 cm di bawah permukaan tanah. Kedalaman air yang baik untuk pertumbuhan tanaman pisang berkisar antara 50 – 200 cm di bawah permukaan tanah (Satuhu dan Supriyadi, 1999).

2.4 Persebaran dan Keragaman Genetik Pisang

Keragaman tanaman pisang terpusat di kawasan Indo-Malesia (Gambar 2.7), baik pisang liar maupun pisang kultivar (De Langhe *et al.*, 2009). Busaidi (2013) menyatakan bahwa berdasarkan persebarannya genus *Musa* terbagi menjadi 4 *section* yaitu *Eumusa*, *Rhodoclamys*, *Australimusa*, dan *Calimusa*. *Section Eumusa* tersebar di seluruh Asia Timur, kecuali Melanesia bagian timur, sedangkan

section Rhodochlamys tersebar di sekitar dataran iklim basah di Asia bagian selatan. *Section Australimusa* tersebar dari selatan hingga Indonesia bagian timur dan Filipina bagian selatan ke Melanesia, sedangkan *section Calimusa* tersebar di Vietnam bagian selatan, Malaysia, Borneo dan Sumatra (Gambar 2.7). Beberapa ahli menyatakan bahwa *Rhodochlamys* merupakan *sub-section* dari *Eumusa* (De Langhe, et al.2009). Argent (1979) menambahkan satu *section* baru yaitu *Ingentimusa* yang hanya terdiri dari satu spesies yakni *Musa ingens* Simmonds.



Gambar 2.7 Persebaran tiap *section* pada genus *Musa* (De Langhe et al., 2009)

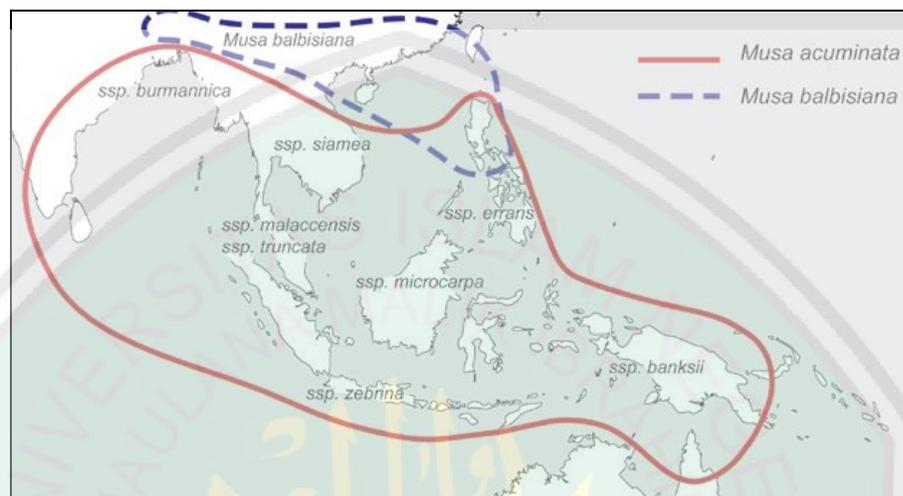
Pisang kultivar yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sekarang diduga merupakan keturunan antara *Musa acuminata* dan *Musa balbisiana* yang terhibridisasi secara alami. Hibridisasi yang terjadi secara alami tersebut dapat terjadi secara *inter* maupun *intra* spesies, dapat pula terjadi hibridisasi balik antara keturunan dengan *wild typenya*, serta hibridisasi antar keturunan yang memungkinkan terjadinya mutasi, autopoloidi, partenokarpi dan kesterilan sehingga menghasilkan keturunan-keturunan yang beragam (Simmons, 1959; Espino et al., 1992; Valmayor et al., 2000; De Langhe et al., 2009). Dugaan

bahwa pisang kultivar merupakan keturunan dari pisang liar, kemudian dikonfirmasi menggunakan studi genetik yang menunjukkan bahwa setidaknya ada 4 spesies liar yang berperan dalam *gene pool* dari pisang kultivar, antara lain *Musa acuminata* sebagai donor genom A, *Musa balbisiana* sebagai donor genom B, *Musa schizocarpa* sebagai donor genom S serta *Musa textilis* sebagai donor genom T (Singh *et al.*, 2001; De Langhe *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2013).

Pisang liar *Musa acuminata* dan *Musa balbisiana* tersebar luas di wilayah Asia, baik di wilayah tropis maupun subtropis (Gambar 2.8). *Musa acuminata* diketahui memiliki 20 sub-spesies yang telah teridentifikasi dimana 15 sub-spesies terdapat di Indonesia. Kelima belas sub-spesies tersebut antara lain *acuminata*, *alasensis*, *bantamensis*, *breviformis*, *cerifera*, *flava*, *halabanensis*, *longepetiola*, *malaccensis*, *microcarpa*, *nakaii*, *rutilifera*, *sumatrana*, *tamentosa* dan *zebrina* (Nasution, 1991). Tiga sub-spesies lainnya yakni *burmannica*, *burmannicoides* dan *siamea* tersebar di wilayah India, Myanmar sampai Thailand. Dua spesies sisanya yakni sub-spesies *errans* ditemukan di wilayah kepulauan Filipina dan sub-spesies *banksii* ditemukan di wilayah Papua Nugini (Li *et al.*, 2010 dan Li *et al.*, 2013).

Pisang liar *Musa balbisiana* juga menunjukkan morfologi yang beragam (Jumari dan Pudjoarinto, 2000), namun diperlukan studi lebih lanjut untuk mengklasifikasi hingga tingkat sub-spesies. Hingga saat ini telah diketahui bahwa *Musa balbisiana* memiliki 3 sub-spesies yang telah teridentifikasi antara lain *bakeri*, *dechangensis* dan *liukuensis*. Ketiga sub-spesies dari *Musa balbisiana* tersebut didapatkan dari eksplorasi di berbagai wilayah China dan kepulauan Asia

Tenggara (Hapsari, 2014). Informasi mengenai keragaman sub-spesies pada *Musa schizocarpa* dan *Musa textilis* yang juga termasuk moyang pisang masih sangat kurang (Li *et al.*, 2013).



Gambar 2.8 Persebaran geografi *Musa acuminata* dan *Musa balbisiana* sebagai nenek moyang pisang kultivar (De Langhe *et al.*, 2009)

Manusia memegang peranan penting dalam sejarah evolusi, domestikasi dan persebaran pisang ke berbagai wilayah. Bukti arkeolog serta studi linguistik menunjukkan bahwa pisang pertama kali didomestikasi oleh manusia di kawasan Asia Tenggara pada 7000 SM (Simmonds, 1959; De Langhe *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2013). Perkawinan antara *Musa acuminata* (donor genom A) dan *Musa balbisiana* (donor genom B) menghasilkan pisang kultivar dengan berbagai macam genom antara lain AA, AAA, AAB, dan ABB. Secara geografi, pisang kultivar yang memiliki berbagai macam genom tersebar dari wilayah Indo-Malesia sebagai pusat asal-usul pisang, kemudian menyebar hingga ke seluruh wilayah di Asia, Amerika, Afrika dan Australia baik wilayah tropis maupun subtropis (Gambar 2.9) (Espino *et al.*, 1992; De Langhe *et al.*, 2009).

Persebaran genom pisang kultivar berdasarkan geografinya dibedakan menjadi tujuh kawasan. Pisang kultivar dengan genom AA dan AAA tersebar di wilayah Indonesia, Filipina dan Melanesia, serta beberapa kultivar dengan genom AA tersebar di Papua Nugini dan sekitarnya. Pisang kultivar dengan genom AAA juga ditemukan di wilayah Afrika Timur. Pisang dengan genom AAB tersebar di wilayah hutan hujan Afrika serta di wilayah Oceania. Genom AB dan AAB yang lain tersebar di wilayah India Selatan. Pisang dengan ABB terbagi menjadi dua subgrup, subgrup *eastern* ABB tersebar di wilayah Vietnam dan Filipina, sedangkan subgrup *western* ABB tersebar di wilayah India (De Langhe *et al.*, 2009).



Gambar 2.9 Persebaran geografi pisang kultivar berdasarkan genomnya (De Langhe *et al.*, 2009)

2.5 Tata Nama dan Pengelompokan Pisang Kultivar

Nama ilmiah pisang pada awalnya dikenal dengan *Musa paradisiaca* Linn., penamaan tersebut dikenalkan oleh Linneus dalam *Species Plantarum* yang dipublikasikan pada tahun 1753. Linneus mendeskripsikan pisang berdasarkan ciri buahnya yang mengandung banyak pati sehingga perlu dimasak terlebih dahulu

sebelum dikonsumsi. Tahun 1759, Linneus mempublikasikan *Musa sapientum* Linn. dalam *Systema Naturae*. Nama *Musa sapientum* Linn. digunakan untuk mendeskripsikan pisang buah dengan rasa buah yang manis dan dapat dikonsumsi dalam keadaan segar ketika matang (Valmayor *et al.*, 2000). Sagot (1887) melakukan klasifikasi di bawah genus *Musa* yang terbagi menjadi 3 kelompok, yaitu pisang raksasa (*Musa ensete* J.F. Gmel.), pisang berdaging lunak (*Musa sapientum* L.) serta pisang hias (*Musa coccinea* Andrew., *Musa rosacea* Jacq.). Kemudian Cheesman (1947) membagi Genus *Musa* menjadi empat *section* dan menempatkan kelompok pisang raksasa pada genus tersendiri yaitu Genus *Ensete*, klasifikasi tersebut berdasarkan jumlah kromosom serta karakter morfologi. Empat *section* tersebut antara lain *Australimusa* dan *Callimusa* dengan jumlah kromosom 10 ($x = 10$), *Rhodochlamys* dan *Musa / Eumusa* dengan jumlah kromosom 11 ($x = 11$). Simmonds dan Shepherd (1955) mengusulkan perubahan klasifikasi dan identifikasi pisang kultivar yang semula menggunakan tata nama binomial, menjadi tata nama genom dan telah ditetapkan secara konsensus pada tahun 1999 (Valmayor *et al.*, 2000; INIBAP, 2006). Argent (1976) menambahkan satu *section* baru, yaitu *Ingentimusa* dengan jumlah kromosom 7 ($x = 7$) yang hanya terdiri atas satu spesies (*Musa ingens* Simmonds).

Komposisi genom dan tingkat ploidi pada pisang kultivar dapat ditentukan dengan menggunakan sistem skoring berdasarkan karakter morfologi atau ekspresi fenotipe dari *Musa acuminata* (donor genom A) dan *Musa balbisiana* (donor genom B) yang terdiri atas 15 karakter pembeda, dengan taraf skor 1-5. Pisang yang memiliki karakter yang menyerupai atau mendekati karakter *M.*

acuminata diberi skor 1, untuk pisang yang memiliki karakter yang menyerupai atau mendekati karakter *M. balbisiana* diberi skor 5, dan jika suatu pisang memiliki karakter antara *M. acuminata* dan *M. balbisiana* maka diberi nilai 3. Identifikasi kelompok genom digolongkan berdasarkan nilai skor pada kartu skor (Tabel 2.1) (Simmonds dan Shepherd, 1955; Simmonds, 1959).

Identifikasi tingkat ploidi dan penentuan komposisi genom dapat dilakukan menggunakan pendekatan morfologi, namun hasilnya kurang akurat. Ketepatan data dan hasil yang lebih akurat dapat dilakukan dengan metode *flow cytometry* (Doležel *et al.*, 1994). Pendekatan molekuler juga telah banyak digunakan untuk menduga komposisi genom serta mengetahui keragaman dan kekerabatan genetik melalui berbagai macam teknik baik berbasis PCR (*Polymerase Chain Reaction*) atau tanpa PCR (De Jesus *et al.*, 2013). Salah satu marka yang sering digunakan dalam pendekatan molekuler yang berbasis PCR antara lain AFLP (Wong *et al.*, 2002), PCR-RFLP (Nwakanma *et al.*, 2003; Ekasari *et al.*, 2012), RAPD (Pillay *et al.*, 2000; Uma *et al.*, 2006; Sukartini, 2008; Brown *et al.*, 2009; Olivia *et al.*, 2010; Makunthakumar *et al.*, 2013; Kiran *et al.*, 2016; Nair, 2016)

Tabel 2.1 Pengelompokan Pisang Kultivar berdasarkan Skor Total (Hapsari, 2015a)

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

2.6 Keanekaragaman Genetik

Keanekaragaman hayati menurut Undang Undang Nomor 5 Tahun 1994 adalah keanekaragaman makhluk hidup pada seluruh ekosistem baik ekosistem terestrial maupun ekosistem akuatik yang mencakup keanekaragaman dalam spesies, antarspesies, dan ekosistem. *United States Departement of Agriculture / USDA* (2006) memaparkan bahwa munculnya keanekaragaman hayati salah satunya dikarenakan adanya hibridisasi antar spesies. Keanekaragaman pada tumbuhan lebih beragam dibandingkan dengan keanekaragaman pada hewan, hal ini dikarenakan proses hibridisasi yang lebih mudah terjadi pada tumbuhan.

Materi genetik pada makhluk hidup (mikroorganisme, tumbuhan dan hewan) mengandung informasi yang menentukan karakter tiap spesies yang menyebabkan keanekaragaman pada kehidupan di bumi. Jumlah kombinasi molekul menyebabkan besarnya keanekaragaman gen pada suatu individu. Keanekaragaman genetik didefinisikan sebagai besarnya variabilitas genetik dalam suatu populasi yang menjadi dasar terbentuknya keanekaragaman hayati (Hughes *et al.*, 2008).

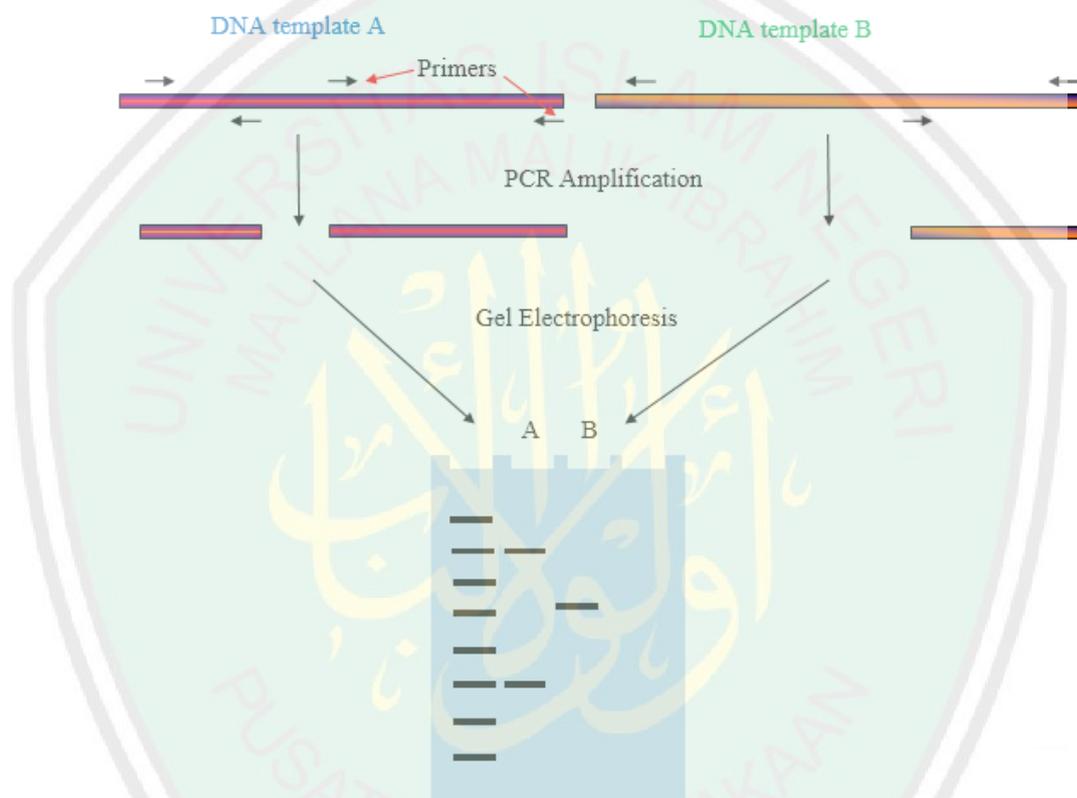
Perbedaan susunan genetik merupakan salah satu faktor penyebab keragaman tanaman. Kondisi lingkungan yang bervariasi antara tempat satu dengan tempat yang lain, serta kebutuhan tanaman akan keadaan lingkungan tertentu juga dapat mengakibatkan keragaman jenis tanaman (Sitompul dan Guritno, 1995). Keragaman genetik yang tinggi menjadi salah satu faktor penting dalam pembentukan varietas unggul (Hutami *et al.*, 2006).

2.7 Marka RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)

Estimasi terhadap variasi genetik yang sedang berkembang saat ini berbasis informasi genetik menggunakan teknik molekuler antara lain *Randomly Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) (Pillay *et al.*, 2000; Uma *et al.*, 2006; Sukartini, 2008; Brown *et al.*, 2009; Olivia *et al.*, 2010; Makunthakumar *et al.*, 2013; Kiran *et al.*, 2016), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP), RFLP, SSR dan mikrosatelit. RAPD merupakan marka yang umum digunakan menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan digunakan sejak tahun 1990 untuk mengetahui variasi genetik (Kumari dan Thakur, 2014). Primer yang digunakan dalam mengamplifikasi DNA pada marka RAPD merupakan primer tunggal yang akan mengamplifikasi DNA *template* secara acak (Simpson, 1953). Primer yang digunakan terdiri atas 10-mer oligonukleotida (Husniyati, 2012). Primer yang digunakan dalam metode RAPD akan menempel di berbagai lokasi yang komplemen pada DNA *template*. RAPD menggunakan primer acak dalam proses amplifikasi DNA untuk mengidentifikasi daerah polimorfik pada individu atau taksa yang berbeda (Gambar 2.10) (Simpson, 1953).

Teknik RAPD digunakan untuk mengidentifikasi genotipe tumbuhan, karena memiliki kelebihan dalam pelaksanaan dan analisisnya. Dibandingkan dengan penanda DNA yang lain, seperti *restriction fragment length polymorphisms* (RFLP) dan *simple sequence repeats* (SSR), teknik RAPD lebih murah, mudah dilakukan, cepat memberikan hasil, menghasilkan polimorfisme pita DNA dalam jumlah banyak, tidak memerlukan pengetahuan tentang latar belakang genom yang dianalisis dan mudah memperoleh primer acak yang diperlukan untuk

menganalisis genom semua jenis organisme (Tingey *et al.*, 1994). Metode RAPD memiliki kelemahan dalam konsistensi produk amplifikasi (Jones *et al.*, 1997), tetapi kelemahan tersebut dapat diatasi dengan mengoptimalkan ekstraksi, dan kondisi PCR serta pemilihan primer yang tepat. Selain itu kelemahan lainnya adalah homologi band pada taksa yang berbeda tidak jelas (Simpson, 2006).



Gambar 2.10 Penggunaan primer yang sama pada dua spesies yang berbeda akan menghasilkan posisi / panjang *basepare* yang berbeda (Simpson, 1953).

Penggunaan marka RAPD pada tanaman pisang paling sering digunakan untuk mengetahui tingkat taksonomi dan pengelompokkan kultivar pisang (Uma *et al.*, 2006; Brown *et al.*, 2009; Olivia *et al.*, 2010; Makunthakumar *et al.*, 2013; Kiran *et al.*, 2016; Nair, 2016) sekaligus untuk mengetahui diversitas genetiknya (Dayarani dan Dharini, 2014). Penelitian menggunakan teknik RAPD juga banyak

dilakukan terhadap tumbuhan lain, diantaranya keragaman genetik plasma nutfah jeruk (Karsinah *et al.*, 2002), variabilitas genetik tanaman gambir (Fauza *et al.*, 2007) dan hubungan genetik *Pinanga conota* (Witono dan Kondo, 2007).



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif eksploratif kualitatif, yang mengidentifikasi keragaman 13 kultivar Pisang Ambon (*Musa acuminata* grup AAA) di Pulau Jawa menggunakan marka RAPD.

3.2. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2017 – Juni 2018 yang diawali dengan pengambilan sampel sampai analisis molekuler. Pengambilan sampel dilakukan di Kebun Plasma Nutfah, Dinas Pertanian dan Pangan Kota Yogyakarta dan analisis molekuler bertempat di Laboratorium Genetika dan Molekuler, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3. Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap, yaitu: pengambilan sampel, ekstraksi, uji kualitatif, uji kuantitatif, amplifikasi PCR dan visualisasi hasil ekstraksi DNA. Adapun alat yang digunakan adalah sebagai berikut.

Alat yang digunakan dalam proses pengambilan sampel antara lain gunting, penggaris dan meteran. Alat yang digunakan dalam isolasi DNA pisang antara

lain mortar, alu, vortex, pH meter, *freezer*, *waterbath*, tube 2 ml, mikropipet 0,5 – 1000 μ l, *white tip*, *yellow tip*, dan *blue tip*.

Alat yang digunakan dalam uji kualitatif DNA antara lain perangkat elektroforesis (BioRAD), Gel Doc / UV *transiluminator* (BioRAD), mikropipet 0,5-10 μ L, *white tip*, erlenmeyer 100 mL, gelas ukur 25 mL, dan neraca analitik. Pada uji kuantitatif digunakan alat-alat berupa AE-Nano200 *Nucleic Acid Analyzer* versi 2.0, mikropipet 0,5-10 μ L, dan *white tip*.

Alat yang digunakan pada proses PCR adalah *thermal cycler* (BioRAD), mikrotube 0,5 mL, rak mikrotube, *white tip*, mikropipet 0,5 μ L, dan *spindown*. Pada visualisasi hasil PCR digunakan alat-alat berupa perangkat elektroforesis (BioRAD), Gel Doc / UV *transiluminator* (BioRAD), mikropipet 0,5-10 μ L, *white tip*, erlenmeyer 100 mL, gelas ukur 25 mL, dan neraca analitik.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *The Wizard® Genomic DNA Purification Kit Promega*, Fenol, aquades, agarose, buffer TBE $\frac{1}{2}$ x (*Tris Boric EDTA*), *Ethidium bromide (Etbr)*, *loading dye*, *nuclease-free water*, DreamTaq Green PCR Master Mix (Thermo Scientific, California, USA), primer OPA 1-20 (Tabel 3.2), dan marker 100bp DNA ladder.

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun muda (*cigar leaf*) pisang yang diambil dari Kebun Plasma Nutfah Dinas Pertanian dan Pangan Kota Yogyakarta (Tabel 3.1).

Tabel 3.1 Identitas sampel yang digunakan

No.	Nama Lokal	Kode Sampel	Nama Ilmiah	Daerah Asal	Grup Genom
1	Ambon Jaran	A1	<i>Musa paradisiaca</i> L.	Kabupaten Bantul	AAA
2	Ambon Kuning	A2	<i>Musa paradisiaca</i> L.	Tlekung, Batu, Malang, Jawa Timur	AAA
3	Ambon Sepet	A3	<i>Musa paradisiaca</i> L.	Kabupaten Gunung Kidul	AAA
4	Ambon	A4	<i>Musa paradisiaca</i> L.	KBH Dongkelan, Yogyakarta	AAA
5	Ambon Emprit	A5	<i>Musa paradisiaca</i> L.	Kabupaten Purworejo	AAA
6	Ambon Byok	A6	<i>Musa paradisiaca</i> L.	Kabupaten Bantul	AAA
7	Ambon Hijau	A7	<i>Musa paradisiaca</i> L.	Tlekung, Batu, Malang, Jawa Timur	AAA
8	Ambon Hong	A8	<i>Musa paradisiaca</i> L.	Kabupaten Purworejo	AAA
9	Ambon Lumut	A9	<i>Musa paradisiaca</i> L.	Tembarak, Temanggung	AAA
10	Ambon Merah	A10	<i>Musa paradisiaca</i> L.	Tlekung, Batu, Malang, Jawa Timur	AAA
11	Ambon Putih	A11	<i>Musa paradisiaca</i> L.	Kabupaten Gunung Kidul	AAA
12	Ambon Warangan	A12	<i>Musa paradisiaca</i> L.	Kabupaten Kulon Progo	AAA
13	Ambon Kecil	A13	<i>Musa paradisiaca</i> L.	Kabupaten Malang, Jawa Timur	AAA

14	Mas Jambe	W1	<i>Musa acuminata</i>	Cilongong, Kabupaten Banyumas	AA w
15	Becici Kuning	W2	<i>Musa acuminata</i> var. <i>flava</i>	Purwodadi, Jawa Timur	AA w

Pengelompokan grup genom mengikuti Jumari & Pudjoarinto (2000), Hapsari *et. al.* (2015), Hapsari *et. al.* (2017).

3.4.2 Isolasi DNA Pisang

DNA daun pisang Ambon diekstraksi menggunakan *The Wizard® Genomic DNA Purification Kit Promega*. Daun pisang yang masih muda dibekukan dengan direndam pada nitrogen cair kemudian dihancurkan dengan mortar dan alu hingga menjadi serbuk. Sebanyak 40 mg serbuk daun pisang diambil dan dimasukkan ke dalam tube 1,5 mL lalu ditambahkan 600 μ L larutan *Nuclei Lysis* dan divortex selama 1-5 detik. Selanjutnya, suspensi diinkubasi pada suhu 65 °C selama 15 menit. Setelah diinkubasi, ditambahkan 3 μ L larutan RNase ke dalam suspensi, kemudian tube dibolak-balik sebanyak 2-5 kali agar suspensi tercampur rata. Kemudian, tube yang berisi suspensi diinkubasi pada suhu 37 °C selama 15 menit, dan didiamkan pada suhu ruang selama 5 menit.

Tahap berikutnya adalah presipitasi protein pada suspensi DNA dengan menambahkan 200 μ L *Protein Precipitation Solution* pada tube kemudian divortex selama 20 detik. Suspensi DNA dalam tube dipisahkan berdasarkan berat molekulnya dengan menggunakan sentrifuge pada kecepatan berkisar 13.000-16.000 rpm selama 30 menit kemudian diambil bagian supernatan dalam tube dengan hati-hati dan dipindahkan ke tube baru yang berukuran 1,5 mL dan ditambahkan dengan 600 μ L Isopropanol. DNA yang telah ditambahkan isopropanol kemudian dihomogenkan dengan cara dibolak-balik dengan perlahan.

Kemudian, campuran tersebut dipisahkan dengan menggunakan sentrifuge pada kisaran 13.000-16.000 rpm selama 1 menit dalam suhu ruang.

Tahap selanjutnya adalah purifikasi DNA. Campuran yang telah disentrifugasi kemudian dibuang bagian supernatant-nya lalu bagian pellet ditambahkan dengan 600 μL ethanol 70% (suhu ruang). Larutan dalam tube dibolak-balik perlahan selama beberapa kali yang bertujuan untuk mencuci DNA sampel. Setelah itu, larutan dipisahkan lagi dengan menggunakan sentrifuge pada kecepatan berkisar 13.000-16.000 rpm selama 1 menit pada suhu ruang. Kemudian, supernatant diambil dengan menggunakan mikropipet (pada tahap ini pellet DNA mudah lepas sehingga harus dilakukan dengan sangat hati-hati). Selanjutnya, pellet DNA dikering-anginkan selama 15 menit lalu ditambahkan 100 μL DNA *Rehydration Solution* dan dihomogenkan dengan cara mengetuk tube beberapa kali. Tahap yang terakhir yaitu larutan DNA diinkubasi pada suhu 65 °C selama 1 jam. Kemudian DNA disimpan pada suhu 4 °C di lemari pendingin untuk waktu penggunaan yang lama.

3.4.3 Uji Kualitatif dan Kuantitatif DNA

DNA hasil isolasi diuji kualitatif dengan menggunakan elektroforesis gel agarose 1% (200 mg agarose dalam 20 mL TBE $\frac{1}{2}$ x) yang telah ditambah 1 $\mu\text{g/ml}$ *Ethidium bromide* (*Etbr*). Proses elektroforesis dilakukan pada tegangan 50 Volt selama 30 menit, kemudian divisualisasi menggunakan Gel Doc / UV *transiluminator* (BioRAD). DNA ladder 1-Kb (Thermo Scientific, California, USA) digunakan untuk patokan dalam menentukan ukuran genom DNA.

Konsentrasi dan kemurnian DNA diketahui dari uji kuantitatif dengan penentuan nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm menggunakan AE-Nano200 *Nucleic Acid Analyzer* versi 2.0. Tingkat kemurnian DNA dikatakan baik, jika nilai rasio *Optical Density* (OD) 260/280 nm yang diperoleh antara 1,8-2,0 (Sambrook *et al.*, 1989).

3.4.4 Amplifikasi PCR dan Visualisasi

Proses PCR dilakukan dengan menggunakan 10 μ l (volume total) pada tube PCR yang terdiri dari 1 μ l 25 ng sampel DNA, 1 μ l 10 pmol primer, 3 μ l *nuclease-free water* dan 5 μ l DreamTaq Green PCR Master Mix (2x) dari Thermo Scientific, California, USA yang terdiri atas DreamTaq DNA polymerase; 2x DreamTaq Green buffer; 0,4 mM dNTPs dan 4 mM MgCl₂.

Protokol siklus termal yang digunakan adalah: predenaturasi pada suhu 94°C selama 4 menit, kemudian 45 siklus denaturasi, *annealing* dan elongasi. Denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, *annealing* dengan suhu menyesuaikan (Tabel 3.2) selama 30 detik, dan elongasi pada suhu 72°C selama 90 detik. Post elongasi pada suhu 72 °C selama 5 menit, sebanyak 1 siklus.

Konfirmasi keberhasilan amplifikasi dilakukan menggunakan elektroforesis pada gel agarose 1,5% dalam buffer TBE 1/2 x, ditambah 1 μ g/ml *Ethidium bromide* (EtBr), kemudian divisualisasi dibawah UV pada Gel Doc / UV *transiluminator* (BioRAD) dengan marker 100bp DNA ladder.

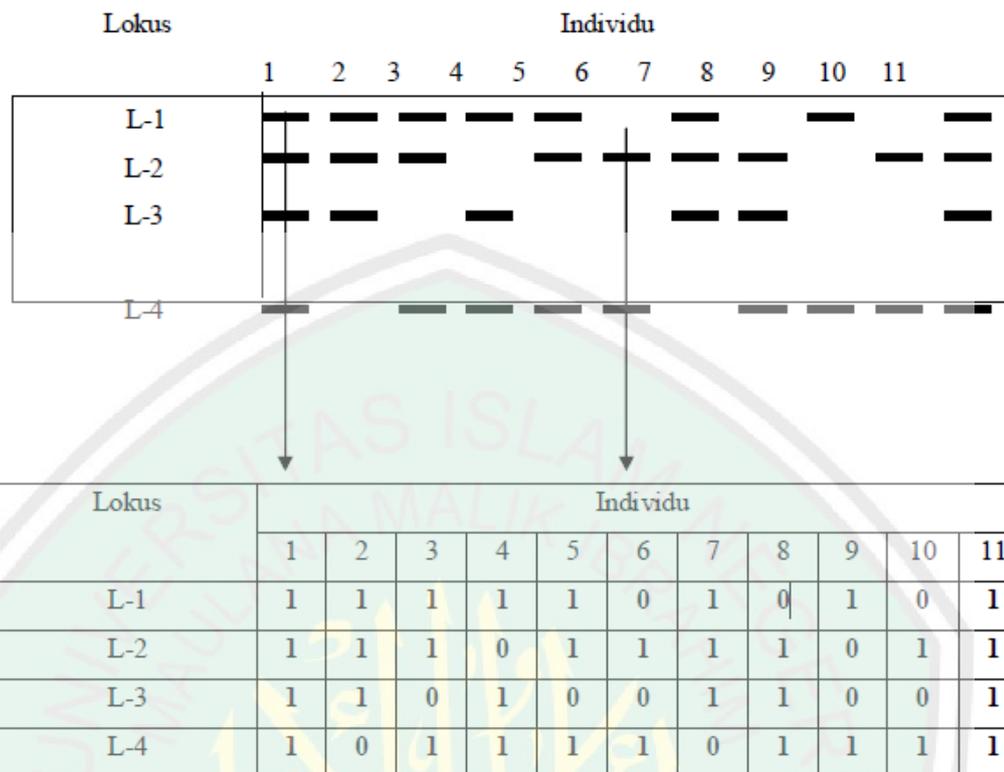
Tabel 3.2 Identitas Primer yang digunakan

Primer	Sequence	T _m (°C)	Komposisi GC (%)
OPA-01	5' - CAG GCC CTT C - 3'	36,4	70
OPA-02	5' - TGC CGA GCT G - 3'	40,7	70
OPA-03	5' - AGT CAG CCA C - 3'	34,3	60
OPA-04	5' - AAT CGG GCT G - 3'	35,1	60
OPA-05	5' - AGG GGT CTT G - 3'	32,6	60
OPA-06	5' - GGT CCC TGA C - 3'	35,2	60
OPA-07	5' - GAA ACG GGT G - 3'	33,2	60
OPA-08	5' - GTG ACG TAG G - 3'	31,1	60
OPA-09	5' - GGG TAA CGC C - 3'	37,4	70
OPA-10	5' - GTG ATC GCA G - 3'	33,1	60
OPA-11	5' - CAA TCG CCG T - 3'	36,7	60
OPA-12	5' - TCG GCG ATA G - 3'	34,0	60
OPA-13	5' - CAG CAC CCA C - 3'	37,7	70
OPA-14	5' - TCT GTG CTG G - 3'	34,3	60
OPA-15	5' - TTC CGA ACC C - 3'	34,2	60
OPA-16	5' - AGC CAG CGA A - 3'	38,3	60
OPA-17	5' - GAC CGC TTG T - 3'	35,7	60
OPA-18	5' - AGG TGA CCG T - 3'	36,2	60
OPA-19	5' - CAA ACG TCG G - 3'	34,2	60
OPA-20	5' - GTT GCG ATC C - 3'	33,5	60

3.5. Analisis Data

3.5.1 Skoring data

Analisis data marka RAPD dilakukan dengan pemberian skor 1 untuk menunjukkan keberadaan *band* dan skor 0 untuk menunjukkan tidak adanya *band* pada masing-masing primer (Gambar 3.1). Data biner yang dihasilkan digunakan untuk memperkirakan tingkat polimorfisme dengan membagi pita polimorfik dengan jumlah band yang diberi skor dan dikalikan 100%.



Gambar 3.1 Cara penilaian pita dengan sistem *scoring* (1 = ada pita, 0 = tidak ada pita) (Yunanto, 2006)

3.5.2 Analisis Kekuatan Primer

Parameter yang digunakan untuk menentukan primer RAPD yang paling informatif adalah (Laurentin dan Karlovsky, 2007): *polymorphism information content* (PIC), *effective multiplex ratio* (EMR), *marker index* (MI), *resolution power* (R_p), *qualitative nature of data* (QND), *effective marker index* (EMI), dan *genotype index* (GI).

Nilai PIC untuk setiap primer dihitung menggunakan rumus (Roldan-Ruiz *et. al.*, 2000) : $PIC_i = 2f(1 - f)$ dimana PIC adalah *polymorphism information content* i , f adalah frekuensi *band* yang muncul dan $1 - f$ i adalah frekuensi *band* yang tidak muncul.

Jumlah polimorfisme *band* pada genotipe yang dianalisis pada tiap percobaan, disebut *effective multiplex ratio* (EMR), diketahui dengan rumus $EMR = \eta \cdot \beta$; dimana EMR adalah rasio multipleks efektif, yang didefinisikan sebagai produk dari total jumlah *band* per primer (η) dan jumlah *band* polimorfik (β).

Marker index (MI) dihitung menggunakan rumus (Varshney *et. al.*, 2007) : $MI = PIC \times EMR$. *Resolution power* (Rp) masing-masing primer dihitung menggunakan rumus (Prevost dan Wilkinson, 1999) : $Rp = \sum Ib$, dimana Ib menunjukkan informasi *band*. Nilai Ib diwakili skala 0-1, yang diketahui menggunakan rumus berikut: $Ib = 1 - [2 \times (0,5 - P)]$, dimana P adalah proporsi dari 10 genotipe yang mengandung *band*.

3.5.3 Analisis Pengelompokan

Analisis pengelompokan diketahui dengan menggunakan indeks similaritas Jaccard menggunakan aplikasi PAST (*Paleontological Statistics*) versi 3.15 (Hammer, 2001), dengan rumus (Jaccard, 1901):

$$S_{Jac} = \frac{\sum_{i=1}^d P_i Q_i}{\sum_{i=1}^d P_i^2 + \sum_{i=1}^d Q_i^2 - \sum_{i=1}^d P_i Q_i}$$

Keterangan:

S_{Jac} = indeks similaritas Jaccard

P_i = skor 1 (muncul *band*)

Q_i = skor 0 (tidak muncul *band*)

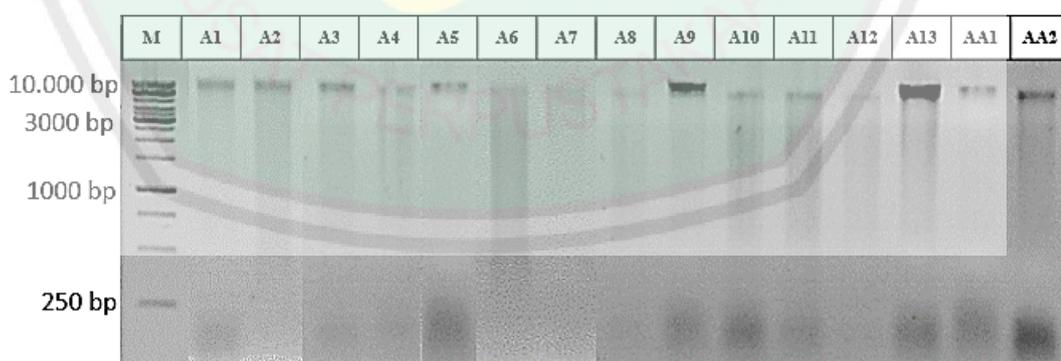
Analisis pengelompokan juga diketahui melalui pemetaan berdasarkan PCoA (*Principal Coordinate Analysis*) menggunakan aplikasi PAST (*Paleontological Statistics*) versi 3.15 (Hammer, 2001).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA Pisang Ambon menggunakan *The Wizard Genomic Purification Kit Promega* telah berhasil dilakukan. Hal ini ditunjukkan dengan munculnya fragmen pada gel elektroforesis dengan panjang sekitar 10.000 bp (Gambar 4.1). Fragmen yang dihasilkan memiliki ketebalan yang berbeda. Sampel A1, A2, A3, A4, A5, A9 A10, A11, A13, AA1 dan AA2 menghasilkan fragmen tebal, sedangkan sampel A6, A7, A8 dan A12 menghasilkan fragmen tipis. Perbedaan tebal fragmen yang dihasilkan dikarenakan konsentrasi DNA yang berhasil diekstraksi berbeda-beda. Irmawati (2003) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang dihasilkan dari proses ekstraksi akan menghasilkan fragmen yang semakin tebal. Tebalnya fragmen yang dihasilkan juga menunjukkan DNA total hasil ekstraksi dalam kondisi utuh, tidak terpotong akibat perlakuan mekanik saat proses ekstraksi.



Gambar 4.1 Visualisasi Whole Genom. Keterangan: M (marker 1Kb), A1 (Ambon Byok), A2 (Ambon Merah), A3 (Ambon Warangan), A4 (Ambon Putih), A5 (Ambon Sepet), A6 (Ambon Kuning), A7 (Ambon Lumut), A8 (Ambon Emprit), A9 (Ambon Kecil), A10 (Ambon Jaran), A11 (Ambon Hong), A12 (Ambon Hijau), A13 (Ambon), AA1 (Mas Jambe), AA2 (Becici Kuning)

Konsentrasi DNA yang dihasilkan dari proses ekstraksi juga dipengaruhi adanya kontaminan, yang ditunjukkan dengan munculnya *smear* pada visualisasi elektroforesis (Gambar 4.1). Sebanyak 60% dari hasil ekstraksi masih mengandung kontaminan, sedangkan 40% sisanya tidak mengandung kontaminan. Jenis kontaminan yang mempengaruhi konsentrasi DNA antara lain protein dan RNA (Kundu *et. al.*, 2011), serta polisakarida dan fenol (Kheyrodin dan Ghazyinian, 2012). Besarnya konsentrasi DNA dan jenis kontaminasi dapat diketahui dari uji kuantitas DNA dengan melihat nilai absorban pada panjang gelombang tertentu.

Konsentrasi DNA diketahui dari absorban DNA pada panjang gelombang 260 nm yang setara dengan 50 ng/ μ L utas ganda DNA (Kumar dan Gurusubramanian, 2011). Konsentrasi DNA yang diperoleh dari proses ekstraksi DNA Pisang Ambon berkisar antara 36,04 – 198,8 ng/ μ l (Tabel 4.1). Konsentrasi terendah diperoleh dari ekstraksi DNA Pisang Ambon Emprit, sedangkan konsentrasi tertinggi diperoleh dari ekstraksi Pisang Ambon Sepet. Konsentrasi yang diperoleh dari proses ekstraksi DNA Pisang Ambon tergolong rendah, namun sudah cukup untuk proses PCR menggunakan marka RAPD. Hal ini dikarenakan marka RAPD hanya membutuhkan konsentrasi DNA 50 ng/ μ L untuk proses PCR (Kumar dan Gurusubramanian, 2011). Rendahnya konsentrasi DNA diduga karena pada proses ekstraksi menggunakan kit. Penggunaan kit pada proses ekstraksi memang hanya membutuhkan waktu yang sedikit dan lebih praktis, namun juga memiliki beberapa kekurangan diantaranya sedikitnya konsentrasi DNA dan rendahnya tingkat kemurnian DNA.

Kemurnian DNA hasil ekstraksi berkisar antara 1,43 – 4,52 (Tabel 4.1). Kemurnian tertinggi terdapat pada sampel A6 (Ambon Kuning) dan kemurnian terendah terdapat pada sampel A2 (Ambon Merah). Tingkat kemurnian tersebut dapat digunakan untuk menentukan jenis kontaminan yang terdapat dalam DNA hasil ekstraksi. Mayoritas hasil ekstraksi dalam penelitian ini masih mengandung kontaminan berupa protein dan RNA, dikarenakan nilai rasio A260/A280 lebih besar dari 1,8-2,0 (Kundu, *et. al.*, 2011).

Tabel 4.1 Pengukuran kemurnian dan konsentrasi DNA

No	Kode	Nama Sampel	Abs 260	Abs 280	260/280	Con (ng/ul)
1	A1	Ambon Byok	2,36	1,16	2,03	118,04
2	A2	Ambon Merah	3,98	2,77	1,43	198,8
3	A3	Ambon Warangan	1,22	0,61	1,99	60,97
4	A4	Ambon Putih	0,84	0,43	1,96	42,23
5	A5	Ambon Sepet	2,37	0,67	3,54	118,65
6	A6	Ambon Kuning	1,49	0,22	4,52	74,66
7	A7	Ambon Lumut	1,6	0,79	2,01	79,84
8	A8	Ambon Emprit	0,72	0,31	2,34	36,04
9	A9	Ambon Kecil	1,98	1,3	1,53	99,15
10	A10	Ambon Jaran	1,15	0,18	1,44	57,44
11	A11	Ambon Hong	1,71	0,7	2,45	85,53
12	A12	Ambon Hijau	0,4	0,13	3,18	19,88
13	A13	Ambon	2,44	1,4	1,74	122,1
14	AA1	Mas Jambe	1,28	0,24	3,12	63,94
15	AA2	Becici Kuning	0,73	0,32	2,28	36,29

Hasil dari uji kuantitatif DNA hasil ekstraksi menunjukkan sampel yang memiliki konsentrasi tinggi adalah sampel Ambon Byok (118,04 ng/ μ L), Ambon Merah (198,8 ng/ μ L), Ambon Sepet (118,65 ng/ μ L) dan Ambon (112,1 ng/ μ L) (Tabel 4.1). Hal ini sesuai dengan hasil visualisasi uji kualitatif yang menunjukkan terbentuknya fragmen yang tebal pada sampel-sampel tersebut (Gambar 4.1).

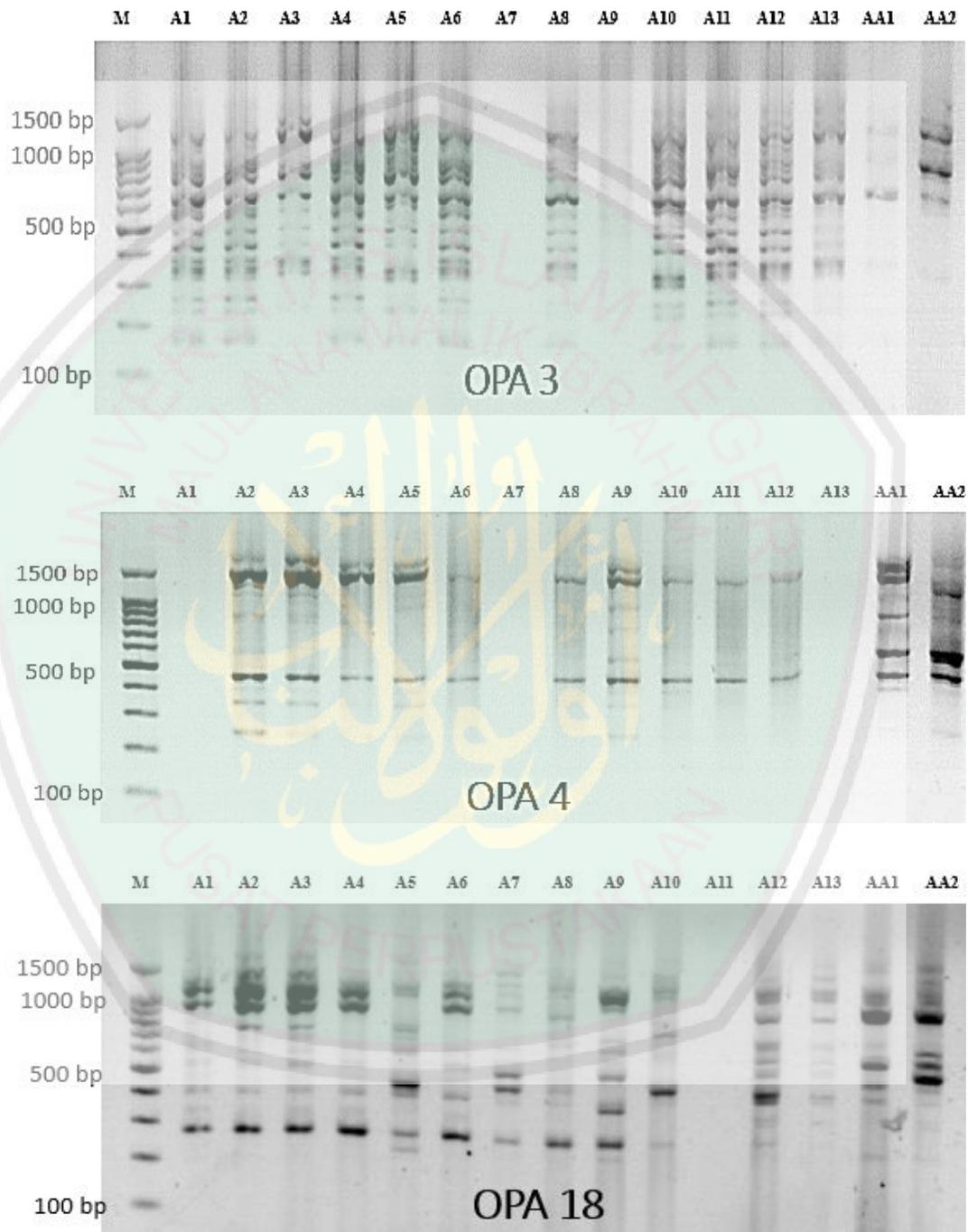
4.2 Amplifikasi PCR-RAPD Pisang Ambon

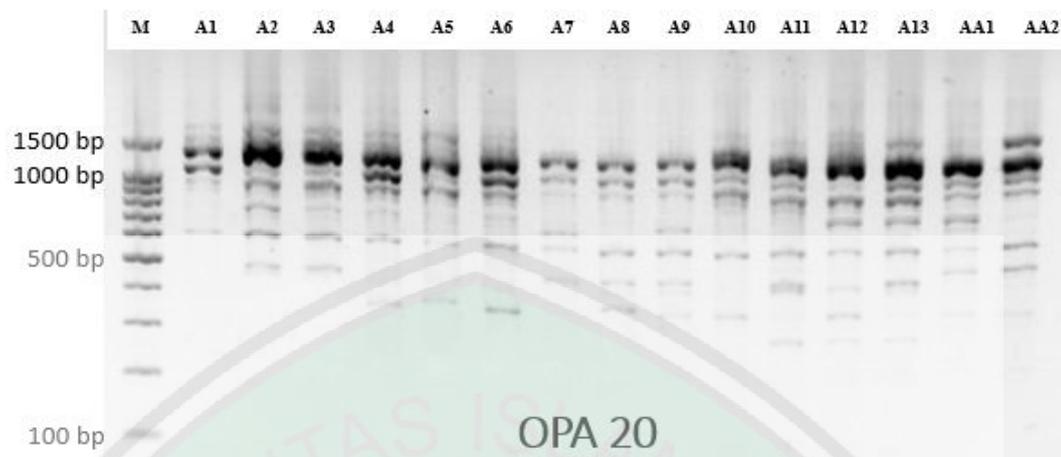
Hasil seleksi primer yang dilakukan menunjukkan hanya 11 primer dari 20 primer yang berhasil mengamplifikasi fragmen DNA pada Pisang Ambon yaitu OPA 1, OPA 2, OPA 3, OPA 4, OPA 5, OPA 11, OPA 16, OPA 17, OPA 18, OPA 19, OPA 20 (Lampiran 1). Pita yang dihasilkan dari 11 primer tersebut dapat digunakan untuk analisis keragaman genetik pada Pisang Ambon, dikarenakan hasil tersebut menunjukkan adanya fragmen polimorfik dan fragmen yang dihasilkan sangat jelas (Gambar 4.2). Lynch dan Milligan (1994) menyatakan bahwa RAPD secara umum dapat memberikan data yang dapat digunakan untuk analisis keragaman genetik di dalam dan antara populasi spesies.

Sebelas primer yang mampu mengamplifikasi DNA Pisang Ambon menunjukkan adanya fragmen polimorfik (Gambar 4.2), namun tidak semua primer dapat mengamplifikasi seluruh sampel secara keseluruhan. Fragmen yang dihasilkan pada masing – masing sampel memiliki panjang *base pair* yang bernekaragam, berkisar antara 140 bp - 1500 bp. Tidak munculnya fragmen hasil amplifikasi dapat dimungkinkan bahwa sekuen pada sampel tersebut tidak memiliki sekuen yang cocok dengan primer yang digunakan.

Adanya fragmen yang muncul pada semua sampel, seperti yang ditunjukkan pada OPA 20 dengan panjang 1500bp (Gambar 4.2), kemungkinan menunjukkan adanya suatu sifat yang sama yang dimiliki oleh semua sampel. Namun marka RAPD tidak mampu memprediksi sifat yang dikode oleh suatu

fragmen, sehingga perlu dilakukan proses lebih lanjut untuk mengetahui sifat yang dikode oleh fragmen tersebut.





Gambar 4.2 Hasil seleksi amplifikasi DNA menggunakan marka RAPD. Keterangan: M (marker 100bb), A1 (Ambon Byok), A2 (Ambon Merah), A3 (Ambon Warangan), A4 (Ambon Putih), A5 (Ambon Sepet), A6 (Ambon Kuning), A7 (Ambon Lumut), A8 (Ambon Emprit), A9 (Ambon Kecil), A10 (Ambon Jaran), A11 (Ambon Hong), A12 (Ambon Hijau), A13 (Ambon), AA1 (Mas Jambe), AA2 (Becici Kuning)

4.3 Kekuatan Primer pada Marka RAPD

Terdapat 105 fragmen yang teramplifikasi dari 11 primer terpilih. Jumlah fragmen yang dihasilkan tiap primer bervariasi antara 8-12 fragmen (Tabel 4.2). Fragmen paling sedikit (8 fragmen) dihasilkan pada primer OPA 2, OPA 5 dan OPA 8; sedangkan fragmen paling banyak (12 fragmen) dihasilkan pada primer OPA 3 dan OPA 18. Presentase polimorfik yang dihasilkan berkisar antara 33 – 100 %. Primer dengan presentase polimorfik terendah adalah OPA 16 (33%), dan primer dengan presentase polimorfik tertinggi (100%) adalah OPA1, OPA 2, OPA 3, OPA 4, OPA 5, OPA 17, OPA 18 dan OPA 19 (Tabel 4.2). Yusron (2005) menyatakan bahwa populasi yang memiliki polimorfisme yang tinggi, memiliki peluang hidup lebih baik.

Identifikasi primer yang paling informatif diketahui dari nilai PIC (*Polymorphism Information Content*) suatu primer. Pada penelitian ini nilai PIC

yang diperoleh berkisar antara 0,16 – 0,38 (Tabel 4.2). Nilai PIC tertinggi ditunjukkan oleh primer OPA 3, sedangkan nilai PIC terendah ditunjukkan oleh primer OPA 20 (Tabel 4.2). Nilai maksimal PIC pada marka RAPD adalah 0,5 (Dhakshanamoorthy *et. al.*, 2014). Rentang nilai PIC pada marka dominan seperti RAPD berkisar antara 0 – 0,5. Semakin tinggi nilai PIC yang dimiliki oleh primer tertentu menunjukkan bahwa primer tersebut semakin baik digunakan untuk mengetahui variasi genetik (Rolan-Ruiz *et. al.*, 2000).

Nilai EMR (*Effective Multiplex Ratio*) pada masing-masing primer OPA pada penelitian ini berkisar antara 27 – 144, dengan rata-rata 79,64 per primer (Tabel 4.2). Primer OPA 3 dan OPA 18 menghasilkan nilai EMR paling tinggi (144), sedangkan primer OPA 16 menghasilkan nilai EMR paling rendah (27) (Tabel 4.2). Nilai EMR digunakan untuk mengetahui jumlah fragmen polimorfik pada sampel yang diamati. Semakin tinggi nilai EMR, maka semakin efektif primer tersebut dalam menghasilkan fragmen polimorfik (Roldan-Ruiz *et. al.*, 2000). Primer yang paling efektif dalam menghasilkan fragmen polimorfik pada sampel pisang Ambon adalah OPA 3 dan OPA 18.

Nilai MI (*Marker Index*) berkisar antara 5,23 – 54,40 dengan rata-rata 24,19 per primer (Tabel 4.2). Nilai MI tertinggi dihasilkan oleh primer OPA 3 (54,40), sedangkan nilai MI terendah dihasilkan oleh primer OPA 16 (5,23) (Tabel 4.2). Nilai MI digunakan untuk mengetahui indeks primer dalam menghasilkan fragmen polimorfik (Varshney *et. al.*, 2007). Primer yang paling baik dalam menghasilkan fragmen polimorfik menurut nilai MI adalah primer OPA 3.

Nilai Rp (*Resolution Power*) pada penelitian ini diketahui berkisar antara 5,73 – 15,20 dengan rata-rata 9,26 per primer (Tabel 4.2). Nilai Rp tertinggi dihasilkan oleh primer OPA 11 (15,20), sedangkan nilai Rp terendah dihasilkan oleh primer OPA 19 (5,73) (Tabel 4.2). Nilai Rp digunakan untuk menentukan kekuatan suatu primer dalam menghasilkan fragmen yang jelas. Semakin tinggi nilai Rp maka semakin baik suatu primer dalam menghasilkan fragmen yang jelas (Prevost dan Wilkinson, 1999). Primer yang mampu menghasilkan fragmen yang jelas adalah primer OPA 11.

Tabel 4.2 Hasil Analisis Kekuatan Primer

No	Primer	TNB	NPB	PB(%)	PIC	EMR	MI	Rp
1.	OPA 1	9	9	100	0,36	81	28,80	6,00
2.	OPA 2	8	8	100	0,31	64	19,63	6,13
3.	OPA 3	12	12	100	0,38	144	54,40	10,80
4.	OPA 4	11	11	100	0,28	121	33,44	6,13
5.	OPA 5	8	8	100	0,35	64	22,61	6,00
6.	OPA 11	10	5	50	0,17	50	8,36	15,20
7.	OPA 16	9	3	33	0,19	27	5,23	13,33
8.	OPA 17	8	8	100	0,28	64	18,06	10,53
9.	OPA 18	12	12	100	0,28	144	39,89	7,87
10.	OPA 19	9	9	100	0,37	81	29,83	5,73
11.	OPA 20	9	4	44	0,16	36	5,83	14,13
Total		105	89	927,78	3,12	876	266,08	101,87
Rata-Rata		9,55	8,09	84,34	0,28	79,64	24,19	9,26

Keterangan: TNB: total number of bands; NPB: number of polymorphic bands; PB (%): polymorphic band percentage; PIC: polymorphism information content; EMR: effective multiplex ratio; MI: marker index; Rp: resolution power

4.4 Keragaman Genetik dan Pengelompokan Pisang Ambon berdasarkan

Marka RAPD

Nilai koefisien similaritas pisang Ambon berkisar antara 0,323 – 0,758 (Tabel 4.3). Berdasarkan nilai koefisien tersebut maka dapat dikatakan keragaman genetik pisang Ambon tergolong rendah. Rendahnya keragaman genetik tersebut

dimungkinkan karena sampel yang digunakan memiliki genom yang sama, yakni genom AAA. Nilai koefisien similaritas tertinggi yaitu 0,758 terdapat pada sampel A2 (Ambon Merah) dan sampel A3 (Ambon Warangan), yang menunjukkan kedua sampel tersebut memiliki kemiripan yang tinggi (berkerabat). Sedangkan nilai koefisien similaritas terendah bernilai 0,323 dimiliki oleh sampel A1 (Ambon Byok) dan sampel A7 (Ambon Lumut), yang menunjukkan bahwa kedua sampel tersebut berbeda (tidak berkerabat). Semakin kecil nilai koefisien similaritas (mendekati nol), maka hubungan kekerabatannya semakin jauh dan sebaliknya semakin besar nilai koefisien similaritas (mendekati satu), maka hubungan kekerabatannya semakin dekat (Wijayanto *et al.* 2013).

Tabel 4.3 Koefisien similaritas Jaccard 13 kutivar pisang Ambon dan 2 pisang liar

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	AA1	AA2
A1	1,000														
A2	0,667	1,000													
A3	0,603	0,758	1,000												
A4	0,607	0,591	0,547	1,000											
A5	0,569	0,557	0,585	0,586	1,000										
A6	0,682	0,696	0,600	0,656	0,567	1,000									
A7	0,323	0,333	0,359	0,357	0,356	0,391	1,000								
A8	0,545	0,565	0,561	0,643	0,600	0,694	0,455	1,000							
A9	0,421	0,462	0,493	0,531	0,478	0,542	0,433	0,594	1,000						
A10	0,439	0,485	0,371	0,491	0,508	0,531	0,431	0,589	0,418	1,000					
A11	0,578	0,551	0,457	0,596	0,508	0,651	0,386	0,667	0,530	0,600	1,000				
A12	0,500	0,480	0,432	0,508	0,394	0,588	0,456	0,597	0,500	0,484	0,633	1,000			
A13	0,600	0,549	0,544	0,567	0,485	0,597	0,439	0,690	0,507	0,517	0,644	0,712	1,000		
AA1	0,453	0,420	0,467	0,547	0,451	0,534	0,381	0,609	0,652	0,391	0,522	0,536	0,591	1,000	
AA2	0,459	0,462	0,493	0,508	0,457	0,521	0,410	0,619	0,636	0,397	0,530	0,522	0,552	0,677	1,000

Keterangan: A1 (Ambon Byok), A2 (Ambon Merah), A3 (Ambon Warangan), A4 (Ambon Putih), A5 (Ambon Sepet), A6 (Ambon Kuning), A7 (Ambon Lumut), A8 (Ambon Emprit), A9 (Ambon Kecil), A10 (Ambon Jaran), A11 (Ambon Hong), A12 (Ambon Hijau), A13 (Ambon), AA1 (Mas Jambe), AA2 (Becici Kuning)

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa Pisang Ambon Lumut merupakan salah satu pisang yang perlu untuk dikonservasi dan dijadikan sebagai kandidat pemuliaan tanaman, hal ini dikarenakan pisang Ambon Lumut sangat berbeda

dengan pisang Ambon yang lain pada penelitian ini. Ambon Lumut diduga memiliki suatu ciri yang tidak dimiliki pisang Ambon lain dalam penelitian ini. Hubungan kekerabatan antara satu jenis/kultivar pisang dengan jenis/kultivar lainnya merupakan gambaran dari keragaman populasi. Keragaman populasi tanaman pisang sangat diperlukan dalam penyusunan strategi pemuliaan guna mencapai perbaikan varietas pisang secara efisien dan strategi konservasinya untuk mengatasi duplikasi plasma nutfah (Sobir *et al.* 2006; Sukartini 2007). Allah SWT menjelaskan dalam surat ar-Ra'd (13):4

وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُتَجَوِّرَةٌ وَجَنَّتْ مِّنْ أَعْنَبٍ وَزَّرَعَ وَنَخِيلٍ صِنَوَانٍ وَغَيْرِ صِنَوَانٍ يُسْقَى بِمَاءٍ وَاحِدٍ وَنُفْصَلٌ
بَعْضُهَا عَلَى بَعْضٍ فِي الْأَكْلِ ۚ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ

Artinya: “Dan di bumi ini terdapat bagian-bagian yang berdampingan, dan kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman dan pohon kurma yang bercabang dan yang tidak bercabang, disirami dengan air yang sama. Kami melebihkan sebahagian tanam-tanaman itu atas sebahagian yang lain tentang rasanya. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berpikir”. (QS. ar-Ra'd (13):4)

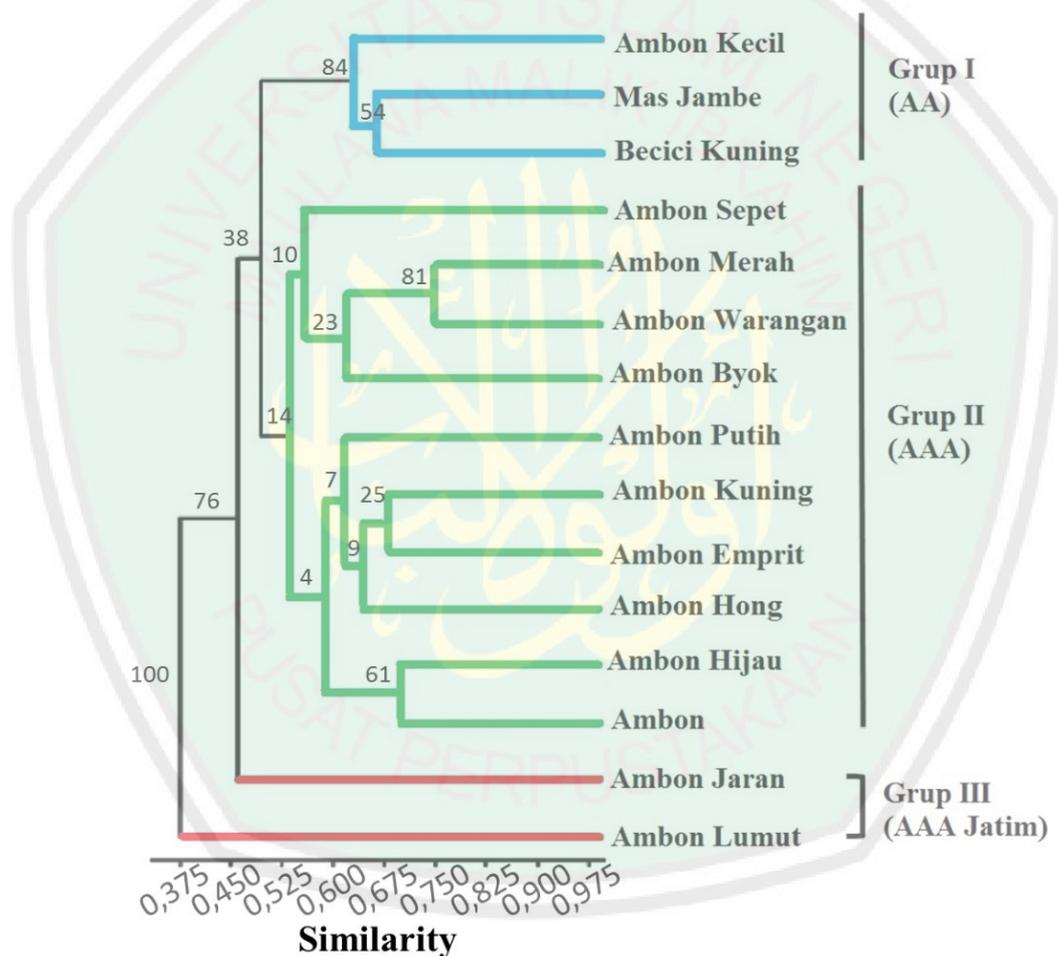
Kalimat *وَنُفْصَلٌ بَعْضُهَا عَلَى بَعْضٍ* pada ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT telah “*melebihkan sebagian tanaman atas tanaman yang lain*”, maksud dari ayat tersebut adalah Allah SWT menciptakan berbagai jenis tumbuhan yang memiliki bentuk, warna, rasa yang berbeda padahal semua yang tumbuh berasal dari satu zat alam yang sama yaitu air (Katsir, 2004). Keragaman yang ada tersebut menyebabkan manusia beranggapan bahwa suatu tumbuhan lebih unggul dari tumbuhan lain, misalnya dalam segi rasa buah yang manis dianggap lebih unggul dari buah yang memiliki rasa masam, atau dari segi produksi tanaman yang mampu menghasilkan buah lebih banyak/besar dianggap lebih unggul dari tanaman yang menghasilkan buah sedikit/kecil.

Analisis *clustering* pada 15 kultivar pisang Ambon menghasilkan pengelompokan pisang ambon ke dalam 3 grup, yaitu grup I, grup II dan grup III (Gambar 4.3). Grup I dan Grup II memiliki nilai koefisien similaritas 0,50 dan grup III terpisah dengan nilai 0,375. Pisang – pisang yang digunakan dalam penelitian ini mengelompok secara acak dan tidak mengelompok berdasarkan daerah persebaran sampel.

Pisang – pisang yang tergolong dalam grup I antara lain A9 (Ambon Kecil), AA1 (Mas Jambe) dan AA2 (Becici Kuning). Pisang - pisang yang mengelompok pada grup I ini diduga memiliki genom AA, hal ini dikarenakan pisang yang digunakan sebagai *out-grup* mengelompok pada grup ini. Pisang yang digunakan sebagai *out-grup* pada penelitian ini adalah Mas Jambe dan Becici kuning, dimana kedua pisang tersebut merupakan pisang dengan genom AA (Jumari dan Pudjoarianto, 2000).

Pisang yang mengelompok pada Grup II antara lain A1 (Ambon Byok), A2 (Ambon Merah), A3 (Ambon Warangan), A4 (Ambon Putih), A5 (Ambon Sepet), A6 (Ambon Kuning), A8 (Ambon Emprit), A11 (Ambon Hong), A12 (Ambon Hijau) dan A13 (Ambon). Pisang yang mengelompok pada grup II merupakan pisang yang memiliki genom AAA. Grup I dan Grup II memisah berdasarkan perbedaan genom, dimana grup I beranggotakan pisang yang memiliki grup genom AA (diploid) sedangkan grup II beranggotakan pisang yang memiliki grup genom AAA (triploid). Secara morfologi yang membedakan antara pisang yang memiliki genom AA (diploid) dan genom AAA (triploid) antara lain habitus daun, tinggi tanaman dan ukuran buah (Hapsari, 2015a).

Pisang yang memiliki genom AA memiliki habitus daun yang tegak, sedangkan pisang dengan genom AAA memiliki habitus daun normal hingga terkulai. Sedangkan dari segi tinggi tanaman, pisang yang memiliki genom AAA memiliki perawakan lebih tinggi daripada pisang dengan genom AA. Ukuran buah pisang yang memiliki genom AA lebih kecil dibanding ukuran pisang dengan genom AAA (Hapsari, 2015a).



Gambar 4.3 Fenogram pengelompokan Pisang Ambon di Jawa Timur dan Jawa Tengah berdasarkan marka RAPD

Pisang yang mengelompok pada Grup III adalah A7 (Ambon Lumut) dan A10 (Ambon Jaran). Grup III diketahui mengelompok berdasarkan lokasi asal sampel, dimana kedua pisang tersebut merupakan pisang yang berasal dari Jawa

Timur. Allah SWT menjelaskan dalam surat ar-Ra'd (13):4

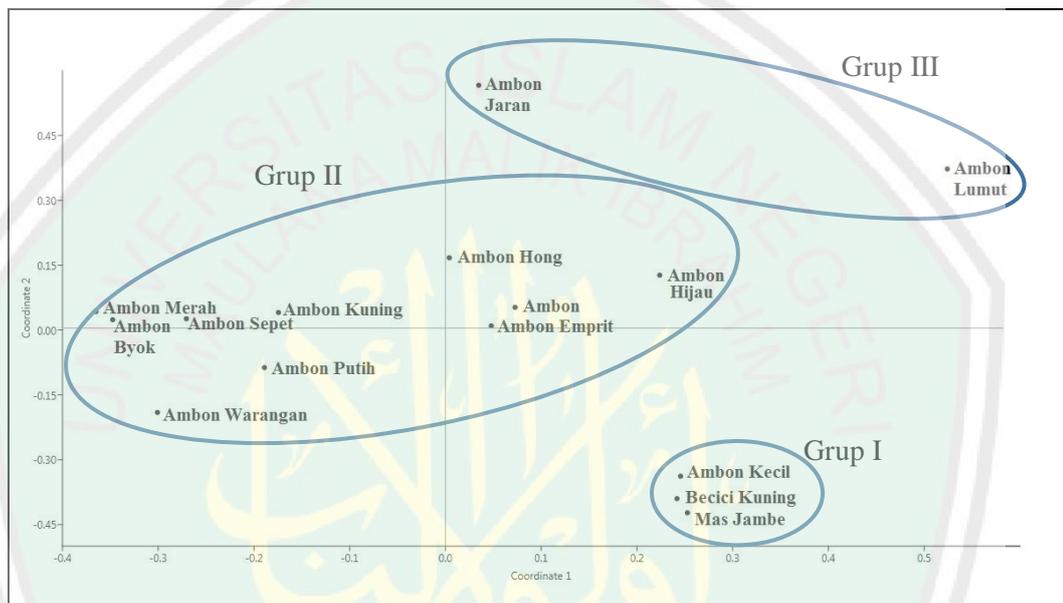
وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُتَّجِرَاتٌ وَجَنَّاتٌ مِّنْ أَعْنَابٍ وَزُرْعٌ وَنَخِيلٌ وَصِنَوَانٌ وَغَيْرُ صِنَوَانٍ يُسْقَىٰ بِمَاءٍ وَجِدٍ وَنُفْصَالٍ
بَعْضَهَا عَلَىٰ بَعْضٍ فِي الْأُكُلِ ۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ

Artinya: “Dan di bumi ini terdapat bagian-bagian yang berdampingan, dan kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman dan pohon kurma yang bercabang dan yang tidak bercabang, disirami dengan air yang sama. Kami melebihkan sebahagian tanam-tanaman itu atas sebahagian yang lain tentang rasanya. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berpikir”. (QS. ar-Ra'd (13):4)

Kata *مُتَّجِرَاتٌ* dalam ayat tersebut menunjukkan bahwa Allah SWT telah menciptakan “*bagian-bagian yang berdampingan*”, menurut pendapat yang diriwayatkan oleh Ibnu Abbas, Mujahid dan Sa'id bin Jubair kata “*berdampingan*” yang dimaksud adalah tanah-tanah yang berdekatan antara satu dengan yang lain. Tanah-tanah yang berdekatan tersebut memiliki karakteristik masing-masing dan memiliki kemampuan yang berbeda dalam menumbuhkan tanaman yang bermanfaat bagi manusia (Katsir, 2004). Beragamnya jenis tanah mempengaruhi keragaman jenis tumbuhan yang ada di bumi, tanaman yang tumbuh di satu lahan yang sama lebih mungkin memiliki kesamaan satu sama lain daripada tanaman yang tumbuh di lahan yang memiliki karakter yang berbeda. Hal tersebut yang mendukung hasil penelitian bahwa pisang Ambon Lumut dan Ambon Jaran mengelompok menjadi satu grup yang berasal dari Jawa Timur.

Pengelompokan pisang Ambon selain dapat dilihat dari fenogram (Gambar 4.3) yang terbentuk juga dapat dilihat berdasarkan pemetaan menggunakan PCoA (*Principal Coordinate Analysis*) (Gambar 4.4), dimana pada hasil pemetaan tersebut juga terbentuk 3 grup yang sesuai dengan fenogram yang terbentuk. Hal

ini menunjukkan hasil PCoA dapat memperjelas hasil pengelompokan fenogram. Nilai PcoA keragaman molekuler yang dinyatakan oleh aksis 1 dan 2 pada 13 kultivar pisang ambon dan 2 pisang liar menggunakan 20 primer RAPD menunjukkan nilai sebesar 41,43%. Nilai PcoA tersebut juga menunjukkan besarnya prosentase keragaman pada sampel yang digunakan.



Gambar 4.4 Pemetaan 13 kultivar Pisang Ambon dan 2 pisang liar berdasarkan Marka RAPD menggunakan PCoA (*Principal Coordinate Analysis*)

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah:

1. Marka RAPD dapat digunakan untuk mengetahui keragaman genetik, hal ini dikarenakan beberapa primer RAPD (OPA 3, OPA 4 dan OPA 18) mampu menghasilkan fragmen polimorfik.
2. Keragaman genetik pisang Ambon tergolong rendah yang disebabkan sampel pisang ambon yang digunakan memiliki kesamaan genom, sehingga sampel yang digunakan tidak direkomendasikan dalam upaya hibridisasi karena akan mengakibatkan adanya duplikasi plasma nutfah.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui sifat yang dikode oleh fragmen yang dihasilkan oleh marka RAPD, dengan menggunakan sequencing. Perlu dilakukan penelitian sejenis dengan menggunakan sampel pisang yang berbeda, sehingga dapat mempertegas bahwa marka RAPD dapat digunakan untuk mengetahui keagaman genetik pada tanaman pisang. Primer yang disarankan untuk digunakan dalam mengidentifikasi keragaman genetik pisang Ambon antara lain primer OPA 3, OPA 4 dan OPA 18.

DAFTAR PUSTAKA

- Argent, G.C.G. 1979. The wild bananas of Papua New Guinea, *Notes Roy. Bot. Gard. Edin.* 35 (1) : 77-114.
- Augustburger, F., J. Beger, U. Censkowsky, P. Heid, J. Milz and C. Streit. 2001. *Organic Farming in Tropics and Subtropic (Banana)*. German : United Nations Convergence on Trade and Development.
- Backer, C. A. dan R. C. Bahuizen Van Den Brink. 1968. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*. Wolters, Noordhoff N.V., Groningen, The Netherland.
- BB Biogen. 2004. *Katalog Data Paspor Plasma Nutfah Tanaman Pangan*. Edisi Pertama. Bogor : Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian.
- Brown, N.,S. Venkatasamy, G. Khittoo, T. Bahorun dan S. Jawaheer. 2009. Evaluation of genetic diversity between 27 banana cultivars (*Musa* spp.) in Mauritius using RAPD markers. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 8 (9): 1834-1840.
- Busaidi. 2013. Banana Domestication on the Arabian Peninsula : review of their domestication history. Directorate General of Agriculture and Livestock Research. *J. Academic*. 5(11): 194-203.
- Cahyono B. 1996. *Banana, Cultivation and farming business*. Jogjakarta: Kanisius Publisher.
- Cheesman, E.E. 1947. Classification of the banana II: The genus *Musa* L. *Kew Bull.* 2: 106-117.
- Dasuki, U. A. 1991. *Sistematik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: Pusat Antar Universitas Bidang Ilmu Hayati ITB.
- Dayarani M, Dhanarajan MS. 2014. Diversity and phylogenetic analysis of the genus *Musa*. *International Journal of ChemTech Research*. 6(4): 2357-2762
- De Jesus, O. N., S. de Oliveira e Silva, E. P. Amorim, C. F. Ferreira, J. M. S. de Campos, G. de Gapsari Silva dan A. Figureira. 2013. Genetic diversity and population structure of *Musa* accesions in ex-situ conservation. *BMC Plant Biol.* 13:41.
- De Langhe, E., L. Vrydaghs, P. 2009. Why Bananas matter: An introduction to the history of banana domestication. *Ethnobot. Res. & Appl.* 7:165-177.

- Doležel, J., M. Doleželová dan F.J. Novak. 1994. Flow cytometric estimation of nuclear DNA amount in diploid bananas (*Musa acuminata* and *Musa balbisiana*). *Biologia Pantarum*. 36 (3): 351-357.
- Ekasari, T.W.D., A. Retnoningsih dan T. Widianti. 2012. Analisis keanekaragaman kultivar pisang menggunakan penanda PCR-PFLP pada *Internal Transcribed Spacer* (ITS) DNA ribosom. *J. MIPA*. 35 (1): 21-30.
- Elameen, A., A. Larsen, Sonja S. K., Siri F., Leif S., Susan M., Esther M., Odd A. R. 2011. Phenotypic diversity of plant morphological and root descriptor traits within a sweet potato, *Ipomoea batatas* (L.) Lam., germplasm collection from Tanzania. *Genet Resour Crop Evol*. 58:397-407.
- Espino, R.R.C., S.H. Jamaludin, B. Silayoi dan R.E. Nasution. 1992. *Musa* L. (edible cultivars). dalam Verheij, E.W.M. dan R.E. Coronel (Eds.). *Plant Resources of South-East Asia No.2: Edible fruits and nuts*. Bogor: Prosea Foundation.
- FAO (Food Agriculture Organization). 2003. *Banana*. diakses pada 11 Maret 2018. <http://www.fao.org/economic/est/est-commodities/bananas/en/>,
- FAO (Food Agriculture Organization). 2013. *Banana market review*. Roma : FAO.
- Fauza H et al.2007. Variabilitas Genetik Tanaman Gambir Berdasarkan Marka RAPD. *Zuriat*. 18(2): 93-99.
- Guzow-Krzeminska B, Gorniak M & Wegrzyn G. 2001. Molecular determination keys: construction of keys for species identification based on restriction fragment length polymorphism. *Int. Arch. Biosci*.
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T., and P. D. Ryan, 2001. *PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis*. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9.
- Hapsari, L. 2011. Dua Dasawarsa Koleksi Pisang (Musaceae) Kebun Raya Purwodadi (1990-2010). *Berkala Penelitian Hayati Edisi Khusus* 5A:147-151.
- Hapsari, L. 2014. Wild *Musa* species collection of Purwodadi Botanical Garden: Inventory and its morpho-taxonomic review. *J. Trolis*. 4 (1): 70-81.
- Hapsari, L. dan A. Masrum. 2011. Keragaman dan karakteristik pisang (*Musa acuminata*) kultivar diploid AA koleksi Kebun Raya Purwodadi. dalam *Prosiding Seminar Nasional HUT Kebun Raya Cibodas ke-159*. 7 April 2011. Kebun Raya Cibodas – LIPI. hal 225-229.

- Hapsari, L., A. Masrum, D. A. Lestari. 2015b. Diversity of bananas (*Musa* spp.) in Madura Island, East Java: exploration and inventory. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*. 6 (3): 256-264.
- Hapsari, L., D. A. Lestari dan A. Masrum. 2015a. *Album Koleksi Pisang Kebun Raya Purwodadi Seri 1: 2010-1015*. Malang: LIPI-Balai Konservasi Tanaman Kebun Raya Purwodadi.
- Hughes, A. R., B. D. Inouye, M. T. J. Johnson, Nora U., dan Mark V. 2008. Ecological Consequences of Genetic Diversity. *Ecology Letter*. 11: 609-623.
- Husniyati, Tati. 2012. Analisis Variasi Genetik Populasi Tanaman Karet (*Hevea brasiliensis*) Sumber Eksplan untuk Perbanyakkan in Vitro berdasarkan RAPD. Skripsi. Bogor: IPB.
- Hutami, S., I. Mariska, dan Yati S. 2006. Peningkatan Keragaman Genetik Tanaman melalui Keragaman Somaklonal. *AgoBiogen*. 2 (2) : 81-88.
- 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.
- Irmawati. 2003. Perubahan Keragaman Genetik Ikan Kerapu Tikus Generasi Pertama Pada Stok Hatchery. *Thesis tidak diterbitkan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Irwanto. 2007. *Pisang Ambon Tidak ditemukan di Ambon*. <http://www.irwanto.info/pisang-ambon-tidak-ditemukan-di-kota-Ambon/>, diakses pada 12 Maret 2018.
- Ishaq, Abdullah Bin Muhammad Bin Abdurrahman. 2004. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 4 Penj. Abdul Ghofur E.M*. Jakarta : Pustaka Imam Assyafi'i.
- Jaccard P., Étude comparative de la distribution florale dans une portion des Alpes et des Jura. 1901. *Bulletin del la Société Vaudoise des Sciences Naturelles* 37: 547-579.
- Jazairi, Syaikh Abu Bakar Jabir. 2007. *Tafsir al-Qur'an Al-Aisar Jilid 4*, Alih Bahasa: Suratman dan Fityan Amali. Jakarta: Darus Sunnah Press.
- Jones CJ, KJ Edwards, S castaglione MO Winfield, F Sala, van de Weil, C Bredemeijer, G Vosman, B Matthes, M daly, A Brettschneider, R

- Bettini, P Buiatti, M Maestri, E Malcevschi, A Marmioli, N Aert, R Volckaert, G Rueda, R Linacero, R Vazquez, A Karp. 1997. Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR makers in Plants by a network of European laboratories. *Molecular Breeding*. Vol. 3: 381-390.
- Jumari & A. Pudjoarianto. 2000. Kekerabatan Fenetik Kultivar Pisang Di Jawa. *Biologi 2* (9): 531–542.
- Karsinah, Sudarsono, Setyobudi L, Aswidinnoor H. 2002. Keragaman genetik plasma nutfah jeruk berdasarkan analisis penanda RAPD. *Jurnal Bioteknologi Pertanian*. 7(1): 8-16.
- Kementerian Pertanian. 2016. *OUTLOOK Komoditas Pertanian Sub Sektor Hortikultura (Pisang)*. Jakarta: Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Kementerian Pertanian.
- Kheyrodin H, Ghazvinian K. 2011. DNA purification and isolation of genomic DNA from bacterial species by plasmid purification system. *Afr J Agricul Res*. 7: 433-442.
- Kiran, U., S. K. Moahnty, P. S. Roy, L. Behera dan P. K. Chand. 2015. Genetic diversity among banana cultivars from Odisha using RAPD markers. *Science Research Reporter*. 5(2):118-124
- Kumar NS, Gurusubramanian G. 2011. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and its applications. *Sci Vis*. 11 (3): 116-124.
- Kumari, N dan S.K. Thakur. 2014. Randomly Amplified Polymorphic Dna-A Brief Review. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*. 9 (1): 6-13.
- Kundu *et al.* 2011. A simple ethanol wash of the tissue homogenates recovers high-quality genomic DNA from *Corchorus* species characterized by highly acidic and proteinaceous mucilages. *Electron J Biotechnol*. 14: 1-7.
- Laurentin, H., P. Karlovsky. 2007. AFLP fingerprinting of sesame (*Sesamum indicum* L.) cultivars: identification, genetic relationship and comparison of AFLP informativeness parameters. *Genet. Resour. Crop Ev.* Vol. 54: 1437–1446.
- Li, L.F., H.Y. Wang, C. Zhang, X.F. Wang, F.X. Shi, W.N. Chen dan X.J. Ge. 2013. Origin and domestication of cultivated banana inferred from chloroplast and nuclear genes. *Plos ONE*. 8 (11).
- Li, L.F., M. Häkkinen, Y.M. Yuan, G. Hao dan X.J. Ge. 2010. Molecular phylogeny and systematic of banana family (Musaceae) inferred from nuclear and chloroplast DNA fragments, with a special reference to the genus *Musa*. *Mol. Phylo. Evol.* Vol. 57: 1-10.

- Liu, A.Z., W.J. Kress dan D.Z. Li. 2010. Phylogenetic analyses of the banana family (Musaceae) based on nuclear ribosomal (ITS) and chloroplast (trnL-F) evidence. *Taxon*. 59 (1): 20-28.
- Makunthakumar, S., P. Padmesh, P. S. Vineesh, R. Skaria, K. H. Kumar, P. N. Krishnan. 2013. Genetic diversity and differentiation ananalysis among wild antecedents of banana (*Musa acuminata* Colla) using RAPD markers. *Indian Journal of Biotechnology*. 12: 493-498.
- Mandzur, Asy-Sekh Abil Fadl Jamaluddin Muhammad. 1993. *Lisanul Arab*. Bereut, Libanon : Darul Khutub.
- McGregor, C.F., C.A. Lambert, M.M. Greyling, J.H. Louw, L. Warnich. 2000. A comparative assessment of DNA fingerprinting techniques (RAPD, ISSR, AFLP and SSR) in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.) germplasm. *Euphytica*. Vol. 113: 135-144.
- Megia. 2005. *Musa* sebagai model genom. *Hayati* 12 (4): 167-170.
- Nair, A.S., L. Resmi, A.R. Nair. 2016. Population genetic structure and diversity analysis of South Indian banana cultivars. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*. 8(1): 1-12.
- Nasution, R.E. 1991. A taxonomic study of the species *Musa acuminata* Colla with ITS intraspecific taxa in Indonesia. *Memoirs of Tokyo University of Agriculture*. 32: 1-122.
- Nasution, R.E. dan I. Yamada. 2001. *Pisang-pisang Liar di Indonesia*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi-LIPI. Bogor: Balai Penelitian Botani, Herbarium Bogoriense.
- Nwakanma, D. C., M. Pillay, B. E. Okoli dan A. Tenkuano. 2003. PCR-RFLP of the Ribosom DNA Internal Transcribed Spacer (ITS) Provide Marker for the A and B Genomes in *Musa* L. *Theor. Appl. Genet.* 108: 154-159.
- Olivia, S.R., B. Pranay, G. S. Kumar, T. S. Bhushan, G. P. Deb, M. T. Kumar. 2010. Assesment of Genetic Diversity in Banana (*Musa* spp.) of North-Eastern India by RAPD. *Bioremediation, Biodiversity and Bioaviabilitas*. 4(1): 93-98.
- Persoon, G. A. dan Merlin van Weerd. 2006. Biodiversity and Natural Resource Management in Insular Southeast Asia. *Island Studies Journal*. 1 (1): 81-108.
- Pillay, M., D. C. Nwakanma dan A. Tenkuano. 2000. Identification of RAPD Marker Linked to A and B Genomes Squences in *Musa* L. *Genome*. 43(5): 763-767.

- Prevost, A., M.J. Wilkinson. 1999. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theor. Appl. Genet.* Vol. 98: 107–112.
- Purwadaria, Hadi, K. 2006. *Issue and Solutionsof Fresh Fruits Export in Indonesia*. Indonesia: Departement of Agricultural Engineering Bogor Agriculture University
- Rao dan Hodgkin. 2002. Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic Resources. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 68: 1–19.
- Roldan-Ruiz, I., J. Dendauw, E. VanBockstaele, A. Depicker, M. De Loose. 2000. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium spp.*), *Mol. Breed.* Vol. 6: 125–134.
- Rubatzky, Vincent E. dan Mas Yamaguchi. 1998. *Sayuran Dunia : Prinsip, Produksi dan Gizi*. Bandung : Penerbit Institut Teknologi Bandung.
- Rukmana, R. 1999. *Usaha Tani Pisang*. Yogyakarta: Kanisius.
- Rusdiansyah, D. 2013. *Potensi dan Peluang Investasi serta Permasalahan Komoditi Pisang di Kalimantan Timur*. Badan Perijinan Penanaman Modal Daerah Provinsi Kalimantan Timur.
- Sagot, P. 1887. Sur le genre bananier. *Bulletin Social Bot. France.* 34: 328-330.
- Samsurianto. 2009. Analisa jumlah kromosom dan hubungan kekerabatan berdasarkan penanda fenotipe antar karakter pada beberapa plasma nutfah pisang (*Musa spp.*) asal Kalimantan Timur. *Bioprospek.* 6 (1): 55-62.
- Satuju, S. dan A. Supriyadi. 1999. *Budidaya Pisang, Pengolahan da Prospek Pasar*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Shihab, M.Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan Kesan dan Keserasian Al-Qur'an Volume 13*. Jakarta : Lentera Hati
- Siemonsma, J. S. and Piluek, K. 1994. *Plant Resources of South-East Asia No. 8: Vegetables*. Bogor : Prosea Fondation
- Simmonds, N. W. 1959. *Bananas*. London : Longmans Hijau and Co. Ltd.
- Simmonds, N.W. dan K. Shepherd. 1955. The taxonomy and origins of the cultivated banana. *Journal of Linnean Society (Botany)* 55:302-31.
- Simpson, M. G. 1953. *Plant Systematic*. Canada: Elsevier.

- Singh, H.P., Uma dan S. Sathiamoorthy S. 2001. *A tentative key for identification and classification of Indian bananas*. Tiruchipalli, India : National Research Center of Banana (NRCB).
- Sitompul, S. M. dan Guritno. 1995. *Analisis Pertumbuhan Tanaman*. Yogyakarta : UGM Press.
- Sobir, Rozyandra C & Darma K. 2006. Studi keragaman morfologi aksesi pisang koleksi dari Kabupaten Lampung Selatan. *Floribunda* 3 (1): 19–27.
- Stover, R.H., and Simmonds, N.W. 1964. *Bananas. Tropica Agriculture Series Third Edition*. New York: Longman Scientific & Technical.
- Suhardiman, P. 1997. *Cultivation of cavendish banana*. Jogjakarta: Kanisius.
- Sukartini 2007. Pengelompokan aksesi pisang menggunakan karakter morfologi IPGRI. *J. Hort.* 17 (1): 26–33.
- Sukartini. 2008. Pengelompokan Aksesi Pisang Menggunakan Karakter Morfologi IPGRI. *J. Hort.* 17(1): 23-26.
- Sumardi, I dan M. Wulandari. 2010. *Anatomy and Morfology Character of Five Indonesian Banana Cultivar (Musa spp.) of Different Ploidy Level*. Fakultas Biologi UGM. Yogyakarta.
- Tingey, S.V., J.A. Rafalski, dan M.K. Hanafey. 1994. Genetic analysis with RAPD markers. In: Coruzzi, C. and P. Puidormenech (eds.). *Plant Molecular Biology*. Belin: Springer-Verlag.
- Uma, S., J. Sudha, M.S. Saraswathi, M. Manickavasagam, R. Selvarajan, P. Durai, S. Sathiamoorthy dan S.A. Siva. 2006. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 79 (4): 523–527.
- United States Departement of Agriculture (USDA). 2006. Why is Genetic Diversity Important?. *Why We Care About Genetic*. Vol 1.
- 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. Los Banos, Laguna.
- Varshney, R.K., K. Chabane, P.S. Hendre, R.K. Aggarwal, A. Graner. 2007. Comparative assessment of EST-SSR, EST-SNP and AFLP markers for evaluation of genetic diversity and conservation of genetic resources using wild, cultivated and elite barleys. *Plant Sci*. Vol. 173. Page: 638–649.
- Verheij, E.W.M. dan R.E. Coronel (Eds.). *Plant Resources of South-East Asia No.2: Edible fruits and nuts*. Bogor: Prosea Foundation.

Wijayanto T, Dirvamena B & Ente L. 2013. Hubungan kekerabatan aksesi Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* Formatypica) di Kabupaten Muna berdasarkan karakter morfologi dan penanda RAPD. *J. Agroteknos* (3) 3: 163–166.

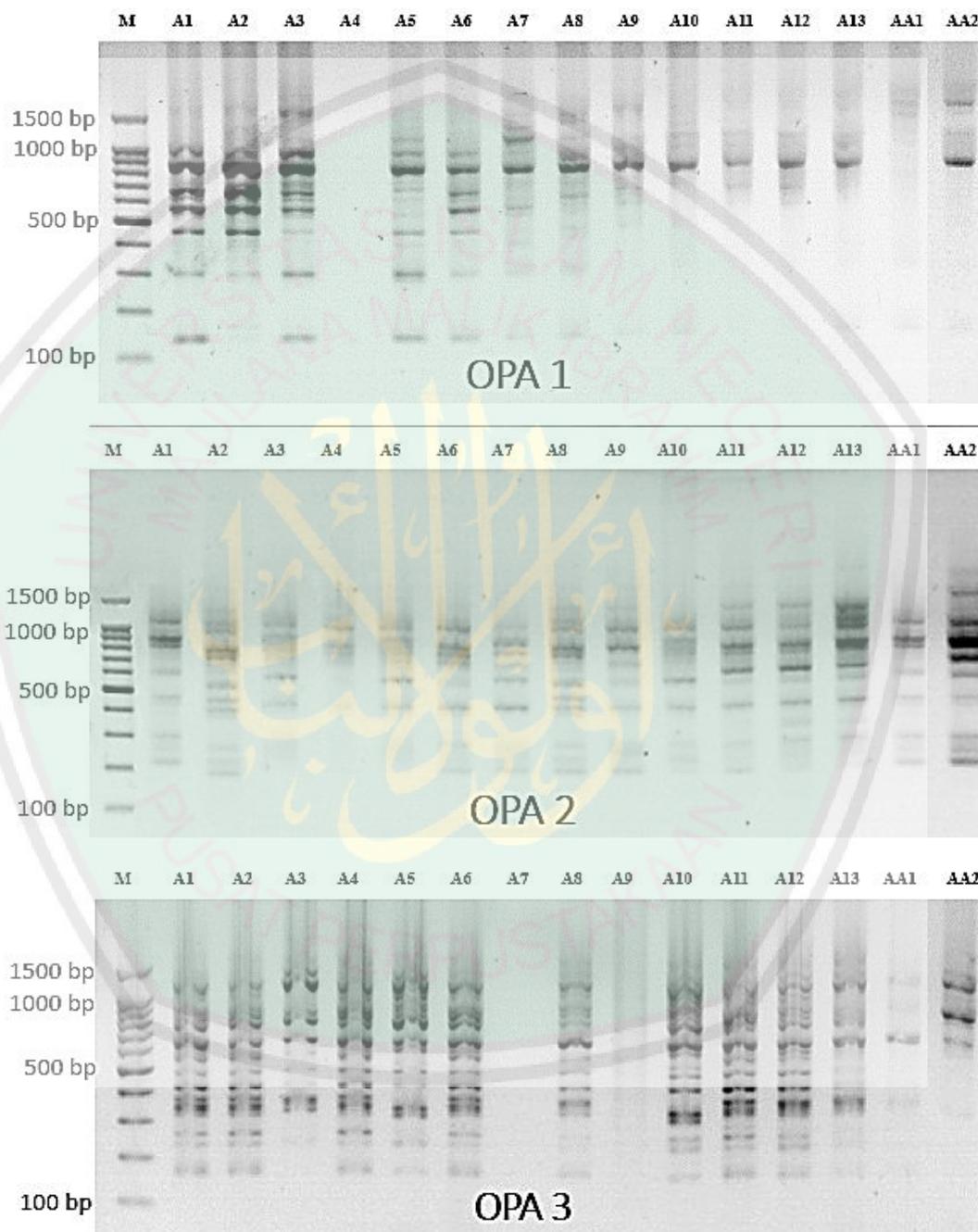
Witono JR. dan Kondo K. 2007. Genetic relationship of *Pinanga coronata* accesions by RAPD markers. *Chromosome Botany*. 2: 93-97.

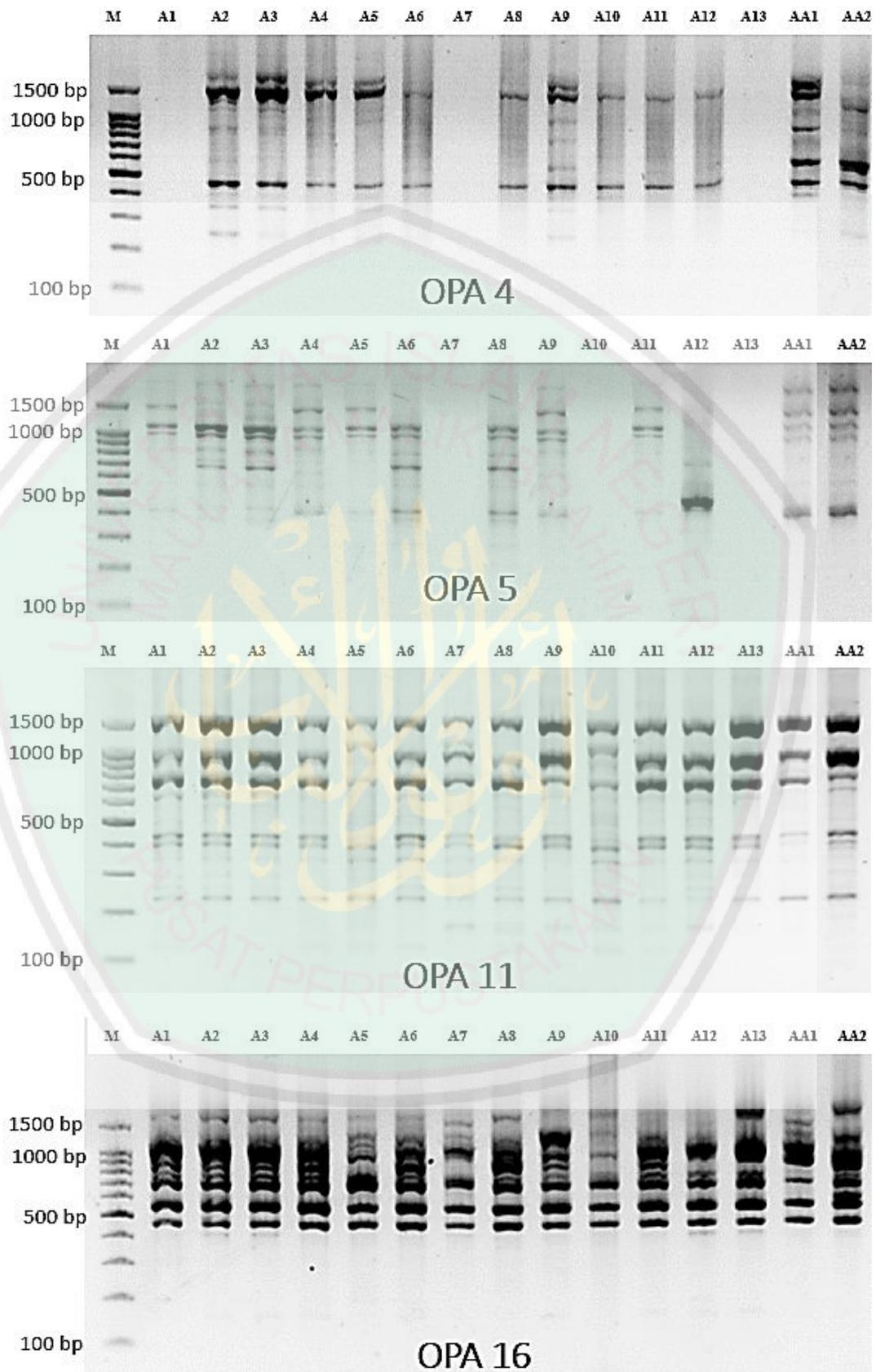
Yusron, E. 2005. Pemanfaatan keragaman genetik dalam pengolahan sumberdaya hayati laut. *Oseana*, 30(2):29-34.

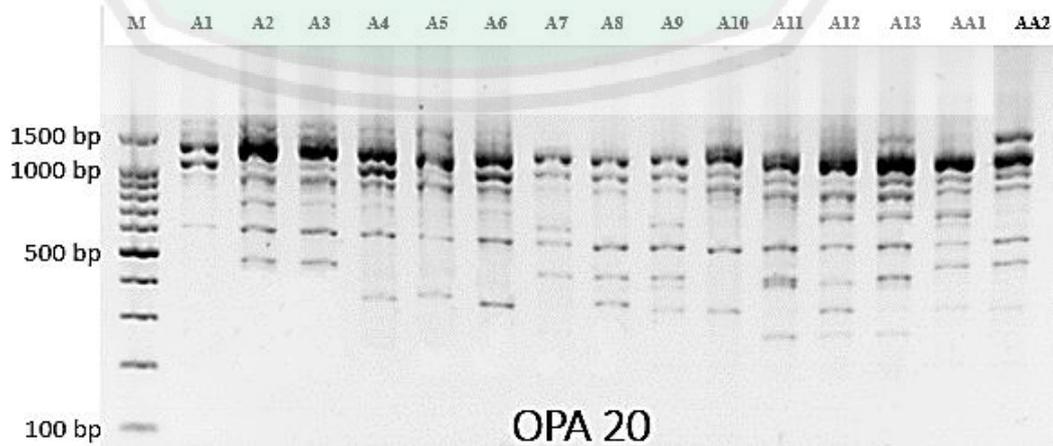
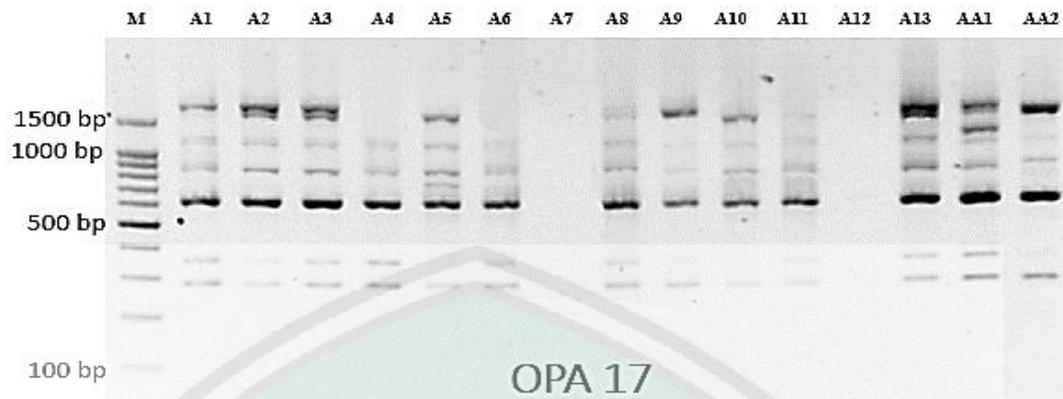


LAMPIRAN

Lampiran 1. Visualisasi Hasil Seleksi Amplifikasi menggunakan OPA 1-20







Lampiran 2. Karakter Morfologi 13 Pisang Ambon

a. Ciri-ciri pisang ambon kuning

1. Ukuran buah lebih besar dibanding jenis pisang ambon lainnya.
2. Kulit buah yang sudah matang berwarna kuning putih kemerahan.
3. Daging buah pulen, berasa manis dan beraroma harum.
4. Dalam satu tandan umumnya terdapat 7- 9 sisir dengan rata-rata persisir 10-12 buah pisang.
5. Buah cocok disantap sebagai buah segar.

b. Ciri-ciri pisang ambon lumut

1. Ukuran buah lebih kecil dibandingkan pisang ambon kuning.
2. Kulit buah berwarna hijau walaupun sudah matang, tetapi pada kondisi sangat matang berwarna hijau kekuningan dengan bercak cokelat kehitaman dan kulit lebih tebal daripada pisang ambon kuning.
3. Daging buah memiliki warna hampir sama dengan ambon kuning, hanya sedikit lebih putih.
4. Daging buah agak keras, berasa lebih manis dan beraroma lebih harum.
5. Dalam satu tandan terdapat 7-12 sisir pisang dengan rata-rata persisir 10-12 buah pisang.
6. Buah cocok disantap sebagai buah segar.

c. Ciri-ciri pisang ambon putih

1. Ukuran buah lebih besar dibandingkan pisang ambon lumut.
2. Kulit buah yang sudah matang berwarna kuning keputihan.
3. Daging buah berwarna putih kekuningan.
4. Daging buah berasa manis sedikit masam dan beraroma harum.
5. Dalam satu tandan terdapat 10-14 sisir dengan rata-rata persisir 10-12 buah pisang.
6. Buah cocok disantap sebagai buah segar.

d. Ciri-ciri pisang ambon warangan

1. Memiliki tinggi yang tergolong pendek ($< 2\text{m}$).
2. Batang semu berwarna kuning sampai hijau kekuningan, bersemu merah, lilin pada permukaan batang semu cukup banyak.
3. Perawakan daun terkulai, memiliki lebar $\pm 35\text{ cm}$ dan panjang $\pm 105\text{ cm}$, permukaan atas daun mengkilap sedangkan permukaan bawah daun berlilin.
4. Titik sisipan daun bersifat asimetri.
5. Tulang daun bagian atas berwarna kuning dan tulang daun bagian bawah berwarna hijau terang.

e. Ciri-ciri pisang ambon

1. Memiliki tinggi yang tergolong normal ($\pm 2\text{m}$).
2. Batang semu berwarna hijau kekuningan, lilin pada permukaan batang semu cukup banyak, getah berwarna putih susu.
3. Perawakan daun intermediet, memiliki lebar $\pm 24\text{ cm}$ dan panjang $\pm 75\text{ cm}$, permukaan atas daun mengkilap sedangkan permukaan bawah daun berlilin.
4. Titik sisipan daun bersifat simetri.

5. Tulang daun bagian atas dan tulang daun bagian bawah berwarna hijau terang.

f. Ciri-ciri pisang ambon emprit

1. Memiliki tinggi yang tergolong kerdil ($< 2\text{m}$).
2. Batang semu berwarna hijau kekuningan, lilin pada permukaan batang semu sangat sedikit, getah berwarna putih bening.
3. Perawakan daun intermediet, memiliki lebar $\pm 36\text{ cm}$ dan panjang $\pm 170\text{ cm}$, permukaan atas daun mengkilap sedangkan permukaan bawah daun berlilin.
4. Titik sisipan daun bersifat simetri.
5. Tulang daun bagian atas berwarna hijau terang dan tulang daun bagian bawah berwarna hijau.

g. Ciri-ciri pisang ambon hijau

1. Memiliki tinggi yang tergolong normal ($\pm 2\text{m}$).
2. Batang semu berwarna kuning sampai hijau kekuningan, lilin pada permukaan batang semu sangat sedikit, getah berwarna putih susu.
3. Perawakan daun intermediet, memiliki lebar $\pm 36\text{ cm}$ dan panjang $\pm 85\text{ cm}$, permukaan atas daun mengkilap sedangkan permukaan bawah daun berlilin.
4. Titik sisipan daun bersifat asimetri.
5. Tulang daun bagian atas berwarna hijau terang dan tulang daun bagian bawah berwarna hijau.

h. Ciri-ciri pisang ambon hong

1. Memiliki tinggi yang tergolong normal ($\pm 2\text{m}$).
2. Batang semu berwarna kuning sampai hijau kekuningan, bersemu merah, lilin pada permukaan batang semu sangat sedikit, getah berwarna putih susu.
3. Perawakan daun intermediet, memiliki lebar $\pm 43\text{ cm}$ dan panjang $\pm 130\text{ cm}$, permukaan atas daun mengkilap sedangkan permukaan bawah daun berlilin.
4. Titik sisipan daun bersifat asimetri.
5. Tulang daun bagian atas berwarna kuning dan tulang daun bagian bawah berwarna hijau terang.

i. Ciri-ciri pisang ambon byok

1. Memiliki tinggi yang tergolong normal ($\pm 2\text{m}$).
2. Batang semu berwarna hijau kekuningan, lilin pada permukaan batang semu sedikit, getah berwarna putih bening.
3. Perawakan daun intermediet, memiliki lebar $\pm 36\text{ cm}$ dan panjang $\pm 150\text{ cm}$, permukaan atas daun mengkilap sedangkan permukaan bawah daun berlilin.
4. Titik sisipan daun bersifat simetri.
5. Tulang daun bagian atas berwarna hijau tua dan tulang daun bagian bawah berwarna hijau.

j. Ciri-ciri pisang ambon jaran

1. Memiliki tinggi yang tergolong normal ($\pm 2\text{m}$).
2. Batang semu berwarna hijau kekuningan sampai hijau, lilin pada permukaan batang semu sedikit, getah berwarna putih susu.
3. Perawakan daun intermediet, memiliki lebar $\pm 41\text{ cm}$ dan panjang $\pm 90\text{ cm}$, permukaan atas daun mengkilap sedangkan permukaan bawah daun berlilin.

4. Titik sisipan daun bersifat asimetri.
5. Tulang daun bagian atas dan tulang daun bagian bawah berwarna kuning.

k. Ciri-ciri pisang ambon kecil

1. Memiliki tinggi yang tergolong kerdil ($< 2\text{m}$).
2. Batang semu berwarna kuning sampai hijau kekuningan, lilin pada permukaan batang semu sedikit, getah berwarna putih susu.
3. Perawakan daun terkulai, memiliki lebar $\pm 47\text{ cm}$ dan panjang $\pm 170\text{ cm}$, permukaan atas daun mengkilap sedangkan permukaan bawah daun berlilin.
4. Titik sisipan daun bersifat asimetri.
5. Tulang daun bagian atas berwarna kuning dan tulang daun bagian bawah berwarna hijau kekuningan.

l. Ciri-ciri pisang ambon merah

1. Memiliki tinggi yang tergolong normal ($\pm 2\text{m}$).
2. Batang semu berwarna merah keunguan, lilin pada permukaan batang semu sedikit, getah berwarna putih bening.
3. Perawakan daun intermediet, memiliki lebar $\pm 50\text{ cm}$ dan panjang $\pm 250\text{ cm}$, permukaan atas daun mengkilap sedangkan permukaan bawah daun berlilin.
4. Titik sisipan daun bersifat asimetri.
5. Tulang daun bagian atas dan tulang daun bagian bawah berwarna kemerahan.

m. Ciri-ciri pisang ambon sepet

1. Memiliki tinggi yang tergolong kerdil ($< 2\text{m}$).
2. Batang semu berwarna hijau kekuningan sampai hijau, bersemu merah, lilin pada permukaan batang semu cukup banyak, getah berwarna putih susu.
3. Perawakan daun terkulai, memiliki lebar $\pm 39\text{ cm}$ dan panjang $\pm 101\text{ cm}$, permukaan atas daun mengkilap sedangkan permukaan bawah daun berlilin.
4. Titik sisipan daun bersifat asimetri.
5. Tulang daun bagian atas dan tulang daun bagian bawah berwarna hijau kekuningan.



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.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : NURUL IZATUL ADNIN
NIM : 14620008
Program Studi : Biologi
Semester : VIII
Pembimbing : Didik Wahyudi, M. Si
JudulSkripsi : Keragaman Genetik 13 Kultivar Pisang Ambon (*Musa acuminata* grup AAA) di Jawa Timur dan Jawa Tengah berdasarkan Marka RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)

No	Tanggal Uraian	Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	2 Februari 2018	Konsultasi BAB I	
2.	4 Februari 2018	Revisi BAB I	
3.	7 Februari 2018	Konsultasi BAB II	
4.	2 Maret 2018	Revisi BAB II	
5.	10 Maret 2018	Konsultasi BAB III	
6.	20 Maret 2018	Revisi BAB I, II, dan III	
7.	11 April 2018	Konsultasi Hasil Penelitian	
8.	15 April 2018	Konsultasi BAB IV	
9.	5 Juli 2018	Konsultasi BAB I,II,III,IV dan V	

Malang, 5 Juli 2018

Pembimbing Skripsi,

Didik Wahyudi, M. Si
NIP. 198601022018011001

Ketua Jurusan,



Romaidi, M. Si., D. Sc
NIP. 19810201 200901 1 019



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.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI AGAMA SKRIPSI

Nama : NURUL IZATUL ADNIN
NIM : 14620008
Program Studi : Biologi
Semester : VIII
Pembimbing : Umaiyyatus Syarifah, M. A
JudulSkripsi : Keragaman Genetik 13 Kultivar Pisang Ambon (*Musa acuminata* grup AAA) di Jawa Timur dan Jawa Tengah berdasarkan Marka RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)

No	Tanggal Uraian	Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	2 Februari 2018	Konsultasi BAB I	
2.	10 Februari 2018	Konsultasi BAB II dan BAB III	
3.	8 Juni 2018	Konsultasi BAB IV	
4.	10 Juni 2018	Revisi BAB IV	
5.	11 Juni 2018	Konsultasi BAB I, II, III dan IV	
6.	5 Juli 2018	ACC BAB I, II,III,IV dan V	

Malang, 5 Juli 2018

Pembimbing Skripsi,

Umaiyyatus Syarifah, M. A
NIP. 198209252009012005

Ketua Jurusan,



Romaidh M. Si., D. Sc
NIP. 19810201 200901 1 019