

**DIVERSITAS GENETIK PISANG RAJA (*Musa x paradisiaca* L.)  
DI PULAU JAWA BERDASARKAN MARKA RAPD (*Random  
Amplified Polymorphic DNA*)**

SKRIPSI

Oleh:

**RASYADAN TAUFIQ PROBOJATI  
NIM 14620033**



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

**DIVERSITAS GENETIK PISANG RAJA (*Musa x paradisiaca* L.) DI  
PULAU JAWA 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:**

**Rasyadan Taufiq Probojati  
(NIM. 14620033)**

**JURUSAN BIOLOGI**

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG**

**2018**

**DIVERSITAS GENETIK PISANG RAJA (*Musa x paradisiaca* L.) DI  
PULAU JAWA BERDASARKAN MARKA RAPD (*Random Amplified  
Polumorphic DNA*)**

SKRIPSI

Oleh:  
**RASYADAN TAUFIQ PROBOJATI**  
NIM. 14620033/S-1

Telah disetujui oleh:

Pembimbing I

Didik Wahyudi, M. Si  
NIP. 198601022018011001

Pembimbing II

Umayyatus Syarifah, M.A  
NIP. 198209252009012005

Tanggal, Juli 2018

Mengetahui  
Ketua Jurusan Biologi



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


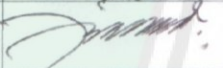
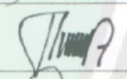
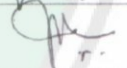
**DIVERSITAS GENETIK PISANG RAJA (*Musa x paradisiaca* L.) DI  
PULAU JAWA BERDASARKAN MARKA RAPD (*Random Amplified  
Polymorphic DNA*)**

SKRIPSI

Oleh:  
**RASYADAN TAUFIQ PROBOJATI**  
NIM. 14620033/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 : Rasyadan Taufiq Probojati

NIM : 14620033

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

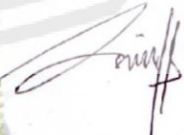
Judul Skripsi : Diversitas Genetik Pisang Raja (*Musa x paradisiaca* L.) di Pulau Jawa Berdasarkan Marka RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)

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

Malang, 4 Juli 2018

Penulis,



  
Rasyadan Taufiq  
NIM. 14620033

## LEMBAR 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 baginda alam yakni Nabi Muhammad SAW.

Terimakasih saya sampaikan kepada ibu saya Riefana Harti Wahjuni S.Pd. AUD dan bapak saya Drs. Sukarjiono yang telah sabar mendidik dan membimbing saya, mulai dari baru lahir sampai dewasa seperti sekarang ini. Ucapan Terimakasih ini tidak ada bandingnya dengan apa yang telah diberikan oleh orang tua saya. Semoga selalu diberi kesehatan dan dilindungi ALLAH SWT.

Ketiga adik saya Ridhan Mulki, Karina Candra, Radifan Fahmi, semoga selalu berbakti kepada kakak dan kedua orang tuanya, dan juga menjadi sukses dan berhasil kedepannya.

Terimakasih kepada teman tim BANANA Research (A. Affan, Nurul Izzatul, Lutfiana Hasanah) yang sudah memberikan support dan menemani penelitian sampai selesai, semoga kebaikan kalian selalu mendapatkan Ridho dari ALLAH SWT.

Terimakasih kepada seseorang yang bernama Tath Mainnul Qolbiya yang sudah memberikan semangat dalam penyelesaian penulisan tugas akhir ini, semoga kebaikanmu di balas oleh ALLAH SWT. dan berhasil kedepannya.

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

Teman-teman Biologi 2014 yang selalu bersama dalam suka dan duka, teman-teman Biologi 2014 yang selalu menyemangati saya semoga kita menjadi orang sukses dunia akhirat dan dapat bermanfaat bagi agama, nusa dan bangsa Amiin yaa Robbal ‘Alamiin.

## **MOTTO**

**“Take Action With Your Passion”**

**(Rasyadan)**

**Segala Perbuatan, Baik Yang Kecil Maupun Yang Besar, Semuanya  
Tercatat, Tidak Ada Yang Terlewatkan**



## KATA PENGANTAR



Puji dan Syukur penulis panjatkan kepada kehadiran Allah SWT yang telah memberikan nikmat yang sangat melimpah sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si). *Shalawat* serta salam selalu terlimpah curahkan kepada pemimpin umat islam sedunia yakni Nabi besar Muhammad SAW yang telah membimbing umatnya dari zaman kegelapan 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. H. Abdul Haris, M.Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M.Si, D.Sc selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Didik Wahyudi, M. Si selaku Dosen Pembimbing skripsi yang telah banyak meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan dengan penuh kesabaran.
5. Umayyatus Syarifah, M.A selaku Dosen Pembimbing Agama yang telah memberikan pengarahan dan pelajaran bersubstansi nilai-nilai moral kepada penulis.
6. Ir. Liliek Harini, M.P selaku Dosen Wali yang telah membimbing penulis baik akademik maupun non akademik dn 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, 04 Juli 2018

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL .....	i
LEMBAR PERSETUJUAN .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS .....	iv
LEMBAR PERSEMBAHAN .....	v
MOTTO .....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
ABSTRAK .....	xiv
ABSTRACT.....	xv
ملخص البحث.....	xvi
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	6
1.3 Tujuan.....	6
1.4 Manfaat.....	7
1.5 Batasan Masalah.....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>9</b>
2.1 Botani Umum Pisang.....	9
2.2 Pisang Raja .....	17
2.3 Syarat Tumbuh Pisang.....	20
2.4 Persebaran Pisang .....	22
2.5 Diversitas atau Keanekaragaman Genetik.....	23
2.6 Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) .....	26
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>28</b>
3.1 Rancangan Penelitian .....	28
3.2 Waktu dan Tempat .....	28
3.3 Alat dan Bahan .....	28
3.3.1 Alat.....	28
3.3.2 Bahan .....	29
3.4 Prosedur Penelitian.....	31
3.4.1 Ekstraksi DNA.....	31
3.4.2 Amplifikasi dan Visualisasi DNA .....	32
3.5 Analisis Data .....	33
3.5.1 Skoring Data .....	33
3.5.2 Analisis Kekuatan Primer .....	34
3.5.3 Analisis <i>Clustering</i> dan Principal coordinates Analysis (PCoA) .....	35
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>37</b>
4.1 Ekstraksi DNA .....	37
4.2 Ampifikasi PCR RAPD.....	40

4.2.1 <i>Screening</i> OPA 1-20 .....	40
4.2.2 Analisis Polimorfisme Hasil Amplifikasi Primer RAPD .....	43
4.3 Divesitas Genetik Pisang Raja Berdasarkan Marka RAPD .....	45
<b>BAB V PENUTUP</b> .....	<b>51</b>
5.1 Kesimpulan.....	51
5.2 Saran.....	51
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>52</b>

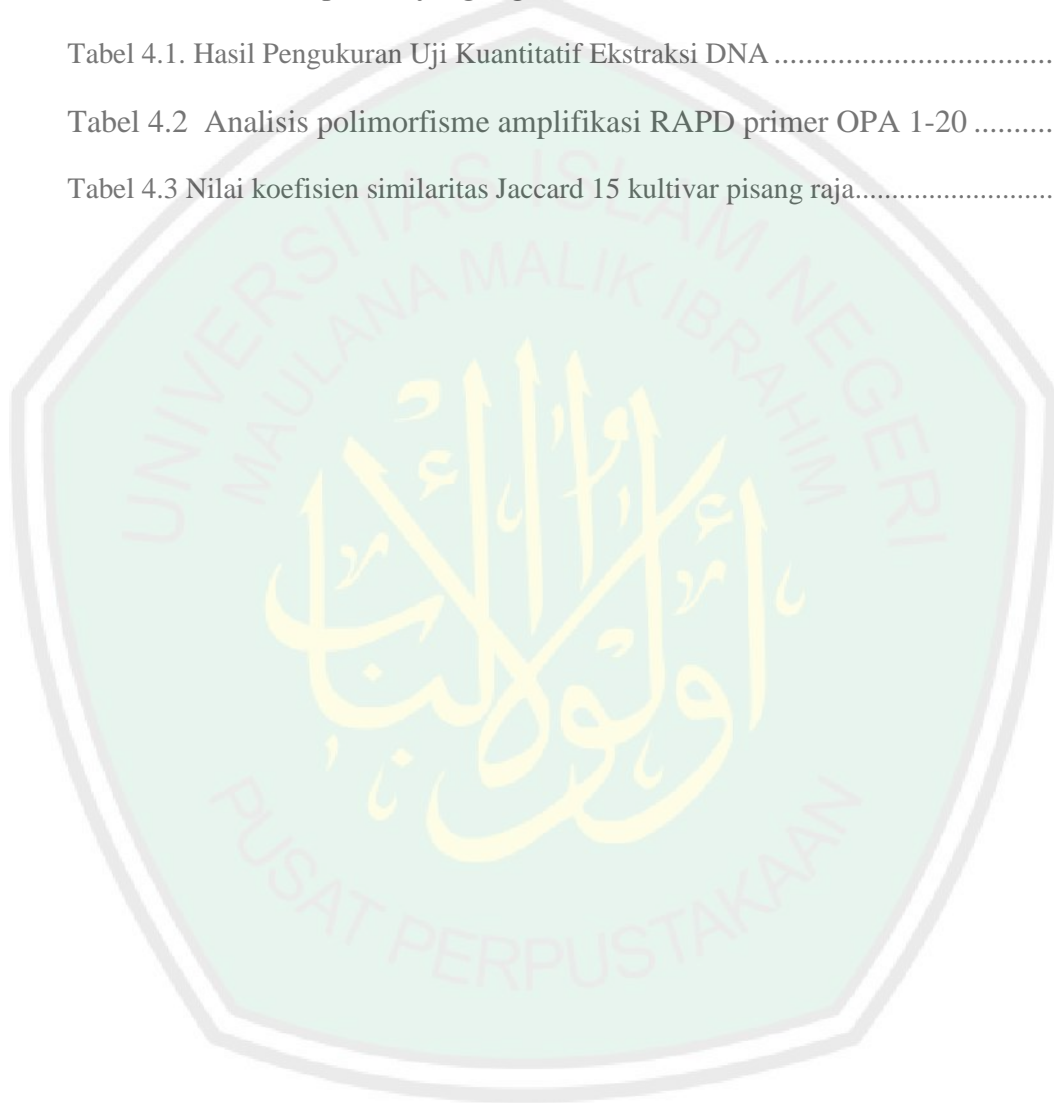


## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. <i>Cladogram</i> Ordo Zingiberales dengan sifat apomorfi terpilih.....	10
Gambar 2.2 Batang semu ( <i>pseudostem</i> ) terdiri dari pelepah yang menutup.....	12
Gambar 2.3. Batang semu pisang.....	13
Gambar 2.4. Bagian – bagian daun pisang.....	14
Gambar 2.5. Daun pisang muda masih menggulung .....	15
Gambar 2.6. Petiola (tangkai daun) pada tanaman pisang .....	15
Gambar 2.7. Penampakan Jantung pisang dan bunga .....	16
Gambar 2.8. Penampakan ovarium pisang inferus dan tiga ruang pada ovarium. ....	17
Gambar 2.9. Persebaran tiap <i>section</i> pada genus <i>Musa</i> .....	20
Gambar 2.10. Penggunaan primer yang berbeda akan menghasilkan posisi panjang basepare yang berbeda.....	23
Gambar 3.1. Cara penilaian pita dengan sistem <i>scoring</i> (1 = ada pita, 0 = tidak ada pita) .....	3
Gambar 4.1. Visualisasi hasil ekstraksi DNA menggunakan elektroforesis gel agarose 1% .....	35
Gambar 4.2. Pita unik hasil Amplifikasi RAPD .....	39
Gambar 4.3 Dendogram pengelompokkan pisang raja dan pengelompokkan berdasarkan genom menggunakan marka molekuler RAPD .....	45
Gambar 4.4 Principal co-ordinate map dari 15 sampel Pisang Raja berdasarkan marka molekuler RAPD.....	46

## DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Nama sampel yang digunakan yang digunakan.....	26
Tabel 3.2. Identitas primer yang digunakan.....	27
Tabel 4.1. Hasil Pengukuran Uji Kuantitatif Ekstraksi DNA .....	36
Tabel 4.2 Analisis polimorfisme amplifikasi RAPD primer OPA 1-20 .....	42
Tabel 4.3 Nilai koefisien similaritas Jaccard 15 kultivar pisang raja.....	43



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil amplifikasi RAPD .....	58
Lampiran 2. Skoring pita DNA.....	61



## ABSTRAK

Probojati, Rasyadan Taufiq. 2018. **Diversitas Genetik Pisang Raja (*Musa x paradisiaca* L.) di Pulau Jawa Berdasarkan Marka Molekuler RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).** Pembimbing (I) Didik Wahyudi, M.Si. Pembimbing (II) Umayatus Syarifah, M.A

---

**Kata Kunci:** *Pisang Raja, diversitas genetik, clustering, RAPD*

Pisang merupakan tanaman buah berbentuk herba dalam keluarga *Musaceae* yang sebagian besar tersebar di kawasan Asia Tenggara (termasuk Indonesia). Pusat keragaman pisang kultivar di Indonesia tersebar di wilayah pulau Jawa, Madura, Sulawesi dan Sumatera. Banyaknya pisang kultivar di Indonesia menyebabkan adanya perbedaan nama pada masing-masing daerah, sehingga mengakibatkan permasalahan dalam tata nama taksonomi, dan pengelompokan jenis pisang kultivar. Selama ini, pengelompokan pisang kultivar di Indonesia menggunakan karakter morfologi (fenetik). Namun, hasil penelitian tersebut seringkali kurang akurat karena bersifat subjektif. Pendekatan melalui marka molekuler dipercaya memiliki tingkat akurasi yang lebih tinggi guna pengelompokan pisang kultivar dibanding dengan pendekatan morfologi. Beberapa marka molekuler di atas yang sering digunakan dalam penelitian diversitas genetik pada tumbuhan adalah RAPD.

Metode yang digunakan pada 13 sampel pisang raja dan 2 sampel pisang liar yaitu isolasi DNA, uji kualitatif dan kuantitatif. Kemudian amplifikasi PCR menggunakan primer RAPD (OPA1-20). Setelah didapatkan hasil amplifikasi kemudian dilakukan analisis data yaitu: Skoring Data, Analisis Kekuatan Primer (*polymorphism information content* (PIC), *effective multiplex ratio* (EMR), *marker index* (MI), *resolution power* (Rp)), *clustering* (indeks similaritas Jaccard menggunakan aplikasi PAST (*Paleontological Statistics*) versi 3.15) dan *Principal coordinates Analysis* (PCoA).

Hasil dari penelitian ini yakni dari 20 primer terdapat 12 primer yang berhasil mengamplifikasi pita polimorfik DNA pada Pisang Raja (OPA 1, OPA 2, OPA 3, OPA 4, OPA 5, OPA 8, OPA 11, OPA 16, OPA 17, OPA 18, OPA 19, OPA 20). Nilai koefisien similaritas yang dihasilkan rendah dan pita polimorfik yang dihasilkan tinggi, sehingga diversitas genetik pisang Raja tinggi. Pisang Raja yang ada di Pulau Jawa mengelompok berdasarkan genomnya dengan menghasilkan 3 cluster dengan *outgroup* Raja Bali (R1). Cluster 1 adalah Raja Madu (R8), Raja Sereh (R3). Cluster 2 adalah Raja Jambe (R6), Raja Kriyak (R9), Raja Klutuk (R11), Raja Brentel (R12), Raja Seribu (R10), Raja Lini (R13), Monyet (AA3), Klutuk Wulung (BB1). Cluster 3 adalah Raja Bandung (R2), Raja Kisto (R4), Raja Gareng (R7), Raja Delima (R2).

**ABSTRACT**

Probojati, Rasyadan Taufiq. 2018. **Genetic Diversity of Raja Banana (*Musa x paradisiaca* L.) in Java Island Based on Molecular Marks of RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)**. Supervisor: (I) Didik Wahyudi, M.Si. Advisor (II) Umaiatus Syarifah, M.A

**Keywords:** Raja Banana, genetic diversity, clustering, RAPD

Banana is an herbaceous fruit in the group of Musaceae that mostly spread in Southeast Asia (including Indonesia). Center for diversity of cultivar banana in Indonesia spreads over the islands of Java, Madura, Sulawesi and Sumatra. The number of cultivar banana in Indonesia has caused the different names in each region, causing problems in taxonomic name, and grouping of cultivar banana. So far, grouping cultivar banana in Indonesia uses morphological (phenetic) characters. However, the results of these studies are often less accurate due to subjective research. Approaches through molecular markers are believed to have a higher degree of accuracy for cultivar banana grouping than with morphological approach. Some of the molecular markers above that are often used in research on the genetic diversity in plants are RAPD.

The method that was used on 13 samples of raja Banana and 2 samples of wild banana is DNA isolation, qualitative and quantitative test. Then PCR amplification used RAPD primer (OPA1-20). After obtaining the results of amplification and then performed data analysis: Data Scoring, Primary Strength Analysis (polymorphism information content (PIC), effective multiplex ratio (EMR), and marker index (MI), resolution power (Rp)), clustering (Jaccard similarity index using PAST (Paleontological Statistics) version of 3.15) and Principal coordinates Analysis (PCoA).

The results of the research in 20 primers, there are 12 primers that successfully amplify DNA polymorphic band on Raja Banana (OPA 1, OPA 2, OPA 3, OPA 4, OPA 5, OPA 8, OPA 11, OPA 16, OPA 17, OPA 18, OPA 19, OPA 20). The similarity coefficient value was low and the polymorphic band was high, so the genetic diversity of the Raja Banana was high. Raja Banana in Java Island is grouped by the genom by producing 3 clusters with out-groups Raja Bali (R1). Cluster 1 is Raja of Honey (R8), Raja of Citrus (R3). Cluster 2 is Raja of Jambe (R6), Raja of Kriyak (R9), Raja of Cow (R11), Raja of Brentel (R12), Raja Seribu (R10), Raja of Lini (R13), Monkey (AA3), Klutuk Wulung (BB1). Cluster 3 is Raja of Bandung (R2), Raja of Kisto (R4), Raja of Gareng (R7), Raja of Delima (R2)

## ملخص البحث

فروبوجاتي ، رشادا توفيق. ٢٠١٨. التنوع الجيني للموز راجا (موسى س. *Musa x paradisiaca* L.) في جافا القائمة على علامات الجزئية RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) الاشراف: ديديك وحيودي، الماجستير، وأمية الشريفة، الماجستير

الكلمات الرئيسية: الموز راجا ، التنوع الجيني ، التجميع ، RAPD الموز هو واحد من فاكهات في عائلة Musaceae التي انتشرت في معظمها في جنوب الشرق آسيا (خاصة إندونيسيا). مركز تنوع أصناف الموز في إندونيسيا ينتشر على جزر جاوة ومادورا وسولاويسي وسومطرة. تسبب العديد من الموز الأصناف في إندونيسيا الاختلافات في أسمائه في كل منطقة، مما أدى إلى مشاكل في تسمية التصنيف، وتجميع أنواع من الموز الأصناف. حتى الآن ، تجمع أصناف الموز في إندونيسيا باستخدام الأحرف المورفولوجية (الفينائية). ومع ذلك، فإن نتائج هذا البحث تكون في الغالب أقل دقة لأنها غير موضوعية. النهج هو من خلال علامات الجزئية التي عرفت من درجة أعلى من الدقة لتجمع الموز الأصناف المقارنة بالمنهج المورفولوجية. استخدم بعض العلامات الجزئية أحيانا في البحث المتعلقة بالتنوع الجيني في النباتات فهي RAPD

الطريقة المستخدمة في ١٣ عينات من الموز راجا و ٢ عينين من الموز البري هي عزل الحمض النووي ، الاختبار النوعي والكمي. استخدم التضخيم PCR باستخدام الابتدائي (OPA1-20) RAPD بعد حصل التضخيم ثم تحلل البيانات، وهي: يجرز البيانات، تحليل القوة الابتدائي (*polymorphism*) (*information content* (PIC))، ونسبة فعالة متعددة (EMR) ، مؤشر علامة (MI) ، قوة القرار (*resolution power*) والتجميع (مؤشر التشابه جكاردا باستخدام تطبيق PAST (Paleontological Statistics) للإصدار ٣.١٥ وتحليل الإحداثيات الأساسية (PCoA) نتائج هذا البحث، من ٢٠ الابتدائيات هناك ١٢ الابتدائية التي تضخيم الفرقة متعددة الأشكال DNA على الموز راجا (OPA 1) ، OPA 2 ، OPA 4 ، OPA 3 ، OPA 5 ، OPA 8 ، OPA 11 ، OPA 16 ، OPA 17 ، OPA 18 ، OPA 19 ، و OPA 20). ويكون قيمة معامل التشابه منخفضاً والشريط متعدد الأشكال مرتفعاً ، لذلك يكون التنوع الجيني للموز راجا عالياً في جزيرة جاوة تجتمع بواسطة غينوم بإنتاج ٣ مجموعات مع خارج المجموعة *outgroup* راجا بالي (R1) المجموعة ١ هي راجا العسل (R8) ، راجا الحمضيات (R3). المجموعة ٢ هي راجا جمبي (R6) ، راجا كريك (R9) ، راجا كلوتوك (R11) ، راجا برنتيل (R12) ، راجا سريبو (R10) ، راجا و (R13) ، القرد (AA3) ، كلوتوك وولونج (BB1) المجموعة ٣ هي راجا باندونغ (R2) ، راجا كستو (R4) ، راجا كارينج (R7) ، راجا دليما (R2)

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Produksi pisang saat ini tengah menjadi pusat perhatian dunia. Hal ini terbukti dengan produksi pisang dunia yang terus mengalami peningkatan dari tahun 1980 hingga 2013 (FAO, 2013; Kementerian Pertanian, 2016). Salah satu negara yang berkontribusi dalam produksi pisang dunia adalah Indonesia. Negara Indonesia telah berkontribusi sebesar 5,67% dan menduduki posisi keenam sebagai negara sentra produksi pisang dunia (FAO, 2013; Kementerian Pertanian, 2016). Beberapa daerah yang berkontribusi dalam produksi pisang di Indonesia diantaranya Jawa Timur sebesar 21,87%, Jawa Barat sebesar 19,22%, Lampung sebesar 18,20%, Jawa Tengah sebesar 7,68% (Kementerian Pertanian, 2016).

Pisang merupakan tanaman buah berbentuk herba dalam keluarga *Musaceae* yang sebagian besar tersebar di kawasan Asia Tenggara (termasuk Indonesia) (Nuswamarhaeni *et al.*, 1989; Kementerian Pertanian, 2016). Persebaran keragaman pisang di dunia diduga berawal dari Indo-Malesia, kemudian menyebar ke seluruh wilayah tropis dan subtropis di Asia, Amerika, Afrika, dan Australia (Simmonds & Shepherd, 1955; De Langhe *et al.*, 2009).

Saat ini, pengembangan pisang terpusat pada jenis pisang kultivar, karena merupakan komoditas hortikultura dari kelompok buah-buahan yang bernilai sosial dan ekonomi tinggi (Purwadaria, 2006). Seluruh jenis pisang kultivar yang dikenal saat ini diduga berasal dari hasil hibridisasi spesis pisang liar *Musa acuminata* Colla dan *Musa balbisiana* Colla. Banyaknya jenis pisang kultivar saat

ini diduga karena adanya persilangan secara alami, persilangan balik antar keturunan dengan tetuanya, mutasi, autoploiploidi, dan partenokarpi dari dua pisang liar. Selain itu, domestikasi, seleksi dan cara budidaya manusia juga berperan dalam evolusi dan penyebaran pisang ke berbagai tempat (Simmonds dan Shepherd, 1955; De Langhe *et.al.*, 2009).

Jenis pisang kultivar yang tersebar di Indonesia terdapat lebih dari 200 jenis dan berbeda penamaan dari setiap daerahnya. Beberapa jenis pisang kultivar yang menjadi unggulan di Indonesia diantaranya adalah pisang susu, pisang kepok, pisang tanduk, pisang nangka, pisang ambon, dan pisang raja (Nasution dan Yamada, 2001).

Allah SWT menciptakan beraneka ragam jenis tumbuhan yang tidak terhitung jumlahnya, seperti halnya pisang kultivar. Penciptaan yang beragam inilah bertujuan agar manusia dapat merenungkan dan mempelajari sehingga dapat diambil manfaatnya. Sebagaimana firman Allah SWT dalam al-qur'an surat Asy-Syu'ara/26: 7

أَو لَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝٧

Artinya: “Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuhan-tumbuhan yang baik?”

Menurut Bahreisy (1994) lafadz *أَو لَمْ يَرَوْا* “Dan apakah mereka tidak memperhatikan” pada ayat di atas menjelaskan bahwa Allah SWT mencela orang-orang yang tidak mau mempergunakan akal pikiran mereka untuk memperhatikan apa yang terjadi di alam ini yang setiap kejadian itu menunjukkan kepada kekuasaan Allah. Lafadz *كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا* “berapakah banyaknya Kami tumbuhkan” dan

lafadz *من كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ* “*pelbagai macam tumbuhan-tumbuhan yang baik?*” menjelaskan bahwa Allah SWT menumbuhkan tumbuh-tumbuhan yang beraneka ragam bentuk dan variasinya, masing-masing memiliki ciri khas batang, daun, bunga dan buah. Allah SWT menciptakan tumbuhan-tumbuhan yang ada di bumi ini beranekaragam dan masing-masing mempunyai karakteristik morfologi yang spesifik sehingga bisa dapat dibedakan antara satu tumbuhan dengan tumbuhan lainnya.

Allah SWT mengingatkan kebesaran kekuasaan-Nya, keagungan dan kemampuan-Nya. Dia lah yang Mahaperkasa, Mahaagung lagi Mahakuasa yang telah menciptakan bumi dan menmbuhkan di dalamnya tumbuh-tumbuhan yang baik berupa tanam-tanaman, buah-buahan dan hewan.

Banyaknya pisang kultivar di Indonesia menyebabkan adanya perbedaan nama pada masing-masing daerah, sehingga mengakibatkan permasalahan dalam tata nama taksonomi, dan pengelompokkan jenis pisang kultivar (Singh *et al*, 2001). Sebagai contoh pisang raja yang tersebar di Pulau Jawa (Zuhairini, 1997; Sukartini, 2006) memiliki nama yang berbeda-beda pada masing-masing daerah. Pisang Raja Bulu juga dikenal sebagai Raja Madu di Jember, Raja Kul juga dikenal sebagai Raja Talun di Pasuruan dan Probolinggo, Raja Pakak juga dikenal Raja Sepet di Pasuruan, dan Raja Sajen juga dikenal sebagai Rojo Talun di Malang (Hapsari *et.al.*, 2017).

Penamaan pisang kultivar pada awalnya dikenalkan oleh Linnaeus pada tahun 1753 dengan nama ilmiah *Musa paradisiaca* Linn., dalam bukunya yang berjudul “*Species Plantarum*”. Pisang tersebut terdiri dari pisang yang bercirikan

mengandung banyak pati sehingga perlu dimasak terlebih dahulu sebelum dikonsumsi. Kemudian, pada tahun 1759 Linneus memberi penamaan pisang *Musa sapientum* Linn. dalam bukunya yang berjudul “*Systema Naturae*”. Nama *Musa sapientum* Linn. dideskripsikan sebagai pisang buah dengan rasa buah yang manis dan dapat dikonsumsi dalam keadaan segar ketika matang (Valmayor *et al.*, 2000).

Namun, penamaan tersebut tidak cocok digunakan di Asia Tenggara yang merupakan pusat keragaman pisang kultivar (Simmonds, 1959; Espino *et al.*, 1992), sehingga tata nama dan pengelompokan pisang kultivar dilakukan dengan pendekatan genomik yang telah ditentukan pada tahun 1999 (Valmayor *et al.*, 2000; INIBAP, 2006). Pendekatan dengan menentukan genom pada pisang kultivar dapat dilakukan dengan penilaian skoring berdasarkan karakter morfologi (fenetik) (Simmonds dan Shepherd, 1955; Simmonds, 1959).

Penelitian menggunakan karakter morfologi (fenetik) terhadap pengelompokan pisang kultivar di Indonesia sudah banyak dilakukan (Oktavianti, 2013; Khasanah dan Marsusi; 2014; Ambarita *et.al*, 2015 ). Namun, hasil penelitian tersebut seringkali kurang akurat karena tidak dijelaskan secara rinci mengenai karakteristik yang dapat mempengaruhi pengelompokan antar varietas, bersifat subyektif, dan dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan (Guzow-Krzeminsk *et al.*, 2001).

Pendekatan melalui marka molekuler dipercaya memiliki tingkat akurasi yang lebih tinggi guna pengelompokan pisang kultivar dibanding dengan pendekatan morfologi (Williams *et al*, 1990; Maftuchah, 2001; Rao dan Hodgkin, 2002; de

Jesus *et al.*, 2013). Beberapa marka molekuler yang sering digunakan dalam pengelompokan tanaman diantaranya adalah RAPD (Pillay *et al.*, 2000; Sukartini, 2008), RFLP (Nwakanma *et al.*, 2003; Ekasari *et al.*, 2012), dan AFLP (Wong *et al.*, 2002). Marka molekuler tersebut telah dipercaya mampu membedakan genotipe di antara individu tumbuhan dengan tingkat akurasi yang tinggi (Virk *et al.* 1995; Powell, 1996; Bustamam *et al.*, 2004).

Beberapa marka molekuler di atas yang sering digunakan dalam penelitian diversitas genetik pada tumbuhan adalah RAPD (Bustaman dan Moeljopawiro, 1998; Dayarani dan Dhanarajan, 2014). Selain itu, marka RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) juga merupakan marka molekuler yang paling sering digunakan untuk mengetahui tingkat taksonomi dan pengelompokan pisang kultivar (Uma *et al.*, 2006; Brown *et al.*, 2009; Olivia *et al.*, 2010; Makunthakumar *et al.*, 2013; Kiran *et al.*, 2015; Nair, 2016).

RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) merupakan teknik amplifikasi DNA menggunakan primer secara random. Beberapa kelebihan RAPD diantaranya yaitu, dapat mengkarakterisasi sampel secara sederhana, cepat, akurat, analisisnya hanya membutuhkan sampel DNA dalam jumlah sedikit (0,5 – 50 ng) (Demeke dan Adams, 1994) dan tidak membutuhkan informasi sekuen DNA terlebih dahulu (Yu dan Pauls, 1994). Selain itu, RAPD juga dapat menggunakan DNA yang diekstraksi dari sampel daun kering (Syamsuardi *et al.*, 2008).

Pendekatan melalui marka molekuler dalam mengetahui informasi diversitas genetik juga sangat bermanfaat dalam bidang pertanian khususnya budidaya pisang seperti penentuan jumlah variasi dalam plasma nutfah (Sunaryo, 2015),

perbandingan antar aksesori dan penentuan bibit unggul pada tanaman (Sholihah, 2014). Banyaknya penelitian yang menggunakan pendekatan molekuler dalam pengelompokan pisang kultivar membuktikan bahwa penelitian secara molekuler lebih akurat (Rao dan Hodgkin, 2002) dibanding dengan pendekatan secara morfologi. Oleh karena itu dalam penelitian ini akan dilakukan analisis pengelompokan kultivar pisang raja di Pulau Jawa, serta membantu proses karakterisasi yang lebih akurat berdasarkan marka molekuler RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).

### 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Bagaimanakah nilai koefisien similaritas dan diversitas genetik kultivar pisang raja di pulau Jawa berdasarkan pendekatan molekuler RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)?
2. Apakah marka molekuler RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) primer OPA 1- OPA 20 dapat mengelompokkan pisang Raja di Pulau Jawa berdasarkan genomnya?

### 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui nilai koefisien similaritas dan diversitas genetik kultivar pisang raja di pulau Jawa berdasarkan pendekatan molekuler RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).

2. Untuk mengetahui marka molekuler RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) primer OPA 1- OPA 20 dapat mengelompokkan pisang Raja di Pulau Jawa berdasarkan genomnya.

#### 1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah:

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

#### 1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Kultivar pisang raja sebanyak 13 yang tersebar dari daerah pulau Jawa koleksi kebun plasma nutfah Dinas Pertanian Giwangan Yogyakarta. Out group merupakan 2 jenis pisang liar.
2. Amplifikasi DNA dilakukan menggunakan 20 primer RAPD terpilih, yaitu (Operon Technology Ltd).
3. Analisis data yang dilakukan kekuatan primer seperti: *polymorphism information content* (PIC), *effective multiplex ratio* (EMR), *marker index* (MI), *resolution power* (Rp), *qualitative nature of data* (QND), *effective*

*marker index* (EMI), dan *genotype index* (GI). Analisis untuk mengetahui keanekaragaman jenis dan pengelompokan dari indeks similaritas diolah menggunakan indeks Shannon pada aplikasi PAST (*Paleontological Statistics*) versi 3.15.



## 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 (56): 27-31;


  
 وَأَصْحَابُ الْيَمِينِ مَا أَصْحَابُ الْيَمِينِ ﴿١٧﴾ فِي سِدْرٍ مَّخْضُودٍ ﴿١٨﴾
   
 وَطَلْحٍ مَّنضُودٍ ﴿١٩﴾ وَظِلِّ مَمْدُودٍ ﴿٢٠﴾ وَمَاءٍ مَّسْكُوبٍ ﴿٢١﴾

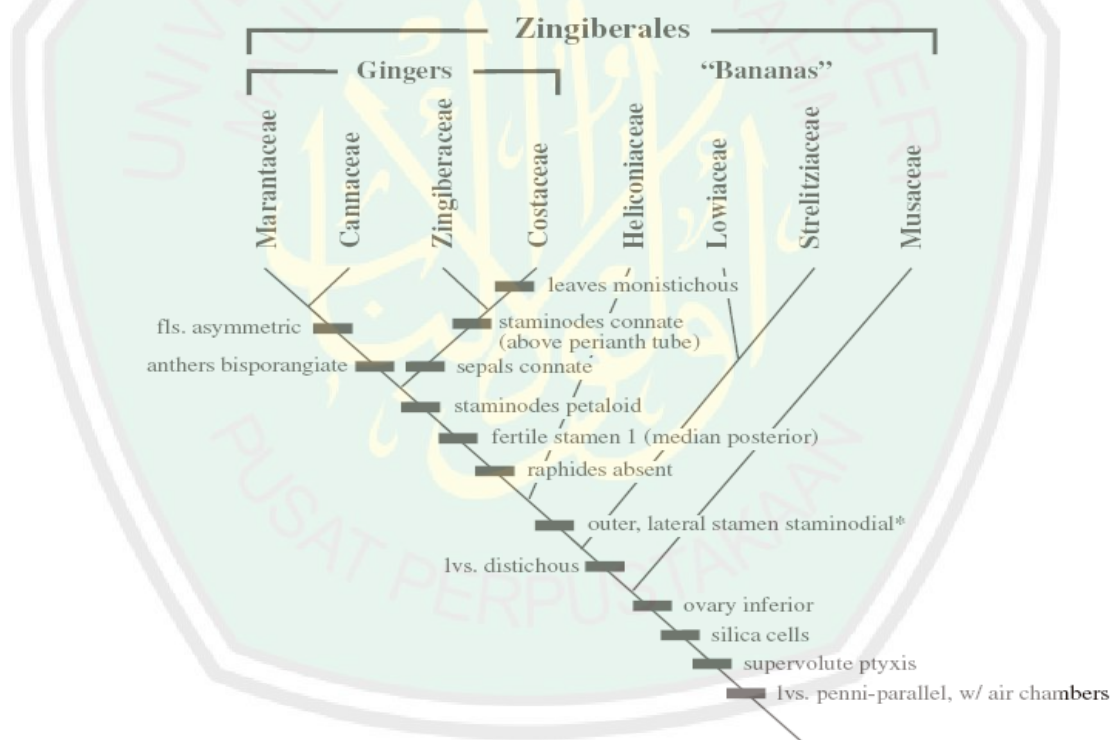
Artinya: " Dan golongan kanan, alangkah bahagiannya golongan kanan itu. Berada diantara pohon bidara yang tidak berduri, dan pohon pisang yang bersusun-susun (buahnya), dan naungan yang terbentang luas, dan air yang tercurah." (QS. Al-Waaqi'ah: 27-31)

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

Kata طلع ada yang memahaminya dalam arti pohon pisang atau pohon kurma. Banyak juga yang menggambarkan طلع 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 sebagai pohon pisang (Al-Sheikh, 2004).

Pisang termasuk famili Musaceae yang berkerabat dekat dengan Famili Heliconiaceae, Lowiaceae dan Strelitziaceae (Gambar 2.1) (Simpson, 1953; Simpson, 2006). Beberapa genus yang termasuk dalam famili Musaceae antara lain *Musa*, *Ensete* dan *Musella*. Secara umum genus *Musa* memiliki lima *section* antara lain *Australimusa*, *Callimusa*, *Ingentimusa*, *Eumusa* dan *Rhodochlamys* (Perrier *et. al.*, 2011).



Gambar 2.1. Cladogram Ordo Zingiberales (Kress *et. al.*, 2001) dengan sifat apomorfi terpilih (Kirchoff, 2003)

Pisang merupakan tanaman buah tropis yang mayoritas terdapat di Asia Tenggara (Simmonds, 1959; Nuswamarhaeni *et al.*, 1989; De Langhe *et al.*, 2009;

Li *et al.*, 2013). Pisang buah atau olahan merupakan hasil hibridisasi antara dua spesies pisang liar yaitu *Musa acuminata* Colla (A) dan *Musa balbisiana* Colla (B) (Wong *et al.*, 2001). Perkawinan silang antara pisang *M. acuminata* dan *M. balbisiana* menghasilkan beberapa pisang kultivar yang ditemukan saat ini. (Simmons, 1959; Espino *et al.*, 1992; Valmayor *et al.*, 2000; De Langhe *et al.*, 2009). Berdasarkan jenis dan pemanfaatannya, pisang dibagi menjadi empat kelompok, yaitu: 1) pisang yang dapat dimakan setelah buahnya dimasak (*M. paradisiaca normalis*) misalnya pisang tanduk, nangka, dan kepok; 2) pisang buah (*M. paradisiaca var sapientum*, *M. nana* disebut juga *M. cavendishii*, *M. sinensis*) misalnya pisang susu, cavendis, mas, barangan, ambon, dan raja; 3) pisang yang diambil seratnya misalnya pisang manila; 4) pisang berbiji (*M. brachycarpa*) misalnya pisang batu dan klutuk.

Pisang *Musa X paradisiaca* AAB. merupakan tumbuhan monokotil yang termasuk dari divisi Magnoliophyta. Tanaman pisang berbentuk pohon yang tersusun atas batang semu (*pseudostem*). Habitus tanaman pisang berupa herba berbatang basah (Luqman, 2012).

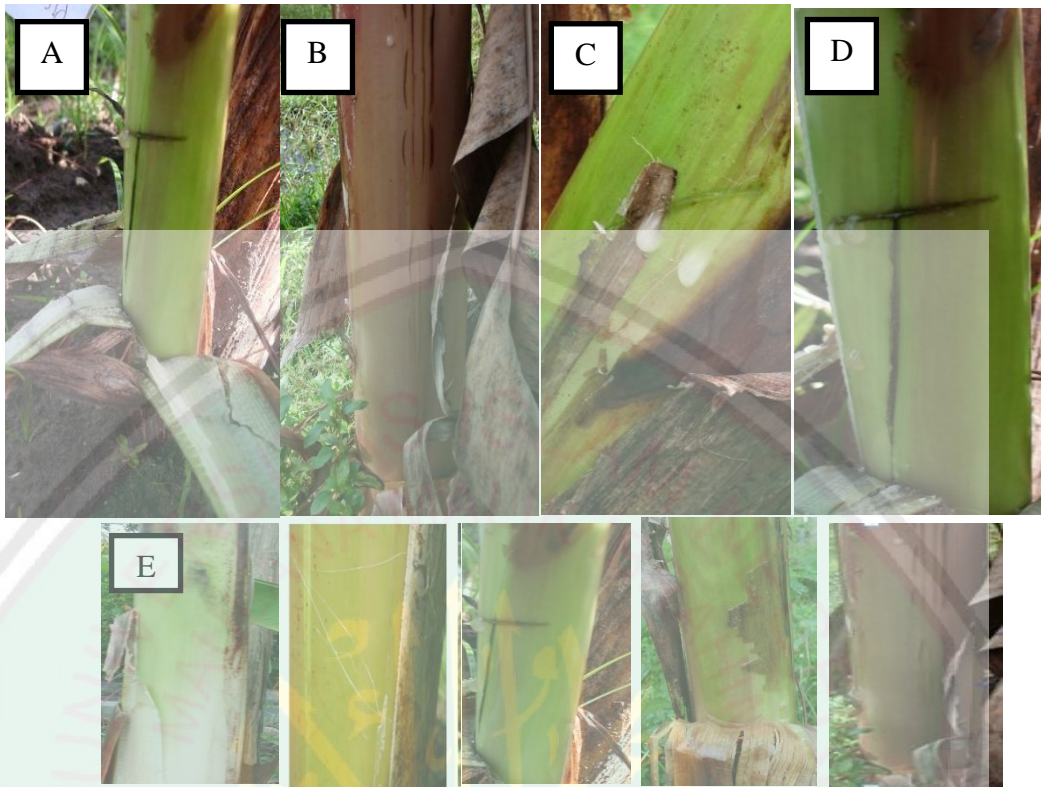
Tipe akarnya serabut yang tumbuhnya menuju bawah antara kedalaman 75 - 150 cm (Satuhu dan Supriyadi, 2009), sehingga termasuk kelas Liliopsida (Simpson, 1953). Akar pisang terbanyak berada dibagian bawah tanah dan pangkal pada batang pisang. Akar yang berada di bagian samping umbi tumbuh ke samping atau mendatar. Perkembangan akar pisang secara lateral mencapai 4-5 meter (Siemonsma dan Pileuk, 1994). Akar muda berwarna putih dan ketika dewasa berwarna coklat.

Batang pisang yang memiliki ukuran pendek, biasa disebut bonggol (*corm*) terletak di bawah tanah. Pada bonggol pisang tumbuh beberapa rimpang pendek yang akan menjadi tunas baru di sekeliling pohon induk (Siemonsma dan Pileuk, 1994). Batang semu (*pseudostem*) terbentuk dari pelepah yang saling menutup dan saling menekan satu sama lain tersusun secara rapat (Dasuki, 1991) (Gambar 2.2).



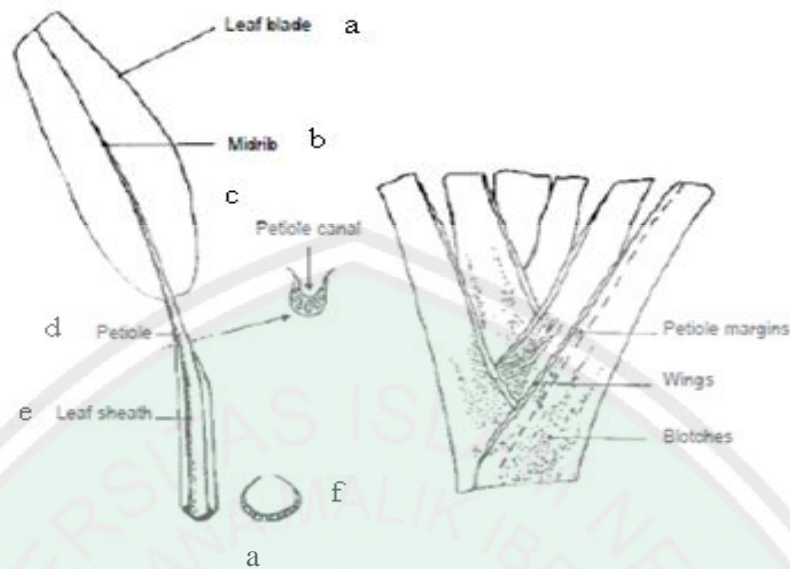
Gambar 2.2 Batang semu (*pseudostem*) terdiri dari pelepah yang menutup (Dok. pribadi)

Batang semu pada pisang memiliki penampakan ramping (*slender*) (Gb.2.3A) hingga besar (*robust*) (Gb.2.3B) (IPGRI, 1996), pada beberapa spesies memiliki lapisan lilin, dan sering kali mengeluarkan getah yang berwarna bening (*watery*) (Gb.2.3C) atau putih susu (*milky*) (Gb.2.3D), memiliki warna hijau kekuningan sampai merah keunguan (Gb.2.3E) (IPGRI, 1996). Batang semu pisang sering dijumpai memiliki rongga udara, sehingga tergolong dalam ordo Zingiberales (Simpson, 1953).



Gambar 2.3. Batang semu A) penampakan ramping (*slender*), B) penampakan besar (*robust*), C) getah batang pisang berwarna putih susu (*milky*), D) berwarna bening (*watery*), E) variasi warna batang semu (Dokumen pribadi)

Batang sejati pada tanaman pisang berada di bawah tanah yang disebut rhizom biasanya muncul pada saat bunga terbentuk. Rhizom merupakan salah satu organ penting yang mendukung perkembangan anakan dan pertumbuhan tandan buah (Robinson dan Walker, 1999). Daun tanaman pisang terdiri dari pelepah daun (*vagina*), tangkai daun (*petiolus*), dan lembaran daun (*lamina*) (Gambar 2.4).



Gambar 2.4. Bagian – bagian daun pisang (Champion, 1963; De Langhe, 1961 ).

Daun pisang yang masih muda tumbuh menggulung pada bagian tengah batang semu berlawanan dengan arah jarum jam yang merupakan ciri khas dari ordo Zingiberales (Simpson, 1953) (Gambar 2.5). Daun pisang tersusun spiral (Dasuki, 1991), yang membedakan famili musaceae dengan famili lainnya pada ordo Zingiberales (Simpson, 1953). Daun dengan lamina melebar, urat daun *pinnatus* yang paralel satu sama lain (Dasuki, 1991) merupakan sifat apomorfi ordo Zingiberales (Simpson, 1953).

Helaian daun berbentuk lanset dengan panjang sekitar 1,5 – 3 meter, lebar 30–70 cm (Robinson, 1999). Pada bagian ventral daun berwarna hijau kekuningan hingga merah keunguan dengan lapisan lilin, sedangkan bagian dorsal berwarna hijau kekuningan sampai hijau tua tanpa lapisan lilin (IPGRI, 1996).



Gambar 2.5. Daun pisang muda masih menggulung yang muncul dari bagian atas batang semu (Gorst, 2008)

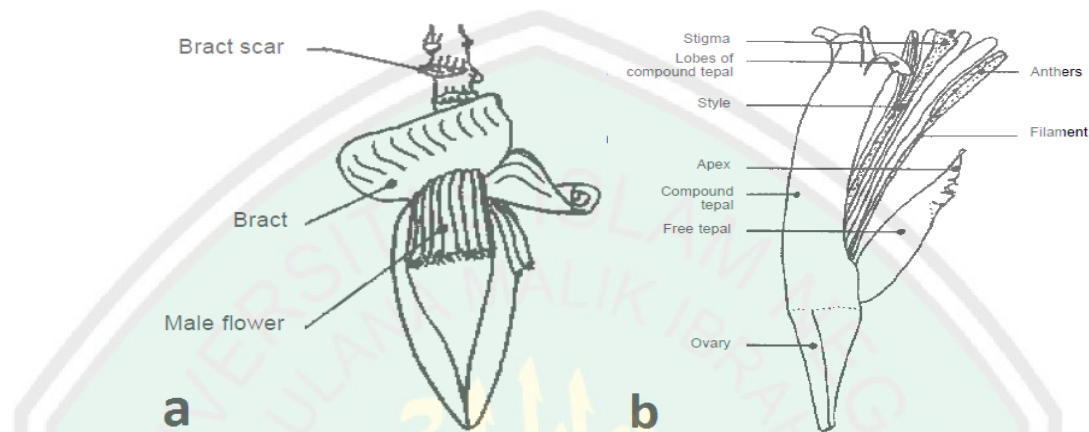
Bagian bawah tangkai daun (*petiole*) memiliki bentuk yang berbeda – beda pada masing-masing kultivar, yakni tipe membuka dan menutup (Gambar 2.6). Selain itu, petiole juga memiliki variasi yang berbeda dari segi warna dan panjang tangkainya pada masing – masing kultivar pisang (Khasanah dan Marsusi, 2014).



Gambar 2.6. Petiola (tangkai daun) pada tanaman pisang (Dok. pribadi)

Bunga pisang termasuk bunga majemuk (*inflourecensia*) tersusun dalam tandan. Bunga pisang dilindungi oleh seludang bunga yang memiliki warna bervariasi dari merah muda hingga merah tua keunguan (Khasanah dan Marsusi,

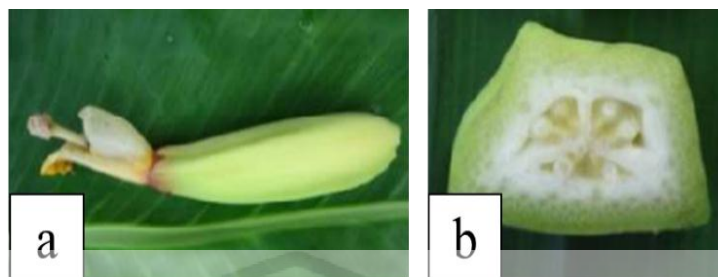
2014). Bunga pisang terdiri dari braktea, bunga jantan, stigma, tepal, tepal bebas, tabung stigma, ovarium, anter, dan filamen (Gambar 2.7).



Gambar 2.7. Penampakan a) Jantung pisang dan b) bunga (IPGRI, 1999)

Ujung bunga terdapat kuncup bunga dibungkus oleh seludang (braktea) (Ashari, 1995). Bentuk jantung seperti gasing dengan ujung braktea yang runcing. Braktea berwarna seragam mulai dari pangkal braktea hingga ujung braktea (Siddiqah, 2002). Braktea-braktea yang tersusun rapat akan membuka pada waktu antesis (Dasuki, 1991).

Bunga pisang memiliki stamen umumnya berjumlah 5 atau 6 buah (Dasuki, 1991). Ginasium memiliki 3 karpel yang membentuk ovarium inferus (Gambar 2.8a) dan 3 ruang (Gambar 2.8b). Seluruh anggota ordo Zingiberales memiliki bakal buah yang terletak dibagian bawah dasar bunga (inferus) (Simpson, 1953). Bunga pisang berbentuk tongkol, bunga jantan dan bunga banci menjadi dalam satu rangkaian yang terdiri dari 5-20 bunga. Rangkaian bunga ini nantinya akan membentuk buah dalam satu sisir (Amilda, 2014).



Gambar 2.8. Penampakan a) ovarium pisang inferus dan b) tiga ruang pada ovarium (Hapsari *et al.*, 2015)

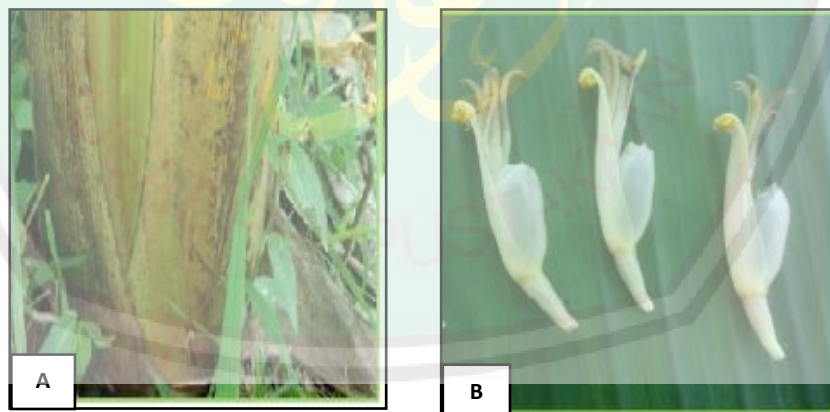
## 2.2 Pisang Raja

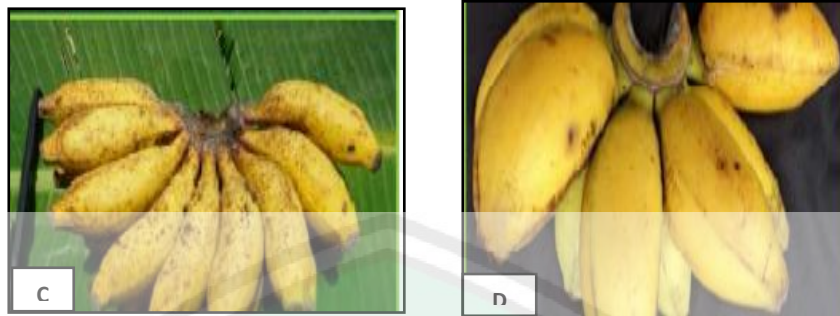
Pisang raja termasuk salah satu jenis pisang buah. Secara umum pisang raja berasal dari kawasan Asia Tenggara dan pulau – pulau pasifik barat. Persebaran pisang raja hingga negara tropis maupun negara sub tropis. Maka dari itu, pisang raja termasuk salah satu komoditas asli Indonesia dan kultivar-kultivarnya banyak ditemukan di pulau Jawa (Zuhairini, 1997).

Pisang raja memiliki karakter morfologi secara umum tanaman berbatang semu yang dapat tumbuh sekitar 2,1 - 2,9 meter berwarna hijau hingga merah dan memiliki noda coklat atau hitam pada batangnya, helaian daunnya berbentuk lanset memanjang, bunga berbentuk menyerupai jantung. Buahnya melengkung ke atas yang terdapat 13-16 buah dalam satu kesatuan (Daniells, dkk., 2001). Sebutan tanaman pisang Raja berbeda-beda sesuai dengan daerahnya (Valmayor, *et al.*, 2012). Pada daerah Inggris dengan nama *Plantain, raja*; Filipina dengan nama *Radja, daliri dalaga*; Thailand dengan nama *Kluai khai boran*; Malaysia dengan nama *Pisang raja*.

Pisang Raja yang tersebar di pulau Jawa saat ini, dapat dibagi menjadi 2 kelompok berdasarkan genomnya, yakni genom AAB dan ABB. Ciri umum

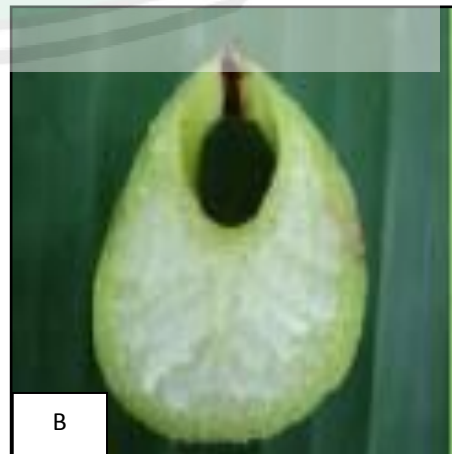
morfologi dari pisang kelompok genom AAB memiliki rumpun sedang hingga banyak, batang semu cukup besar berwarna hijau dengan sedikit bercak berwarna coklat hingga hitam, dan sedikit berlilin; tinggi mencapai 5 m (Gambar 2.9a) . Tepi tangkai daun tegak dan sedikit bersayap, dengan daun berukuran panjang daun sedikit terkulai. Braktea berwarna merah kekuningan dan menggulung. Bunga jantan berwarna krem dan kuning (Gambar 2.9b). Tanda buah berukuran sedang hingga besar, membentuk sudut dengan sisir yang melingkar, berisi 5-10 sisir. Buah berukuran sedang hingga besar, berbentuk lurus hingga sedikit melengkung, berkulit tebal dan kasar, berwarna kuning pada saat masak (Gambar 2.9c). Daging buah berwarna putih, krem hingga kuning bertekstur keras hingga lembut, dengan rasa manis sedikit masam. Buah pisang kultivar kelompok genom AAB dapat dimanfaatkan sebagai buah segar maupun olahan (Hapsari *et al.*, 2015).

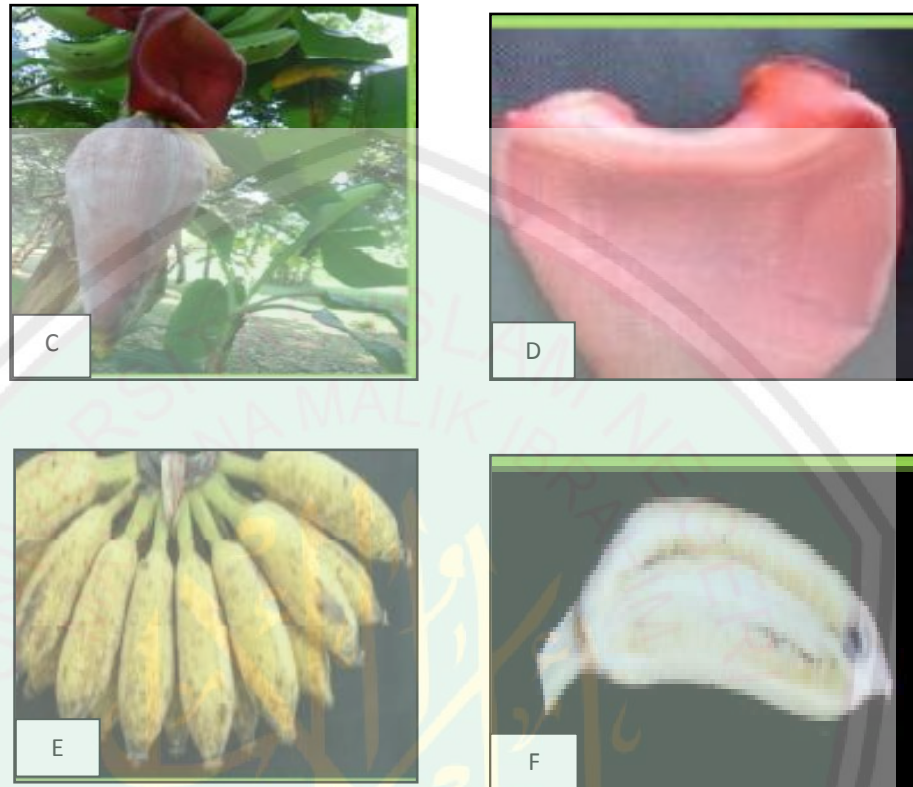




Gambar 2.9. Ciri umum pisang bergenom AAB, a) Batang semu, b) Bunga Jantan, c dan d) Sisir buah masak (Hapsari *et al.*, 2015)

Ciri umum morfologi dari pisang kelompok ABB memiliki karakteristik lebih mirip dengan pisang *Musa balbisiana*, memiliki batang semu yang besar, berwarna hijau dengan sedikit bercak dan banyak lilin, tinggi mencapai antara 1,5 m hingga 5 m. Tepi tangkai daun saling mengatup dengan daun berwarna hijau tua (Gambar 2.10 a dan b ). Braktea sedikit menggulung dan bagian dalam braktea berwarna merah (Gambar 2.10c). Tandan buah berukuran sedang hingga besar, berisi 5-12 sisir. Buah berukuran sedang berbentuk lurus, berwarna kuning pada saat masak, berkulit tebal dan kasar (Gambar 2.10e), daging buah berwarna putih (Gambar 2.10f) (Hapsari *et al.*, 2015). Buah pisang kutivar kelompok genom ABB dimanfaatkan sebagai pisang olahan (Espino *et al.*, 1992).





Gambar 2.10 Ciri umum pisang bergenom ABB a dan b) Tepi tangkai daun, c) braktea, d) braktea bagian dalam, e) Sisir buah, f) Daging buah (Hapsari *et al.*, 2015)

Kandungan pisang raja adalah karbohidrat, kalsium, protein, fosfor, vitamin A, B dan C , katekin, epikatechin, gallokatekin (senyawa golongan flavonoid). Manfaat pisang raja dapat digunakan sebagai obat untuk antidiare, penyakit kuning, penurunan kolesterol darah, gangguan maag), pelembab kulit, cacar (Satuhu dan Supriyadi, 2008).

### 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). Iklim tropis basah, panas, dan lembab sangat mendukung pada pertumbuhan pisang. Tanaman pisang akan berproduksi dengan baik apabila pertumbuhannya juga subur. Tanaman ini menghendaki iklim panas, terutama daerah tropis. Selain itu Kuswanto (2007) berpendapat syarat – syarat tumbuhnya pisang buah antara lain adalah:

1. Iklim, pisang liar dapat tumbuh di daerah tropik dan sub tropika. Hal ini terbukti hampir semua pulau di Indonesia telah di tumbuh berbagai jenis pisang baik yang hidup secara liar maupun ditanam atau pisang olahan.
2. Tanah, pisang liar dapat tumbuh di tanah kering, tetapi tidak memilih jenis tanah untuk tumbuhnya. Apabila pisang ditanam di daerah subur dan terbuka, akan menghasilkan produksi tinggi.
3. Daerah penanaman, tanaman pisang akan dapat tumbuh baik jika di daerah tropis atau sub tropis yang mempunyai ketinggian antara 0 sampai 1000 mdpl.
4. Curah hujan dan air, pisang akan tumbuh di daerah yang curah dalam satu tahun harus diimbangi dengan keadaan air tanah.
5. Angin, untuk menghindari robeknya daun pisang yang diakibatkan oleh tiupan angin yang terlalu kencang.

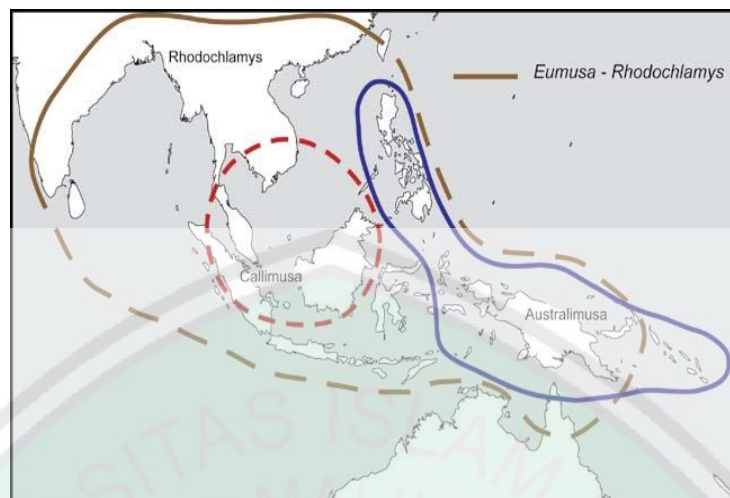
Produktivitas tanaman ditentukan oleh interaksi antara lingkungan dan faktor genetik yang dimiliki pada spesies tersebut (Allard, 1998). Selain itu, faktor yang dapat mempengaruhi adalah pH tanah, yang dibutuhkan untuk pertumbuhan adalah 4,5 – 7,5 (Prahardini *et al*, 2010). Tekstur tanah yang tepat untuk pertumbuhan pisang adalah tanah yang subur dengan lapisan top soil yang cukup

tebal, tanah bertekstur pasir serta mengandung banyak humus. Kelembaban pada daerah penanaman sebaiknya berkisar 80 – 88% dengan suhu udara berkisar  $22,8^{\circ}\text{C}$  –  $32,4^{\circ}\text{C}$ .

#### 2.4 Persebaran Pisang

Persebaran merupakan gambaran posisi suatu jenis tanaman yang mengalami perpindahan dari suatu wilayah ke wilayah lain. Persebaran suatu tanaman juga memiliki berbagai pola persebaran. Menurut Odum (1993: 225) pada prinsipnya distribusi organisme dibedakan menjadi tiga pola dasar, yaitu acak, merata dan mengelompok. Tumbuhan dapat berkembang biak dengan baik dan tumbuh secara maksimal, jika tidak hidup di sembarang tempat dan sesuai dengan syarat tumbuh dari tumbuhan tersebut.

Genus *Musa* seksi *Eumusa* adalah yang paling dikenal karena tanaman ini kuat dan cukup mudah tumbuh. *Eumusa* tersebar di seluruh Asia Timur, kecuali Melanesia bagian timur. *Rhodoclamys* tersebar di sekitar dataran iklim basah di Asia bagian selatan, sedangkan *Australimusa* tersebar dari selatan hingga Indonesia bagian timur dan Filipina bagian selatan ke Melanesia, serta *Calimusa* tersebar di Vietnam bagian selatan, Malaysia, Borneo dan Sumatra. (Gambar 2.9).



Gambar 2.9. Persebaran tiap *section* pada genus *Musa* (Simmonds, 1962; De Lange, 2009)

### 2.5 Diversitas atau Keanekaragaman Genetik

Diversitas atau keanekaragaman genetik biasanya dianggap sebagai jumlah variabilitas genetik di antara individu-individu dari berbagai spesies atau populasi suatu spesies (Brown, 1983). Diversitas genetik juga merupakan hasil dari banyak perbedaan genetik antar individu karena adanya proses biokimia (perbedaan struktur protein atau sifat isoenzim) yang akan mempengaruhi karakteristik fisiologis (misalnya ketahanan terhadap abiotik atau tingkat pertumbuhan) dan karakter morfologi (warna bunga atau bentuk tanaman) (Rao dan Hodgkin, 2002).

Allah SWT telah berfirman yang mengisyaratkan diciptakannya keanekaragaman dalam Q.S Thaha (20): 53.

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَّكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا  
مِّن نَّبَاتٍ شَتَّىٰ ۝۳

Artinya: “Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan Yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam” (Q.S Thaahaa (20): 53)

Lafadz *أزْوَجا* ini menjadi kata sifat dari lafadz *شئى*, maksudnya yang berbeda-beda warna, rasa serta lainnya (Imam Jalaludin dan As-Suyuti). Allah sebenarnya sudah menciptakan tumbuhan yang bermacam-macam baik dari segi morfologinya. Morfologi merupakan sifat yang mudah diamati, praktis dan merupakan ekspresi genetik dari tumbuhan. Dengan ekspresi genetik suatu tumbuhan yang bermacam-macam tentunya akan mengakibatkan diversitas genetik yang tinggi.

Keanekaragaman genetik berfungsi sebagai adaptasi bagi populasi dengan lingkungan yang berubah. Variasi genetik yang lebih banyak, memungkinkan suatu individu dalam populasi akan memiliki variasi alel yang sesuai untuk lingkungan. Variasi alel cenderung bertahan (*survive*) untuk menghasilkan keturunan yang akan menjadikan populasi akan terus berkembang (NBII,2011).

Variasi genetik yang terbentuk secara alami merupakan sumber utama dalam program pemuliaan tanaman. Variasi ini dapat dimanfaatkan sebagai acuan dalam introduksi secara sederhana dalam program persilangan tanaman atau dengan rekombinasi genetik (Welsh, 1991). Sebelum melakukan seleksi dalam program pemuliaan, perlu diketahui terlebih dahulu luas sempitnya variabilitas genetik pada tanaman yang akan diuji. Variabilitas genetik yang luas akan menambah peluang untuk mendapatkan kultivar unggul. Jika keragaman genetik memiliki variabilitas yang sempit, maka setiap individu yang ada dalam populasi

tersebut dapat dikatakan hampir seragam. Individu yang seragam dalam suatu populasi akan menyebabkan tidak mungkin dilakukan pemuliaan tanaman melalui seleksi karena akan menghasilkan keturunan dengan kualitas yang sama dengan induk. (Ruchjaningsih, *et al.*, 2002:10).

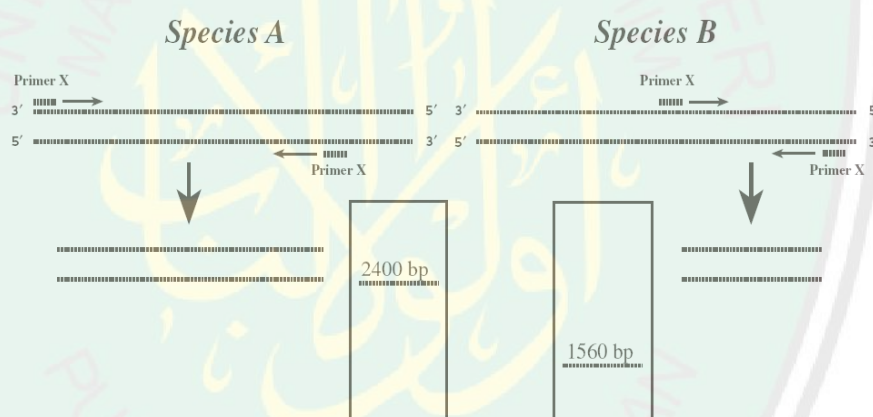
Variasi yang mendasari keragaman genetik muncul dari mutasi, rekombinasi dan *gene flow* yang bekerja pada alel dalam populasi yang berbeda, sehingga menyebabkan variasi di dalamnya. Seleksi tersebut dapat terjadi secara alami atau bisa buatan, seperti halnya banyak variasi yang ada pada spesies tanaman. Distribusi dari berbagai aspek keragaman genetik pada suatu spesies, merupakan hal penting untuk menentukan apa yang harus dilestarikan, dimana dan bagaimana melestarikannya. Salah satu faktor menyebabkan variasi adalah iklim, edafik, dan biotik (Rao dan Hodgkin, 2002).

Penanda DNA akan memiliki keuntungan karena tidak terpengaruh oleh lingkungan. Metode ini, dapat digunakan untuk mengetahui jumlah variasi dalam plasma nutfah tanaman hibrida, dan untuk membuat perbandingan antara aksesi atau kelompok aksesi yang berbeda dalam koleksi untuk membantu pengelolaan dan penggunaan bahan pelestarian di masa depan. Pendeteksian diversitas dapat menggunakan RFLP (Nwakanma *et al.*, 2003; Ekasari *et al.*, 2012), RAPD (Pillay *et al.*, 2000; Sukartini, 2008; Kiran *et al.*, 2016), AFLPs (Wong *et al.*, 2002) atau SSR. Akan tetapi, penanda yang berbeda memiliki sifat yang berbeda dan akan menghasilkan aspek keragaman genetik yang berbeda (Karp dan Edwards, 1995). RAPD merupakan marka yang umum digunakan berbasis amplifikasi

menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan digunakan sejak tahun 1990 untuk mengetahui variasi genetik.

## 2.6 Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) adalah teknik molekuler berbasis amplifikasi menggunakan primer secara acak (Simpson, 1953; Williams *et al.*, 1990; Welsh dan McClelland, 1990; Simpson, 2006) (Gambar 2.10). RAPD dapat digunakan dalam mempelajari pola keanekaragaman genetik plasma nutfah, penentuan genom, karakterisasi nama takson (Williams *et al.*, 1991; Pillay *et al.*, 2000; Karsinah *et al.*, 2002; Fauza *et al.*, 2007; Witono dan Kondo, 2007).



Gambar 2.10. Penggunaan primer yang sama pada dua spesies yang berbeda akan menghasilkan posisi / panjang basepare yang berbeda (Simpson, 2006).

Kelebihan dari teknik RAPD dibanding dengan penanda DNA lain (seperti *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP), *Simple Sequence Repeats* (SSR)) adalah mudah dilakukan, lebih cepat, tidak memerlukan informasi genom terlebih dahulu, menghasilkan pita DNA yang polimorfisme dalam jumlah banyak, hanya

membutuhkan sampel DNA dalam jumlah sedikit (0,5-50 ng), dan lebih murah (Demeke dan Adams, 1994; Tingey *et al.*, 1994). Kelemahan dari metode RAPD antara lain; tidak konsisten hasil dari produk amplifikasi (Jones *et al.*, 1997; Simpson, 2006). Kelemahan tersebut dapat teratasi dengan cara mengoptimalkan ekstraksi sampel sehingga akan mendapatkan kemurnian DNA, selain itu pemilihan primer pada proses amplifikasi. Primer RAPD terdiri dari 10-20 nukleotida dan didesain berdasarkan area yang konservatif dalam genom tersebut. Jika semakin panjang primer, maka harus spesifik daerah yang diamplifikasi.

Faktor yang mempengaruhi hasil pita DNA yang baik adalah konsentrasi DNA, ukuran panjang primer, suhu pada saat PCR (Suryanto, 2003). Marka RAPD ini sudah banyak digunakan pada jenis tumbuhan tropis (Poerba dan Yuzammi, 2008), 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).

Fingerprinting atau sidik jari berbasis RAPD telah berhasil diterapkan pada karakterisasi beragam virus pisang (Onguso *et al.*, 2004), analisis populasi pemuliaan pisang (Crouch *et al.*, 1999) dan deteksi somaklonal varian (Grajal-Martin *et al.*, 1998; Ray T *et al.*, 2006; Lakshmanan V *et al.*, 2007).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif eksploratif kualitatif. Penelitian ini menggunakan Pisang Raja (*Musa spp.*) dari Pulau Jawa untuk mengetahui diversitas genetik menggunakan marka RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).

#### **3.2 Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Nopember 2017 – Juli 2018 yang dimulai dari pengambilan sampel sampai analisis data. Penelitian ini dilakukan di Kebun Plasma Nutfah, Dinas Pertanian dan Pangan Kota Yogyakarta untuk pengambilan sampel Pisang Raja (*Musa spp.*) dan analisis DNA dilakukan di Laboratorium Genetika dan Biologi Molekuler Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri 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 untuk pengambilan sampel adalah gunting, alat penggaris dan meteran. Tahap ekstraksi DNA menggunakan alat antara lain pestel, mortar, vortex, freezer, waterbath, tube 2 ml, mikropipet 0,5 – 1000 µl, white tip, yellow tip, blue tip. Tahap uji kualitatif DNA menggunakan beberapa alat diantaranya: perangkat elektroforesis (BioRAD), Gel Doc/UV

*transiluminator* (BioRAD), mikropipet 0,5 - 10  $\mu$ l, white tip, erlenmeyer 100 mL, gelas ukur 25 mL, microtube 0,2 ml dan neraca analitik. Pada tahap uji kuantitatif digunakan alat-alat berupa AE-Nano 200 *Nucleic Acid Analyze* versi 2.0, mikropipet 0,5-10  $\mu$ l, dan *white tip*.

Tahap amplifikasi PCR dan visualisasi menggunakan beberapa alat diantaranya: *thermal cycler* (BioRAD), mikrotube 0,5 mL, rak mikrotube, *white tip*, mikropipet 0,5  $\mu$ l, dan *spindown*. Selanjutnya pada visualisasi hasil PCR digunakan alat-alat berupa neraca analitik, perangkat elektroforesis (BioRAD), mikropipet 0,5 – 10  $\mu$ l, *white tip*, erlenmeyer 100 mL, gelas ukur 25 mL, Gel Doc / UV *transiluminator* (BioRAD).

### 3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pisang Raja (Tabel 3.1), bahan untuk ekstraksi sampel menggunakan *The Wizard® Genomic DNA Purification Kit Promega*. Bahan untuk elektroforesis adalah 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), marker 100bp DNA ladder.

Tabel 3.1. Nama sampel yang digunakan

No	Nama Lokal Pisang Kultivar	Kode Sampel	Asal Daerah
1	Raja Bali	R1	Kabupaten Bantul
2	Raja Bandung	R2	Pendowoharjo, Bantul
3	Raja Delima	R3	Kabupaten Malang, Jawa Timur
4	Raja Kisto	R4	Tanjung, Klatah, Kec. Giri, Banyuwangi
5	Raja Gareng	R5	Tembarak, Temanggung
6	Raja Jambe	R6	Kabupaten Malang, Jawa Timur
7	Raja Kriyak	R7	Tembarak, Temanggung
8	Raja Madu	R8	Tanjung, Klatah, Kec. Giri, Banyuwangi
9	Raja Sereh	R9	Kabupaten Purworejo
10	Raja Seribu	R10	Jl.Cendana DKI Jakarta
11	Raja Kutuk	R11	Purworejo
12	Raja Brentel	R12	Sukoharjo
13	Raja Lini	R13	Gunung Kidul
14	<i>Musa acuminata</i>	AA3	<i>Out-group</i>
15	<i>Musa balbisiana</i>	BB1	<i>Out-group</i>

Tabel 3.2. Identitas primer yang digunakan

Primer	Sequence	Tm (°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

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA pisang Raja pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan *The Wizard® Genomic DNA Purification Kit Promega*. Daun segar digerus menggunakan nitrogen cair dengan mortar steril sampai halus dan membentuk serbuk. Serbuk sampel sebanyak 40 mg dipindahkan ke dalam *tube* 1,5 ml. Kemudian ditambahkan 600  $\mu$ L larutan *Nuclei Lysis* dan divortex selama 1-5 detik. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 65 °C selama 15 menit. Setelah diinkubasi, ditambahkan 3  $\mu$ 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 selanjutnya adalah presipitasi protein pada suspensi DNA dengan menambahkan 200  $\mu$ 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  $\mu$ L Isopropanol. DNA yang telah ditambahkan isopropanol kemudian dihomogenkan dengan cara dibolak-balik dengan perlahan. 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  $\mu$ L 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  $\mu$ L 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.

Isolat genomik diuji kuantitatif untuk mengetahui konsentrasi dan kemurnian DNA. Uji kuantitatif dengan penentuan nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm menggunakan AE-Nano 200 *Nucleic Acid Analyze* 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).

#### **3.4.2 Amplifikasi dan Visualisasi DNA**

Amplifikasi DNA dilakukan berdasarkan metode Williams *et al.*,(1990) dengan menggunakan 20 primer RAPD terpilih, yaitu (Operon Technology Ltd) (Tabel 2). Komposisi PCR dilakukan pada volume 10  $\mu$ l, yang terdiri dari

1 µl sampel DNA (5 – 25 ng/µl), 1 µl primer (10 pmol), 3 µl nuclease water, 5 µl PCR master mix Thermo Scientific, California, USA yang terdiri atas DreamTaq DNA polymerase; 2x DreamTaq Green buffer; 0,4 mM dNTPs dan 4 mM MgCl<sub>2</sub>.

Amplifikasi DNA primer RAPD dilakukan dengan menggunakan Thermocycler (BioRAD). Pre-denaturasi dilakukan pada suhu 94<sup>0</sup>C selama 4 menit, kemudian dilanjutkan 45 siklus yang terdiri dari denaturasi suhu 94<sup>0</sup>C selama 30 detik, *annealing* suhu sesuai dengan (tabel 3.2) selama 30 detik, *ekstensi* 72<sup>0</sup>C selama 90 detik. Selanjutnya dilakukan proses *Post elongasi* dengan suhu 72<sup>0</sup>C selama 5 menit.

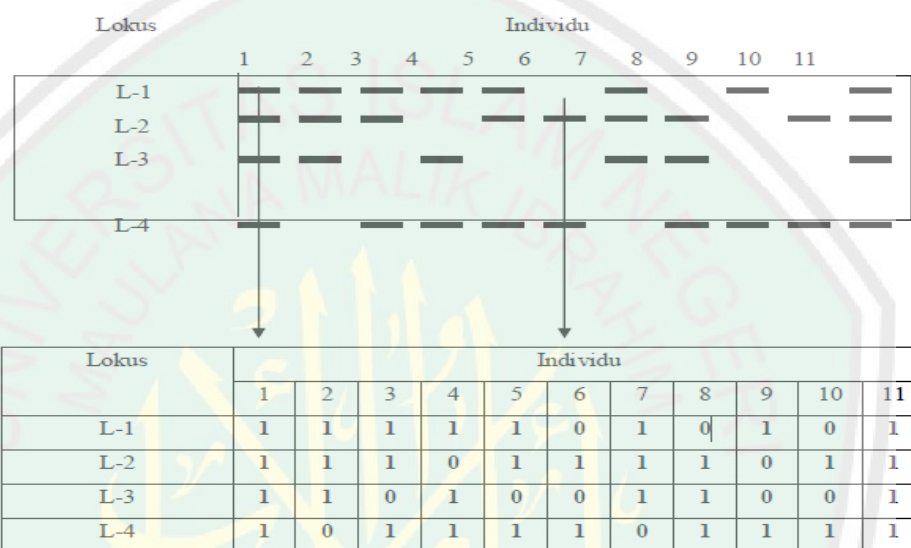
Hasil amplifikasi PCR diuji kualitatif dengan elektroforesis pada gel agarosa 1,5-2% (200 mg agarose ditambahkan 20 ml TBE 1X), larutan agarose dihomogenkan menggunakan *microwave*, selanjutnya didiamkan hingga suhu ± 40<sup>0</sup>C, kemudian ditambahkan 2 µl *ethidium bromida* (EtBr), elektroforesis dilakukan dengan menggunakan *Mupid Mini Cell* selama 50 menit pada 50 volt. Hasil pemisahan fragmen DNA dideteksi menggunakan UV transluminator, kemudian difoto menggunakan kamera. Standar ukuran 100 bp plus DNA *ladder* (Geneid) untuk menetapkan ukuran pita hasil amplifikasi DNA.

### 3.5 Analisis Data

#### 3.5.1 Skoring Data

Pita DNA hasil amplifikasi kemudian dilakukan skoring untuk memperkirakan tingkat polimorfisme. Pita DNA yang muncul kemudian diberi

skor “1”, sedangkan pita DNA yang tidak muncul diberi skor “0” (Gambar 3.1). Data biner yang dihasilkan digunakan untuk memperkirakan tingkat polimorfisme dengan cara membagi pita polimorfik dengan jumlah total pita yang muncul 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

Dalam penelitian ini dilakukan beberapa analisis untuk menentukan primer RAPD yang paling informatif. Beberapa analisis tersebut diantaranya adalah (Laurentin dan Karlovsky, 2007): *polymorphism information content* (PIC), *effective multiplex ratio* (EMR), *marker index* (MI), *resolution power* (Rp).

Nilai PIC untuk masing – masing primer dapat dihitung dengan rumus:  $PIC_i = 2f_i (1 - f_i)$ . Dimana PIC adalah *polymorphism information content*  $i$ ,  $f_i$  adalah frekuensi fragmen marker (band) yang muncul dan  $1 - f_i$

adalah frekuensi fragmen marker (band) yang tidak muncul (Roldan – Ruiz *et.al*, 2000).

EMR (*effective multiplex ratio*) digunakan untuk mengetahui rasio yang efektif dari total pita yang muncul dengan jumlah pita polimorfik. Nilai EMR dihitung dengan rumus  $EMR = \eta \cdot \beta$ , dimana  $\eta$  = total jumlah *band* per primer dan  $\beta$  = jumlah *band* polimorfik (Roldan-Ruiz *et. al.*, 2000). Nilai *Marker index* (MI) dihitung dengan rumus:  $MI = PIC \times EMR$  (Varshney *et.al*, 2007). Resolution Power (Rp) dari masing-masing primer dihitung menggunakan rumus:  $R_p = \sum I_b$  (A. Prevost and Wilkinson, 1999), dimana  $I_b$  merepresentasikan informasi fragmen (*band*). Nilai  $I_b$  diwakili skala 0-1, yang diketahui menggunakan rumus berikut:  $I_b = 1 - [2 \times (0,5 - P)]$ , dimana P adalah proporsi dari 10 genotipe yang mengandung *band* (McGregor, *et. al.*, 2000).

### 3.5.3 Analisis *Clustering* dan Principal coordinates Analysis (PCoA)

Analisis *clustering* diketahui melalui 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*).

Penentuan zonasi pengelompokkan pisang Raja diketahui dengan melakukan analisis *multivariate* yaitu analisis koordinat utama. Prosedur analisis komponen utama dilakukan menggunakan program PAST melalui pilihan menu *multivariate-ordination-principal coordinates Analysis* (PCoA), dengan matriks *eigenvalues* and *eigenvectors* (Hammer *et al.* 2001).



## BAB IV

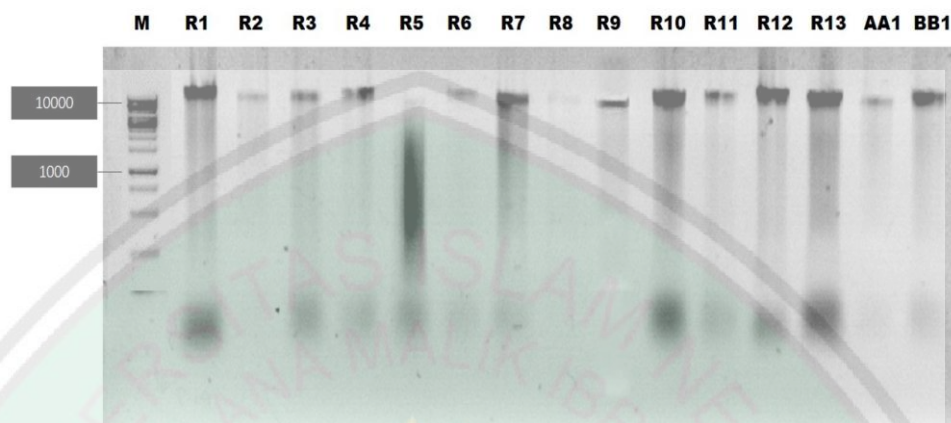
### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Ekstraksi DNA

Hasil ekstraksi DNA pisang raja yang menggunakan The Wizard® Genomic DNA Purification Kit Promega kemudian di uji kualitatif menggunakan elektroforesis gel agarose 1% (Gambar 4.1). Visualisasi elektroforesis pada penelitian ini menghasilkan pita yang bervariasi mulai dari tipis hingga tebal dengan panjang pita DNA *whole* genom yang dihasilkan mencapai 1500 bp. (Gambar 4.1). Pita DNA tipis dihasilkan dari sampel R2, R6, R8 dan AA3, sedangkan pita DNA tebal dihasilkan dari beberapa sampel yaitu R1, R3, R4, R5, R7, R9, R10, R11, R12, R13, dan BB1.

Dalam penelitian ini pita DNA tebal yang dihasilkan menunjukkan konsentrasi DNA yang dihasilkan tinggi, sedangkan pita DNA tipis menunjukkan konsentrasi DNA hasil ekstraksi rendah (Tabel 4.1). Akan tetapi, dalam penelitian ini lebih dari 66,6% hasil pita DNA masih terdapat *smear* (R1, R3, R4, R5, R7, R10, R11, R12, R13, dan BB1), 26,6% pita DNA tebal dengan tidak ada *smear* (R2, R6, R9, AA1), sedangkan 6,7% sisanya tergolong pita DNA tipis tanpa *smear* (R8). *Smear* pada hasil isolasi DNA kemungkinan disebabkan adanya kontaminasi (Fatchiyah *et.al*, 2011) baik kontaminasi protein, RNA (Sambrook *et al.*, 1989, Kundu *et. al.*, 2011), kandungan polisakarida dan polifenol (Kheyrodin dan Ghazyinian, 2012). Selain itu, beberapa faktor yang dapat mempengaruhi konsentrasi ekstraksi DNA diantaranya: teknik isolasi, ketelitian cara pengerjaan,

adanya kontaminasi DNA hasil ekstraksi pada isolat (Fatchiyah et al. 2011) dan hasil ekstraksi yang masih mengandung alkohol (Sambrook dan Russel, 2001).



Gambar 4.1. Visualisasi hasil ekstraksi DNA menggunakan elektroforesis gel agarose 1%

Kemurnian DNA hasil ekstraksi berkisar antara 0,99 sampai 4,06. Kemurnian terendah terdapat pada sampel Raja Bali (R5) yaitu 0,99, sedangkan tertinggi pada Raja Lini (R13) sebesar 4,06. 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). Sampel DNA yang memiliki kemurnian di bawah 1,8 menunjukkan adanya kontaminan protein, sedangkan sampel DNA menunjukkan kemurnian lebih dari 2 menunjukkan adanya kontaminan RNA (Sambrook dan Russel, 2001).

Kontaminan RNA pada sampel DNA terlihat pada hasil uji kualitatif yang menghasilkan pita tebal di bagian bawah (Sambrook *et al.*, 1989). Seperti pada sampel Raja Lini (R13) menunjukkan adanya *smear* dan pita tebal di bagian bawah. Sampel yang memiliki kemurnian DNA antara 1,8 – 2,00 belum tentu memiliki konsentrasi DNA yang tinggi dan tidak terjadi *smear* pada pita DNA.

Seperti pada Raja Kisto (memiliki kemurnian 1.82 dengan konsentrasi DNA 66.44 ng/ $\mu$ L) dan Raja Gareng (memiliki kemurnian 2.00 dengan konsentrasi DNA 70.17 ng/ $\mu$ L) pita DNA masih *smear*.

Perbedaan antara hasil uji kualitatif dengan uji kuantitatif dapat diakibatkan oleh teknis pada saat pengukuran, seperti homogenasi sampel kemungkinan sebagian DNA masih menempel pada *tube*. Selain itu kemungkinan pada proses pipetting saat melakukan elektroforesis, sehingga menyebabkan pita DNA terputus menjadi fragmen fragmen dan hasilnya seperti *smear* (Fatchiyah, 2011)

Tabel 4.1. Hasil Pengukuran Uji Kuantitatif Ekstraksi DNA

No.	Kode	Nama Sampel	A260	A280	Kemurnian (260/280)	Konsentrasi (ng/ $\mu$ L)
1.	R1	Raja Bandung	5.20	2.40	2.17	260.12
2.	R2	Raja Delima	1.19	0.73	1.63	59.68
3.	R3	Raja Sereh	4.36	3.34	1.31	218.05
4.	R4	Raja Kisto	1.33	0.73	1.82	66.44
5.	R5	Raja Bali	2.13	2.16	0.99	106.53
6.	R6	Raja Jambe	1.20	0.45	2.65	59.92
7.	R7	Raja Gareng	1.40	0.70	2.00	70.17
8.	R8	Raja Madu	0.52	0.35	1.50	26.11
9.	R9	Raja Kriyak	1.73	0.73	2.37	86.50
10.	R10	Raja Seribu	2.60	1.09	2.39	130.02
11.	R11	Raja Klutuk	1.15	0.40	2.89	57.67
12.	R12	Raja Brentel	2.87	0.98	2.92	143.30
13.	R13	Raja Lini	2.90	0.71	4.06	144.78
14.	AA3	Monyet	1.27	0.44	2.90	63.68
15.	BB1	Klutuk Wulung	1.29	0.53	2.43	64.54

## 4.2 Ampilfikasi PCR RAPD

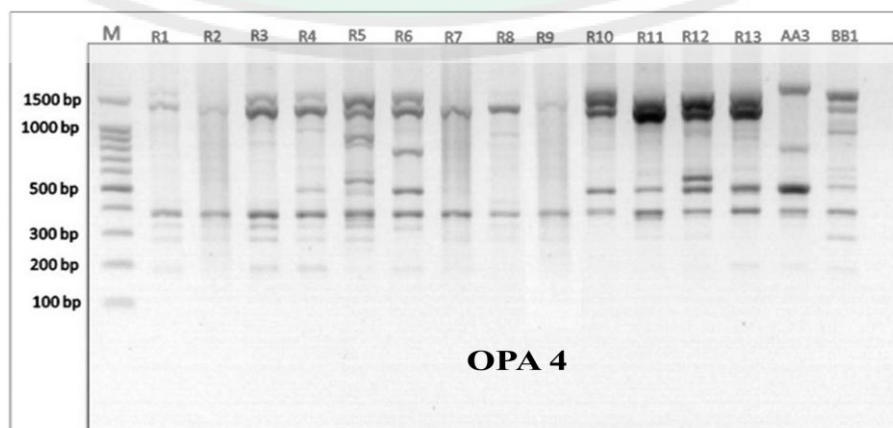
### 4.2.1 *Screening* OPA 1-20

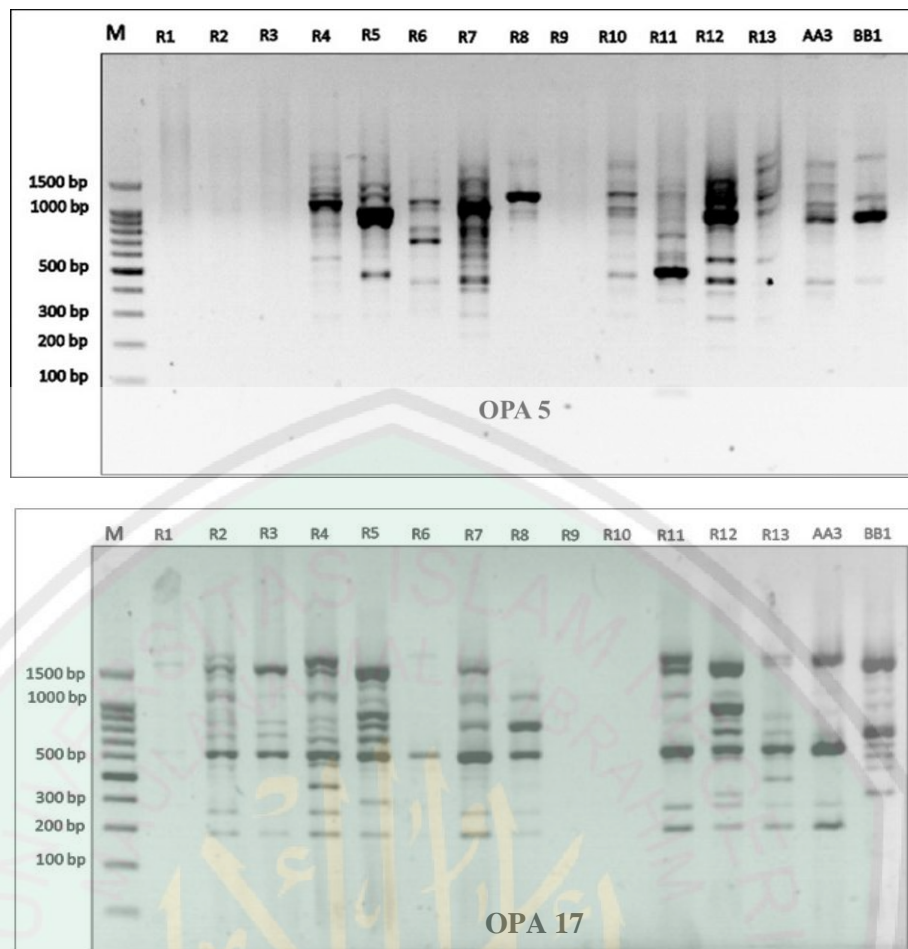
*Screening* dilakukan untuk mencari primer yang efektif dalam mengamplifikasi DNA genom Pisang Raja. Hasil *screening* dari 20 primer menunjukkan terdapat 12 primer yang berhasil mengamplifikasi pita polimorfik DNA pada Pisang Raja yaitu OPA 1, OPA 2, OPA 3, OPA 4, OPA 5, OPA 8, OPA 11, OPA 16, OPA 17, OPA 18, OPA 19, OPA 20. Panjang pita yang dihasilkan pada masing-masing primer berkisar antara 150 bp hingga 10000 bp.

Pita yang dihasilkan dari 12 primer tersebut dapat digunakan untuk analisis diversitas genetik Pisang Raja dikarenakan pita yang dihasilkan sangat jelas (Gambar 4.2). Menurut Lynch dan Milligan (1994) pita DNA yang jelas memudahkan untuk proses skoring, sehingga dapat digunakan untuk analisis variasi genetik baik di dalam dan antar populasi spesies. Pita yang tidak muncul pada masing- masing primer dapat diduga tidak sesuai informasi genetik pada sampel tersebut dengan informasi sekuen primer. Selain itu, dapat diduga kurang telitinya teknik pada proses amplifikasi atau elektroforesis.

Terdapat pita yang bersifat monomorfik yang muncul pada semua sampel, seperti pada primer OPA 1 (800 bp), OPA 4 (400 bp) dan OPA 11 (1500 bp) (Gambar 4.2). Pita monomorfik tersebut diduga memiliki gen yang mengkode sifat sama pada semua sampel pisang raja. Pada marka RAPD tidak dapat memunculkan gen yang mengkode sifat spesifik pada suatu spesies, sehingga perlu dilakukan uji lanjut untuk melihat gen spesifik.

Primer yang menghasilkan pita polimorfik tertinggi adalah OPA 2 dan OPA 17 (Tabel 4.2). Hal tersebut menunjukkan diversitas genetik yang tinggi pada sampel yang digunakan. Munculnya pita polimorfik tinggi akan mengakibatkan diversitas genetik suatu spesies tinggi (Roldan-Ruiz *et.al*, 2000) .





Gambar 4.2. Pita unik hasil Amplifikasi RAPD. R1.raja bali, R2.raja bandung, R3.raja delima, R4.raja kisto, R5.raja gareng, R6.raja jambe, R7.raja kriyak, R8.raja madu, R9.raja sereh, R10.raja seribu, R11.raja kutuk, R12.raja brentel, R13.raja lini, AA3.monyet, BB1.klutuk wulung

Beberapa pita DNA yang dihasilkan dari 15 sampel bersifat polimorfisme. Selain itu, beberapa primer (misal OPA 1 (800 bp), OPA 4 (400 bp) dan OPA 11 (1500 bp)) juga menghasilkan pita monomorfik yang dimiliki sampel lainnya. Keberadaan pita monomorfik ini dapat diketahui dengan jelas meskipun berada diantara pita DNA yang bersifat polimorfisme. Hal ini merupakan salah satu wujud kekuasaan Allah SWT yang tertulis dalam al Quran surat Al-Qamar (54): 53.).

وَكُلُّ صَغِيرٍ وَكَبِيرٍ مُسْتَطَرٌّ ٥٣

Artinya: *Dan segala (urusan) yang kecil maupun yang besar (semuanya) adalah tertulis.*

Kata مُسْتَطَرٌّ yang artinya tertulis yang bermakna segala sesuatu hal yang kecil maupun yang besar sudah tertulis. Kata kecil صَغِيرٍ bermakna segala sesuatu yang nampak berawal dari informasi terkecil (Al-Qarni, 2008). Selain itu juga bermakna segala perbuatan, baik yang kecil maupun yang besar, semuanya tercatat, tidak ada yang terlewatkan (Shihab, 2002). Begitupula dengan adanya pita unik yang dihasilkan, memang sudah menjadi ciri pada sampel tersebut yang Allah SWT ciptakan. Makna tertulis tidak hanya secara tersurat, namun juga tersirat yang berarti ada dan ditetapkan. Sehingga keberadaan pita unik ini merupakan salah satu contoh hal kecil yang sudah menjadi ketetapan Allah SWT. Hikmah dari penelitian ini kita dapat mengetahui salah satu bentuk kekuasaan Allah SWT yang telah menentukan suatu sifat ciptaan-Nya mulai dari hal yang kecil atau tidak nampak seperti DNA.

#### 4.2.2 Analisis Polimorfisme Hasil Amplifikasi Primer RAPD

Total *number of bands* (TNB) yang terbentuk dari 12 jenis primer adalah 121 pita dengan ukuran yang berkisar antar 100 bp hingga 1500 bp. Total pita muncul pada masing-masing primer tertinggi pada OPA 2, OPA 4, dan OPA 17. Terdapat 115 pita polimorfisme dari total pita yang dihasilkan. Pita polimorfisme dari masing-masing primer tertinggi terdapat pada OPA 2 dan OPA 17. Persentase pita polimorfisme berkisar antara 80% - 100%. Rata-rata presentase pita polimorfisme yang digunakan pada penelitian ini mencapai

95,17% (Tabel 4.2). Presentase polimorfisme tertinggi terdapat pada primer OPA 2, OPA 5, OPA 7, OPA 8, OPA 10, OPA 18, OPA 19, OPA 20, sedangkan presentase polimorfisme terendah terdapat pada primer OPA 1. Hal ini mengindikasikan bahwa ke-12 primer tersebut di atas cocok digunakan sebagai marker deteksi variasi genetik pada pisang Raja.

Analisis primer yang paling informatif diketahui dari nilai PIC (*Polymorphism Information Content*). Nilai PIC yang diperoleh pada penelitian ini berkisar antara 0,15 hingga 0,34, dengan rata-rata 0,266. Nilai PIC tertinggi ditunjukkan oleh primer OPA 2 dan OPA 7, sedangkan PIC terendah ditunjukkan oleh primer OPA 16. PIC merupakan informasi untuk mendeteksi primer yang mampu menghasilkan pita polimorfik dalam suatu populasi (D. Dhakshanamoorthy, et al., 2014). Nilai maksimal PIC untuk marka RAPD adalah 0,5. Semakin tinggi nilai PIC maka semakin baik primer tersebut untuk menganalisis variasi genetik (Roldan-Ruiz *et.al*, 2000).

Masing-masing primer memiliki nilai *effective multiplex ratio* (EMR) yang berkisar antara 49 hingga 121, dengan rata-rata 96,25 per primer. Primer OPA 2 dan OPA 17 menghasilkan nilai EMR yang tertinggi yaitu 121, sedangkan primer yang menghasilkan nilai EMR terendah adalah OPA 16 yaitu 49. Analisis EMR dilakukan untuk mengetahui rasio yang efektif dari jumlah produk pita yang dikeluarkan dengan jumlah pita polimorfik (Roldan-Ruiz *et. Ali*, 2000). Primer yang paling efektif dalam menghasilkan pita polimorfik pada pisang Raja adalah OPA 2 dan OPA 17.

Nilai *marker index* (MI) pada masing-masing primer berkisar antara 7,40 hingga 41,02 dengan rata-rata 27,342. Primer OPA 2 memiliki nilai MI tertinggi dengan nilai 41,02, sedangkan OPA 16 memiliki nilai MI terendah dengan nilai 7,40. Nilai MI juga dapat dipengaruhi dari nilai total pita yang muncul pada setiap primer (Varshney *et. Al.*, 2007).

Analisis *resolution power* (Rp) dilakukan untuk mengetahui keefektifan primer dalam menghasilkan pita. Masing-masing primer memiliki nilai Rp yang berkisar antara 2,67-15,60 dengan rata-rata 9,8116 per primer. Nilai Rp tertinggi dihasilkan oleh primer OPA 1 dengan nilai 15,60 sedangkan nilai terendah terdapat pada primer OPA 16 dengan nilai 2,67.

Tabel 4.2 Analisis polimorfisme amplifikasi RAPD primer OPA 1-20

No	Primer	TNB	NPB	PB(%)	PIC	EMR	MI	Rp
1.	OPA 1	10	8	80	0,21	80	17,70	15,60
2.	OPA 2	11	11	100	0,34	121	41,02	11,33
3.	OPA 3	10	9	90	0,25	90	22,86	13,07
4.	OPA 4	11	9	82	0,22	99	21,75	9,33
5.	OPA 5	10	10	100	0,27	100	26,54	6,53
6.	OPA 8	9	9	100	0,25	81	20,57	5,07
7.	OPA 11	10	9	90	0,25	90	22,40	10,27
8.	OPA 16	7	7	100	0,15	49	7,40	2,67
9.	OPA 17	11	11	100	0,34	121	40,87	12,80
10.	OPA 18	10	10	100	0,31	100	30,86	8,67
11.	OPA 19	8	8	100	0,20	64	12,52	4,80
12.	OPA 20	9	9	100	0,28	81	22,32	8,00
<b>Total</b>		121	115	1142	3,19	1155	328,11	117,74
<b>Rata-Rata</b>		10,1	9,583	95,17	0,266	96,25	27,342	9,8116

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; QND: qualitative nature of data; EMI: Effective marker index; GI: genotype inde

### 4.3 Divesitas Genetik Pisang Raja Berdasarkan Marka RAPD

Diversitas genetik pada pisang Raja dapat diketahui dengan nilai koefisien similaritas antar kultivar pisang Raja. Nilai koefisien similaritas digunakan untuk menunjukkan seberapa dekat hubungan genetik antar 15 kultivar pisang Raja.

Semakin besar nilai koefisien kemiripan, maka semakin dekat hubungan antar kultivar. Nilai koefisien *similaritas* dari 15 kultivar Pisang Raja berkisar antara 0,22-0,61 (Tabel 4.3). Nilai koefisien *similaritas* tertinggi didapat oleh Raja Kutuk dengan Raja Brentel yaitu 0,6, sedangkan nilai *similaritas* terendah yaitu Raja Brentel dengan Raja Seribu dan Klutuk Wulung (0,22) (Tabel 4.3).

Tabel 4.3 Nilai koefisien *similaritas* Jaccard 15 kultivar pisang raja

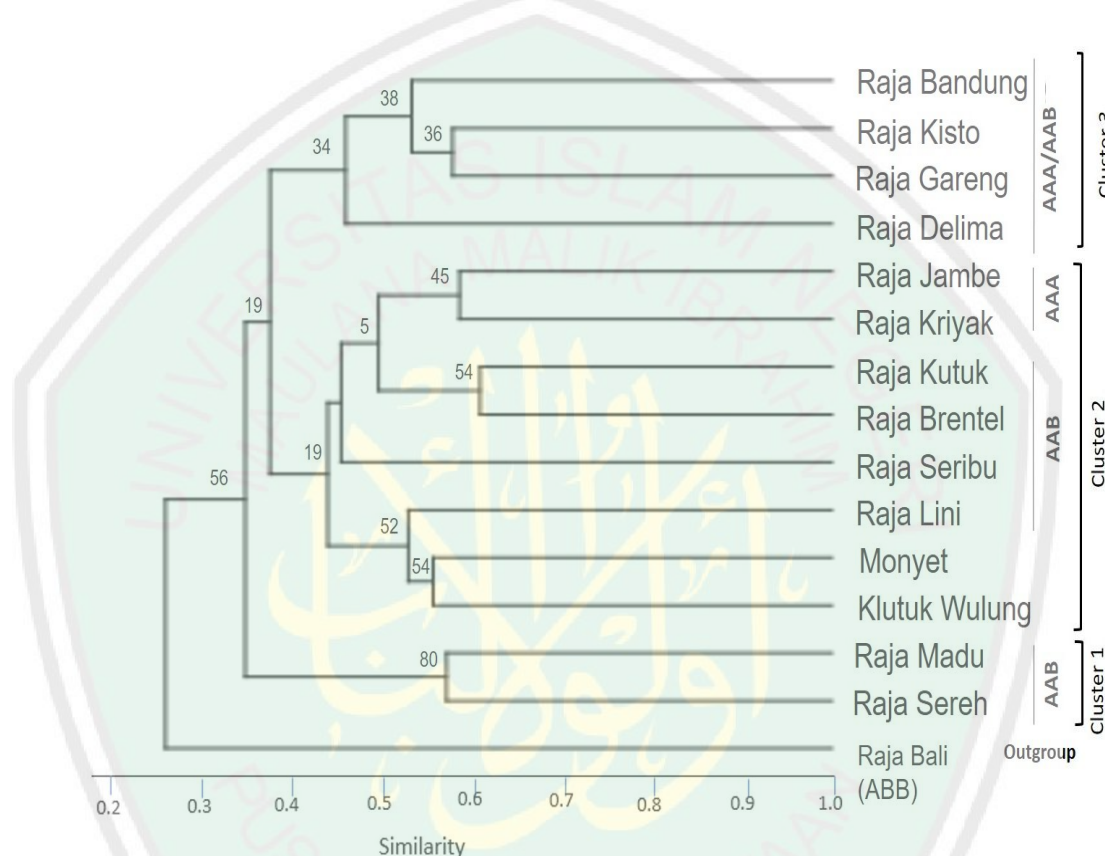
Pisang	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Raja Bali	1														
Raja Bandung	0,27	1													
Raja Delima	0,40	0,49	1												
Raja Kisto	0,29	0,58	0,48	1											
Raja Gareng	0,35	0,50	0,43	0,58	1										
Raja Jambe	0,30	0,41	0,34	0,48	0,35	1									
Raja Kriyak	0,23	0,46	0,36	0,54	0,45	0,59	1								
Raja Madu	0,25	0,36	0,33	0,38	0,43	0,39	0,56	1							
Raja Sereh	0,31	0,26	0,29	0,25	0,24	0,41	0,39	0,58	1						
Raja Seribu	0,22	0,26	0,24	0,35	0,30	0,50	0,43	0,36	0,37	1					
Raja Kutuk	0,26	0,43	0,33	0,48	0,49	0,52	0,59	0,48	0,40	0,52	1				
Raja Brentel	0,25	0,34	0,31	0,48	0,58	0,37	0,53	0,41	0,26	0,40	0,61	1			
Raja Lini	0,24	0,34	0,32	0,44	0,33	0,44	0,52	0,39	0,41	0,43	0,55	0,5	1		
Monyet	0,20	0,36	0,26	0,39	0,35	0,45	0,46	0,37	0,32	0,41	0,52	0,49	0,53	1	
Klutuk															1
Wulung	0,22	0,36	0,31	0,44	0,42	0,32	0,36	0,30	0,23	0,35	0,41	0,5	0,54	0,56	0,56

Keterangan: 1.raja bali,2.raja bandung, 3.raja delima, 4.raja kisto, 5.raja gareng, 6.raja jambe, 7.raja kriyak, 8.raja madu, 9.raja sereh, 10.raja seribu, 11.raja kutuk, 12.raja brentel, 13.raja lini, 14.monyet, 15.klutuk wulung

Nilai koefisien *similaritas* pada penelitian ini berkisar antara antara 0 sampai 1. Apabila koefisien genetiknya semakin dekat dengan 1 maka kultivar tersebut semakin identik secara genetik. Namun apabila koefisien genetiknya mendekati 0 maka kultivar tersebut semakin berbeda secara genetik (Pratiwi, 2012).

Analisis *clustering* menghasilkan 3 cluster dengan *outgroup* Raja Bali (R1). Sampel yang mengelompok pada cluster 1 adalah Raja Madu (R8), Raja Sereh (R3) (Gambar 4.3). Sampel yang berada pada cluster 2 adalah Raja Jambe

(R6), Raja Kriyak (R9), Raja Klutuk (R11), Raja Brentel (R12), Raja Seribu (R10), Raja Lini (R13), Monyet (AA3), Klutuk Wulung (BB1). Sampel yang berada pada cluster 3 adalah Raja Bandung (R2), Raja Kisto (R4), Raja Gareng (R7), Raja Delima (R2) (Gambar 4.3).

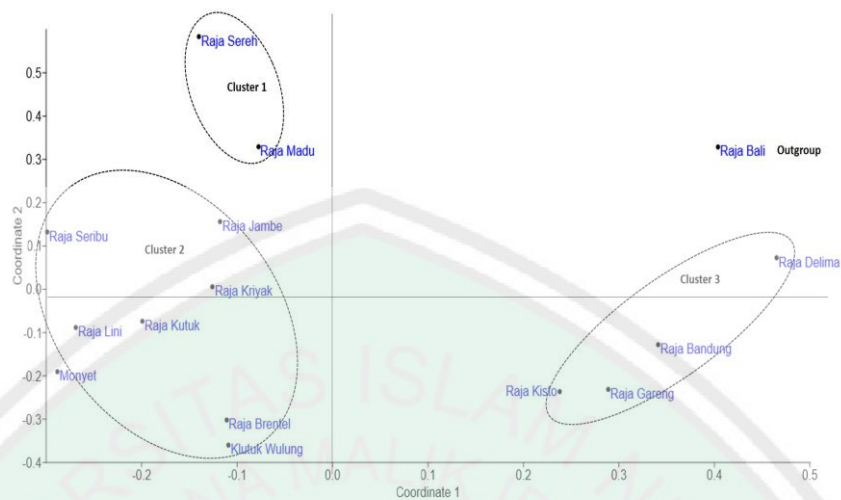


Gambar 4.3 Dendrogram pengelompokan pisang raja dan pengelompokan berdasarkan genom menggunakan marka molekuler RAPD

Sampel Raja Madu dan Raja Sereh membentuk satu kelompok karena memiliki kedekatan atau kemiripan. Kemiripan kultivar tersebut terletak pada koefisien similaritas 0,58 (Tabel 4.3). Sampel Raja Jambe dan Raja Kriyak membentuk satu kelompok dengan nilai koefisien similaritasnya 0,59 (Tabel 4.3), sedangkan Raja Kutuk dan Raja Brentel membentuk satu kelompok dengan nilai

koefisien similaritasnya 0,61 (Tabel 4.3), dimana memiliki nilai koefisien tertinggi. Monyet dan Klutuk Wulung membentuk satu kelompok dengan nilai koefisien similaritas 0,56 (Tabel 5), dimana kedua sampel pisang tersebut merupakan pisang liar dari *M. acuminata* colla dan *M. Balbisiana* colla. Raja Lini memiliki kemiripan dengan dua pisang liar tersebut dengan nilai koefisien similaritas 0,53 dan 0,54 (Tabel 4.3). Adanya kemiripan Raja Lini dengan pisang liar karena hasil pita DNA dan nilai skoring yang dihasilkan hampir sama dengan kedua pisang liar tersebut, hal tersebut diduga Raja Lini memiliki informasi genetik yang hampir sama dengan pisang liar.

Selain pengelompokan berdasarkan nilai koefisien similaritas, kultivar pisang Raja juga mengelompok berdasarkan genomnya. Pada hasil dendogram (Gambar 4.3) dan analisis zonasi dengan PCoA (Gambar 4.4) pembentukan cluster tersebut sesuai dengan genom yang dimiliki pada masing-masing kultivar. Raja Jambe dengan Raja Kriyak membentuk satu kelompok karena keduanya bergenom triploid AAA. Raja Bandung, Raja Kisto, Raja Gareng, dan Raja Delima membentuk satu kelompok karena memiliki kesamaan genom AAB. Raja Bali membentuk outgroup karena memiliki genom yang dominan B yaitu ABB.



Gambar 4.4 Principal co-ordinate map dari 15 sampel Pisang Raja berdasarkan marka molekuler RAPD

Analisis clustering selanjutnya dikonfirmasi dengan analisis Principal coordinate scatter plot (PCO) untuk memperjelas hasil pengelompokan. Analisis PCO menghasilkan pengelompokan yang sama dengan dendrogram (Gambar 4.3). Hasil tersebut menimbulkan dugaan akan adanya diferensiasi genetik antar kultivar pisang raja. Salah satu faktor penyebab diferensiasi genetik adalah adanya faktor luar seperti: isolasi geografis dan fragmentasi habitat serta faktor dalam seperti mutasi, seleksi alam, genetic drift, dan gene flow (Slatkin, 1987).

Allah SWT menciptakan keteraturan yang terjadi dalam kehidupan sebelum makhluk hidup diciptakan. Sebagaimana dari hasil penelitian ini pengelompokan kultivar pisang raja berdasarkan ukuran jarak similaritas dan pembagian zonasi berdasarkan titik koordinat. Allah menciptakan keteraturan dengan ukuran pada hal mulai yang kecil seperti gen. Allah SWT berfirman dalam Surat Al – Qamar (54):49.

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ٤٩

*Artinya: Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran*

Allah menetapkan suatu ukuran dan memberikan petunjuk terhadap semua makhluk kepada ketetapan tersebut. Tidak ada sesuatupun yang terjadi di alam semesta ini yang telah diketahui oleh ilmu Allah yang Maha Sempurna sebelum terjadi sesuatu itu. Allah menciptakan sesuatu dan menentukan ukurannya sesuai ketetapan-Nya. Berdasarkan ayat di atas menyebutkan masalah kadar dan ukuran dari segala yang ada di muka bumi. Ketentuan dan sistem yang telah ditetapkan terhadap segala sesuatu yang ada di muka bumi ini, sehingga dengan kekuasaannya maka semua akan terlihat rapi dan sempurna (Shihab, 2002: 482).

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini yaitu:

1. Terdapat 12 primer yang dapat menghasilkan jumlah pita polimorfik yang tinggi, selain itu nilai koefisien similaritas pisang Raja rendah. Sehingga pisang Raja yang terdapat di pulau Jawa memiliki diversitas genetik yang tinggi
2. Pisang Raja yang ada di Pulau Jawa mengelompok berdasarkan genomnya (AAA, AAB, dan ABB). Hal ini membuktikan bahwa marka RAPD dapat digunakan untuk mengelompokkan pisang Raja berdasarkan genomnya.

#### **5.2 Saran**

Perlu dilakukan proses isolasi DNA dengan reagen secara manual agar dihasilkan konsentrasi DNA yang tinggi, selain itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan marka molekuler spesifik untuk mengkonfirmasi pembagian cluster pada kultivar pisang Raja berdasarkan genomnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- A. Prevost, M.J. Wilkinson, A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars, *Theor. Appl. Genet.* 98 (1999) 107–112.
- Aidh bin Abdullah al-Qarni, Dr. 2008. *391 Hadits Pilihan Mendasari Kehidupan Sehari-hari*. Bekasi: Pustaka Darul Haq.
- Allard, R. W. 1989. *Pemuliaan Tanaman 2*. Bima Aksara. Jakarta.
- Ambarita, Monica Dame Yanti, Eva Sartini Bayu, dan Hot Setiado. 2015. Identifikasi Karakter Morfologi Pisang (*Musa spp.*) di Kabupaten Deli Serdang. *Jurnal Agroekoteknologi*. 4(1): 1911 – 1924.
- Amilda, Y. 2014. Eksplorasi tanaman pisang barangan (*M. acuminata*) di Kabupaten Aceh Timur. *Tesis*. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara.
- Ashari, S. 1995. *Hortikultura Aspek Budidaya*. Jakarta: Universitas Indonesia Press. Hal : 375-385.
- Brown WL. 1983. Genetic diversity and genetic vulnerability – an appraisal. *Econ. Bot.* 37(1): 4–12.
- 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.
- Bustamam, M, Reflinur, Agisimanto, D, Suyono. 2004. Variasi Genetik Padi Tahan Blas Berdasarkan Sidik Jari Dengan Marka Gen Analog Resisten. *Jurnal Biologi Pertanian*. 9 (2):56-61.
- Bustaman, M dan S. Moeljopawiro. 1998. Pemanfaatan teknologi sidik jari dna di bidang pertanian. *Zuriat*. 9: 77-90.
- Champion, J. 1963. *Le Bananier*. Paris, France : Maisonneuve et Larose eds.
- Champion, J. 1967. *Les bananiers et leur culture; tome I: botanique et génétique*. Paris, France : SETCO eds..37.
- Crouch JH, Crouch HK, Constandt H, Van Gysel A, Breyne P, Van Montagu M, Jarret RL, Ortiz R. 1999. Comparison of PCR-based molecular marker analyses of *Musa* breeding populations. *Mol.Breed.* 5: 233-244.
- D. Dhakshanamoorthy., Selvaraj, Radhakrishnan., Chidambaram, Alagappan. 2014. Utility of RAPD marker for genetic diversity analysis in gamma rays

and ethyl methane sulphonate (EMS)-treated *Jatropha curcas* plants. *C. R. Biologies*.

Daniells J., C. Jenny, D. Karamura and K. Tomekpe. 2001. *Musalogue: a catalogue of Musa germplasm. Diversity in the genus Musa (E. Arnaud and S. Sharrock, compil.)*. France: International Network for the Improvement of Banana and Plantain, Montpellier.

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 ON, de Oliveira e Silva E, Amorim EP, Ferreira CF, de Campos JMS, de Gaspari Silva G, Figueira A. 2013. Genetic diversity and population structure of *Musa* accessions in ex-situ conservation. *BMC Plant Biology* 13, 41.

De Langhe, E., L. Vrydaghs, P. de Maret, X. Perrier & T. Denham. 2009. Why bananas matter: An introduction to the history of banana domestication. *Ethnobotany Research & Application* 7:165-177.

Demeke, T and R.P. Adams. 1994. PCR Technology Current Innovation: The Use PCR RAPD Analysis in Plant Taxonomy and Evolution. CRC. Press. Inc.

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.

Espino, R.R.C., Jamaludin, S.H., Silayoi, Bechamas., dan Nasution, R.E. (1992). *Musa L. (Edible Cultivars)* dalam E.W.M. Verheis and R.E. Coronel (Editors): *Plant Resources of South-East Asia No. 2 Edible Fruits and Nuts*. Penerbit: Prosea Bogor Indonesia. hlm: 225-229.

FAO. 2012. *Bananas*. <http://www.FAO.org/economic/est/est-comodities/bananas/en/>. Diakses pada tanggal 28 Desember 2017 pukul 18.00 WIB.

Fatchiyah. 2011. *Amplifikasi DNA*. pp: 48-56. In Fatchiyah, Arumingtyas, E.L., Widarti, S., & Rahayu, S. *Biologi Molecular: Prinsip Dasar Analisis*. Erlangga, Jakarta.

Fauza, H., I. Ferita, M. H. Karmana, N. Rostini dan R. Setiamihardja. 2007. Variabilitas genetik tanaman gambir berdasarkan marka RAPD. *Zuriat* 18 (2): 93-99.

Finkeldey R. 2005. *Pengantar Genetika Hutan Tropis*. E. Jamhuri, I.Z. Siregar, U.J. Siregar dan A.W. Kertadikara, penerjemah. Göttingen : Institute of

- Forest Genetics and Forest Tree Breeding Georg-August-University-Göttingen. Terjemahan dari : *An Introduction to Tropical Forest Genetics*.
- Grajal-Martin M, Siverio-Grillo G, Marrero-Dominguez A. 1998. The use of randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) for the study of genetic diversity and somaclonal variation in *Musa*. *Acta. Hort.* 490: 445-454.
- 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.* p. 1057–1067.
- Hammer, Øyvind., Harper, David A. T., Ryan, Paul D. 2001. Past: Paleontological Statistics Software Package For Education And Data Analysis. *Palaentologia Electronica*. 4.(1).
- Hapsari, Lia., Lestari, Dewi Ayu., Masrum, Ahmad. 2015. *Album Koleksi Pisang Kebun Raya Purwodadi Seri 1*. Pasuruan: Unit Pelaksana Teknis Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi – LIPI.
- Hapsari, Lia., Kennedy, Jean., Lestari, Dewi Ayu., Masrum, Ahmad., Lestarini, Wiwik. 2017. Ethnobotanical Survey of Bananas (Musaceae) in Six Districts of East Java, Indonesia. *Biodiversitas*. 18.(1).
- Horry, J.P., Ortiz, R., Arnaud, E., Crouch, J.H., Ferris, R.S.B., Jones, D.R., Mateo, N., Picq, C. and Vuylsteke, D. 1997. *Banana and Plantain. In Biodiversity in Trust, Conservation and Use of Plant Genetic Resources in CGIAR Centres* (Fuccillo D, Sears L, Stapleton P.). Cambridge University Press.
- I. Roldan-Ruiz, J. Dendauw, E. VanBockstaele, A. Depicker, M. De Loose, AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.), *Mol. Breed.* 6 (2000) 125–134.
- Ibnu Manzur. 1993. *Lisanul arab*. Beirut, Daru al-Kitab al-Ilmiah.
- INIBAP. 2002. *A Strategy for the global Musa genomics consortium. international network for the improvement of banana and plantain*. Report of a meeting held in Arlington, USA. 17-20 Jul 2001. IPGRI. Maccaresse.
- Jaccard P. 1901. Étude comparative de la distribution florale dans une portion des Alpes et des Jura. *Bulletin del la Société Vaudoise des Sciences Naturelles* 37(1901): 547-579.
- Jones, D.R. 2000. *Diseases of Banana Abaca and Enset*. London. UK: CABI Publishing.

- Kaemmer D, Fischer D, Jarret RL, Baurens F-C, Grapin A, Dambier D, Noyer JL, Lanaud C, Kahl G, Lagoda PJJ (1997) Molecular breeding in the genus *Musa*: a strong case for STMS marker technology. *Euphytica* 96:49–63.
- Karsinah, S. Purnomo, Sudjijo, dan Sukarmin. 2002. Perbaikan Tekstur Buah Jeruk Siam melalui Hibridisasi. Laporan Hasil Penelitian Tahun 2002. Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika, Solok.
- Kementerian Pertanian. 2016. OUTLOOK Komoditas Pertanian Sub Sektor Hortikultura (Pisang). Jakarta: Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Kementerian Pertanian.
- Khasanah, Anis Nur dan Marsusi. 2014. Karakterisasi 20 Kultivar Pisang Buah Domestik (*Musa paradisiaca*) dari Banyuwangi, Jawa Timur. *EL – VIVO*. 2(1): 20 – 27.
- 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.
- 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.
- Kuswanto. 2007. *Bertanam Pisang dan Cara Pemeliharaanya*. Deriko.
- Lakshmanan V, Venkataramareddy SR, Neelwarne B. 2007. Molecular analysis of genetic stability in long-term micropropagated shoots of banana using RAPD and ISSR markers. *Elec J Biotechnol*, 10 (1) 106–113.
- Lamare, animos dan Rao, rama satyawada. 2015. Efficacy of RAPD, ISSR and DAMD markers in assessment of genetic variability and population structure of wild *Musa acuminata* Colla. *Physiol Mol Biol Plants*. 21(3):349–358.
- 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*. 54. 2007. 1437–1446.
- Liu, A.Z., W.J. Kress & 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.

- Luqman, N. A. 2012. Keberadaan jenis dan kultivar serta pemetaan persebaran tanaman pisang (*Musa Sp.*) pada ketinggian yang berbeda di Pegunungan Kapur Kecamatan Ayah Kabupaten Kebumen. *Skripsi*. Univ. Negeri Yogyakarta.
- Lynch M. dan B.G. Milligan. 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology* (1994) 3, 91-99.
- Maftuchah. 2001. Strategi pemanfaatan penanda molekuler dalam perkembangan bidang hortikultura. Makalah Sarasehan Pemanfaatan Penanda Molekuler di Bidang Hortikultura. Indonesian Biotechnology Information Centre (IndoBIC). Bogor.
- Mahalli Al, Imam Jalaluddin dan As-Suyuti. *Tafsir Jalalain*. Sinar Baru Algensindo
- Makunthakumar, S., P. Padmesh, P. S. Vineesh, R. Skaria, K. H. Kumar, P. N. Krishnan. 2013. Genetic diversity and differentiation analysis among wild antecedents of banana (*Musa acuminata* Colla) using RAPD markers. *Indian Journal of Biotechnology*. 12: 493-498.
- 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*. 113.135-144.
- Nair, A.S., L. Resmi,. 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. dan I. Yamada. 2001. Pisang-pisang Liar Di Indonesia. PUSLIT dan Pengembangan Biologi-LIPI. Bogor: Balai Penelitian Botani, Herbarium Bogorienses.
- Nuswamarhaeni, S., D. Prihatini, E.P. Pohan. 1989. Srikaya. Trubus. Penebar Swadaya.
- Nwakanma C, Pillay M, Okoli BE, Tenkuano A. 2003. PCR-RFLP of the ribosomal DNA Internal Transcribed Spacer (ITS) provide markers for the A and B genomes in *Musa* L. *Theory of Application Genetics* 108, 154-159.
- Ochsee, JJ. 1931. *Vegetable of The Dutch East Indies*. Bogor: Archipel Drukkerij.
- Odum, E.P. 1993. *Dasar-dasar Ekologi*. Terjemahan Tjahjono Samingan. Edisi Ketiga. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Oktavianti, Ria. 2013. Keragaman Lima Kultivar Pisang (*Musa spp.*) Berdasarkan Penanda Morfologi dan *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD).

*Skripsi*. Fakultas Pertanian dan Peternakan. Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau. Pekanbaru.

- 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.
- Onguso JM, Kahangi EM, Ndiritu DW, Mizutani F. 2004. Genetic characterization of cultivated banana.
- Pillay M, Nwakanma DC, Tenkouano A. 2000. Identification of RAPD markers linked to A and B genome sequences in *Musa* L. *Genome*, 43: 763-767.
- Powell, W., G.C. Macharay, and J. Provan. 1996. Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trends Plant Sci*. 1:215-222.
- Prahardini, P. E. R., Yuniarti, dan Amik K. 2010. Karakterisasi varietas unggul Pisang Mas Kirana dan Agung Semeru di Kabupaten Lumajang. *Buletin Plasma Nutfah*. 16(2): 126-133.
- Pratiwi, P. 2012. *Analisis Variasi Genetik Beberapa Populasi Globba leucantha Miq. di Sumatera Barat dengan Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)*. Thesis. Program Pascasarjana Universitas Andalas.
- Prevost, A., M.J. Wilkinson. 1999. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theor. Appl. Genet*. 98:107–112.
- Prihatman, Kemal. 2000. Tentang Budidaya Pertanian Pisang. Jakarta: Kantor Menristek Bappenas.
- Purwadaria, Hadi, K. 2006. *Issue and Solutionsof Fresh Fruits Export in Indonesia*. Indonesia: Departement of Agricultural Engineering Bogor Agriculture University.
- R.K. Varshney, K. Chabane, P.S. Hendre, R.K. Aggarwal, A. Graner, 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*. 173 (2007) 638–649.
- Racharak, phruet dan Eiadthoung, wichan. 2007. Genetic relationship among subspecies of *Musa acuminata* Colla and A-genome consisting edible cultivated bananas assayed with ISSR markers. *Songklanakarin J. Sci. Technol*. Vol. 29 No. 6.
- Rao dan Hodgkin. 2002. Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic Resources. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 68: 1–19.

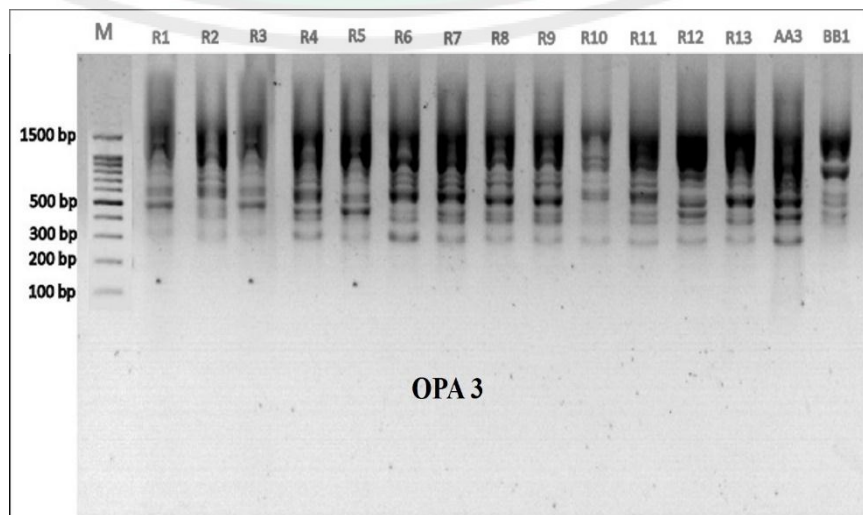
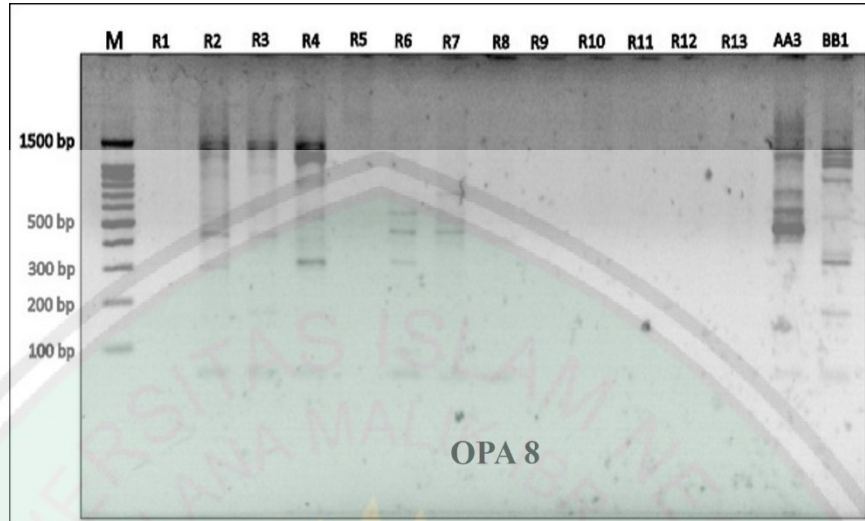
- Ray T, Dutta I, Saha P, Das S, Roy SC. 2006. Genetic stability of three economically important micropropagated banana (*Musa* spp.) cultivars of lower Indo-Gangetic plains, as assessed by RAPD and ISSR markers. *Plant Cell Tiss Org Cult*,85 (1) 11–21.
- Robinson, J. C. 1999. *Bananas and Plantains*. New York: CABI Publishing.
- Rohlf FJ. 1998. NTSYS-pc version 2.0. Numerical Taxonomi and Multivariate Analisis System. *Exeter Software, Setauket*. New York.
- Roldan-Ruiz, I., J. Dendauw, E. VanBockstaele. 2000. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). *Mol. Breed.* 6. 125–134.
- Ruchjaningsih A., Imaraman, Thamrin M., Kanro M.Z. 2002. Penampilan Fenotipik dari Beberapa Parameter Genetik Delapan Kultivar Kacang Tanah pada Lahan Sawah. *Zuriat* 11(1): 110
- Rusdiansyah, D. 2013. *Potensi dan Peluang Investasi Serta Permasalahan Komoditi Pisang di Kalimantan Timur*. Badan Perizinan Penanaman Modal Daerah Povinsi Kaltim.
- Said Bahreisy, Salim Bahreisy. Tanpa Tahun. *Terjemah Singkat Tafsir Ibnu Katsir*, Jilid II. Surabaya: PT Bina Ilmu
- Sambrook J, Russell DW. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3rd edition. New York: Laboratory Pr.
- Sambrook J, Russell DW. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3rd edition. New York: Laboratory Pr.
- Shannon CE. 1948. A mathematical theory of communication. *Bell System Tech. J.* 27: 379-423, 623-656.
- Shihab, Quraish. 2002. *Tafsir Al-Mishbah : Pesan, Kesan, dan Keserasian Al Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sholihah, M. 2014. Hubungan kekerabatan beberapa kultivar pisang (*Musa* sp) untuk sifat ketahanan terhadap penyakit berdasarkan resistance gebe analogs (RGA). *Skripsi*.
- Siddiqah, M. 2002. Biodiversitas dan hubungan kekerabatan berdasarkan karakter morfologi berbagai plasma nutfah pisang. *Skripsi* . Fakultas Matematikadan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Simmonds NW, Shepherd K. 1955. The taxonomy and origins of cultivated bananas. *J. Linn. Soc. Bot. Lond.* 55: 302-312.

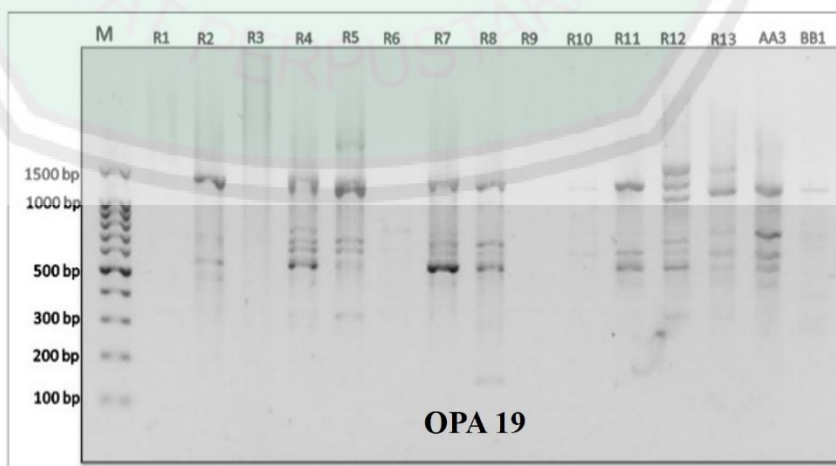
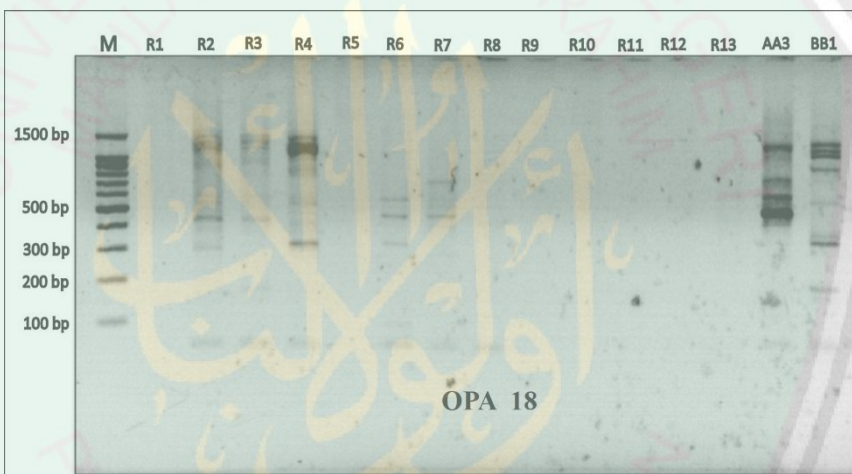
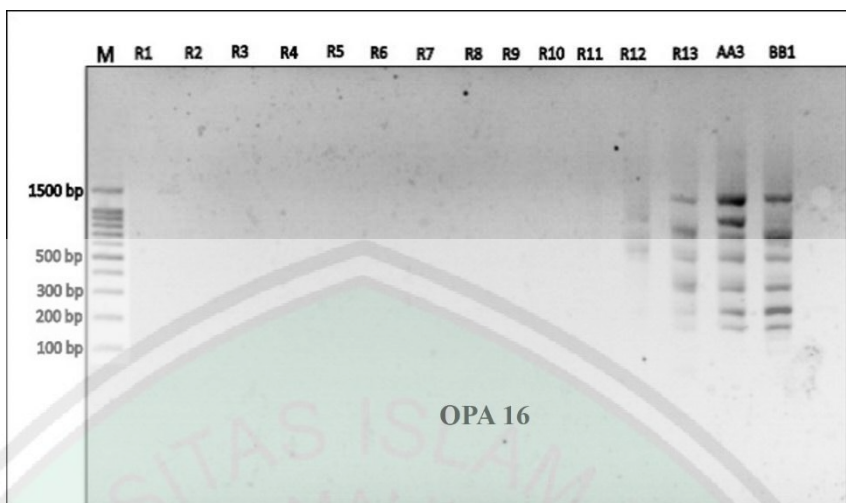
- Simmonds NW. 1962. *Evolution of the bananas*. London: Longmans.
- Simmonds, N.W.1959. *Bananas*.Longman Inc, New York.
- Simmonds. 1996. *Numeric Taxonomy of Wild Bananas (Musa sp.)*. New Phyto I.
- Simpson, M.G. 1953. *Plant Systematics*. London, United Kingdom: Elsevier Academic Press.
- Simpson, M.G. 2006. *Plant Systematics*. USA: Elsevier Academic Press.
- Singh HP, Uma S, Sathiamoorthy S. 2001. *A tentative key for identification and classification of Indian bananas*. Tiruchirapalli, India: National Research Centre for Banana (NRCB), 7-16.
- Slatkin, M. 1987. Gene Flow and the Geographic Structure of Population. *Science Journals* 236: 787-792
- Suhartanto., Sobir., Harti. 2012. *Teknologi Sehat Budidaya Pisang: Dari Benih Sampai Pasca Panen*. Bogor: Pusat Kajian Hortikultura Tropika, LPPM-IPB.
- Sukartini, 2006. Pengelompokan Aksesori Pisang Menggunakan Karakter Morfologi IPGRI. *J.Hort.* 17(1) : 26-33.
- Sunaryo, Widi. 2015. Review: Aplikasi DNA barcoding untuk analisis keragaman genetik lai-durian (*Durio zibethinus* x *kutejensis*) asal Kalimantan Timur. *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON.* 1(6.)
- Suryanto. 2003. Melihat Keanekaragaman Organisme Melalui Beberapa Teknik Genetika Molekuler. *Digitized by usu digital library*.
- Susanti, Nova. 2013. Karakterisasi morfologi dan genetik lima kultivar pisang (*Musa spp.*). *Skripsi* . Univ. Islam Negri Suska Riau.
- Syamsuardi, Jamsari and D. Pohan. 2008. *Genetic Variation within Population and Gene Flow between Populations of Morus macroura Miq. var. macroura in West Sumatra*. Presented paper in The Sixth Regional IMT GT Uninet Conference. Penang 28 August 2008.
- Tjitrosoepomo, G. 1994. *Morfologi Tumbuhan*. Jogjakarta: Gajah Mada University Press.
- Uma, S., J. Sudha, M.S. Saraswathi, M. Manickavasagam, R. Selvarajan, P. Durai, S. Sathiamoorthy dan S.A. Siva. 2005. Studies on the Origin and Diversification of Indian Wild Banana (*Musa balbisiana*) using arbitrarily Amplified DNA Marker. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology.* 79 (4): 523–527.

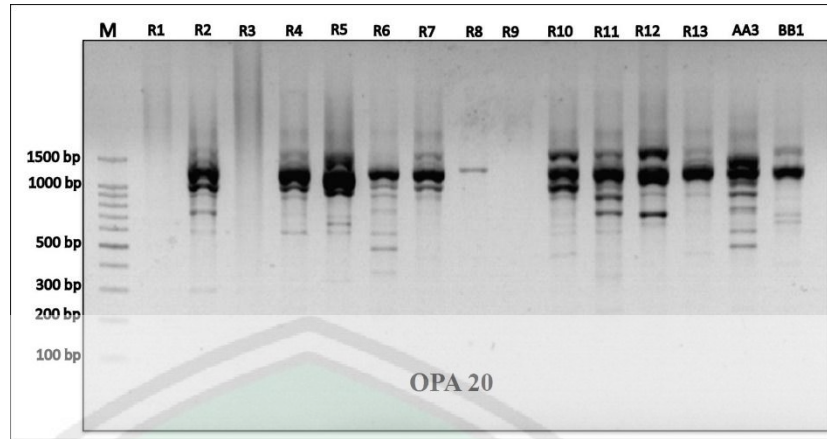
- USDA. 2009. *Taxon M. acuminata* .<http://www.usda.gov/>. Diakses pada tanggal 27 Desember 2017 pukul 10.00.
- Valmayor, R. V., Jamaluddin, S. H., Silayoi, B., Kusumo, S., Danh, L. D., Pascua, O. C., Espino, R. R. C. 2000. Banana Cultivar Names and Synonyms In Southeast Asia. International Network for the Improvement of Banana and Plantain-Asia and the Pacific Office, Los Banos, Laguna, Philippines.
- 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.* 173. 638–649.
- Virk, P.S., H.J. Newbury, M.T. Jackson, and B.V. Ford-Lloyd. 1995. The identification of duplicate accession within a rice germplasm collection using RAPD analysis. *Theor. Appl. Genet.* 90:1049-1055.
- Welsh J, McClelland M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucl Acids Res.* 18: 7213-7218.
- Williams, J. G., A. R., Kubelik, K.J., Livak, J. A., Rafalski and S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary promoters are useful as genetic markers. *Nucl. Acid Res.* 18: 6531-6535.
- Witono JR, Kondo K. 2007. Genetic relationship of *Pinanga coronata* accesions by RAPD markers. *Chromosome Botany* 2: 93-97.
- Wong C, Kiew R, Loh JP, Gan HL, Set O, Lee SK, Lum S, Gan YY. 2001. Genetic diversity of the wild banana *Musa acuminata* Colla in Malaysia as evidenced by AFLP. *Ann Bot* 88:1017–1025.
- Wong, Carol., Kiew, Ruth., Argent, George., Set, Ohn., Lee Sing, Kong., Gan, Yik Yuen. 2002. Assessment of the Validity of the Section in *Musa* (Musaceae) using AFLP. *Annals of Botany.* 90.(2).
- Yu and K.P. Pauls. 1994. PCR Technology Current Innovation: Optimization of DNA-Extraction and Procedures For RAPD Analysis in Plants. CRC. Press Inc.
- Yunanto T. 2006. Implikasi Genetik Sistem Silvikultur Tebang Pilih Tanam Jalur (TPTJ) pada Jenis *Shorea johorensis* berdasarkan Metode RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). *Skripsi*. Bogor: Departemen Silvikultur, Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor.
- Zuhairini, E., 1997. *Budidaya Pisang Raja*. Trubus Agrisarana. Surabaya.

## LAMPIRAN 1

Gambar 16. Hasil amplifikasi RAPD







Keterangan: R1: Raja Bali  
 R2: Raja Bandung  
 R3: Raja Delima  
 R4: Raja Kisto  
 R5: Raja Gareng  
 R6: Raja Jambe  
 R7: Raja Kriyak  
 R8: Raja Madu  
 R9: Raja Sereh  
 R10: Raja Seribu  
 R11: Raja Klutuk  
 R12: Raja Lini  
 R13: Raja Brentel  
 AA3: Monyet  
 BB1: Klutuk wulung

## LAMPIRAN 2

Tabel 6. Skoring pita DNA

### OPA 1

Ukuran Pita (bp)	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	R11	R12	R13	AA3	BB1
150	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0
300	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
400	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1
500	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
600	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1
700	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
800	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1
900	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1000	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0
1500	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0

Keterangan : Total 10 pita yang muncul pada setiap sampel

### OPA 2

Ukuran Pita (bp)	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	R11	R12	R13	AA3	BB1
200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
250	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
300	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
350	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
600	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
700	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
800	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
900	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1000	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1
1500	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1

Keterangan: Total 11 pita yang muncul pada setiap sampel

### OPA 3

Ukuran Pita (bp)	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	R11	R12	R13	AA3	BB1
300	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
400	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
450	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
500	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
600	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1
700	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1
800	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0
900	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1



900	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
1000	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
1500	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1

Keterangan: Total 9 pita yang muncul pada setiap sampel

### OPA 11

Ukuran Pita (bp)	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	R11	R12	R13	AA3	BB1
250	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
400	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0
500	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0
600	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
700	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0
800	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0
900	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
1000	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0
1250	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1
1500	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Keterangan: Total 10 pita yang muncul pada setiap sampel

### OPA 16

Ukuran Pita (bp)	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	R11	R12	R13	AA3	BB1
150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
700	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
900	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1

Keterangan: Total 7 pita yang muncul pada setiap sampel

### OPA 17

Ukuran Pita (bp)	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	R11	R12	R13	AA3	BB1
100	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1
300	0	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1
350	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1
400	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1
500	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1
600	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
750	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1
800	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1
900	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1
1000	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1
1500	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1

Keterangan: Total 11 pita yang muncul pada setiap sampel

**OPA 18**

Ukuran Pita (bp)	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	R11	R12	R13	AA3	BB1
250	0	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0
300	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
400	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
500	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0
600	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
750	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
800	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0
900	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0
1000	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
1500	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0

Keterangan: Total 10 pita yang muncul pada setiap sampel

**OPA 19**

Ukuran Pita (bp)	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	R11	R12	R13	AA3	BB1
300	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
500	0	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	1
550	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	0
600	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0
700	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
1250	0	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	0
1500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0

Keterangan: Total 8 pita yang muncul pada setiap sampel

**OPA 20**

Ukuran Pita (bp)	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	R11	R12	R13	AA3	BB1
300	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
500	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
600	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0
650	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1
750	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	1
800	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0
900	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0
1000	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1
1500	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1

Keterangan: Total 9 pita yang muncul pada setiap sampel