

**HUBUNGAN KEKERABATAN SERTA PENGELOMPOKAN KULTIVAR  
PISANG BERDASARKAN MARKA MORFOLOGI DAN  
SEKUEN INTRON *trnL***

**SKRIPSI**

Oleh:  
**FARAH NAHDIA NOOR**  
**NIM. 15620076**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2020**

**HUBUNGAN KEKERABATAN SERTA PENGELOMPOKAN KULTIVAR  
PISANG BERDASARKAN MARKA MORFOLOGI DAN  
SEKUEN INTRON *trnL***

**SKRIPSI**

Oleh:

**FARAH NAHDIA NOOR**

**15620076**

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)

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2020**

**HUBUNGAN KEKERABATAN SERTA PENGELOMPOKAN KULTIVAR  
PISANG BERDASARKAN MARKA MORFOLOGI DAN  
SEKUEN INTRON *trnL***

**SKRIPSI**

Oleh:  
**FARAH NAHDIA NOOR**  
**NIM. 15620076**

telah diperiksa dan disetujui untuk diuji  
tanggal: 19 Mei 2020

Pembimbing I

Pembimbing II

Didik Wahyudi, M.Si  
NIP. 19860102201801 1 001

Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I  
NIDT. 19890113 20180201 1 244

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M. P  
NIP. 197410182003122002

**HUBUNGAN KEKERABATAN SERTA PENGELOMPOKAN KULTIVAR  
PISANG BERDASARKAN MARKA MORFOLOGI DAN  
SEKUEN INTRON *trnL***

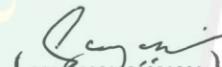
**SKRIPSI**

Oleh:  
**FARAH NAHDIA NOOR**  
**NIM. 15620076**

telah dipertahankan  
di depan Dewan Pengaji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai  
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal:

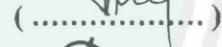
Pengaji Utama

: Suyono, M.P  
NIP. 19710622 200312 1 002

()

Ketua Pengaji

: Azizatur Rohmah, M.Sc  
NIP. 19860930201601082065

()

Sekretaris Pengaji

: Didik Wahyudi, M.Si  
NIP. 19860102201801 1001

()

Anggota Pengaji

: Oky Bagas P., M.PdI  
NIP. 19890113201802011244

()

Mengesahkan,  
Ketua Program Studi Biologi



**Dr. Evika Sandi Savitri, M. P**  
**NIP. 197410182003122002**

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Kupersembahkan karya yang jauh dari kata sempurna ini kepada orang-orang hebat yang telah memberikan motivasi dan dukungan, teruntuk:

1. Kedua orang tuaku tersayang, Ayah Sulis dan Mama Leni, yang senantiasa mendo'akan putrinya demi kebermanfaatan ilmu dan kelancaran dalam setiap usaha tanpa menuntut untuk menjadi yang terdepan.
2. Kepada Bapak Didik Wahyudi, M.Si selaku dosen pembimbing I yang tanpa bosan dan lelah membimbing saya dengan caranya yang luar biasa sampai saya berada pada titik ini. Serta Bapak Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I, selaku dosen pembimbing II yang senantiasa memberikan bimbingannya selama ini
3. Bapak Mujahidin Ahmad, M.Sc selaku dosen wali selama 10 semester
4. Alm. Bapak Romaidi, M.Si., D.Sc selaku ketua Jurusan Biologi 2019 yang selalu ada disaat saya membutuhkan tanda tangan dan selalu perhatian baik dalam hal perkuliahan maupun pribadi mahasiswanya.
5. Tim Banana 15, Lailatus Sholichah dan Khafidhotur Rifliyah yang sama-sama berjuang. Tak lupa Mas Rasya dan Mas Affan yang juga berpartisipasi dalam penelitian ini.
6. Sahabat-sahabat rumah ku Wimbi, Sufi dan Dias yang selalu mendukung melalui keberadaanya. Selalu mengingatkan akan kesalahan yang saya lakukan dengan cara yang tidak biasa
7. Teman Kodok Malik, Zaka, Sakhou dan Nuri, terimakasih.
8. Teman-teman Biologi C dan Genetist'15 yang sudah saya anggap sebagai keluarga. Terimakasih telah menemani selama proses menempuh S1. Serta semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu-persatu yang telah membantu terealisasinya tugas akhir ini.

Atas dukungan, motivasi, canda tawa dan nasihatnya, semoga Allah membalas semua kebaikan yang telah diberikan. Semoga karya ini mampu memberikan nilai manfaat khususnya bagi saya dan bagi orang lain. Aamiin

## MOTTO

*Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya*



**PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Farah Nahdia Noor  
NIM : 15620076  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul Penelitian : Hubungan Kekerabatan Serta Pengelompokan Kultivar Pisang Berdasarkan Marka Morfologi dan Sekuen Intron  
*trnL*

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya 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 dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang,  
Yang membuat pernyataan,



Farah Nahdia Noor  
NIM. 15620076

## PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



## ABSTRAK

Noor, Farah Nahdia. 2020. **Hubungan Kekerabatan Serta Pengelompokan Kultivar Pisang Berdasarkan Marka Morfologi dan Sekuen Intron *trnL*.** Skripsi Program Studi Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: (I)Didik Wahyudi, M.Si (II) Oky Bagas Prasetyo, M.PdI.

---

**Kata Kunci:** *Kultivar Pisang, trnL, divergensi, evolusi*

Simmonds menyatakan bahwa kultivar pisang di Asia Tenggara berasal dari keturunan *Musa acuminata* dan *Musa balbisiana*. Kedua pisang tersebut dijadikan penunjuk nama genom dimana masing-masing pisang menyumbang genom A dan B. Selama ini, untuk mengetahui tata nama genom kultivar pisang dilakukan melalui identifikasi morfologi. Namun, penggunaan sistem ini bersifat subyektif, oleh karena itu diperlukan pendekatan molekuler melalui sekuen DNA spesifik intron *trnL* dapat dikatakan lebih akurat karena dapat membaca perubahan basa nukleotida yang dapat digunakan untuk menganalisis laju evolusi. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui evolusi dari kultivar pisang dalam bentuk pohon filogenetik. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan dalam pemuliaan pisang nantinya. Penelitian ini menggunakan 14 kultivar pisang, terdiri dari genom AA, AAA, AAB, ABB dan BB.

Penelitian berdasarkan maka morfologi dengan 33 karakter menghasilkan 5 culster menggunakan aplikasi PAST menggunakan indeks similaritas Bray-curtis. Sedangkan hasil penelitian berdasarkan marka molekuler intron *trnL* yakni sekuen intron *trnL* mampu menulusuri karakter genom yang diturunkan melalui analisis hasil sekuensing dengan data hasil sekuensing berupa macam-macam substitusi dan hasil BLAST dari 13 sekuen kultivar pisang tersebut. Hasil analisis data evolusi, evolusi kultivar pisang dimulai pada 51.9 Mya berkisar antara 44.8 Mya hingga 60.5 Mya yang terjadi pada zaman Eocene awal. Puncak diversifikasi kultivar pisang terjadi pada tahun 16 Mya berkisar antara 29.8 Mya hingga 5 Mya terjadi pada zaman Miocene.

## ABSTRACT INGGRIS

Noor, Farah Nahdia. 2020. **Kinship Relations and Grouping of Banana Cultivars Based on Morphological Markers and Intron Sequence *trnL*.** Thesis of Biology Department. Science and Technology Faculty. State Islamic University (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Advisor: (i) Didik Wahyudi, M.Si (II) Oky Bagas Prasetyo, M.PdI .

---

**Key words:** *Banana cultivars, trnL, divergence, evolution*

Simmonds stated that banana cultivars in Southeast Asia come from *Musa acuminata* and *Musa balbisiana* generation. Those banana becomes a reference for genome names which are every banana gives A and B genome. All the time, the morphological identification is used to find out the banana genome nomenclature. However, the use of the morphology identification is subjective. To create the result more accurate, it needs the molecular approach through *trnL* intorn specific DNA sequences because it is used to read the nucleotide base change that can be used to analyze the evolution rate. The study aims to find out the banana cultivar evolution in the form of phylogenetic trees. As the result of the study, the researcher hopes that this study can be used as a reference in banana breeding in the further study. This study uses 14 (fourteen) banana cultivar, it consists of AA, AAA, AAB, ABB and BB genome.

The study is based on morphology marker with 14 characters that produce 5 clusters by using PAST application and Bray-curtis similarity index. While the result of *trnL* intron molecular marker shows that *trnL* intron sequence can find the generation of genome characters through analysis of sequencing results by the data of sequencing results in the various substitutions and the BLAST results from 13 banana cultivar sequences. Furthermore, the result of evolution data analysis began in 51.9 Mya ranging from 44.8 Mya to 60.5 Mya in the early Eocene era. The highest of banana cultivar diversification occurred in 16 Mya ranging from 29.8 Mya to 5 Mya in the Miocene era.

## المقدمة

فرح نهدية نور . 2020. علاقات القرابة وتجميع أصناف الموز على أساس العلامات المورفولوجية وسلسلة إنترنون.. البحث الجامعي. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الحكومية الإسلامية مالانج. المشرف الأول: ديديك وحيودي الماجستير المشرف الثاني: أوكيكاسفراستيا الماجستير

**الكلمات المفتاحية:** أصناف الموز ، *trnL* ، الاختلاف ، التطور

يذكر سيموندنز أن أصناف الموز في جنوب شرق آسيا تأتي من نسل *Musa acuminata* و *Musa balbisiana*. يتم استخدام كل من الموز كعلامة للأسماء الجينومية حيث تساهم كل موزة في الجينوم A و B. ومع ذلك ، فإن استخدام هذا النظام غير موضوعي ، لذلك هناك حاجة إلى نهج جزيئي من خلال سلسلة الحمض النووي إنترنون الخاص بالإنترنون والذي يمكن أن يقال أنه أكثر دقة لأنه يمكن أن يقرأ التغييرات في قواعد التوكليوتيدات التي يمكن استخدامها لتحليل معدل التطور. كان الغرض من هذه الدراسة هو تحديد تطور أصناف الموز في شكل الأشجار الوراثية. ومن المتوقع أن تكون نتائج هذه الدراسة مرجعاً في تربية الموز في وقت لاحق. استخدمت هذه الدراسات 14 من أصناف الموز ، تتكون من الجينوم AA و AAA و AAB و ABB و BB.

أنتجت الأبحاث المستندة إلى المورفولوجيا مع 33 حرفاً 5 عمالقة باستخدام تطبيق PAST باستخدام مؤشر تشابه Bray-curtis. أن نتائج البحث المستندة إلى علامات جزيئية إنترنون *trnL* وهي سلسلات إنترنون قادرة على تتبع الأحرف الجينومية المشتقة من خلال تحليل نتائج التسلسل مع نتائج التسلسل في شكل بدائل مختلفة ونتائج انفجار من تسلسل 13 صنف من الموز. نتائج تحليل البيانات التطورية ، بدأ في تطور أصناف الموز في 51.9 ميا تراوحت ما بين 44.8 ميا إلى 60.5 ميا التي حدثت في أوائل العصر الأيوسيني. حدثت ذروة تنوع صنف الموز في 16 ميا تراوحت ما بين 29.8 ميا و 5 ميا في عصر الميوسين.

## KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis ucapan pada kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Berkat, Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan Skripsi ini dengan baik.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu terselesaiannya skripsi ini kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
3. Alm. Bapak Romaidi, M.Si, Ph.D selaku Ketua Jurusan Biologi 2019 dan ibu Dr. Evika Sandi Savitri, M. P sekalu Ketua Program Studi Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang 2020
4. Bapak Didik Wahyudi, M.Si selaku Dosen Pembimbing Skripsi dan Bapak Okky Bagas Prasetyo, M.PdI selaku Dosen Pembimbing Agama yang dengan sabar telah membimbing penulis hingga akhir
5. Bapak Suyono, M.P dan Ibu Azizatur Rohmah, M.Si selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran sehingga tugas akhir dapat terselesaikan dengan baik
6. Kedua Orang tua tersayang Ayah dan Mama yang telah menyokong materil, moril dan doa untuk kesuksesan penulis
7. Partner 1 tim penulis, Tim Banana (Khafidhotur Rifliyah dan Lailatus Sholichah) yang sudah selalu menyemangati dan sama-sama berjuang untuk menyelesaikan penelitian ini.
8. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materil maupun moril

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Amin Ya Rabbal Alamin.*

Malang,

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN COVER .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>v</b>
<b>MOTTO .....</b>	<b>vi</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI .....</b>	<b>viii</b>
<b>ABSTRAK.....</b>	<b>ix</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>x</b>
<b>مختصر البحث.....</b>	<b>xi</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN .....</b>	<b>xviii</b>

### BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
1.5 Batasan Masalah .....	5

### BAB II KAJIAN PUSTAKA

2.1 Botani Pisang .....	6
2.2 Persebaran Pisang.....	10
2.3 Tata nama dan Pengelompokan Genom Kultivar Pisang .....	12
2.4 Pendekatan Molekuler Intron <i>trnL</i> .....	14
2.5 Evolusi dan Filogenetik .....	16

### BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian.....	18
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....	18
3.3 Alat dan Bahan.....	18
3.3.1 Alat .....	18
3.3.2 Bahan .....	19
3.4 Prosedur Penelitian.....	19
3.4.1 Identifikasi Karakter Morfologi .....	19
3.4.2 Pengambilan sampel DNA.....	19
3.4.3 Ekstraksi DNA .....	21
3.4.4 Uji Kuantitatif dan Kualitatif DNA .....	22
3.4.5 Amplifikasi DNA dan Sekuensing Intron <i>trnL</i> .....	23
3.4.6 Pembuatan Pohon Filogenetik.....	23

**BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1 Karakterisasi 14 Kultivar Pisang berdasarkan Marka Morfologi .....	25
4.2 Karakterisasi 13 Kultivar Pisang berdasarkan Marka Molekuler .....	34
4.2.1 Analisis Hasil Ekstraksi .....	34
4.2.2 Analisis Hasil Sekuensing .....	36
4.2.3 Variabilitas Genetik 13 Kultivar Pisang .....	38
4.3 Estimasi Waktu Divergensi 13 Kultivar pisang .....	46

**BAB V PENUTUP**

5.1 Kesimpulan .....	52
5.2 Saran .....	52

<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>53</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>64</b>

**DAFTAR TABEL**

Tabel	Halaman
Tabel 2.1 Taksonomi Musa dan Ensete .....	12
Tabel 2.2 Kartu Skor Pengelompokan Genom Musa .....	14
Tabel 3.1 Macam-macam jenis pisang yang digunakan dalam penelitian yang ada di Kebun Plasma Nutfah Dinas Pertanian dan Pangan Yogyakarta .....	20
Tabel 4.1 Nilai kesamaan 14 kultivar Pisang berdasarkan karakter morfologi menggunakan indeks similaritas Bray-curtis .....	29
Tabel 4.2 Hasil Pengukuran Uji Kuantitatif Ekstraksi DNA .....	34
Tabel 4.3 Hasil Blast sekuen trnL 13 Kultivar Pisang .....	39
Tabel 4.4 Komposisi Nukleotida Sekuen trnL dari 13 Kultivar Pisang .....	41
Tabel 4.5 Variasi Singletone Sekuen trnL 13 Kultivar Pisang.....	43
Tabel 4.6 Jarak Genetik 13 Kultivar Pisang .....	44
Tabel 4.7 Estimasi waktu divergensi genetik 13 Sampel Pisang Klutivar .....	51

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Cladogram Ordo Zingiberales .....	7
Gambar 2.2. Perawakan Pohon Pisang .....	7
Gambar 2.3. Bentukan Pangkal Daun Pisang.....	8
Gambar 2.4. Tipe Pelepasan Seludang Jantung Pisang .....	9
Gambar 2.5. Biji Pisang .....	10
Gambar 2.6. Distribusi Geografis dari Kultivar Pisang .....	11
Gambar 2.7. Diagram Jalur Kultivar Pisang .....	12
Gambar 2.8. Circular <i>Musa acuminata</i> Chloroplast Map.....	15
Gambar 2.9. Jenis Primer Universal untuk Daerah non-coding trn.....	16
Gambar 2.10. Daerah Exon dan Intron <i>trnL</i> .....	16
Gambar 4.1 Karakter Sinapomorfi Kultivar Pisang Genom AA.....	25
Gambar 4.2 Karakter Sinapomorfi Kultivar Pisang Genom AAA.....	26
Gambar 4.3 Karakter Sinapomorfi Kultivar Pisang Genom AAB .....	26
Gambar 4.4 Karakter Sinapomorfi Kultivar Pisang Genom ABB .....	27
Gambar 4.5 Karakter Sinapomorfi Kultivar Pisang Genom BB .....	28
Gambar 4.6 Dendogram 14 kultivar Pisang berdasarkan Karakter Morfologi menggunakan Indeks Similaritas Braycurtis .....	31
Gambar 4.7 PCoA ( <i>Principal Coordinate Analysis</i> ) berdasarkan Karakter Morfologi menggunakan Indeks Similaritas Bray-curtis dalam Pengelompokan 14 Kultivar Pisang .....	32
Gambar 4.8 Visualisasi hasil ekstraksi DNA <i>whole genome</i> .....	35
Gambar 4.9 Pita DNA hasil amplifikasi <i>trnL</i> primer C dan D.....	36
Gambar 4.10 Nilai QV20+ dari 13 Sekuen 13 Kultivar Pisang .....	37
Gambar 4.11 Visualisasi Electropherogram.....	38
Gambar 4.12 Peta Distribusi Haplotype 13 Kultivar Pisang .....	46
Gambar 4.13 Pohon filogenetik analisis Maximum Likelihood, Maximum Parsimony, dan Bayesian Inference dari 13 sekuen Kultivar Pisang dengan 2 sekuen Outgroup .....	47
Gambar 4.14 Pohon Filogenetik Estimasi Waktu Divergensi dari 13 sekuen Kultivar Pisang dengan 2 sekuen Outgroup.....	49

## **DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1 .....	64
Lampiran 2 .....	67



## DAFTAR SINGKATAN

Simbol/Singkatan	Keterangan
DNA	Deoxyribonucleic acid
PCR	Ploymerase Chain Reaction
ml	Mililiter
cm	Centimeter
µl	Mikroliter
PAST	Paleontological Statistic
°C	Celcius
TBE	Tris/Borate/EDTA
EtBr	Ethidium Bromide
NCBI	National Center of Biotechnology Information
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
BEAST	Bayesian Evolutionary Analysis
QV	Sampling Trees
CRL	Quality Value
T	Contiguous Read Length
C	Timin
A	Cytosine
G	Adenin
Bp	Guanin
ML	Basepair
MP	Maximum Likelihood
BI	Maximum Parsimony
CI	Bayesian Inference
MLBP	Credible Interval
MPBP	Maximum Likelihood Bootstrap Point
BPP	Maximum Parsimony Bootstrap Point
Mya	Bayesian Posterior Probability
CO <sub>2</sub>	Millian Years Ago
	Karbondioksida

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Secara taksonomi, Pisang merupakan tanaman herba yang tergolong dalam famili Musaceae. Famili Musaceae memiliki tiga genus yaitu, genus Musella, Ensete dan Musa (Simpson, 2006) dimana Musella mempunyai ciri-ciri batang semu padat, perbungaan roset kompak dengan braktea pendek berwarna kuning. Genus ini termasuk genus monospesifik yang tersebar di Sichuan selatan dan Yunnan utara (Ma *et al.*, 2011). Genus ensete memiliki ciri-ciri berakar adventif, batang semu melebar dan berdaun besar. Tanaman ini tersebar di wilayah Madagaskar, Afrika dan Asia (Champion, 1967; Berhanu, 2018). Sedangkan genus Musa tersebar luas di kawasan Asia Tenggara, Afrika, dan sebagian Amerika. Selanjutnya, penyebaran Musa merata ke seluruh dunia termasuk daerah dengan iklim sub tropis dan tropis (Stover dan Simmonds, 1987).

Sistem tata nama Pisang pertama kali dikenalkan oleh Linneaus dengan nama *Musa paradisiaca* pada buku karangannya dengan judul *Species Plantarum* tahun 1753. *Musa paradisiaca* adalah pisang yang memiliki ciri buah yang mengandung amilum, sehingga memerlukan pengolahan terlebih dahulu sebelum dikonsumsi (*cooking banana*). Kemudian, Linneaus kembali mendeskripsikan pisang dengan nama ilmiah *Musa sapientum* dalam buku karangannya yang berjudul *Systema Naturae* pada tahun 1759. Pisang yang termasuk *Musa sapientum* adalah pisang yang tidak memerlukan pengolahan sebelum dikonsumsi saat matang (*dessert banana*) (Valmayor *et al.*, 2000).

Sistem nomenklatur pisang yang dikemukakan oleh Linneaus berlaku hingga tahun 1900-an di seluruh dunia. Namun, sistem tata nama ini terbukti tidak cocok untuk diterapkan di Asia Tenggara yang dikenal dengan *center origin of banana*. Oleh sebab itu pada tahun 1959 Simmond dan Sherperd mengusulkan system tata nama baru yang kemudian disebut dengan system tata nama genom untuk diterapkan di Asia Tenggara. Pisang (genus *Musa*) yang berada di wilayah Asia Tenggara terdiri dari banyak kultivar dengan nama yang berbeda-beda di

berbagai negara. Bahkan dalam beberapa kasus, nama satu kultivar pisang diterapkan pada kultivar yang berbeda (Simmonds, 1959; Valmayor *et al.*, 2000).

Genom pisang dengan sistem tata nama menurut penelitian Simmonds yang menyatakan bahwa kultivar pisang di Asia Tenggara berasal dari keturunan *Musa acuminata* dan *Musa balbisiana*. Kedua spesies tetua pisang tersebut yang kemudian dijadikan penunjuk nama genom dimana genom A disumbang oleh *Musa acuminata* sedangkan genom B disumbang oleh *Musa balbisiana*. Hibridisasi intraspesifik dan interspesifik antara dua spesies pisang tersebut menghasilkan beberapa pisang dengan genom AA atau AB, namun sebagian besar bergenom AAA, AAB dan ABB. Selain itu terdapat kombinasi genom lain seperti AAAB, AABB, dan ABBC yang terjadi secara alami atau melalui hibridisasi buatan (Stover dan Simmonds, 1987). Proses hibridisasi tersebut merupakan salah satu penyebab terjadinya proses evolusi pisang sehingga menghasilkan kultivar pisang yang ada saat ini (Valmayor *et al.*, 2000).

Keanekaragaman buah-buahan disebutkan pada al-Qur'an surat al-An'am ayat 141;

وَهُوَ الَّذِي أَنْشَأَ جَنَّتٍ مَعْرُوفَةً وَغَيْرَ مَعْرُوفَةً وَالنَّحْلُ وَالرُّزْعُ مُخْتَلِفًا أَكْلُهُ وَالرِّئُونَ وَالرُّمَانَ مُتَشَبِّهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِّهٍ كُلُّوْ مِنْ ثَمَرَةٍ إِذَا أَنْهَرَ وَأَثْوَرَ حَقَّهُ يَوْمَ حَصَادِهِ وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّ اللَّهَ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ (١٤١)

Artinya: “*Dan Dialah yang menjadikan kebun-kebun yang berjunjung dan yang tidak berjunjung, pohon korma, tanam-tanaman yang bermacam-macam buahnya, zaitun dan delima yang serupa (bentuk dan warnanya) dan tidak sama (rasanya). Makanlah dari buahnya (yang bermacam-macam itu) bila dia berbuah, dan tunaikanlah haknya di hari memetik hasilnya (dengan disedekahkan kepada fakir miskin); dan janganlah kamu berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan*” (QS. Al-An'am (6):141)

Keanekaragaman tumbuhan telah disebutkan pada surat Al'An'am ayat 141 yakni Allah telah menciptakan tanaman bermacam-macam menghasilkan buah, ada yang serupa warna dan bentuk tetapi memiliki rasa yang berbeda, maksud dari kata-kata tersebut adalah banyaknya buah yang berbeda-beda dapat ditemukan di bumi ini. Perbedaan buah mencakup biji, daun, bentuk maupun rasa yang dimiliki masing-masing buah. Manusia sebaiknya memakan buah yang telah betul-betul

masak, karena rasa buah sebelum masak berbeda saat buah dalam keadaan masak. Tidak hanya memakan buahnya, tetapi juga menyedekahkan hasil setelah memetik buah kepada fakir miskin (*Tafsir Al-Jalalain, Al-An'am 6:141*).

Evolusi pisang diperkirakan tidak hanya dipengaruhi oleh perubahan alam, akan tetapi manusia juga berperan dalam proses evolusi pisang. Evolusi pisang terjadi karena mutasi dan rekombinasi genetik. Proses mutasi disebabkan oleh perubahan zona iklim dan posisi geografis, sedangkan rekombinasi genetik terjadi karena adanya perkawinan silang atau proses hibridisasi. Proses hibridisasi tersebut menghasilkan kultivar pisang yang ditemukan saat ini (De Langhe *et al.*, 2009; Djuita, 2012). Selama ini, untuk mengetahui tata nama genom kultivar pisang dilakukan melalui identifikasi fenetik (morfologi) (Cheesman, 1948; Simmonds dan Shepherd, 1955; 2005; Hapsari *et al.*, 2016; Gusmiati *et al.*, 2019) menggunakan 15 karakter hasil rekomendasi Simmonds dan Sherperd (Valmayor *et al.*, 2000). Namun, penggunaan sistem ini bersifat subyektif karena karakter fenotip dapat dipengaruhi oleh perubahan lingkungan, seleksi alam dan seleksi buatan. Sehingga hal tersebut mempengaruhi validitas hasil identifikasi (Guzow *et al.*, 2001; Probojati *et al.*, 2019). Kelemahan lain dari sistem identifikasi tanaman secara morfologi yaitu hanya dapat dilakukan pada tanaman dewasa sehingga membutuhkan waktu yang cukup lama (Virgilio *et al.*, 2012). Oleh karena itu, diperlukan cara lain sebagai penguat hasil identifikasi morfologi. Pendekatan berbasis molekuler dianggap lebih efektif untuk mengidentifikasi genom kultivar pisang dengan hasil yang lebih valid sehingga dapat menunjang hasil identifikasi morfologi (Guzow *et al.*, 2001; Singh, 2014; Hapsari *et al.*, 2015). Penelitian molekuler sangat membantu dalam memberi informasi awal mengenai taksonomi dan hubungan genetik serta evolusi tanaman, termasuk peristiwa hibridisasi (Hidayat dan Pancoro, 2008).

Pendekatan molekular yang mampu untuk mengidentifikasi genetik tumbuhan antara lain: AFLP (Chen, 2017), RFLP (Ekasari *et. al.*, 2012), RAPD (Poerba, 2010; Lamare, 2015; Kundu *et al.*, 2018) ISSR (Swain *et al.*, 2016; Silvia *et al.*, 2017) dan sekuen DNA spesifik (Pachuau, 2014; Janssens *et al.*, 2016). Identifikasi molekuler melalui sekuen DNA spesifik dapat dikatakan lebih valid karena dapat membaca perubahan basa nukleotida yang dapat digunakan untuk

menganalisis laju evolusi dan mengetahui waktu proses hibridisasi suatu tanaman (Hidayat, 2008; Janssens *et al.*, 2016).

Pada tumbuhan, DNA daerah kloroplas adalah DNA yang sering digunakan dalam identifikasi evolusi tanaman karena pada DNA daerah kloroplas bersifat *conserv*. DNA spesifik pada yang terdapat didalam kloroplas adalah *rbcL* (Sukhorukov *et al.*, 2018), *matK* (Davey *et al.*, 2013), ITS (Liu, 2010; Hribova *et al* 2011) dan *trnL* (Sedayu *et al.* 2010; Yulita, 2013; Wahyudi *et al.*, 2013). Gen kloroplas dapat digunakan untuk identifikasi evolusi adalah ekson (daerah pengkodean) dan intron (daerah bukan pengkodean). Namun, daerah *non-coding* memiliki evolusi lebih cepat dibanding daerah *coding*. Amplifikasi dan sekuensing daerah *non-coding* banyak digunakan sebagai penanda filogenetik, studi evolusi dan studi taksonomi hingga tingkat intraspesies (Clegg *et al.*, 1991; Taberlet, 1991; Tsai, *et al.*, 2006, Shaw *et al.*, 2007). Dari berbagai sekuen DNA spesifik yang memiliki daerah intron adalah *trnL*. *TrnL* memiliki daerah intron yang sering digunakan dalam analisis filogenetik karena memiliki tingkat substitusi yang tinggi, cepat berevolusi, bersifat *conserv* dan memiliki sistem amplifikasi yang baik. Hal ini menyebabkan intron *trnL* tepat untuk digunakan dalam menganalisis hubungan kekerabatan hingga tingkat infraspesies (di bawah spesies) (Taberlet *et al.*, 2007; Selvaraj *et al.*, 2008; Rosidiani, 2013; Retnoningsih, 2014). Intron *trnL* juga telah terbukti berhasil digunakan untuk identifikasi genetik, diantaranya: *Vanda tricolor* Lindl. var *suavis forma* (Semiarti *et al.*, 2009), *Amorphophallus muelleri* (Wahyudi *et al.*, 2013), *Bouea macrophylla* Griffit (Harsono *et al.*, 2015), *Mangifera* (Fitmawati, 2016), *Bouea* (Harsono *et al.*, 2016). Oleh karena itu, didalam penelitian ini akan dilaksanakan analisis pengelompokan genom kultivar pisang berdasarkan marka morfologi dan intron *trnL* untuk mengetahui evolusi dari tetua pisang kultivar pisang yang ada saat ini dalam bentuk pohon filogenetik. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan pada pemuliaan pisang nantinya.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengelompokan genom kultivar pisang berdasarkan marka morfologi dan sekuen intron *trnL*?

2. Bagaimana sekuen intron *trnL* mampu menelusuri karakter genom yang diturunkan *Musa acuminata* dari *Musa balbisiana* pada kultivar pisang?
3. Bagaimana evolusi kultivar pisang berdasarkan sekuen intron *trnL*?

### **1.3 Tujuan**

Tujuan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui pengelompokan genom kultivar pisang berdasarkan sekuen intron *trnL*.
2. Untuk mengetahui karakter genom yang diturunkan *Musa acuminata* dari *Musa balbisiana* pada kultivar pisang berdasarkan sekuen intron *trnL*.
3. Untuk mengetahui evolusi dari kultivar pisang berdasarkan sekuen intron *trnL*.

### **1.4 Manfaat**

Manfaat pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberi informasi asal kultivar pisang beserta evolusinya
2. Memberi informasi pengelompokan kultivar pisang untuk kepentingan pemuliaan tumbuhan
3. Berkontribusi dalam pengembangan ilmu genetik pisang

### **1.5 Batasan Masalah**

Batasan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

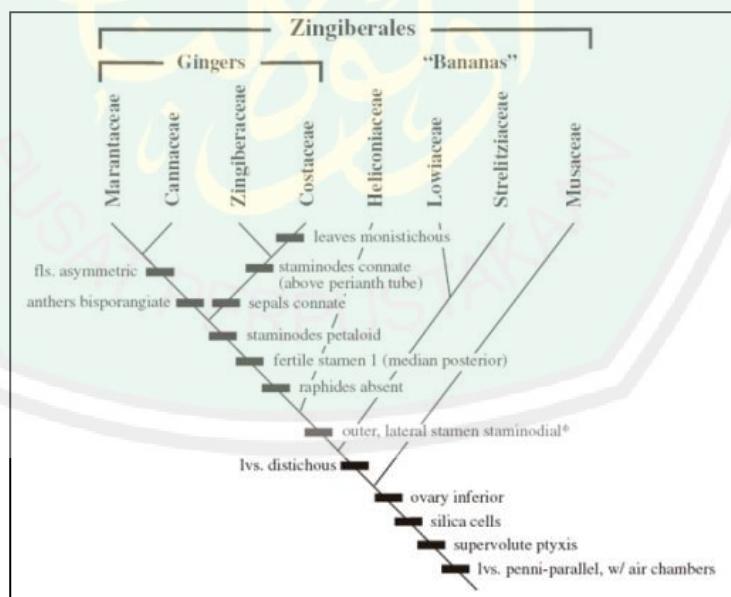
1. Sampel yang digunakan adalah daun 14 kultivar pisang bergenom AA, BB, AAB, ABB, AAA yang diperoleh dari Kebun Plasma Nutfah Dinas Pertanian dan Pangan Kota Yogyakarta
2. Karakter morfologi yang digunakan yakni 33 karakter pisang berdasarkan IPGRI tahun 1996
3. Sekuensing dilakukan pada sekuen intron *trnL* dengan menggunakan primer C (CGAAATCGGTAGACGCTACG) untuk forward dan D (GGGGATAGAGGGACTTGAAC) untuk reverse (Taberlet *et al.*, 2007).
4. Analisis marka morfologi menggunakan aplikasi PAST dengan algoritma Bray-Curtis
5. Analisis evolusi melalui filogenetik menggunakan metode ML, MP dan BI.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Botani Pisang

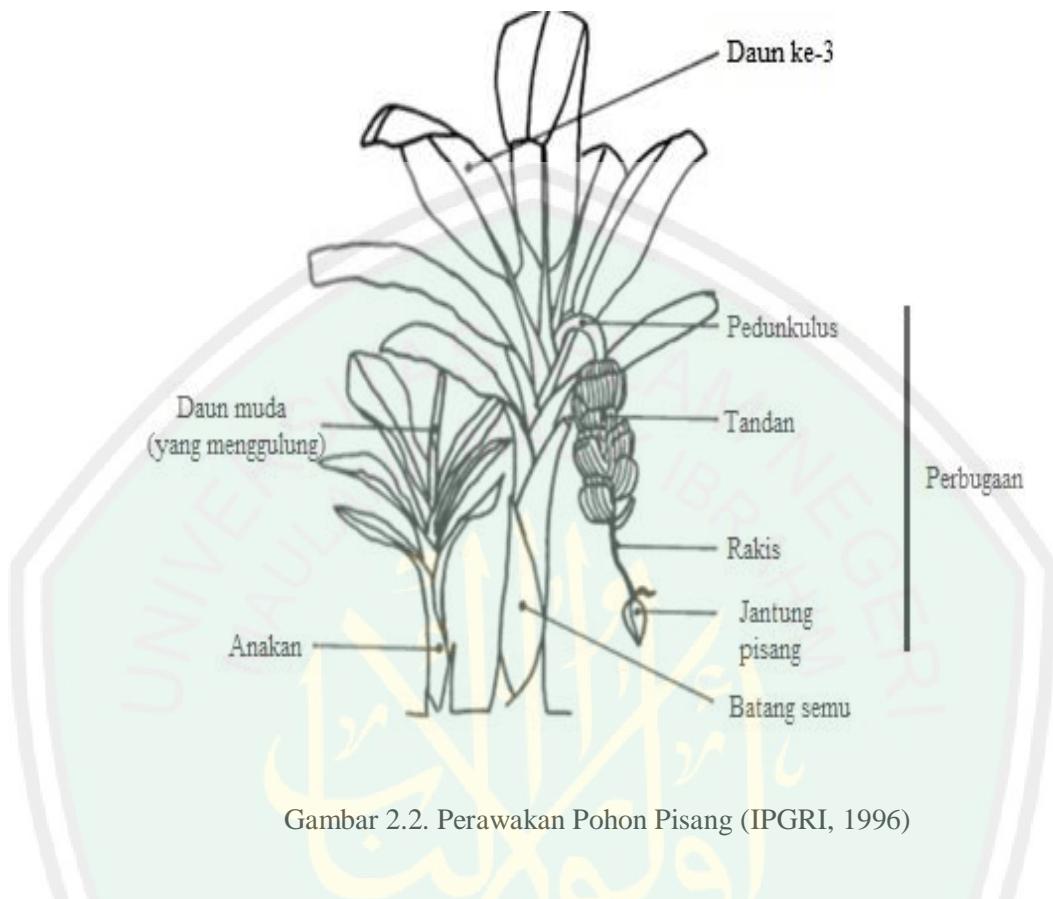
Pisang tergolong pada famili Musaceae dimana memeliki kekerabatan yang dekat famili Lowiaceae, Strelitziaeae dan Heliconiaceae (Gambar 2.1). Anggota genus dari famili Musaceae selain *Musa*, yakni *Musella* dan *Ensete* (Simpson, 1953). Morfologi pisang terdiri dari buah, bunga, daun, batang semu dan akar (Gambar 2.2). Tipe akar pisang termasuk serabut (Satuhu, 1999). Batang pisang memiliki tinggi berkisar 1-4 meter, (Satuhu, 1999; Sunarjono, 2000) oleh karena itu pisang termasuk dalam anggota kelas Liliopsida (Simpson, 1953). Batang pisang terletak mulai dari dalam tanah yang disebut dengan bonggol pisang hingga berdiri tegak diatas tanah yang disebut dengan batang semu. Batang tersebut terbuat dari pelepas daun yang melungkup serta menyatu secara kuat sehingga dapat berdiri dengan tegak seperti pohon pada umumnya (Gunawan, 1987; Cahyono, 1996). Batang semu (*pseudostem*) pisang memiliki rongga udara, sehingga pisang termasuk anggota ordo Zingiberales (Simpson, 1953). Batang semu memiliki warna bermacam-macam seperti hijau, kuning, dan merah keunguan (IPGRI, 1996).



Gambar 2.2 Cladogram Ordo Zingiberales (Simpson, 1953)

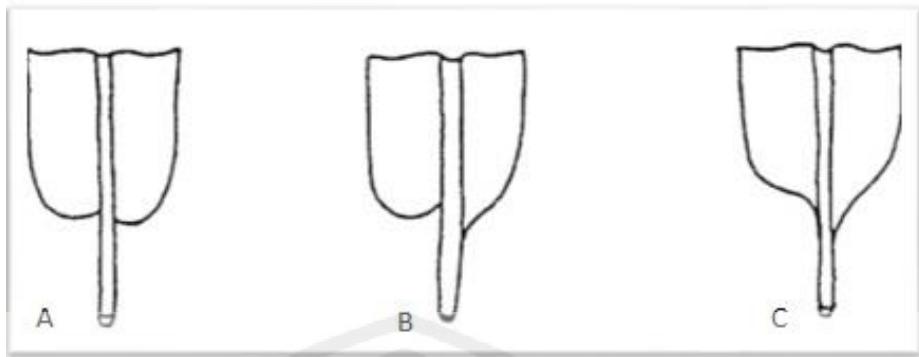
Perbedaan batang semu *Musa acuminata* dan *Musa balbisiana* yakni ada atau tidaknya bercak. Batang *Musa acuminata* ditandai dengan banyaknya bercak

berwarna hitam atau coklat, sedangkan pada *Musa balbisiana* terdapat bercak yang sedikit atau tidak ada sama sekali (Valmayor *et al.*, 2000).



Gambar 2.2. Perawakan Pohon Pisang (IPGRI, 1996)

Perawakan daun pisang terdiri dari beberapa bagian, yakni tangkai daun, pelepas daun dan lembaran daun. Lembaran daun pisang berbentuk panjang melebar atau dapat juga disebut lanset memanjang dengan ukuran lebar sekitar 30-70 cm dan panjang daun sekitar 1,5-3 meter (Rukmana, 1999). Terdapat tulang daun yang besar berada di bagian tengah daun. Urat daun pisang tidak terikat dengan tepi daun sehingga daun mudah sobek saat diterpa angin (Suhardiman, 1997; Sunarjono, 2000). Bentuk daun pisang menggulung ketika muda dan berbentuk helaian ketika tua (Simpson, 1953). Pangkal daun pisang memiliki bentuk yang bermacam-macam diantaranya: kedua pangkal daun membulat, kedua pangkal daun meruncing dan salah satu pangkal daun membulat sedangkan disisi lain meruncing (Gambar 2.3) (IPGRI, 1996).



Gambar 2.3. Bentukan pangkal daun Pisang. Ket. A. Kedua tepi membulat, B. Salah satu tepi meruncing dan tepi lain membulat, C. Kedua tepi meruncing (IPGRI, 1996).

Jantung Pisang atau biasa disebut dengan bunga pisang memiliki tipe bunga majemuk. Bunga mejemuk terdiri dari bunga betina dan bunga jantan yang terususun rapat terdiri dari 5 hingga 20 bunga dalam satu kumpulan. Rangkaian bunga pisang akan membentuk buah yang tersusun membentuk sisir (Gunawan, 1987). Rangkaian bunga yang telah menjadi buah maka akan terbentuk sisir pertama, dan rangkaian bunga selanjutnya akan membentuk sisir kembali, sehingga susunan sisir semakin panjang (Gunawan, 1987; Armini, 1992).

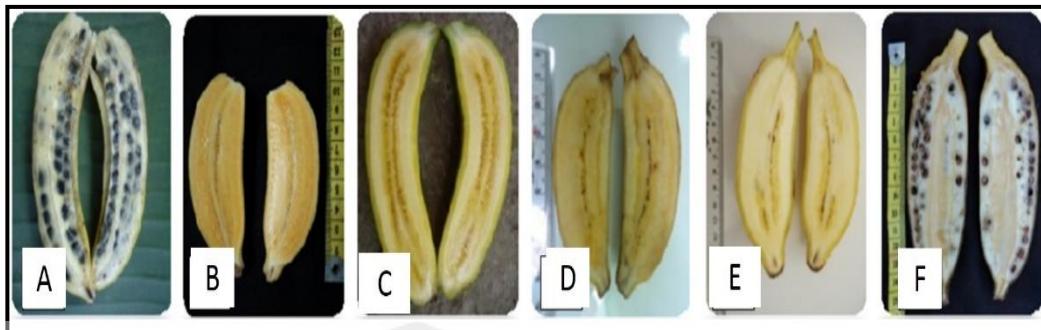
Perbungaan pisang berawal dari rhizoma lalu menembus inti batang semu membentuk bunga dan buah. Kuncup bunga pisang terbungkus oleh seludang (braktea) yang memiliki warna dan bentuk bermacam-macam (Dasuki, 1991). Fungsi dari seludang adalah melindungi bunga yang berada didalam braktea tersebut (Simpson, 1953). Braktea akan lepas ketika bunga telah membuka (Dasuki, 1991). Tipe pelepasan braktea menurut Khasanah dan Marsusi (2014) terdiri dari 3 tipe berdasarkan genom yaitu AA, AB dan BB. Pelepasan braktea tipe AA akan mengulung ke atas saat pelepasan braktea, braktea pada tipe BB tidak mengulung dan membuka sepenuhnya ke arah atas braktea. Braktea tipe AB tidak mengulung dan tidak membuka keatas seperti tipe AA dan BB (Gambar 2.4).



Gambar 2.4. Tipe pelepasan seludang jantung pisang (Khasanah dan Marsusi, 2014)

Buah pisang memiliki susunan berbentuk tandan, setiap tandan memiliki beberapa sisir yang setiap sisir memiliki 6 sampai 22 buah (Rukmana, 1999). Bentuk buah pisang yakni memanjang atau membengkong memiliki ujung yang runcing atau seperti leher botol (Dasuki, 1991). Pisang terdiri dari banyak variasi, mengakibatkan banyaknya pula variasi buah yang dihasilkan. Variasi buah ini terletak pada perbedaan bentuk, warna, biji dan jumlah buah yang dihasilkan perponcong. Buah pisang memiliki panjang antara 10-18 cm, sedangkan ciri-ciri daging buahnya yakni tebal dan melunak saat matang. Warna kulit buah pisang sangat bervariasi yakni hijau, kuning dan coklat (Cahyono, 2002), tetapi pada umumnya buah muda berwarna hijau dan menguning saat matang (tua), tetapi terdapat pula yang tidak menguning (tetap berwarna hijau).

Biji buah pisang berbentuk bulat, hitam dan kecil, tetapi tidak semua pisang mempunyai biji (Cahyono, 2002). Biji fertil berbentuk bulat tidak beraturan dengan tekstur keras memiliki perisperm dan endosperm beramilum. Hal tersebut adalah ciri biji pada pisang liar (Dasuki, 1991; Nasution, 2001). Pisang yang tidak memiliki biji fertile tergolong kultivar pisang. Bentuk biji kultivar pisang yaitu bintik-bintik kecil keriput berwarna coklat (Gambar 2.5) (Espino *et al.*, 1992).

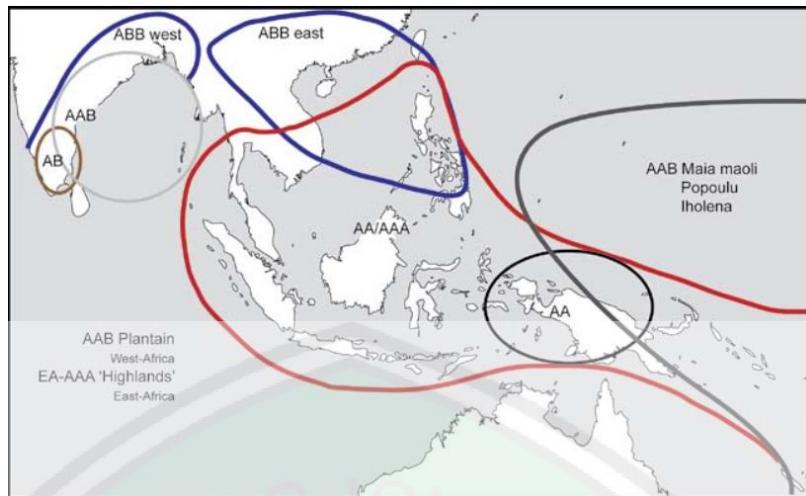


Gambar 2.5. Biji pisang. Ket: a. Pisang Jantung Kuning (AAw), b. Pisang Trimulin (AA cv), c. Pisang Morosebo (AAA cv), d. Pisang Triolin (AAB cv), e. Pisang Saba Awu (ABB cv), f. Pisang Klutuk Ijo (BBw) (Hapsari *et al.*, 2016).

## 2.2 Persebaran Pisang

Asia Tenggara dapat dianggap sebagai wilayah di dunia dengan tingkat tingkat keanekaragaman hayati yang tinggi. Wilayah ini mencakup setidaknya empat hotspot keanekaragaman hayati (Dataran Sunda, Filipina, Wallacea dan Indo-Burma) dan terkenal dengan kekayaan spesies tanamannya, menampung setidaknya 10% dari tanaman endemik dunia (Myers *et al.*, 2000; Woodruff, 2010; Janssens *et al.*, 2016).

Asal dari tanaman pisang yakni dari wilayah Asia Tenggara, dan menyebar secara luas di wilayah Afrika, sebagian Amerika, Kepulauan Kanari, Hawai selanjutnya penyebaran Musa meluas ke seluruh dunia termasuk daerah sub tropis dan tropis (Stover dan Simmonds, 1987). Asia tenggara merupakan pusat keanekaragaan tanaman pisang (Satuhu dan Supriyadi, 1999). Indo-Malaysia merupakan kawasan dimana menjadi pusat keanekaragaman pisang (Gambr 2.6). Häkkinen (2004) menyatakan bahwa jenis pisang liar endemic pada kawasan tersebut berjumlah 20 jenis.



Gambar 2.6. Distribusi geografis dari kultivar pisang (Simmonds, 1962)

Cheesman (1948) membagi *Musa* berdasarkan jumlah kromosom dasar, ukuran serta bentuk benih, dan susunan bunga, yang telah banyak digunakan selama hampir setengah abad tanpa modifikasi yang signifikan menjadi empat bagian yakni Eumusa, Rhodochlamys, Callimusa dan Australimusa (De Langhe, 2000; Chen *et al.*, 2014). Argent (1976) menambahkan section *Ingentimusa* dengan satu spesies yakni *Musa ingens* (Tabel 2.1).

Tabel 2.1. Taksonomi *Musa* dan Ensete (Nayar, 2010)

Genus	Section	Haploid Chromosom		No. Species	Penyebaran	Kegunaan
		No.	Chromosom			
Ensete		9		7-8	Afrika Barat ke Papua Nugini	Sayuran dan serat
Musa	Australimusa	10		5-7	Australia ke Filipina	Serat dan buah
	Callimusa	10		6-10	Indo-China dan Indonesia	Hiasan
	Eumusa	11		13-15	Sri Lanka, Semenanjung India, Jepang dan Samoa	Sayuran, buah, serat dan hiasan
	Ingentimusa	7 <sup>y</sup>		1	Papua Nugini	Liar
	Rhodochlamys	11		5-7	India ke IndoChina	Hiasan

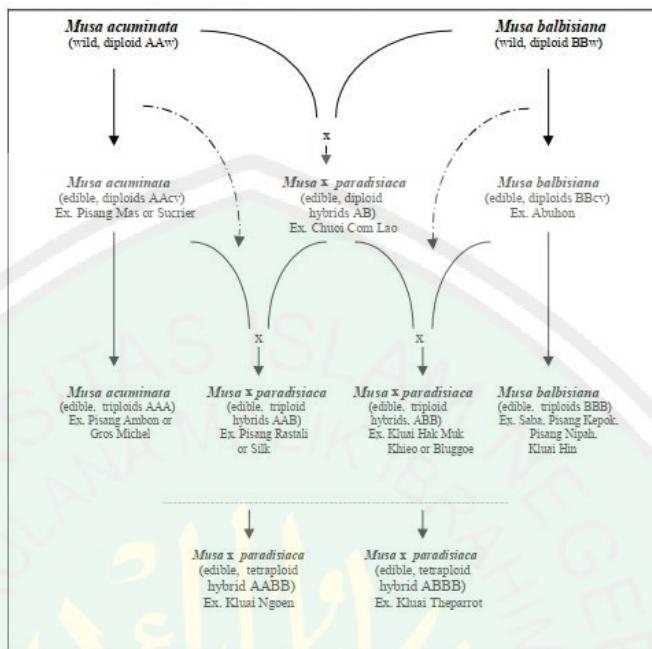
### 2.3 Tata nama dan Pengelompokan Genom Kultivar Pisang

Sistem tata nama Pisang pertama kali dikenalkan oleh Linneaus dengan nama *Musa paradisiaca* pada buku karangannya dengan judul *Species Plantarum* tahun 1753. *Musa paradisiaca* adalah pisang yang memiliki ciri buah yang mengandung amilum, sehingga memerlukan pengolahan terlebih dahulu sebelum dikonsumsi (*cooking banana*). Kemudian, Linneaus kembali mendeskripsikan pisang dengan nama ilmiah *Musa sapientum* dalam buku karangannya yang berjudul *Systema Naturae* pada tahun 1759. Pisang yang termasuk *Musa sapientum* adalah pisang yang tidak memerlukan pengolahan sebelum dikonsumsi saat matang (*dessert banana*) (Valmayor *et al.*, 2000).

Sistem nomenklatur pisang yang dikemukakan oleh Linneaus berlaku hingga tahun 1900-an di seluruh dunia. Namun, sistem tata nama ini terbukti tidak cocok untuk diterapkan di Asia Tenggara yang dikenal dengan julukan *The center origin of banana*. Oleh sebab itu pada tahun 1959 Simmond dan Sherperd mengusulkan system tata nama baru yang kemudian disebut dengan system tata nama genom untuk diterapkan di Asia Tenggara. Pisang (genus *Musa*) yang berada di wilayah Asia Tenggara terdiri dari banyak kultivar dengan nama yang berbeda-beda di berbagai negara. Bahkan dalam beberapa kasus, nama satu kultivar pisang diterapkan pada kultivar yang berbeda (Simmonds, 1959; Valmayor *et al.*, 2000).

Hampir semua kultivar pisang yang dapat dikonsumsi (*edible banana*) saat ini berasal dari hibridisasi intraspesifik dan interspesifik antara dua pisang liar dengan spesies *Musa acuminata* dan *Musa balbisiana* yang masing-masing menyumbang genom A dan B. Peristiwa hibridisasi ini berperan pada evolusi pisang. Evolusi terjadi karena beberapa hal yakni, mutasi, seleksi manusia dan persilangan alami yang terjadi antarspesies maupun interspesies. Persilangan antara *Musa acuminata* dan *Musa balbisiana* membuat kultivar pisang dengan bermacam-macam ploidi diantaranya diploid (AA, BB, AB), triploid (ABB, AAB, AAA), dan tetraploid (ABBB, AABB AAAB, dan AAAA) (Gambar 2.7) (Stover dan Simmonds, 1987; Kaemmer *et al.* 1997; Pillay *et al.* 2006; Youssef, 2016). Secara alamiah populasi kultivar pisang adalah bentuk triploid, contohnya: pisang santen, pisang susu gabug, pisang ambon hijau, pisang kapok, pisang porem, pisang osok, dan pisang tajinan. Kultivar pisang yang paling banyak dibudidayakan karena

dapat dikonsumsi langsung maupun diolah terlebih dahulu adalah pisang dengan genom AAB dan ABB (Wahyuningtyas, 2009, Hapsari *et al.*, 2015).



Gambar 2.7. Diagram jalur kultivar pisang (Valmayor *et al.*, 2000)

Identifikasi untuk mengetahui tata nama pisang selama ini dilakukan dengan pendekatan morfologi (fenetik). Pengamatan dilakukan diseluruh bagian tanaman seperti akar, batang, bunga, daun, buah, biji dan lain lain. Sistem tersebut memiliki kelemahan dalam mengidentifikasi, salah satunya adalah hanya dapat diterapkan pada tanaman dewasa dan menghabiskan waktu lama dikarenakan pengambilan sampel (Cheesman, 1948; Simmonds dan Shepherd, 1955; Jumari, 2000; Surahman, *et al.*, 2005; Hapsari *et al.*, 2016). Penentuan tata nama pisang dilakukan menggunakan metode *scoring* berdasarkan 15 karakter untuk membedakan genotip *Musa acuminata*, *Musa balbisiana* dan hasil persilangan antar keduanya (Tabel 2.2) (Valmayor *et al.*, 2000). Namun, penggunaan sistem ini bersifat subyektif dan dipengaruhi oleh berbagai macam faktor sehingga berpengaruh pada keakuratan hasil identifikasi (Guzow *et al.*, 2001). Oleh karena itu, dibutuhkan metode lain yang lebih efektif dalam mengidentifikasi genom kultivar pisang agar diperoleh hasil yang lebih valid. Salah satunya yakni dengan pendekatan berbasis molekuler (de Jesus *et al.*, 2013; Singh, 2014; Hapsari *et al.*, 2015).

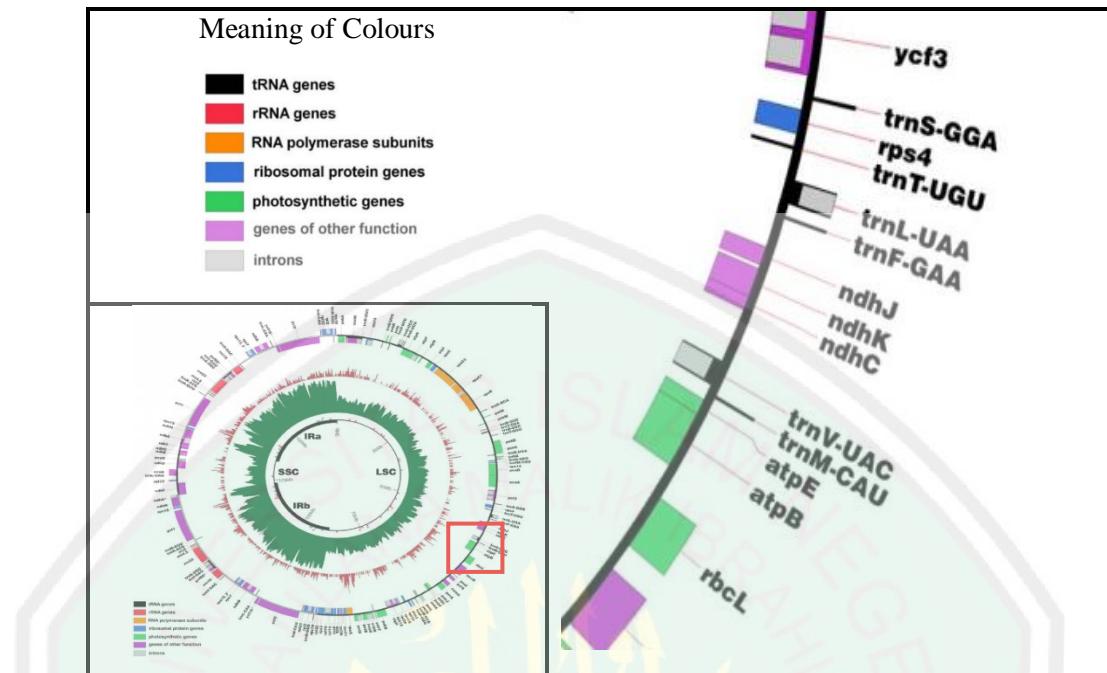
Tabel 2.2. Kartu Skor Pengelompokan Genom Musa (Singh, 2014)

Genom	Kartu Nilai		
	Simmonds dan Shepherd tahun 1982	Silayoi dan Chomchalow tahun 1987	Singh dan Uma tahun 1996
AA/AAA	15-23	15-25	15-25
AAB	24-46	26-46	26-45
AB	49	-	46-49
ABB	59-63	59-63	59-65
ABBB	67	-	66-69
BB/BBB	-	70-75	70-75

## 2.4 Pendekatan Molekuler Intron *TrnL*

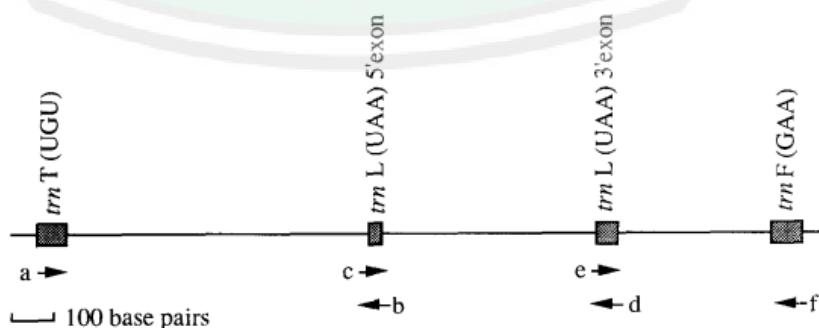
Pendekatan molekular yang mempu untuk mengidentifikasi genetik tumbuhan antara lain: AFLP (Chen, 2017), RFLP (Ekasari *et. al.*, 2012), RAPD (Poerba, 2010; Lamare, 2015; Kundu *et al.*, 2018) ISSR (Swain *et al.*, 2016; Silvia *et al.*, 2017) dan sekuen DNA spesifik (Pachuau, 2014; Janssens *et al.*, 2016). Pendekatan molekuler melalui sekuen DNA spesifik dapat dikatakan lebih valid karena dapat membaca perubahan basa nukleotida yang dapat digunakan untuk menganalisis laju evolusi dan mengetahui waktu proses hibridisasi suatu tanaman (Hidayat, 2008; Janssens *et al.*, 2016).

Pada tumbuhan, DNA daerah kloroplas adalah DNA yang sering digunakan dalam identifikasi evolusi tanaman karena pada DNA daerah kloroplas bersifat *conserve*. DNA spesifik pada yang terdapat didalam kloroplas adalah *matK*, *rbcl*, dan *trnL* (Cabrera *et al.* 2008; Sedayu *et al.* 2010). Gen kloroplas (Gambar 2.8) dapat digunakan untuk identifikasi evolusi adalah ekson (daerah pengkodean) dan intron (daerah bukan pengkodean). Namun, daerah *non-coding* memiliki evolusi lebih cepat dibanding daerah *coding*. Amplifikasi dan sekuensing daerah *non-coding* banyak digunakan sebagai penanda filogenetik, studi evolusi dan studi taksonomi hingga tingkat intraspesies (Clegg *et al.*, 1991; Taberlet, 1991; Tsai, *et al.*, 2006, Shaw *et al.*, 2007).



Gambar 2.8. Circular *Musa acuminata* chloroplast map (Martin *et al.*, 2013)

Intron *trnL* merupakan daerah molekular yang kerap dimanfaatkan dalam analisis filogenetik pada tumbuhan yang memiliki tingkat substitusi dan variasi genetik yang tinggi serta cepat berevolusi, sehingga tepat jika digunakan dalam menganalisis hubungan kekerabatan hingga tingkat infraspesies (di bawah spesies) (Selvaraj *et al.*, 2008). Taberlet *et al.* (2007) menyatakan bahwa intron *trnL* memiliki primer yang *conservative* dan sistem amplifikasi yang kuat (Gambar 2.9). Sehingga intron *trnL* cocok menjadi penanda molekuler untuk analisis variasi genetik pada tingkat infraspesies.



Gambar 2.9. Jenis Primer Universal untuk daerah non-coding trn (Taberlet, 1991)

Gen intron *trnL* tidak berpengaruh pada variasi morfologi suatu tumbuhan karena sifat dan peranan alami intron *trnL* tersebut yang tidak mengkode protein dan mengalami *splicing* saat proses sintesis protein. Intron *trnL* merupakan intron Group 1 yang diketahui mampu mengkatalisis pemotongan intronnya sendiri tanpa bantuan *spliceosome*, sehingga mengalami *splicing* saat proses translasi mRNA (Gambar 2.10) (Costa, 2004). Sehingga wilayah ini termasuk salah satu penanda kloroplas yang paling banyak dimanfaatkan untuk menganalisis filogenetik pada tanaman (Hamilton; *et al.* 2003; Pirie *et al.* 2007; Yulita, 2013).



Gambar 2.10. Daerah Exon dan Intron *trnL* (Taberlet, 2007)

## 2.5 Evolusi dan Filogenetik

Evolusi didefinisikan oleh beberapa peneliti, salah satunya Janusch (1973), mengartikan evolusi sebagai sifat yang diturunkan memalui proses modifikasi. Menurut Lasker (1976), evolusi adalah perubahan sifat keturunan yang termodifikasi secara berkelanjutan dan melewati tahapan waktu dengan proses yang terjadi pada organisme dari generasi ke generasi yang mengakibatkan sifat keturunan dengan nenek moyangnya terdapat beberapa perbedaan. Sedangkan menurut Campbell (2003) menjelaskan evolusi sebagai sebuah proses yang merubah bentuk paling awal hingga membentuk bentuk yang bermacam-macam seperti yang ditemukan sekarang ini.

Analisis filogenetik adalah metode untuk menjelaskan sejarah evolusi dan hubungan antara sekelompok organisme. Dahulu analisis filogenetik didasarkan pada perbandingan morfologis antara fosil, tetapi informasi lengkap dari morfologi fosil sangat terbatas. Solusi dari permasalahan sebelumnya yakni analisis filogenetik menggunakan data molekuler seperti DNA atau protein. Pengetahuan

analisis filogenetik berkontribusi pada ilmu biologi, seperti sejarah evolusi, evolusi gen, dan identifikasi spesies serta biologi terapan seperti penyelidikan pathway infeksi mikroorganisme patogen (Horiike, 2016). Pembuatan pohon filogenik salah satunya menggunakan urutan DNA. Salah satu cara untuk mengetahui urutan basa suatu DNA yakni dengan metode sekvensing. Tujuan sekvensing yaitu membaca urutan basa nukleotida pada DNA fragmen yang teramplifikasi.



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Penelitian ini bersifat deskriptif, kualitatif dan eksploratif. Penelitian ini menggunakan Pisang bergenom AA, BB, AAA, AAB, ABB yang berasal dari Kebun Plasma Nutfah Dinas Pertanian dan Pangan, Kota Yogyakarta, untuk mengetahui pengelompokan genom kultivar pisang dan evolusinya menggunakan intron *trnL*.

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

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Desember 2018 hingga Juni 2019. Pengambilan data morfologi sekaligus sampel pisang bergenom AA, BB, AAA, AAB, ABB dilaksanakan di Kebun Plasma Nutfah Dinas Pertanian dan Pangan, Kota Yogyakarta. Proses analisis intron *trnL* dengan bentuk pohon Filogenetik dilaksanakan 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**

Alat-alat yang diperlukan dalam langkah kerja terdiri dari dua tempat yakni di lapang dan di laboratorium. Alat yang digunakan saat berada di lapang untuk tahap pengambilan sampel terdiri dari gunting, meteran, alat dokumentasi, buku panduan, penggaris, alat tulis, *silica gel* dan plastik klip. Alat yang digunakan di Laboratorium terdiri dari beberapa tahap yakni tahap ekstraksi, tahap uji kuantitatif, tahap uji kualitatif, amplifikasi PCR dan visualisasi hasil ekstraksi DNA.

Alat yang diperlukan saat berada di laboratorium terdiri dari safety tools berupa jas laboratorium, glove dan masker. Sedangkan alat yang digunakan untuk mengolah sampel sebagai berikut: timbangan analitik, mortar, alu, spatula, gelas ukur, yellow tip, white tip, blue tip, mikropipet ukuran 0,5 - 1000  $\mu\text{l}$ , tube

ukuran 1,5 ml dan 2 ml, sentrifuge, vortex, waterbath, freezer, nano drop, tissue, microwave, cetakan agar (tank), erlenmeyer, rak tube, perangkat elektroforesis BIO-RAD, AE-200 Nano Nucleic Acid Analyzer, MyCycler Thermal Cycler BIO-RAD dan Molecular Imager® Gel Doc XR System BIO-RAD

### **3.3.2 Bahan**

Bahan yang diperlukan pada penelitian ini adalah: nitrogen cair, isopropanol, fenol, agarose, aquades, *Ethidium bromide (Etbr)*, *The Wizard® Genomic DNA Purification Kit Promega*, *nuclease-free water*, *loading dye*, buffer TBE ½ x (*Tris Boric EDTA*), DreamTaq Green PCR Master Mix (Thermo Scientific), primer intron *trnL* forward C dan reverse D.

## **3.4 Prosedur Penelitian**

### **3.4.1 Identifikasi Karakter Morfologi**

Pengamatan karakter morfologi tanaman pisang (kualitatif dan kuantitatif) dilakukan menggunakan acuan buku *Descriptor for Banana (Musa spp.)* (IPGRI, 1996). Pengamatan ini dilakukan pada 33 karakter dari 14 kultivar pisang yang terpilih pada bagian organ vegetatif (Lampiran 1.). Hasil yang didapatkan berguna untuk pengelompokan pisang berdasarkan karakter morfologi.

Data hasil pengamatan karakter morfologi pisang yang didapatkan berupa data nominal kemudian dikoversikan menjadi data ordinal dengan skala interval. Pengolahan data tersebut menggunakan aplikasi PAST (*Paleontological Statistic*). Pengelompokan genom dihitung melalui menu *clustering-clasial* dengan algoritma kelompok dengan koefisien persamaan Bray-Curtis (Hammer, 2001).

### **3.4.2 Pengambilan Sampel DNA**

DNA diisolasi dari daun pisang muda yang masih menggulung. Daun pisang diperoleh dari koleksi pohon pisang di Kebun Plasma Nutfah Dinas Pertanian dan Pangan Yogyakarta, (Tabel 3.1). Daun pisang muda diambil dan kemudian disimpan didalam plastik klip yang telah terdapat *silica gel* didalamnya. Setelah sampai di laboratorium daun muda diambil untuk kemudian disimpan dalam *freezer* hingga akan digunakan.

Tabel 3.1 Macam-macam jenis pisang yang digunakan dalam penelitian yang ada di Kebun Plasma Nutfah Dinas Pertanian dan Pangan Yogyakarta.

No.	Nama Lokal	Nama Ilmiah	Kode	Asal Daerah
1	Pisang Rejang	<i>Musa acuminata</i> (AA) cv. Pisang Rejang	T1	Sleman, Yogyakarta
2	Pisang Mas	<i>Musa acuminata</i> (AA) cv. Pisang Mas	T2	KBH Dongkelan, Yogyakarta
3	Pisang Berlin	<i>Musa acuminata</i> (AA) cv. Pisang Berlin	T3	Tanjung, Klatah, Kec. Giri, Banyuwangi
4	Pisang Kojo Santen	<i>Musa acuminata</i> (AAA) cv. Pisang Kojo Santen	T4	Cukurgondang, Pasuruan, Jawa Timur
5	Pisang Ambon Hong	<i>Musa acuminata</i> (AAA) cv. Pisang Ambon Hong	T5	Kabupaten Purworejo
6	Pisang Morosebo	<i>Musa acuminata</i> (AAA) cv. Pisang Morosebo	T6	Cukurgondang, Pasuruhan, Jawa Timur
7	Pisang Raja Seribu	<i>Musa acuminata</i> (AAB) cv. Pisang Raja Seribu	T7	Jl. Cendana, DKI Jakarta
8	Pisang Triolin	<i>Musa acuminata</i> (AAB) cv. Pisang Triolin	T8	Kabupaten Bantul
9	Pisang Brentel Warangan	<i>Musa acuminata xMusa balbisiana</i> (AAB) cv. Pisang Brentel Warangan	T9	Kabupaten Karanganyar
10	Pisang Saba Awu	<i>Musa acuminata xMusa balbisiana</i> (ABB) cv. Pisang Saba Awu	T10	Kabupaten Malang, Jawa Timur
11	Pisang Ebung	<i>Musa acuminata xMusa balbisiana</i> (ABB) cv. Pisang Ebung	T11	Siman, Ponorogo, Jawa Timur
12	Pisang Raja Bandung	<i>Musa acuminata xMusa balbisiana</i> (ABB) cv. Pisang Raja Bandung	T12	Pendowoharjo, Bantul
13	Pisang Klutuk Ijo	<i>Musa balbisiana</i> (BB) cv. Klutuk Ijo	T13	Purwosari, Pasuruan, Jawa Timur
14	Pisang Klutuk Wulung	<i>Musa balbisiana</i> (BB) cv. Klutuk Wulung	T14	Cilongok Kabupaten Banyumas

### 3.4.3 Ekstraksi DNA

Daun pisang dikeluarkan dari *freezer* untuk diesktraksi. Daun dihancurkan menggunakan mortar dengan bantuan nitrogen cair sampai didapatkan serbuk halus seberat 40 mg. Serbuk tersebut dimasukkan ke dalam *tube* berukuran 1,5 ml. 600  $\mu$ l *Nuclei Lysis* ditambahkan ke dalam *tube*, kemudian divortex selama 1 sampai 5 detik. Larutan tersebut diinkubasi dengan suhu 65°C selama 15 menit. Larutan diberi 3  $\mu$ l RNase kemudian dihomogankan dengan cara dibolak-balik secara perlahan. Larutan yang telah homogen tersebut diinkubasi selama 15 menit dengan suhu 37°C, setelah diinkubasi, larutan didiamkan dengan suhu ruang selama 5 menit.

Presipitasi (pemisahan) merupakan tahap setelah ekstraksi. Pada tahap ini, larutan dari ekstraksi diberi 200  $\mu$ l larutan *Protein Precipitation Solution* selanjutnya divortex dalam waktu 20 detik. Sampel diletakkan pada *centrifuge* selama 30 menit dengan pengaturan kecepatan antara 13.000 sampai 16.000 x g. Tujuan dari *centrifuge* adalah memisahkan larutan berdasarkan berat molekulnya. Hasil dari *centrifuge* adalah larutan terbagi menjadi dua yakni *supernatant* (bagian atas) dan *pellet* (bagian bawah). *Supernatant* dipindah ke *tube* baru berukuran 1,5 ml, lalu ditambahkan 600  $\mu$ l Isopropanol. Larutan dihomogankan dengan cara dibolak-balik secara perlahan kemudian diletakkan di *centrifuge* selama 1 menit menggunakan kecepatan antara 13.000 sampai 16.000 x g.

Tahap selanjutnya yakni purifikasi sampel DNA. *Supernatant* hasil larutan yang telah disentrifuge dibuang dan *pellet* ditambahkan 600  $\mu$ l ethanol 70% bersuhu ruang. Sampel DNA dicuci dengan cara membolak-balik *tube* beberapa kali secara perlahan. Larutan disentrifuge kembali selama 1 menit dengan kecepatan antara 13.000 sampai 16.000 x g. *Supernatant* hasil *centrifuge* dibuang, sedangkan *pellet* sampel DNA angin-anginkan selama 15 menit. Sampel ditambahkan 100  $\mu$ l *DNA Rehydration Solution*, lalu *tube* diketuk beberapa kali agar homogen. Tahap yang terakhir yakni sampel DNA diinkubasi selama 1 jam dengan suhu 65°C. Sampel DNA disimpan pada suhu antara 2 hingga 8°C di lemari pendingin himpaga akan digunakan kembali.

### 3.4.4 Uji Kuantitatif dan Kualitatif DNA

Konsentrasi hasil ekstraksi DNA diuji melalui uji kuantitatif DNA. Kemurnian dan konsentrasi dari hasil DNA yang diisolasi dianalisis menggunakan spektrofotometri atau dengan metode visualisasi UV menggunakan alat spektrofotometer atau nano drop. Kemurnian larutan DNA dapat dihitung menggunakan rasio A260/A280. Protein akan menyerap maksimal pada panjang gelombang 280 nm, sedangkan DNA menyerap maksimal pada panjang gelombang 260 nm. Menurut Sudjadi (2008) tingkat kemurnian sampel DNA memiliki nilai 1,8 dalam rasio A260/A280. Jika nilai kurang dari 1,8 mengindikasikan terdapat kontaminan protein atau fenol, jika nilai di atas 2,0 mengindikasikan adanya kandungan metabolit sekunder pada sampel DNA. Secara umum, DNA murni memiliki nilai antara 1,8 hingga 2,0.

Kualitas DNA dapat diuji dengan uji kualitatif menggunakan elektroforesis gel agarosa. Tahap awal elektroforesis yakni pembuatan gel agarose dengan konsentrasi 1%. Gel agarose dibuat dengan serbuk agarose sebanyak 200mg dilarutkan dalam 20 ml TBE 0.5x. Larutan gel agarose dipanaskan didalam *microwave* hingga berwarna bening. Larutan yang telah dipanaskan kemudian didinginkan dengan suhu  $\pm$  35°C. Larutan ditambahkan EtBr dengan konsentrasi 100% sebanyak 1  $\mu$ L kemudian secara perlahan dihomogenkan. Setelah homogeny, larutan dituang pada *gel tray* yang sudah terpasang sisir dan didiamkan selama  $\pm$  30 menit hingga larutan menjadi padat. *Gel tray* padat dipindah ke *tank elektroforesis* dan dituangkan buffer TBE 0.5x sampai gel terendam dengan sempurna. DNA hasil ekstraksi diambil sebanyak 2  $\mu$ l kemudian dicampur dengan 1  $\mu$ l *loading dye*. Campuran DNA dan *loading dye* tersebut dimasukkan pada well (sumur) di gel elektroforesis dimulai dari sumur nomor dua. Pada sumur nomor satu dimasukkan 2  $\mu$ l DNA *Ladder Thermo Scientific Gene Ruler 100 bp* untuk penanda panjang pita sampel DNA. Waktu pada elektroforesis diatur selama 30 menit dan daya tegangan sebesar 100 V. Gel agarose diangkat dari elektroforesis, dan direndam selama 20 menit dalam larutan EtBr. Visualisasi gel dilakukan menggunakan *Molecular Imager® Gel Doc XR System* BIO-RAD.

### 3.4.5 Amplifikasi DNA dan Sequencing Intron *trnL*

Tahap awal amplifikasi DNA intron *trnL* yakni meracik larutan pada *tube PCR* dengan jumlah total larutan 30 µl terdiri dari 3 µl sampel DNA, 6 µl (*primer forward* dan *reverse*), 15 µl PCR mix dan 6 µl ddH<sub>2</sub>O. Larutan dihomogenkan pada *spindown* supaya tercampur rata dan gelembung yang berada pada *tube* menghilang. Proses PCR dilakukan pada mesin *My Cycler Thermal Cycler BIO-RAD* dengan pengaturan siklus sebanyak 35 siklus. Pengaturan waktu dan suhu sebagai berikut: *predenaturasi* selama 5 menit pada suhu 95°C, *denaturasi* selama 45 detik dengan suhu 95°C, *annealing* selama 45 detik dengan suhu 61,3°C, *elongasi* selama 45 detik dengan suhu 72°C, dan *post-elongasi* selama 10 menit dengan suhu 72°C. Uji elektroforesis dengan gel agarose 1% digunakan untuk memvisualisasikan hasil amplifikasi PCR. Tahap selanjutnya yakni proses *sequencing* dengan tujuan mengetahui urutan basa nukleotida sampel DNA. Sampel DNA dipurifikasi dan diberi ddH<sub>2</sub>O. Selanjutnya proses *sequencing* DNA sampel dilakukan menggunakan jasa *sequencing* di perusahaan Biologi Molekuler ABI PRISM® 310 *Genetic Analyzer* Singapore.

### 3.4.6 Pembuatan Pohon Filogeni

Sekuens DNA terdiri dari *outgroup* dan *ingroup (rooting)*. *Outgroup* terdiri dari sekuen intron *trnL* *Musa acuminata*, dan *Musa balbisiana* yang didapatkan di *GenBank (NCBI)*, sedangkan *ingroup* terdiri dari 16 genus *Musa*. Sekuens di *alignment* menggunakan MEGA 7 menggunakan menu ClustalW (Kumar *et al.*, 2016). Sekuens yang telah sejajar kemudian diedit secara manual yakni di lakukan *trimming* pada gap di setiap ujung termina sekuen (Figueroa *et al.*, 2016). Rekonstruksi filogenetik diestimasi menggunakan *Bayesian Inference* (BI), *Maximum parsimony* (MP), dan *Maximum likelihood* (ML). Analisis MP dan ML menggunakan aplikasi PAUP (Swofford, 2002) dengan parameter analisis ML yaitu replikasi pencarian 10 kali, dan replikasi *bootstrap* 1000 kali, dengan model substitusi HKY dengan parameter G (*Gamma*) berdasarkan jModelTest (Darriba, 2012). Sedangkan analisis MP yaitu replikasi *bootstrap* 1000 kali.

Pohon BI dianalisis melalui *MrBayes 3.0b4* (Huelsenbeck dan Ronquist, 2001) dengan Perhitungan MCMC untuk setiap 10.000.000 generasi. Estimasi waktu divergensi genetik dilakukan menggunakan *BEAST v1.8.0* (Drummond dan Rambaut, 2007). Analisis dilakukan melalui model evolusi HKY dengan Gamma Rate 4 dengan *clock rate model* menggunakan *uncorrelated lognormal “relaxed” clock* (Drummond dan Rambaut, 2007), kemudian hasil pohon kronogram diamati menggunakan aplikasi *Figtree v.1.4.2* (Drummond dan Rambaut, 2007).



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Kerakterisasi 14 Kultivar Pisang berdasarkan Marka Morfologi

Data morfologi dari 14 kultivar pisang memperlihatkan bahwasannya setiap genom AA, AAA, AAB, ABB dan BB memiliki karakter yang berbeda-beda (Lampiran 2). Meskipun memiliki karakter yang berbeda-beda, karakter-karakter tersebut dapat digolongkan berdasarkan genom. Setiap genom memiliki karakter sinapomorfi atau karakter khas yang diturunkan dari nenek moyang kepada keturunannya dan dikembangkan oleh kelompok takson tertentu (Simpson, 1953). Kultivar pisang dengan genom AA terdiri dari Pisang Mas, Pisang Berlin dan Pisang Rejang memiliki 5 karakter sinapomorf. Karakter-karakter tersebut antara lain aspek batang yang ramping, bintik kecil pada dasar tangkai berwarna coklat muda, margin tangkai daun berwarna merah muda keunguan sampai merah, lebar helai daun mencapai  $\leq 70$  cm, sedangkan panjang tangkau daun mencapai  $\leq 50$  cm (Gambar 4.1). Karakter pisang dari genom AA yakni memiliki perawakan ramping dan berdaun tegak merupakan karakter khusus yang dimiliki oleh pisang bergenom AA (Rinaldi, 2014).



Gambar 4.1 Karakter sinapomorf kultivar pisang genom AA; A. Warna bintik, B. Margin tangkai, C. Aspek batang

Kultivar pisang dengan genom AAA terdiri dari Pisang Kojo Santen, Pisang Ambon Hong dan Pisang Morosebo memiliki 4 karakter yang seragam. Karakter tersebut diantaranya getah yang berair, posisi anakan dekat dengan induk, warna permukaan bawah daun hijau sedang dan warna midrib permukaan dorsal kuning

hingga hijau terang (Gambar 4.2). Nedha (2017) menambahkan bahwasannya pisang keturunan *Musa acuminata* memiliki perawakan batang semu yang lebih ramping dan pendek dibanding *Musa balbisiana*. Hapsari (2016) menambahkan ciri Pisang yang bergenom AAA yaitu memiliki rumpun sedikit hingga sedang; batang semu berwarna hijau kekuningan, tidak berlilin.



Gambar 4.2 Karakter sinapomorfi kultivar pisang genom AAA;  
A. Posisi anakan; B. Warna getah

Kultivar pisang bergenom AAB terdiri Pisang Raja Seribu, Pisang Triolin dan Pisang Brentel Warangan memiliki 2 karakter yang sinapomorfik, antara lain yaitu semburat warna atau pigmentasi batang berwarna merah keunguan, dan midrib permukaan ventral berwarna hijau (Gambar 4.3). Menurut Shiddiqah (2002) batang semu yang berwarna keunguan disebabkan oleh adanya kandungan pigmen antosianin. Hapsari (2016) pisang dengan genom AAB memiliki batang semu dengan bercak kecoklatan hingga kehitaman dan sedikit berlilin.



Gambar 4.3 Karakter sinapomorfi kultivar pisang genom AAB  
semburat warna batang

Kultivar pisang bergenom ABB terdiri Pisang Saba Awu, Pisang Ebung dan Pisang Raja Bandung memiliki 5 karakter yang seragam, antara lain yaitu tinggi batang semu berkisar 2,1 sampai 2,9 meter, dasar batang memiliki warna dominan hijau, semburat warna atau pigmentasi batang berwarna pink keunguan, margin tangkai daun bersayap dan berwarna hijau (Gambar 4.4). Pisang Ebung dan Pisang Raja Bandung diketahui memiliki kanal tangkai daun yang tertutup, sedangkan Pisang Saba Awu memiliki kanal tangkai daun yang tegak. Perbedaan yang bukan merupakan karakter sinapomorfi tersebut menjadi penciri dari Pisang bergenom ABB yang pada umumnya memiliki kanal tangkai daun dengan tepi melengkung ke dalam hingga bertumpukan (Gusmiati, 2018).



Gambar 4.4 Karakter sinapomorfi kultivar pisanggenom ABB; A. Warna dasar batang, B Margin tangkai, C. Semburat warna batang

Kultivar pisang bergenom BB terdiri dari Pisang Klutuk wulung dan Klutuk Ijo memiliki 7 karakter yang sama, antara lain yaitu tinggi batang  $\geq 3m$ , permukaan batang kusam (berlilin), bercak atau bintik pada dasar tangkai berwarna coklat kehitaman, posisi margin kanal tangkai daun ketiga tumpang tindih, margin tangkai daun tidak bersayap dan memeluk batang, warna permukaan atas daun berwarna hijau tua, helai daun memiliki panjang 221-260 cm dan memiliki lebar 71-80 cm (Gambar 4.5). Hasil penelitian ini terbukti tidak sesuai dengan penelitian (Gusmiati, 2018) yang mengatakan bahwa Pisang Klutuk Ijo dan Klutuk Wulung dari genom BB memiliki pseudostem yang mengkilat (tidak berlilin) yang menjadi karakter sinapomorfi antara pisang genom BB dan ABB. Hal ini membuktikan bahwa hasil penelitian secara morfologi seringkali berbeda-beda dan bersifat subyektif (Guzow-Krzeminsk, 2001; Retnoningsih, 2011).



Gambar 4.5 Karakter sinapomorfi kultivar pisang genom BB; A. Tinggi Batang, B. Permukaan Berlilin (kusam)

14 kultivar pisang memiliki nilai similaritas berdasarkan indeks similaritas Bray-Curtis yang berkisar antara 0.67-0.92 (Tabel 4.1). Nilai similaritas tertinggi adalah 0.92 yang terdapat pada Pisang Ebung (T11) bergenom ABB dan Pisang Raja Bandung (T12) bergenom ABB dengan 26 dari 33 karakter morfologi yang sama antara kedua pisang tersebut. Nilai similaritas tertinggi lainnya berada pada Pisang Saba Awu (T10) dengan Raja Bandung (T12) mencapai angka 0.91, kedua pisang ini sama-sama memiliki genom ABB. Sedangkan nilai similaritas 0.90 dimiliki oleh Pisang Ambon Hong (T5) dengan Pisang Morosebo (T6) dan Pisang Rejang (T1) dengan Pisang Mas (T2). Nilai similaritas tersebut mengindikasikan bahwa kultivar pisang tersebut memiliki hubungan kekerabatan yang dekat berdasarkan hasil analisis morfologi. Sedangkan nilai similaritas terendah dimiliki oleh Pisang Rejang (T1) bergenom AA dengan Pisang Klutuk Wulung (T14) bergenom BB yakni 0.67 dengan 10 karakter yang sama. Nilai similaritas rendah lainnya adalah 0.69 yang dimiliki oleh Pisang Kojo Santen (T4) bergenom AAA dengan Pisang Klutuk Wulung (T14) bergenom BB. Hal ini memperlihatkan hubungan kekerabatan yang jauh berdasarkan hasil analysis morfologi pada kultivar pisang tersebut.

Hubungan kekerabatan antar 14 kultivar pisang terutama kultivar pisang dengan genom yang sama dapat ditunjukkan oleh nilai koefisien similaritas. Suatu spesies memiliki nilai koefisien similaritas kurang dari 0.60 menunjukkan suatu kelompok tersebut memiliki hubungan kekerabatan yang jauh (Trimanto, 2012).

Jika suatu spesies memiliki nilai koefisien similaritas (mendekati nilai satu) maka semakin dekat hubungan kekerabatan antar kultivar pisang. Sebaliknya, semakin jauh suatu hubungan kekerabatan kultivar tersebut karena memiliki nilai koefisien similaritas yang kecil (mendekati nilai nol) (Wijayanto, 2013).

Tabel 4.1 Nilai kesamaan 14 kultivar Pisang berdasarkan karakter morfologi menggunakan indeks similaritas Bray-curtis

Kode	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14
T1	1													
T2	0.90	1												
T3	0.87	0.86	1											
T4	0.82	0.77	0.81	1										
T5	0.83	0.82	0.88	0.87	1									
T6	0.81	0.82	0.88	0.85	0.90	1								
T7	0.79	0.78	0.82	0.77	0.79	0.84	1							
T8	0.77	0.78	0.81	0.79	0.83	0.83	0.83	1						
T9	0.77	0.79	0.83	0.81	0.82	0.83	0.86	0.88	1					
T10	0.75	0.77	0.82	0.83	0.85	0.88	0.82	0.84	0.87	1				
T11	0.77	0.75	0.82	0.85	0.86	0.84	0.79	0.81	0.86	0.91	1			
T12	0.73	0.78	0.80	0.80	0.80	0.82	0.80	0.79	0.85	0.91	0.92	1		
T13	0.71	0.70	0.77	0.75	0.79	0.78	0.73	0.86	0.83	0.85	0.82	0.78	1	
T14	0.67	0.73	0.70	0.69	0.74	0.72	0.72	0.86	0.77	0.79	0.76	0.80	0.88	1

Keterangan: T1 (Pisang Rejang), T2 (Pisang Mas), T3 (Pisang Berlin), T4 (Pisang Kojo Santen), T5 (Pisang Ambon Hong), T6 (Pisang Morosebo), T7 (Pisang Raja Seribu), T8 (Pisang Triolin), T9 (Pisang Brentel Warangan), T10 (Pisang Sobo Awu), T11 (Pisang Ebung), T12 (Pisang Raja Bandung), T13 (Pisang Kluthuk Ijo), T14 (Pisang Kluthuk Wulung).

Penentuan cluster pada penelitian ini berdasarkan nilai minimum similaritas. Nilai minimum similaritas yang digunakan yaitu  $\geq 0,85$ . Jika nilai similaritas  $\geq 0,85$  maka Pisang dianggap satu kelompok, sedangkan jika nilai similaritasnya  $< 0,85$  maka Pisang dianggap beda kelompok. Empat belas kultivar Pisang terbagi menjadi 5 cluster (Gambar 4.6). 14 kultivar pisang dapat dikelompokkan menjadi 5 cluster. Cluster 1 ditempati oleh Pisang Rejang (AA) dan Pisang Mas (AA). Pisang Rejang (AA) dan Pisang Mas (AA) yang memiliki nilai similaritas sebesar 0.90, sedangkan nilai similaritas Pisang Berlin dengan kedua pisang tersebut masing-masing 0.87 dan 0.86. Hal ini menyebabkan pisang Berlin (AA) memisah dari Pisang Rejang dan Pisang Mas. Karakter yang dimiliki kedua pisang tersebut yakni bintik pada dasar tangkai berwarna coklat muda. Karakter-karakter tersebut sebagai penanda genom AA.

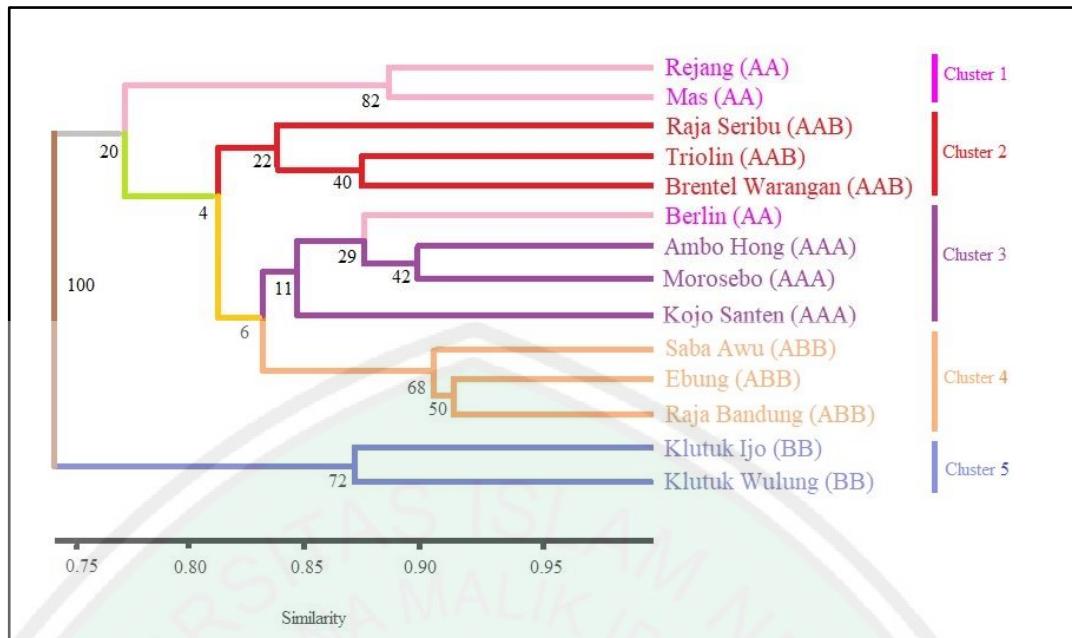
Cluster 2 berisikan Pisang Triolin (AAB), Pisang Brentel Warangan (AAB) dan Pisang Raja Seribu (AAB). Pisang Triolin dan Pisang Brentel Warangan

memiliki nilai similaritas sebesar 0.88, sedangkan nilai similaritas Pisang Raja Seribu dengan kedua pisang tersebut masing-masing 0.83 dan 0.86. Hal ini menyebabkan Pisang Triolin dan Pisang Brentel Warangan lebih dekat disbanding dengan Pisang Raja Seribu, tatapi masih dalam satu cluster. Pada ketiga pisang tersebut memiliki beberapa karakter yang sama diantaranya: semburat warna batang tau pigmentasi berwarna merah keunguan dan getah berwarna putih susu. Karakter-karakter tersebut sebagai penanda genom AAB.

Cluster selanjutnya adalah cluster 4 yang terdiri dari Pisang Berlin (AA), Pisang Kojo Santen (AAA), Pisang Ambon Hong (AAA) dan Pisang Morosebo (AAA). Nilai similaritas Pisang Ambon Hong dengan Pisang Morosebo sebesar 0.90 sedangkan nilai similaritas Pisang Kojo Santen dengan kedua pisang tersebut adalah 0.87 dan 0.85. sedangkan nilai similaritas ketiga pisang tersebut dengan Pisang Berlin masing-masing 0.82, 0.83 dan 0.81. Nilai tersebut meyebabkan Pisang Berlin berkerabat dekat dengan ketiga pisang tersebut. Ciri khas pada keempat posing ini adalah permukaan batang semunya terang (tidak berlilin) dan posisi anakan yang dekat dengan induk.

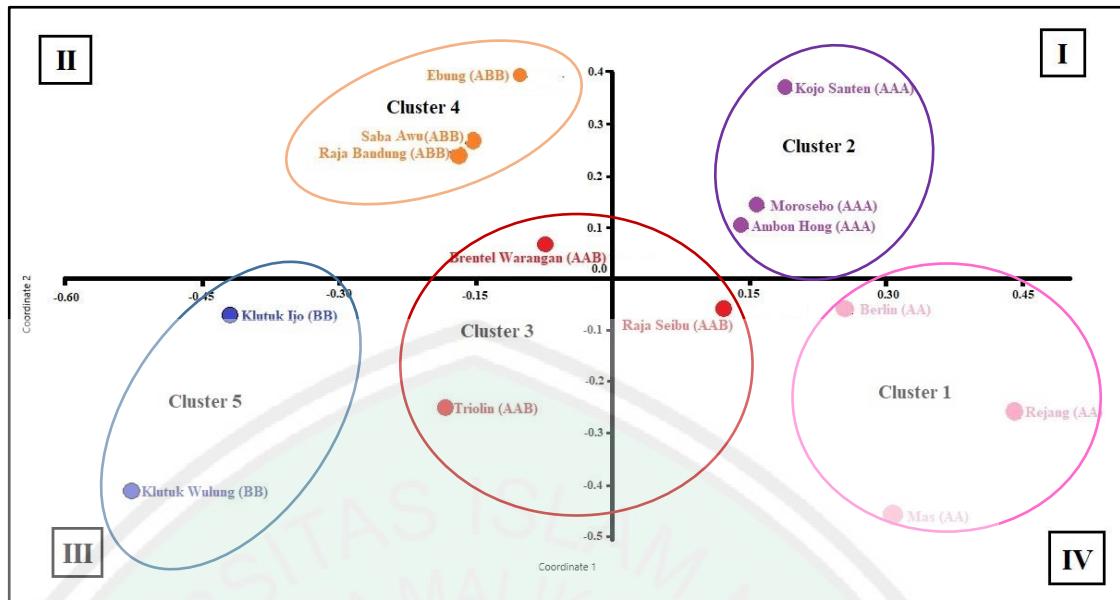
Cluster 4 memiliki 3 macam pisang, yakni Pisang Saba Awu (ABB), Pisang Ebung (ABB) dan Pisang Raja Bandung (ABB). Nilai similaritas Pisang Ebung dengan Pisang Raja Bandung sebesar 0.92 sedangkan nilai similaritas Saba Awu dengan kedua pisang tersebut adalah 0.91. Nilai tersebut meyebabkan Pisang Ebung berkerabat dekat dengan Raja Bandung dibanding dengan Pisang Kojo Santen. Karakter yang dimiliki ketiga pisang tersebut yakni pigmentasi pada batang semu berwarna pink keunguan. Karakter tersebut sebagai penanda genom ABB.

Cluster terakhir adalah cluster 5 yang memiliki 2 anggota yakni Pisang Klutuk Wulung (BB) dengan Pisang Klutuk Ijo (BB). Kedua pisang tersebut memiliki nilai similaritas sebesar 0.88. Cluster V diisi oleh Pisang Kluthuk Ijo (BB) dan Pisang Kluthuk Wulung (BB). Kedua Pisang tersebut memiliki karakter yang tidak dimiliki oleh Pisang lainnya yaitu memiliki bentuk tegakan daun yang tegak, tinggi batang  $\geq 3$  m, aspek batang semunya besar, warna bintik pada dasar pelelehnya coklat kehitaman dan kanal tangkainya memiliki margin yang tumpeng tindih. Karakter-karakter tersebut sebagai penanda genom BB.



Gambar 4.6 Dendogram 14 kultivar Pisang berdasarkan karakter morfologi menggunakan indeks similaritas Braycurtis

Analisis clustering selanjutnya menggunakan analisis *Principal coordinates* (PCoA) menggunakan *scatter plot*. PCoA digunakan untuk memperjelas hasil pengelompokan pada analisis dendrogram berbentuk plot (Gambar 4.7). PCoA dapat memetakan 14 kultivar pisang dengan empat kuadran, yakni kuadran I, II, III, dan IV. Kuadran I diisi dengan pisang bergenom AAA yang mengelompok, kuadran II terdapat pisang dengan genom ABB dan satu pisang dengan genom AAB, kuadran III diisi oleh pisang BB dan satu pisang bergenom AAB, sedangkan kuadran IV terdapat pisang AA dan satu pisang bergenom AAB. Genom AA, AAA, ABB dan BB terletak pada kuadran berbeda dan mengelompok, sedangkan pisang bergenom AAB terletak menyebar pada 3 kuadran.



Gambar 4.7 PCoA (*Principal Coordinate Analysis*) berdasarkan karakter morfologi menggunakan indeks similaritas Bray-curtis dalam pengelompokan 14 kultivar Pisang

Allah SWT berfirman dalam QS. Al A'raaf ayat 56:

وَلَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ بَعْدَ إِصْلَاحِهَا وَأَدْعُوهُ حَوْفًا وَطَمْعًا إِنَّ رَحْمَةَ اللَّهِ قَرِيبٌ مِّنَ الْمُحْسِنِينَ (٥٦)

Artinya: “Dan janganlah kamu membuat kerusakan di muka bumi, sesudah (Allah) memperbaikinya dan berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut (tidak akan diterima) dan harapan (akan dikabulkan). Sesungguhnya rahmat Allah amat dekat kepada orang-orang yang berbuat baik”.

Shihab (2002) menafsirkan ayat tersebut dengan seharusnya manusia menjaga bumi dari kerusakan dengan menebar permusuhan, kezaliman dan kemaksiatan yang mana akan menghancurkan bumi. Kerusakan bumi yang telah terjadi yakni rusaknya alam, perburuan satwa liar yang sering terjadi dan berakibat pada keseimbangan di bumi. Manusia sebagai Khalifah hendaknya dengan menjaga, mengola dan memanfaatkan bumi sehingga dapat mempelajari hal-hal yang merupakan tanda-tanda kekuasaan Allah. Kekuasaan Allah dapat dipelajari dengan berbagai cara, salah satunya adalah melalui penelitian. Penelitian dilakukan oleh orang berakal untuk mengetahui cara memanfaatkan segala sesuatu yang telah diciptakan Allah untuk kemaslahatan umat manusia.

## 4.2 Kerakterisasi 13 Kultivar Pisang berdasarkan Marka Molekuler

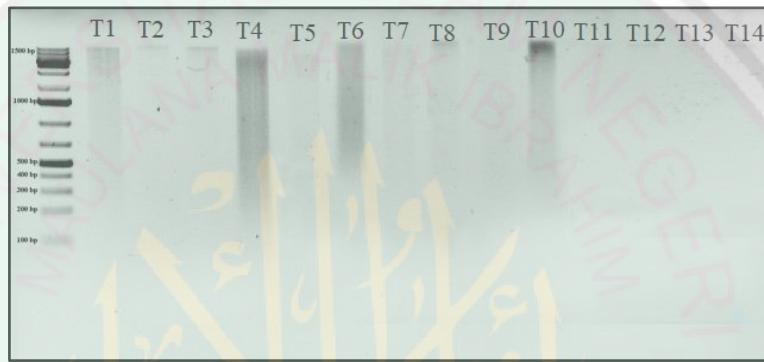
### 4.2.1 Analisis Hasil Ekstraksi

Hasil ekstraksi DNA diuji dengan dua macam pengujian, yakni uji kuantitatif dan kualitas DNA. Uji kuantitatif bertujuan untuk mengetahui konsentrasi DNA hasil ekstraksi. Konsentrasi dan kemurnian dari hasil DNA yang diisolasi diuji menggunakan nano drop. Hasil isolasi DNA memiliki nilai konsentrasi yang bervariasi, mulai dari 6,01 ng/µL hingga 126,19 ng/µL, sedangkan nilai kemurnian DNA hasil isolasi bersarang antara 0,63 hingga 2,76. Nilai kemurnian terendah yakni 0,63 yang terdapat pada sampel T1 (Pisang Rejang). Sampel dengan kode T8 (Pisang Triolin) memiliki nilai konsentrasi tertinggi yakni 2,76. Kemurnian DNA ditentukan dengan menghitung rasio A260/A280. Kemurnian sampel DNA memiliki nilai 1,8 dalam rasio A260/A280. Jika nilai kurang dari 1,8 mengindikasikan adanya kontaminan protein atau fenol, jika nilai di atas 2,0 mengindikasikan kandungan metabolit sekunder pada sampel DNA. Secara umum, DNA murni memiliki nilai antara 1,8 sampai 2,0 (Pereira, 2011; Pandey, 2015). Sampel DNA yang memiliki nilai DNA murni yakni sampel T3 (Pisang Berlin) dengan nilai 1,97 dan T13 (Pisang Kluthuk Ijo) memiliki nilai 1,92 (Tabel 4.2). Nilai kemurnian dan nilai konsentrasi merupakan nilai yang tidak saling berpengaruh.

Tabel 4.2 Hasil Pengukuran Uji Kuantitatif Ekstraksi DNA

Kode	Nama Kultivar	Konsentrasi (ng/µL)	Kemurnian (260/280)
T1	Pisang Rejang	10,82	0,63
T2	Pisang Mas	6,01	1,34
T3	Pisang Berlin	27,37	1,97
T4	Pisang Kojo Santen	103,92	1,71
T5	Pisang Ambon Hong	6,76	0,76
T6	Pisang Morosebo	126,19	2,18
T7	Pisang Raja Seribu	8,50	0,93
T8	Pisang Triolin	48,85	2,76
T9	Pisang Brentel Warangan	11,61	0,81
T10	Pisang Saba Awu	117,3	2,15
T11	Pisang Ebung	15,80	1,22
T12	Pisang Raja Bandung	35,47	1,71
T13	Pisang Kluthuk Ijo	48,10	1,92
T14	Pisang Kluthuk Wulung	27,70	1,73

Kualitas DNA dapat diuji dengan uji kualitatif menggunakan elektroforesis gel agarosa. Seluruh sampel DNA menunjukkan hasil yang berbeda-beda pada panjang dan ketebalan pita. Panjang pita DNA mencapai 1500 bp, sedangkan ketebalan pita memiliki ketebalan yang tipis dan tebal. Sampel dengan hasil pita DNA tipis yakni T1, T2, T3, T5, T7, T8, T9, T11, T12, T13, dan T14, sedangkan sampel T4, T6 dan T10 memiliki pita yang tebal (Gambar 4.8). Ketebalan pita adalah visualisasi dari konsentrasi DNA. Sampel dengan pita tebal memiliki konsentrasi DNA masing-masing sebesar 103,92 ng/ $\mu$ L, 126,19 ng/ $\mu$ L, dan 117,3 ng/ $\mu$ L (Tabel 4.2).

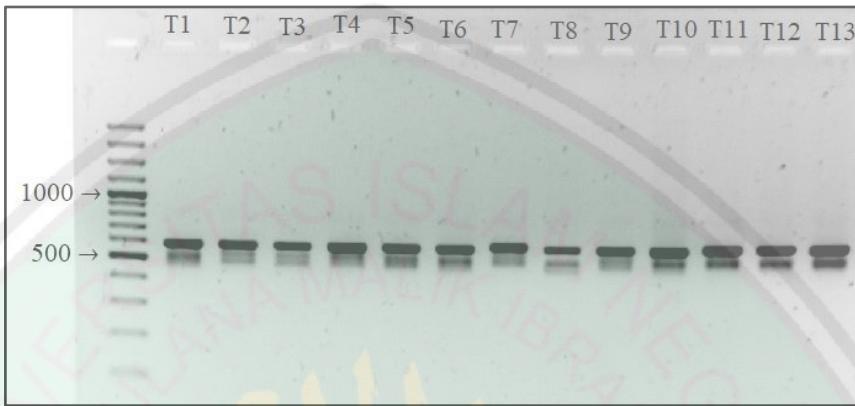


Gambar 4.8 Visualisasi hasil ekstraksi DNA *whole genome*; T1. Pisang Rejang (AA); T2. Pisang Mas (AA); T3. Pisang Berlin (AA); T4. Pisang Kojo Santen (AAA); T5. Pisang Ambon Hong (AAA); T6. Pisang Morosebo (AAA); T7. Pisang Raja Seribu (AAB); T8. Pisang Triolin (AAB); T9. Pisang Brentel Warangan (AAB); T10. Pisang Sobo Awu (ABB); T11. Pisang Ebung (ABB); T12. Pisang Raja Bandung (ABB); T13. Pisang Kluthuk Ijo (BB); T14. Pisang Kluthuk Wulung (BB)

Hasil isolasi DNA menunjukkan terdapat 50% pita DNA yang masih mengalami *smear*. *Smear* yang muncul pada visualisasi DNA menunjukkan adanya kontaminasi dari RNA, protein, maupun kontaminan yang lain (Hidayati, 2016). Hasil visualisasi pita DNA dipengaruhi oleh beberapa hal seperti panjang gelombang UV yang digunakan, waktu elektroforesis, jenis dan kondisi transilluminator, posisi tatakan gel yang dapat menghalangi sinar UV, serta reagen yang digunakan untuk memendarkan pita DNA (Lee, 2012).

Amplifikasi PCR dengan Primer trnL C dan D (Taberlet et al., 1991) pada 13 sampel kultivar pisang berhasil dilakukan. Sampel 13 kultivar pisang yang berhasil diamplifikasi memiliki panjang sekuen sekitar  $\pm$  600 bp (Gambar 4.9). Hal ini sesuai

dengan penelitian Taberlet et al (2007) menjelaskan bahwa panjang intron trnL secara umum adalah 254-767 bp. Keberhasilan dalam amplifikasi pita DNA ini juga karena dampak dari beberapa faktor, antara lain yaitu kualitas DNA genom, konsentrasi larutan, primer yang digunakan, serta pengaturan suhu pada siklus PCR terutama pada suhu *annealing* (Brown, 1991).

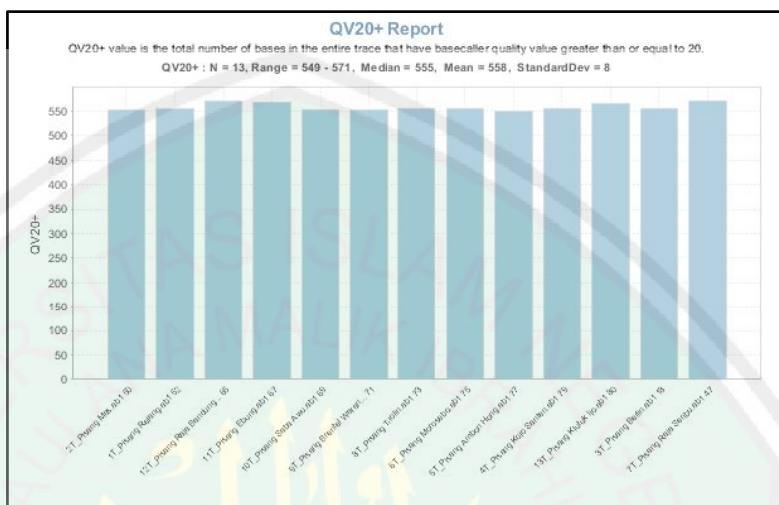


Gambar 4.9 Pita DNA hasil amplifikasi trnL primer C dan D; T1. Pisang Rejang (AA); T2. Pisang Mas (AA); T3. Pisang Berlin (AA); T4. Pisang Kojo Santen (AAA); T5. Pisang Ambon Hong (AAA); T6. Pisang Morosebo (AAA); T7. Pisang Raja Seribu (AAB); T8. Pisang Triolin (AAB); T9. Pisang Brentel Warangan (AAB); T10. Pisang Sobo Awu (ABB); T11. Pisang Ebung (ABB); T12. Pisang Raja Bandung (ABB); T13. Pisang Klutuk Ijo (BB)

#### 4.2.2 Analisis Hasil Sekuensing

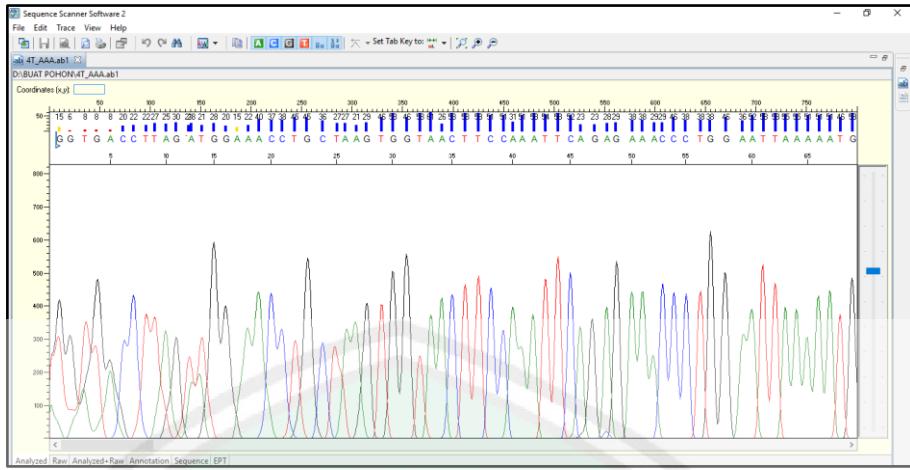
Hasil sekuensing sampel DNA dianalisis menggunakan aplikasi *Sequence Scanner*. Aplikasi *Sequence Scanner* menyajikan ulasan data sekuensing yang terdiri dari nilai QV, CRL (*Contiguous Read Length*), *Electropherogram*, *Raw Data*, dan *EPT Plot*. Nilai QV disajikan dalam bentuk batang dan angka yang berada diatas setiap basa di laporan *electropherogram*. QV dengan nilai rendah berwarna merah menunjukkan data tidak dapat diterima dengan kata lain data tidak menunjukkan keberhasilan saat sekuensing. QV dengan nilai tengah berwarna kuning menunjukkan data harus melewati ulasan secara manual supaya dapat diterima. QV dengan nilai tinggi berwarna biru menunjukkan data menunjukkan keberhasilan saat sekuensing. Warna biru mengindikasikan bahwa nilai fluoresensi saat sekuensing mempunyai kualitas yang bagus (Pallez, *et al.*, 2014). Batang biru menunjukkan nilai hasil sekuensing lebih dari 20 dengan keakuratan lebih dari

99%. Hasil sekuensing 13 sampel menunjukkan basa dengan nilai QV+20 rata-rata 549 basa dari rata-rata panjang 567 basa. Nilai CRL (*Contiguous Read Length*) merupakan total panjang basa dengan hasil sekuensing berwarna biru (Gambar 4.10).



Gambar 4.10 Nilai QV20+ dari 13 Sekuen 13 Kultivar Pisang

Analisis *Electropherogram* terdiri dari kurva dengan warna yang berbeda dan puncak yang berbeda pula. Warna yang berbeda menunjukkan jenis basa. Warna biru untuk sitosin, hijau untuk adenine, merah untuk timin, hitam untuk guanine. Setiap basa memiliki notasi yang berbeda, yakni T untuk timin, A untuk adenine, G untuk guanine dan C untuk sitosin dan. *Electropherogram* juga menunjukkan grafik gelombang sinyal (Gambar 4.11). Data dengan nilai tinggi memiliki beberapa ciri-ciri, diantaranya: memiliki konsistensi jarak antara puncak satu dengan yang lain diseluruh jejak, resolusi puncak yang terdefinisi dengan baik dengan fluoresensi minimal tumpang tindih dari satu puncak ke puncak lain. Hal ini disebabkan karena jumlah molekul DNA kloroplas yang sangat banyak dalam satu sel. Puncak yang rendah memperlihatkan nukleotida dengan jumlah sedikit, sedangkan puncak tinggi memperlihatkan nukleotida dengan jumlah banyak.



Gambar 4.11 Visualisasi Electropherogram

#### 4.2.3 Variabilitas Genetik 13 Sampel Kultivar Pisang

Semua sampel kultivar pisang memiliki E-value 0.0 dimana angka ini mengindikasikan adanya keidentikan antara sampel dengan data. E-value adalah nilai ukuran statistic yang signifikan antara kedua sekuen tersebut. Jika E-value menunjukkan nilai yang tinggi maka homologi kedua sekuen termasuk rendah, sedangkan semakin rendah nilai E-value maka homologi antara kedua sekuen tersebut semakin tinggi. Nilai E-value yang bernilai 0 (nol) mengindikasikan kedua sekuen tersebut identik (Claverie, 2003). Tidak hanya E-value yang dapat menunjukkan adanya keidentikan sampel dengan bank data, tetapi nilai Query cover juga dapat menunjukkan adanya kemiripan antar sampel dengan data. Nilai Query cover tertinggi mencapai 99% dan terendah adalah 98% yang dimiliki oleh sampel T2, T8, T9 dan T10 (Tabel 4.3). Selain Query cover terdapat juga nilai Identity. Hasil BLAST dari 13 pisang kulitvar memiliki rata-rata skor *identity* mencapai 99,66%. Identity menunjukkan nilai persentasi kecocokan antara sekuen sampel dengan sekuen data base yang telah disejajarkan. *Score* adalah jumlah kecocokan semua segmen basa antara sampel dengan data base nukleotida yang terdapat dalam genbank. Semakin tinggi nilai score maka semakin tinggi pula tingkat homology antara kedua sekuen. Query cover merupakan nilai panjang basa yang selaras dengan data base dalam bentuk persen. (Miller, 1990). *Identity* dari ke13 sampel sesuai dengan data genom yang telah ada yakni genom AA, AAA dan AAB identic dengan *Musa acuminata*, sedangkan genom ABB dan BB identic dengan *Musa balbisiana*. Hal tersebut tidak berlaku pada 2 sampel, yakni sampel

T7 (Pisang Raja Seribu) dan T10 (Pisang Saba Awu). Sampel T7 (Pisang Raja Seribu) memiliki data dengan genom AAB dan seharusnya memiliki kemiripan dengan *Musa acuminata*, tetapi setelah proses BLAST, sampel menunjukkan similiaritas dengan *Musa balbisiana*. Tingkat similiaritas ditunjukkan melalui skor *identity* yang menjelaskan bahwa adanya kecocokan antara sekuen sampel trnL Pisang Raja Seribu dengan sekuen data base yang telah disejajarkan mencapai 99,83% ekuivalen dengan *Musa balbisiana*. Sampel yang memiliki kasus serupa dengan sampel Pisang Raja Seribu adalah sampel T10 (Pisang Saba Awu) bergenom ABB tetapi memiliki similiaritas dengan sekuen *Musa acuminata*. Nilai panjang basa sampel Pisang Saba Awu yang selaras dengan data base adalah 98% dengan sekuen *Musa acuminata*. Kejadian ini menunjukkan bawasannya perlu adanya perbaikan tatanama dan pengelompokan genom pada kultivar pisang.

Tabel 4.3 Hasil Blast sekuen trnL 13 Kultivar Pisang

Cod e	Banana Cultiva r	Description	Query cover	E- Val ue	Iden tity	Accessi on
T1	Pisang Rejang (AA)	<i>Musa acuminata</i> subsp. <i>malaccensis</i> chloroplast complete genome	99%	0.0	99.8 2%	HF677 508.1
T2	Pisang Mas (AA)	<i>Musa acuminata</i> subsp. <i>siamea</i> isolate SS&JS 1 Khae Phetchabun tRNA-Leu (trnL) gene	98%	0.0	99.6 4%	KT257 578.1
T3	Pisang Berlin (AA)	<i>Musa acuminata</i> subsp. <i>siamea</i> isolate SS&JS 1 Khae Phetchabun tRNA-Leu (trnL) gene	99%	0.0	99.4 7%	KT257 578.1
T4	Pisang Kojo Santen (AAA)	<i>Musa acuminata</i> subsp. <i>siamea</i> isolate SS&JS 1 Khae Phetchabun tRNA-Leu (trnL) gene	99%	0.0	99.8 2%	KT257 578.1
T5	Pisang Ambon Hong (AAA)	<i>Musa acuminata</i> subsp. <i>siamea</i> isolate SS&JS 1 Khae Phetchabun tRNA-Leu (trnL) gene	99%	0.0	99.4 7%	KT257 578.1
T6	Pisang Morose	<i>Musa acuminata</i> subsp. <i>malaccensis</i> chloroplast	99%	0.0	99.6 4%	HF677 508.1

	bo (AAA)	complete genome, biomaterial CIRAD:930				
T7	Pisang Raja Seribu (AAB)	Musa balbisiana var. balbisiana cultivar Pisang Klutuk Wulung plastid, complete genome	99%	0.0	99.8 3%	NC_03 9815.1
T8	Pisang Triolin (AAB)	Musa acuminata subsp. siamea isolate SS&JS 1 Khae Phetchabun tRNA- Leu (trnL) gene	98%	0.0	99.6 4%	KT257 578.1
T9	Pisang Brentel Waran gan (AAB)	Musa acuminata subsp. siamea isolate SS&JS 1 Khae Phetchabun tRNA- Leu (trnL) gene	98%	0.0	99.6 4%	KT257 578.1
T10	Pisang Saba Awu (ABB)	Musa acuminata subsp. siamea isolate SS&JS 1 Khae Phetchabun tRNA- Leu (trnL) gene	98%	0.0	99.6 4%	KT257 578.1
T11	Pisang Ebung (ABB)	Musa balbisiana chloroplast, complete genome	99%	0.0	99.6 5%	KT595 228.1
T12	Pisang Raja Bandung (ABB)	Musa balbisiana var. balbisiana cultivar Pisang Klutuk Wulung plastid, complete genome	99%	0.0	99.6 5%	MH048 658.1
T13	Pisang Kluthuk Ijo (BB)	Musa balbisiana var. balbisiana cultivar Pisang Klutuk Wulung plastid, complete genome	99%	0.0	99.6 5%	NC_03 9815.1

Tabel 4.4 memaparkan bahwasannya komposisi sekuen DNA daerah *trnL* dari 13 kultivar pisang memiliki nilai rata-rata basa dengan 28,8% T, 15,6 C, 38,1 A dan 17,5 G. Sekuen DNA sampel kaya akan basa T dan A sebesar 66,9%, sedangkan kandungan C dan G hanya 33,1% (Tabel 4.4). Manurung (2018) menyatakan bahwa sekuen non-coding pada daerah kloroplas memiliki komposisi basa paling banyak yakni Adenin dan Timin. Selain presentase komposisi nukleotida terdapat juga analisis sekuen daerah *trnL* dari 13 sampel kultivar pisang. Sekuen DNA daerah *trnL* yang telah disejajarkan dari 13 kultivar pisang memiliki

579 bp. Sesuai dengan pendapat Borsch et al (2003) dan Taberlet (2007) bahwa panjang sekuen intron *trnL* dengan primer c dan d berkisar antara 254-767 bp. Daerah conserve (tidak berubah atau monomorfik) berjumlah 549 bp, terdiri dari 2 region. Region 1 berada diurutan basa ke-16-196 dan region 2 diurutan basa 212-449. Basa Variabel potensial (polimorfik) berjumlah 9 bp, dan basa dengan missing data berjumlah 21 bp. Variable site merupakan daerah dengan dua jenis nukleotida yang terbagi menjadi Parsimony informative dan singleton variable. Singleton variable adalah daerah dengan terdapatnya taksa yang berbeda atau taksa yang megalami pergantian basa (Wahyudi et al., 2013). Singleton juga dapat menunjukkan karakter autoapomorfik yakni karakter maju yang hanya dimiliki spesies tertentu (Hidayat dan Pancoro, 2005). Total basa singleton variable yakni 5 bp berada di urutan basa 5, 7, 8, 450 dan 545, sedangkan basa Parsimony informative sebanyak 4 bp berada diurutan basa 197, 211, 544 dan 579. Sekuen DNA daerah *trnL* dari 13 kultivar pisang menunjukkan variabilitas rendah dengan tingkat konservasi yang tinggi, hal ini dikarenakan dareah *trnL* merupakan daerah yang berada di kloroplast atau biasa disebut cpDNA (Chloroplast DNA) memiliki daerah conserve yang tinggi. Nilai variasi genetik pada cpDNA termasuk rendah karena cpDNA memiliki daerah conserve yang tinggi, sehingga sedikit terjadi perubahan basa (Indriko, 2005; Wang et al., 2013).

Tabel 4.4 Komposisi Nukleotida Sekuen *trnL* dari 13 Kultivar Pisang

Kultivar Pisang	Genom	Total Basa Sekuen	Basa (%)			
			T	C	A	G
Pisang Rejang	AA	561.0	28.9	15.7	38.0	17.5
Pisang Mas	AA	561.0	28.5	15.7	37.8	18.0
Pisang Berlin	AA	561.0	28.7	15.7	38.0	17.6
Pisang Kojo Santen	AAA	561.0	28.7	15.7	38.1	17.5
Pisang Ambon Hong	AAA	562.0	28.6	15.7	37.7	18.0
Pisang Morosebo	AAA	561.0	29.1	15.7	37.8	17.5
Pisang Raja Seribu	AAB	576.0	29.0	15.5	38.4	17.2
Pisang Triolin	AAB	576.0	29.0	15.5	38.4	17.2
Pisang Brentel Warangan	AAB	560.0	28.6	15.7	38.2	17.5
Pisang Saba Awu	ABB	560.0	28.6	15.7	38.2	17.5
Pisang Ebung	ABB	577.0	29.1	15.4	38.3	17.2
Pisang Raja Bandung	ABB	577.0	29.1	15.4	38.3	17.2
Pisang Klutuk Ijo	BB	576.0	29.0	15.5	38.0	17.5
Rata-rata		566.8	28.8	15.6	38.1	17.5

Analisis mutasi dalam posisi variabel singletone mengungkapkan bahwa variasi urutan sekuen intron trnL pada sampel kultivar pisang sebagian besar disebabkan adanya mutasi gen (mutasi titik) dalam bentuk substitusi. Subtitusi pasangan basa terdiri dari transisi dan transversi. Transisi yakni penggantian satu basa purin (adenine atau guanin) dengan basa purin lainnya atau penggantian basa pirimidin (timin atau sitosin) dengan basa pirimidin lainnya. Peristiwa substitusi transisi ini terjadi sebanyak 6 posisi. Transversi merupakan berubahnya basa pirimidin dengan purin atau sebaliknya. Peristiwa substitusi transversi ini terjadi sebanyak 24 posisi. Adanya mutasi genetik seperti substitusi, delesi, dan inersi dapat menghasilkan beberapa haplotipe. Haplotype (haploid genotipe) adalah urutan DNA yang telah diwarisi dari satu induk. Jenis variasi yang paling umum di antara haplotipe yang dimiliki oleh individu dalam populasi adalah *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP), di mana nukleotida berbeda (alel) hadir di lokasi tertentu (Gusfield & Orzack, 2001). Mutasi lainnya disebabkan karena adanya insersi basa nitrogen pada urutan sekuen. Insersi adalah adanya penyisipan maupun penambahan satu atau lebih basa nitrogen pada sekuen. Insersi pada sampel nomor 2, 3 dan 5 hanya terjadi penambahan 1 macam basa saja, berbeda dengan sampel nomor 7, 8, 11, 12 dan 13, insersi pada sampel tersebut terjadi penambahan hingga 15 basa (Tabel 4.5). Hasil analisis tingkat mutasi pada sekuen, genom AA, AAA dan AAB memiliki tingkat mutasi yang rendah kecuali Pisang Raja Seribu (AAB) dan Pisang Triolin (AAB). sedangkan genom ABB dan BB memiliki tingkat mutasi yang tinggi, kecuali pada pisang Saba Awu yang hanya memiliki mutasi pada satu basa saja. Hal ini juga selaras dengan hasil BLAST dan hasil rekonstruksi pohon filogenetik. Adanya mutasi ini menunjukkan bahwa tumbuhan termasuk pisang berevolusi dengan berjalannya waktu. Mutasi sangat penting untuk evolusi. Mutasi dapat disebabkan oleh sumber energi tinggi seperti radiasi, bahan kimia, tekanan lingkungan yang tinggi, atau muncul secara spontan selama replikasi DNA. Mutasi yang menguntungkan memungkinkan organisme bereproduksi lebih efektif dan beradaptasi dengan baik terhadap lingkungan yang berubah (Carlin, 2011).

Tabel 4.5 Variasi Singletone Sekuen trnL 13 Kultivar Pisang

No.	Kultivar Pisang	Genom	Urutan Basa	Mutasi Basa	Total
1	Rejang	AA			
2	Mas	AA	3, 450, 544, 579	Insersi G, T→G, T→A, A→G	4
3	Berlin	AA	3, 5, 7, 8, 544	Insersi C, C→T, T→A, A→G, T→A	5
4	Kojo Santen	AAA	544	T→A	1
5	Ambon Hong	AAA	15, 57, 544, 579	A→G, Insersi G, T→A, A→G	4
6	Morosebo	AAA	545	A→T	1
7	Raja Seribu	AAB	197, 211, 335-349, 544	A→T, A→C, Insersi ATAATATGAAAAATT, T→A	17
8	Triolin	AAB	197, 211, 335-349, 544	A→T, A→C, Insersi ATAATATGAAAAATT, T→A	17
9	Brentel Warangan	AAB	544	T→A	1
10	Saba Awu	ABB	544	T→A	1
11	Ebung	ABB	197, 211, 335-349, 544, 569	A→T, A→C, Insersi ATAATATGAAAAATT, T→A, Insersi T	18
12	Raja Bandung	ABB	197, 211, 335-349, 544, 569	A→T, A→C, Insersi ATAATATGAAAAATT, T→A, Insersi T	18
13	Klutuk Ijo	BB	57, 197, 211, 335- 349, 544, 579	Insersi G, A→T, A→C, Insersi ATAATATGAAAAATT, T→A, A→G	19

Note: A=Adenin, T=Timin, G=Guanin, S=Sitosin

Tingkat mutasi tertinggi terjadi pada pisang Raja Seribu (AAB), pisang Triolin (AAB), pisang genom BB dan ABB kecuali pisang Saba Awu (ABB). Pisang Raja Seribu dengan genom AAB memiliki hasil BLAST yang menunjukkan similiaritas dengan *Musa balbisiana*, hal ini merupakan alasan banyaknya terjadi mutasi. Begitu pula pada hasil rekonstruksi pohon filogenik dengan algoritma MP, ML dan BI, pisang Raja Seribu (AAB) termasuk dalam clade ABB dan BB. Adanya mutasi yang tinggi menyebabkan pergeseran genom pada Pisang Raja seribu. Pisang kedua dengan mutasi yang tinggi adalah pisang Triolin dengan genom AAB

mencapai 17 titik mutasi. Meskipun memiliki titik mutasi yang tinggi, Pisang Triolin berbeda dengan Pisang Raja Seribu yang memiliki hasil BLAST similiaritas dengan *Musa balbisiana*, pisang Triolin (AAB) memiliki nilai identic dengan *Musa acuminata* mencapai angka 99.64%. Berbeda dengan Pisang Raja Seribu yang termasuk clade AAB dan BB, pisang Triolin mengelompok dengan pisang bergenom AA, AAA dan AAB lainnya. Pisang dengan tingkat mutasi yang tinggi lainnya berada pada genom ABB dan BB, kecuali pada pisang Saba Awu yang memiliki genom ABB. Nilai panjang basa sampel Pisang Saba Awu yang selaras dengan data base adalah 98% dengan sekuen *Musa acuminata*. Begitu pula pada hasil rekontruksi pohon filogenik dengan algoritma MP, ML dan BI, pisang Saba Awu (ABB) termasuk dalam clade *Musa acuminata*. Jadi dapat ditarik kesimpulan bahwasannya tidak semua mutasi dapat merubah suatu genom. Kultivar pisang aseksual secara reproduksi oleh umbi, oleh karena itu dapat mempertahankan konstituen genetik bermutasi. Namun, domestikasi, seleksi manusia dan migrasi juga menambah aspek evolusi dalam kultivar pisang (Rochana, 2012).

Tabel 4.6 Jarak Genetik 13 Kultivar Pisang

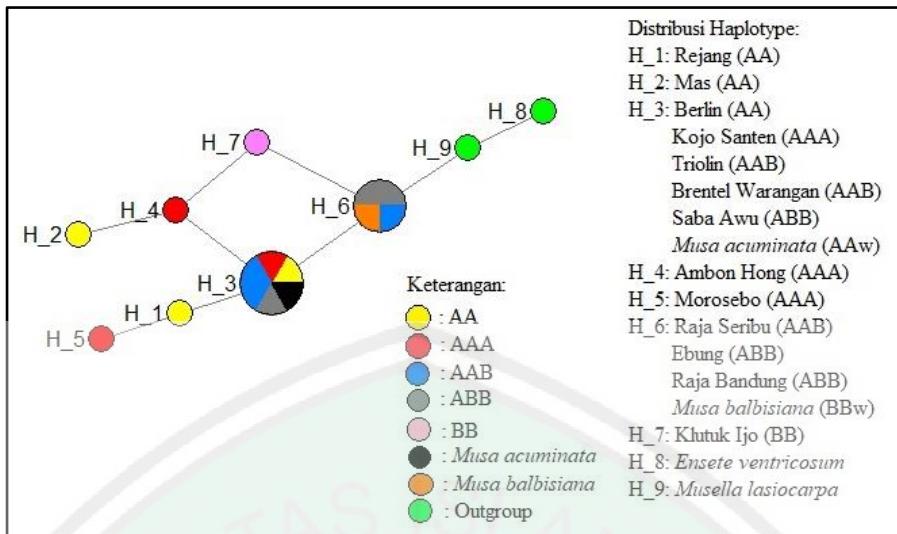
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1. Pisang_Rejang_AA													
2. Pisang_Mas_AA	0.005												
3. Pisang_Berlin_AA	0.007	0.009											
4. Pisang_Kojo_Santen_AAA	0.002	0.004	0.005										
5. Pisang_Ambon_Hong_AAA	0.004	0.002	0.007	0.002									
6. Pisang_Morosebo_AAA	0.002	0.007	0.009	0.004	0.005								
7. Pisang_Raja_Seribu_AAB	0.005	0.007	0.009	0.004	0.005	0.007							
8. Pisang_Triolin_AAB	0.005	0.007	0.009	0.004	0.005	0.007	0.000						
9. Pisang_Brentel_Warangan_AAB	0.002	0.004	0.005	0.000	0.002	0.004	0.004	0.004					
10. Pisang_Saba_Awu_ABB	0.002	0.004	0.005	0.000	0.002	0.004	0.004	0.004	0.000				
11. Pisang_Ebung_ABB	0.005	0.007	0.009	0.004	0.005	0.007	0.000	0.000	0.004	0.004			
12. Pisang_Raja_Bandung_ABB	0.005	0.007	0.009	0.004	0.005	0.007	0.000	0.000	0.004	0.004	0.000		
13. Pisang_Klutuk_Ijo_BB	0.007	0.005	0.011	0.005	0.004	0.009	0.002	0.002	0.005	0.005	0.002	0.002	

Tabel diatas menunjukkan jarak genetik pada 13 kultivar pisang. Jarak genetik dengan nilai terendah yakni 0.000 dimiliki oleh Pisang Brentel Warangan (AAB) dan Pisang Saba Awu (ABB) dengan pisang Kojo Santen (AAA), Pisang Raja Seribu (AAB) dengan Pisang Triolin (AAB), Pisang Raja Bandung (ABB) dan Pisang Ebung (ABB) dengan Pisang Raja Seribu (AAB) dan Pisang Triolin (AAB), Brentel Warangan (AAB) dengan Pisang Saba Awu (ABB), dan terakhir Pisang Raja Bandung (ABB) dengan Pisang Ebung (ABB). Sedangkan jarak genetik dengan nilai tertinggi yakni 0.011 dimiliki oleh Pisang Klutuk Ijo (BB) dengan

Pisang berlin (AA) (Tabel 4.6). Menurut Tallei et al. (2015), jika semakin dekat hubungan kekerabatan antara dua organisme, maka semakin sedikit nilai jarak genetiknya.

Haplotype Network yang terbentuk dimulai dengan *outgroup* (H\_8 dan H\_9) yaitu *Ensete ventricosum* dan *Musella lasiocarpa* kemudian mengalir ke jaringan haplotipe 6 (H\_6) terdiri dari 3 kultivar pisang dengan genom AAB, ABB dan BB (Gambar 4.12). Aliran haplotype tersebut kemudian mengalir ke jaringan haplotipe 3 (H\_3), dan haplotype 7 (H\_7). Haplotype 3 (H\_3) terdiri dari pisang dengan genom AA, AAA, AAB dan ABB. Terjadi diversifikasi pada haplotype 6 dan meningkat pada haplotype 3 (Gambar 4.12). Menurut De langhe et al. (2009) hampir semua pisang triploid berasal dari satu atau dua spesies *Musa acuminata* (A) dan *Musa balbisiana* (B) yang akan dikelompokan menjadi AA, AAA, AAB, dan ABB sesuai dengan partisipasi relatif dari genom masing-masing dalam genotipe.

Haplotype 3 dan 7 mengalir pada haplotype 1, 2, 4, dan 5. Haplotype 4 merupakan hasil persilangan haplotype 7 dan 3 menghasilkan genom AAA dan mengalir kembali pada haplotype 2 dengan genom AA. Sedangkan haplotype 1 dan 5 masing-masing memiliki genom AA dan AAA dimana genom AA menghasilkan genom AAA. Terjadinya pisang triploid berasal dari penyerbukan haploid dari sel betina (*female cells*) diploid. Sebagai contoh adalah genom triploid AAA yang berasal dari kombinasi sel betina (*female cells*) diploid AA dengan sel jantan (*Male cells*) haploid A, sehingga akan menghasilkan triploid AAA (*Musa acuminata* triploid) (Simmonds & Shepherd, 1955). Adanya diversifikasi ini menandakan terjadinya evolusi pada pisang. De Langhe et al. (2009) bahwa selama evolusi, kultivar pisang mungkin pertama kali ada dari seleksi klon populasi yang dibudidayakan liar dan kemudian di daerah dimana difusi tanaman terjadi (pertukaran atau melalui migrasi manusia) hibridisasi antara populasi yang dibudidayakan liar dan sebagian klon subur dari berbagai asal menyebabkan generasi diploid AA yang lebih steril, dan triploid yang lebih kuat dan hampir steril.



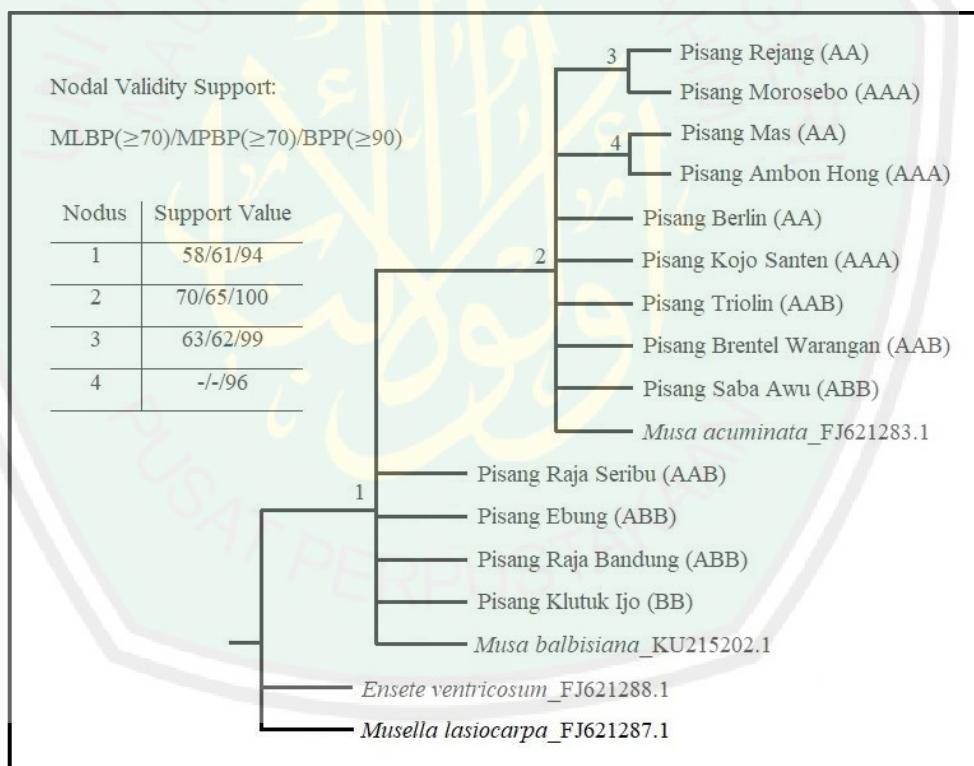
Gambar 4.12 Peta distribusi haplotype 13 kultivar pisang

### 4.3 Estimasi Waktu Divergensi 13 Kultivar Pisang

Hasil *alignment* dari 13 sekuen *Ingroup* dan 2 sekuen *Outgroup* yang memperlihatkan sekuen dengan panjang 474 bp untuk dianalisis. Analisis filogenetik menggunakan 3 macam algoritma yang berbeda, yakni *Maximum Parsimony*, *Maximum Likelihood*, dan *Bayesian Inference*. Hasil MP, ML, dan BI dapat dilihat pada sebuah pohon yang telah digabungkan pada satu pohon filogenetik (Gambar 4.13). Pada nodus atau *branch point* setiap pohon memiliki nilai *bootstrap* yang berbeda. Nilai *bootstrap* merupakan nilai yang mendukung kredibilitas topologi. Nilai tersebut pada pohon MP dianotaskan dengan MPBP, ML dianotaskan dengan MLBP, dan BI dinotasikan dengan BPP. Sebuah pohon filogenetik dapat dikatakan memiliki nodus yang valid dan kredibel apabila memiliki nilai *bootstrap*  $\geq 70$  untuk MPBP dan MLBP, sedangkan untuk BPP sebesar  $\geq 90$  (Huelsenback & Hilis, 1993).

Hasil analisis filogenetik ML, MP dan BI menunjukkan terpisahnya *ingroup* dengan *outgroup*. Anggota *ingroup* sendiri telah terpisah antara *Musa acuminata* group dengan *Musa balbisiana* group. Hal tersebut didukung dengan nilai *bootstrap* 58 untuk ML, 61 untuk MP dan 94 untuk BI. Ketiga nilai *bootstrap* ini dapat dibilang rendah untuk ML dan MP karena batas minimum adalah 70, sedangkan untuk BI adalah 90. Adapun kategori nilai *bootstrap* meliputi tinggi (>85%), moderat (70–85 %), lemah (50–69 %), atau sangat lemah (<50 %) untuk hasil

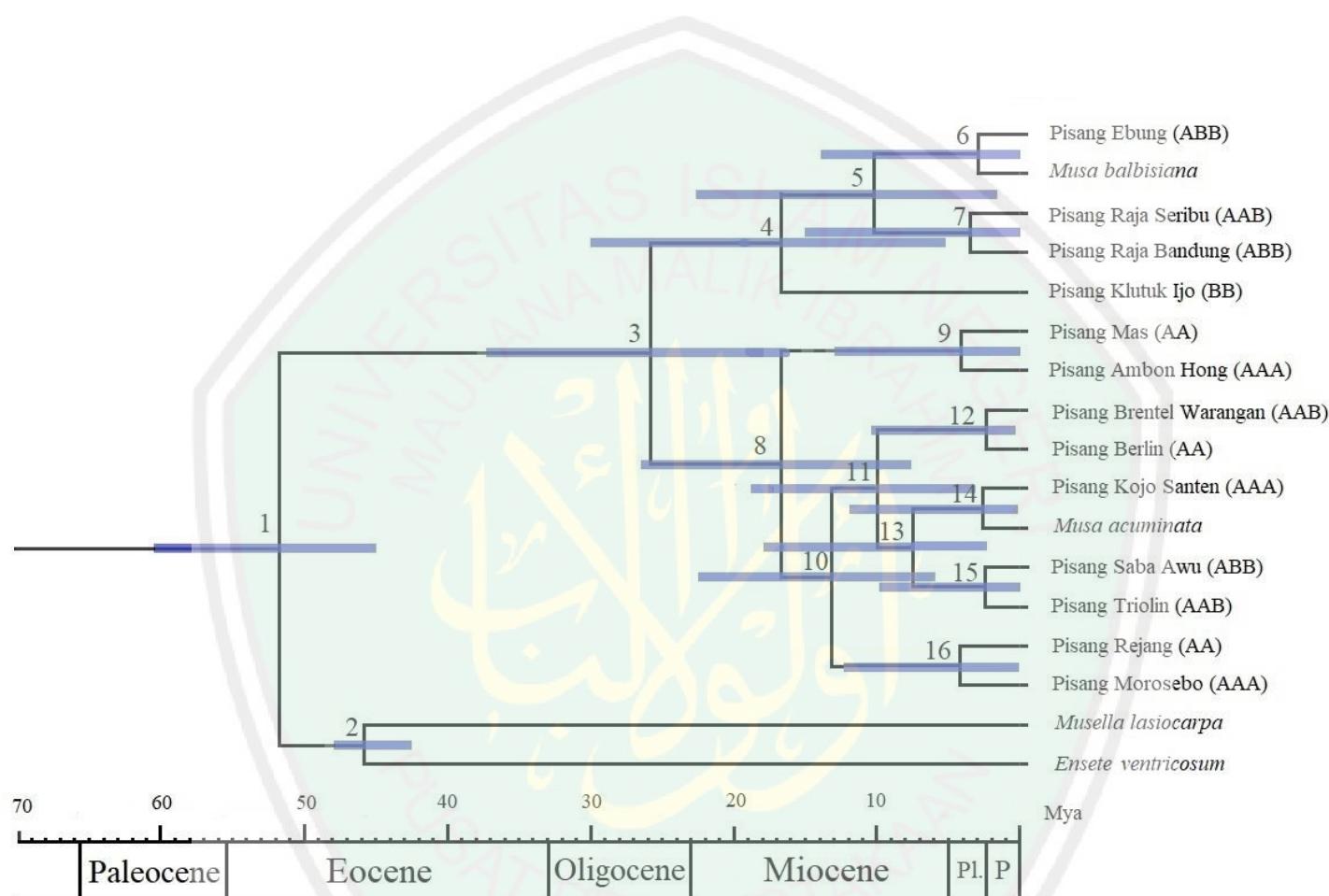
analisis ML dan MP (Lestari *et al.*, 2018). *Musa balbisiana* group membentuk pohon yang *politomy*. Pohon *politomy* adalah pohon yang tidak dapat membedakan atau memisahkan spesies satu dengan spesies yang lain. Adanya *politomy* atau ketidakmampuan dalam membedakan kelompok dikarenakan oleh kurangnya *character state* pada *alignment* yang mampu membedakan setiap taksa (Hidayat & Pancoro, 2008). Anggota *clade Musa balbisiana* terdiri dari genom ABB dan BB, tetapi terdapat juga satu genom AAB yakni Pisang Raja Seribu, dapat diketahui bahwa pisang Raja Seribu memiliki genom AAB yang seharusnya menyatu dengan anggota *clade Musa acuminata*. Pengelompokan ini dikarenakan pisang Raja Seribu (AAB) dengan *Musa balbisiana* memiliki kemiripan, hal tersebut didukung oleh hasil analisis BLAST dan analisis Variasi singletone yang telah dibahas sebelumnya.



Gambar 4.13 Pohon filogenetik analisis Maximum Parsimony, Maximum Likelihood dan Bayesian Inference dari 13 sekuen Kultivar Pisang dengan 2 sekuen Outgroup

Pada node nomor 2 terdapat nilai bootstrap dengan nilai 70/65/100 masing-masing untuk ML, MP dan BI. Nilai bootstrap pada nodus no 2 terbilang cukup tinggi dibanding no 2. Hal ini menunjukkan kreadibilitas nodus no 2 cukup tinggi. Nodus nomor 2 memecahkan group *Musa acuminata* menjadi beberapa nodus lagi. Nodus no 3 dapat menunjukkan bahwa pisang Rejang (AA) berkerabat dekat dengan pisang Morosebo (AAA). Nodus ini memiliki nilai bootstrap 63/62/99, meskipun nilai bootstrap ML dan MP tidak memenuhi nilai minimum tetapi nilai BI cukup tinggi yakni 99. Meskipun ML dan MP memiliki booststrap yang rendah tetapi masih dapat mengelompokkan kedua pisang ini sehingga pohon bersifat dikotom atau bercabang dua dimana sifat pohon yang seperti ini dapat dikatakan pohon yang bagus. Nodus no 4 menunjukkan bahwa pisang Mas (AA) dengan pisang Ambon Hong (AAA) memiliki kekerabatan yang dekat dengan nilai bootstrap BI 96. Tetapi sayangnya ML dan MP tidak dapat mengelompokkan kedua pisang ini berkerabat dekat. Pisang lainnya dalam *Musa acuminata group* bersifat politomy, sama halnya dengan *Musa balbisiana group*. Pada *Musa acuminata group* seharusnya berisikan pisang dengan genom AA, AAA dan AAB, tetapi terdapat pisang Saba Awu bergenom ABB yang mengelompok dengan pisang *Musa acuminata group* lainnya. Pengelompokan ini dikarenakan pisang Saba Awu (ABB) dengan *Musa acuminata* memiliki kemiripan, hal tersebut didukung oleh hasil analisis BLAST dan analisis variasi singletone yang telah dibahas sebelumnya.

Secara keseluruhan, sekuen trnL 13 sampel kultivar pisang menunjukkan hasil pohon ML, MP dan BI yang dapat dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok pertama yakni kelompok *outgroup* yang terdiri dari *Musella lasiocarpa* dan *Ensete ventricosum*. Kelompok genom AA yang terdiri dari genom AA, AAA dan AAB. kelompok kedua yakni kelompok BB yang terdiri dari pisang dengan genom ABB dan BB.



Gambar 4.14 Pohon Filogenetik Estimasi Waktu Divergensi dari 13 sekuen Kultivar Pisang dengan 2 sekuen Outgroup

Hasil rekonstruksi pohon filogeni menunjukkan pemisahan antara Musa dengan *outgroup* (Ensete dan Musella) sekitar 51,9 Mya, sedangkan pemisahan antara Ensete dengan Musella berkisar 46 Mya. Hasil estimasi ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa waktu divergensi untuk Musaceae diperkirakan 51,9 Mya (61,2-45,6 Mya). Demikian juga pemisahan antara genus Ensete dan Musella juga terletak di Eosen pada 44,7 Mya (48,2-43,1 Mya) (Janssens *et al.*, 2016). Pecahnya genus Musa dengan genus Ensete dan Musella berada pada *Eocene epoch*. Keadaan bumi pada zaman eosen awal adalah periode hangat, hal ini dibuktikan dengan adanya penyebaran flora boreotropis yang menyebar ke sekeliling belahan utara bumi. Keadaan hangat ini berlangsung tidak lama, pendinginan berlangsung selama pertengahan hingga akhir Eosen. Bukti paleobotani menunjukkan bahwa pada pertengahan Eosen (50 - 48 mya) terjadi pendinginan yang signifikan, berlangsung hingga akhir eosen (37 - 34 mya) (Lang *et al.* 2011). Tidak hanya penurunan suhu saja yang terjadi pada masa ini, tetapi juga penurunan kadar karbon dioksida (CO<sub>2</sub>). penurunan kadar karbon dioksida di atmosfer yang memuncak dalam pembentukan kembali es di kedua kutub utara dan selatan (Pagani, 2005).

Estimasi waktu pemisahan *Musa acuminata* dengan *Musa balbisiana* sekitar 26 Mya pada zaman awal *Oligocene*. Hasil estimasi tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa waktu pemisahan *Musa acuminata* dengan *Musa balbisiana* yang terdiversifikasi di masa Oligosen 26,3 Mya (38,9-16,0 Mya) (Janssens *et al.*, 2016). Sedangkan proses diversifikasi *Musa acuminata* dan *Musa balbisiana* secara keseluruhan terjadi pada zaman Miocene dan Pliocene. Pada zaman Miocene awal tidak begitu banyak terjadi diversifikasi pada pisang tetapi seiring waktu, diversifikasi pisang semakin banyak terjadi. Pertengahan Miocene merupakan awal dari banyaknya diversifikasi pisang, dan hal tersebut terus berjalan hingga zaman Pliocene. Seperti penelitian sebelumnya yang mengungkapkan bahwa diversifikasi awal Musa terjadi di IndoBurma utara selama Miocene. Data saat ini sesuai dengan hasil de Bruyn *et al.* (2014), di mana IndoBurma dan Kalimantan dianggap sebagai titik panas utama evolusi untuk keanekaragaman hayati Asia Tenggara. Pada Miosen terbentuk keanekaragaman hayati pada wilayah tersebut. Iklim di daerah Indo-Burma relatif hangat dan lembab

pada zaman Oligosen akhir hal ini mendukung vegetasi berdaun lebar (Deng *et al.*, 2014).

Tabel 4.7 Estimasi waktu divergensi genetik 13 Sampel Pisang Klutivar

Nodus	Waktu divergensi	Keterangan
1	<b>51.9</b> (CI 44.8 – 60.5) Mya	Genus Musa / Genus Ensete dan Musella
2	<b>46</b> (CI 42.5 - 48) Mya	<i>Ensete ventricosum</i> / <i>Musella lasiocarpa</i>
3	<b>26</b> (CI 16 - 37) Mya	<i>Musa balbisiana</i> Group / <i>Musa acuminata</i> Group
4	<b>16.5</b> (CI 5 – 29.8) Mya	Genome ABB group / Genome BB
5	<b>10</b> (CI 1.5 – 22.3) Mya	<i>Pisang Ebung</i> + <i>Musa balbisiana</i> / <i>Pisang Raja Seribu</i> + <i>Pisang Raja Bandung</i>
6	<b>2.7</b> (CI 0 – 13.5) Mya	<i>Pisang Ebung</i> / <i>Musa balbisiana</i>
7	<b>3.3</b> (CI 0 – 13.9) Mya	<i>Pisang Raja Seribu</i> / <i>Pisang Raja Bandung</i>
8	<b>16.6</b> (CI 7.5 – 26.2) Mya	Genome AA + AAA + AAB, dan lainnya
9	<b>4</b> (CI 0 – 12.8) Mya	<i>Pisang Mas</i> / <i>Pisang Ambon Hong</i>
10	<b>13</b> (CI 5.9 – 22.2) Mya	<i>Pisang Brentel Warangan</i> + <i>Pisang Berlin</i> / <i>Pisang Rejang</i> + <i>Pisang Morosebo</i> , dan lainnya
11	<b>10</b> (CI 3 - 18.5) Mya	<i>Pisang Brentel Warangan</i> + <i>Pisang Berlin</i> / <i>Pisang Kojo Santen</i> + <i>Musa acuminata</i> , dan lainnya
12	<b>2.4</b> (CI 0 – 10.3) Mya	<i>Pisang Brentel Warangan</i> / <i>Pisang Berlin</i>
13	<b>7.5</b> (CI 2.2 - 18) Mya	<i>Pisang Kojo Santen</i> + <i>Musa acuminata</i> / <i>Pisang saba Awu</i> + <i>Pisang Triolin</i>
14	<b>2.5</b> (CI 0 – 12) Mya	<i>Pisang Kojo Santen</i> / <i>Musa acuminata</i>
15	<b>2.5</b> (CI 0 – 9.8) Mya	<i>Pisang saba Awu</i> / <i>Pisang Triolin</i>
16	<b>4.1</b> (CI 0 – 12.5) Mya	<i>Pisang Rejang</i> / <i>Pisang Morosebo</i>

## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian kali ini yaitu:

1. Karakterisasi genom pada 14 kultivar pisang berdasarkan marka morfologi terbagi dalam 5 kelompok. Pengelompokan tersebut menyerupai dengan pengelompokan molekuler, tetapi ada beberapa kultivar yang memerlukan klarifikasi genom kembali. Pisang Berlin memerlukan klarifikasi kembali dikarenakan saat ini pisang Berlin memiliki genom AA, tetapi pada hasil analisis morfologi dan molekuler pisang ini berkerabat dekat dengan Pisang bergenom AAA.
2. Sekuen intron trnL mampu menulusuri karakter genom yang diturunkan melalui analisis hasil sekruensing dengan data hasil sekruensing berupa macam-macam substitusi dan hasil BLAST dari 13 sekuen kultivar pisang tersebut.
3. Evolusi kultivar pisang dimulai pada 51.9 Mya berkisar antara 44.8 Mya hingga 60.5 Mya yang terjadi pada zaman Eocene awal. Puncak diversifikasi kultivar pisang terjadi pada tahun 16 Mya berkisar antara 29.8 Mya hingga 5 Mya terjadi pada zaman Miocene.

#### 5.2 Saran

Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan dengan data set yang lebih lengkap, serta mencakup keseluruhan taksa yang termasuk dalam kultivar pisang. Penggunaan sekuen trnL mampu memanalisa lebih jauh tentang informasi hubungan kekerabatan, evolusi, dan biogeografi dari kultivar pisang.

## DAFTAR PUSTAKA

- Argent, G.C.G. 1976. The wild bananas of Papua New-Guinea. *Notes from the Royal Botanic Garden, Edinburgh*. 35: 77–114.
- Armini, A.N. M., Wattimena dan L.W. Gunawan, 1992. **Perbanyakan Tanaman Bioteknologi Tanaman Laboratorium Kultur Jaringan**. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor.
- Berhanu, Hanna, Zebene Kiflie1, Isabel Miranda, Ana Lourenc<sup>o</sup>, Joana Ferreira, Sisay Feleke, Abubeker Yimam, Helena Pereira. 2018. Characterization of crop residues from false banana *Ensete ventricosum* in Ethiopia in view of a full-resource valorization. *Journal Pone*.
- Borsch T, Hilu KW, Quandt D, Wilde V, Neinhuis C, Barthlott W. 2003. Noncoding plastid *trnT-trnF* sequences reveal a well resolved phylogeny of basal angiosperms. *J Evol Biol*. 16: 558-576.
- Brown, T. A. Soemiat A. M., dan Praseno. 1991. **Pengantar cloning gen**. Yogyakarta. Yayasan Essestia Medica.
- Cabrera LI, Salazar GA, Chase MW, Mayo SJ, Bogner J & Dávila P. 2008. Phylogenetic relationships of aroids and duckweeds (*Araceae*) inferred from coding and noncoding plastid DNA. *Amer. J. Bot.* 95(9): 1153–1163
- Cahyono, B. 1996. **Banana, Cultivation and farming business**. Yogjakarta: Kanisius Publisher
- Cahyono. 2002. **Pisang Budidaya dan Analisis usaha Tani**. Kanisisus: Yogyakarta
- Campbell, N.A., Jane B.R., Lawrence G.M. 2003. **Biologi**. Edisi Kelima. Jakarta: Erlangga
- Carlin JL. 2011. Mutations are the raw materials of evolution. *Nature Education Knowledge*. 3(10): 10.
- Champion J. 1967. **Les bananiers et leur culture: botanique et genetique**. Paris, France: IFAC
- Cheesman, J. 1948. Classification of the bananas. III. Critical Notes on Species. (c) *Musa paradisiaca* Linn. and *Musa sapientum* Linn. *Kew Bull.* 2 145-154.
- Chen JH, Huang CL, Lai YL, Chang CT, Liao PC, Hwang SY, Sun CW. 2017. Postglacial range expansion and the role of ecological factors in driving adaptive evolution of *Musa basjoo* var. *formosana*. *Sci Rep.* 7: 5341

- Chen, Wennia et al. 2014. *Musa ruiliensis* (Musaceae, Section *Musa*), a new species from Yunnan, China. *Phytotaxa*. Vol 172. No 2.
- Claverie JM. Notredame C. 2003. **Bioinformatics for Dummies**. Indianapolis: Wiley Publishing.
- CleggMT, Learn GH, Golenberg EM. 1991. Molecular evolution of chloroplast DNA. In: Selander RK, Clark AG, Whittam TS (eds) Evolution at the Molecular Level, pp. 135-149. Sinauer Associates, Sunderland. *Mol Biol Evol*. 4:291-301.
- Costa JL. 2004. **The tRNA Leu (UAA) Intron of Cyanobacteria. Towards understanding a genetic marker**. Faculty of Science and Technology. Uppsala University. Swedia. Dissertation.
- Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*. 9(8): 772.
- Dasuki, U. A. 1991. **Sistematik Tumbuhan Tinggi**. Bandung: Pusat Antar Universitas Bidang Ilmu Hayati ITB.
- Davey, M.W., Gudimella R., Hari Krishnanto J. A., Norzulani K., dan Johan K. 2013. A Draft *Musa balbisiana* Genom Sequence for Molecular Genetics in Polyploid, Inter-and intra-specific *Musa* Hybrid. *BioMed Central*. 14.
- De Jesus, O.N., S. de Oliveira e Silva., E. P. Amorim, C. F. Ferreira, J. M. S. de Campos, G. de Gapsari Silva, dan A. Figureira. 2013. Genetic Diversity and Population Structure of Musa Accesions in ex-situ Conservation. *BMC Plant. Biol.* 13: 41.
- De Langhe, E.A. 2000. Diversity in the genus *Musa*: its significance and its potential. *Acta Horticulturae* 540: 81–88.
- De Langhe, Edmond, Luc Vrydaghs, Pierre de Maret, Xavier Perrier and Tim Denham. 2009. Why Bananas Matter: An introduction to the history of banana domestication. *Ethnobotany Research and Applications*. 2: 165-177.
- Deng X-D, Li J-W, Vasconcelos PM, Cohen BE, Kusky TM. 2014. Geochronology of the Baye Mn oxide deposit, southern Yunnan Plateau: implications for the late Miocene to Pleistocene paleoclimatic conditions and topographic evolution. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 139: 227–247.
- Djuita, Nina Ratna. 2012. Evolusi, Spesiasi, Dan Hibridisasi Pada Beberapa Anggota Sapindaceae. *Bioedukasi*. Vol 5. No 2.

- Drummond, A.J. dan A. Rambaut 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*. 7:214.
- 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.
- Espino, R.R.C., S.H. Jamaludin, B. Silayoi dan R.E. Nasution. 1992. *Musa L.* (edible cultivars) dalam Verheij, E.W.M. dan R.E. Coronel (Eds.). *Plant Resources of South-East Asia No.2: Edible fruits and nuts*. Bogor: Prosea Foundation
- Figueroa A, Mckelvy AD, Grismer LL, Bell CD, Lailvaux SP. 2016. A species level phylogeny of extant snakes with description of a new colubrid subfamily and genus. *PLoS ONE*. 11: 9.
- Fitmawati, Nery Sofiyanti, Roslina Fauziah, Deden Derajat Matra, Eichi Enue. 2016. **Analisis filogenetik mangga (*Mangifera*) dari Riau berdasarkan sekuens gen cpDNA trnL-F intergenic spacer**. Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia (MBI).
- Gunawan, L, W. 1987. **Teknik Kultur Jaringan**. Pusat Antar Universitas IPB: Bogor.
- Gusfield, D. 2001. **Haplotype Inference**. LLC. California: CRC Pres.
- Gusmiati LH, Hapsari L, Wahyudi D. 2018. Morphological diversity and clustering of 10 cooking bananas (*Musa* cv. Group ABB) collection of Purwodadi Botanic Garden – LIPI. *Floribunda*. 5: 299–314.
- Guzow-Krzeminska, B., Gorniak M, dan Wegrzyn G. 2001. Molecular Determination keys: Construction of Keys for Species Identification based on restriction fragment length polymorphism. *Int. Arch. Biosci.* 1057–1067.
- Hakkinen, Markku. 2004. *Musa voonii*, a New *Musa* from Northern Borneo and Discussion of the Section *Callimusa* in Borneo. *Acta Phytotax*. Vol 55. No 2.
- Hamilton MB, Braverman JM, Soria-Hernanz DF. 2003. Patterns and relative rates of nucleotide and insertion/ deletion evolution at six chloroplast intergenic regions in new world species of the lecythidaceae. *Mol Biol Evol*. 20:1710–1721.
- Hapsari, L. Didik W., Rodiati A. 2015. Genome Identification of Bananas (*Musa* L.) from East Java Indonesia Assessed with PCR-RFLP of The Internal

- Transcribed Spacers Nuclear Ribosomal DNA. *International Journal of Biosciences.* 7: 3.
- Hapsari, Lestari 2016. Fruit Characteristic and Nutrient Values of Four Indonesian Banana Cultivars (*Musa* spp.) At Different Genomic Groups. *AGRIVITA Journal of Agricultural Science.* 38: 3.
- Harsono, Tri, Nursahara Pasaribu, Sobir, Fitmawati, Eko Prasetya. 2015. **Variasi Intraspesifik Berdasarkan DNA Kloroplas (CpDNA) Pada *Bouea macrophylla* Griffit.** Prosiding Seminar Nasional Biodiversitas dan Ekologi Tropika Indonesia.
- Harsono, Tri, Nursahara Pasaribu, Sobir, Fitmawati, Eko Prasetya. 2016. **Analisis filogenetik gandaria (Bouea) Indonesia menggunakan penanda molekuler cpDNA trnL-F Intergenik Spacer.** Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia, Bogor.
- Hidayat, T, Pancoro A. 2008. Kajian Filogenetika Molekuler dan Peranannya dalam menyediakan Informasi Dasar untuk Meningkatkan Kualitas Sumber Genetik Anggrek. *Jurnal AgroBiogen.* 4.
- Hidayat, T., Yukawa T., Ito M. 2005. Molecular phylogenetics of subtribe Aeridinae (Orchidaceae): Insights from plastid matK and nuclear ribosomal ITS sequences. *J Plant.* 18.
- Hidayati, Eniza Saleh, Dan Tahir Aulawi. 2016. Identifikasi Keragaman Gen Bmpr-1b (Bone Morphogenetic Protein Receptor Ib) Pada Ayam Arab, Ayam Kampung Dan Ayam Ras Petelur Menggunakan Pcr-Rflp. *Jurnal Peternakan.* 13: 1-12.
- Horiike, Tokumasa. 2016. An Introduction to Molecular Phylogenetic Analysis. *Reviews in Agricultural Science.* 4: 36- 45.
- Hribova E, Cizkova J, Christelova P, Taudien S, De Langhe E, Dolezel J. 2011. The ITS1-5.8S ITS2 sequence region in the Musaceae: structure, diversity and use in molecular phylogeny. *PLoS ONE.*
- Indrioko S. 2005. **Chloroplast DNA variation in Indonesia Dipterocarpaceae phylogenetic, taxonomic and population genetic aspect.** Dissertation PhD. Cuvillier Verlag. Germany.
- IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute). 1996. Descriptors for banana (*Musa* spp). Perancis: International Plant Genetic, Resources Institute Rome Monllier.
- Janssens, Steven B., Filip Vandelooy, Edmond De Langhe, Brecht Verstraete, Erik Smets, Ines Vandenhouwe and Rony Swennen. 2016. Evolutionary

- dynamics and biogeography of Musaceae reveal a correlation between the diversification of the banana family and the geological and climatic history of Southeast Asia. *New Phytologist*. 210: 1453–1465
- Janusch, J.B. (1973). **Physical Anthropology, A Perspective**. New York: John Wiley & Sons. Inc.
- Jumari dan A. Pudjoarianto. 2000. Kekerabatan Fenetik Kultivar Pisang Di Jawa. *Biologi*. 2:9.
- Kaemmer D, Fischer D, Jarret RL, Baurens FC, Grapin A, Dambier D, Noyer JL, Lanaud C, Kahl G, & Lagoda PJL. 1997. Molecular breeding in the genus *Musa*: a strong case for STMS marker technology. *Euphytica*. 96: 49-63.
- Katsir, Ibnu. 2004. **Tafsir Ibnu Katsir Jilid 4 Penj. Abdul Ghofur E.M.** Jakarta: Pustaka Imam Assyafi'i.
- Khasanah, A. dan Marsusi. 2014. Karakterisasi 20 Kultivar Pisang Buah Domestik (*Musa paradisiaca*) dari Banyuwangi Jawa Timur. *J. El-Vivo*. 1: 20-27.
- Kumar, S. Stecher, G. Tamura, K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>. Diakses 22 Maret 2016.
- Kundu, Prasenjit, Fatik Kumar Bauri and Sutanu Maji. 2018. Genetic diversity study of some banana genotypes collected from various parts of India through RAPD analysis. *African Journal of Agricultural Research*. 13: 248-257.
- Lamare A, Rao SR. 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*. Vol 21. No 3.
- Lang Li, Jie Li, Jens G. Rohwer, Henk van der Werff, Zhi-Hua Wang. 2011. Molecular Phylogenetic Analysis of the Persea Group (Lauraceae) and UTS Biogeographic Implivation on The Evolution of Tropical and Subtropical Amphi-Pacific Disjunction. *American Journal of Botany*. 98: 1–17.
- Lasker, G. W. 1976. **Physical Anthropology**. 2nd Edit. New York: Holt, Rinehart Winston, Inc.
- Lee, Pei Yun, John Costumbrado, Chih-Yuan Hsu, Yong Hoon Kim. 2012. Agarose Gel Electrophoresis for the Separation of DNA Fragments. *Journal of Visualized Experiments*. 62: 1-5.

- Lestari, Dewi Ayu, Rodiyati Azrianingsih, Hendrian. 2018. Filogenetik Jenis-jenis Annonaceae dari Jawa Timur Koleksi Kebun Raya Purwodadi Berdasarkan Coding dan Non-coding sekuen DNA. *J. Trop Biodiv Biotech.* 3: 1-7.
- Liu, A.Z., W.J. Kress dan D.Z. Li. 2010. Phylogenetic analyses of the banana family (Musaceae) based on nuclear ribosomal (ITS) and chloroplast (*trnLF*) evidence. *Taxon.* 59:1.
- Ma H, Pan QJ, Wang L, Li ZH, Wan YM, Liu. 2011. *Musella lasiocarpa var. rubribracteata* (Musaceae), a new variety from Sichuan, China. *Novon.* 21: 349-353.
- Mahalli Al, Imam Jalaluddin dan As-Suyuti. 2007. **Tafsir Jalalain.** Sinar Baru Algensindo
- Mandzur, Asy-Syekh Abil Fadl Jamaluddin Muhammad bin Mukrom. 1993. **Lisanul ‘Arob.** Bereut Lebanon: Darul Khutub
- Manurung, Johannes, et al. 2018. Hubungan Kekerabatan Spesies dalam Genus *Zanthoxylum* menggunakan Sekuen Gen Matutase K (*matK*) DNA Kloroplas. *Jurnal Biosains.* 4; 69-77.
- Martin, Guillaume, Franc-Christophe Baurens, Céline Cardi, Jean-Marc Aury, Angelique D'Hont. 2013. The Complete Chloroplast Genome of Banana (*Musa acuminata*, Zingiberales): Insight into Plastid Monocotyledon Evolution. *PLOS ONE.* 8: 1-10.
- Miller G, Beckwith R, Fellbaum C, Gross D, Miller K. 1990. WordNet: An on-line lexical database. *International journal of lexicography.*
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, da Fonseca GAB, Kent J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature.* 403: 853-858.
- Nasution, R.E., dan I. Yamada. 2001. **Pisang-pisang Liar di Indonesia.** Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi-LIPI. Bogor: Balai Penelitian Botani, Herbarium Bogoriense.
- Nayar, Nm. 2010. The Bananas: Botany, Origin, Dispersal. *Horticultural Reviews.* 36: 118-164.
- Nikmah IA, Azrianingsih R, Wahyudi D. 2016. Genetic diversity of porang populations (*Amorphophallus muelleri* Blume) in Central Java and West Java based on LEAFY second intron marker. *The Journal of Tropical Life Science* 6: 23-27.

- Pachuau, L., Annupama D.A., Robert T. 2014. Genome Classification of Musa Cultivar from Northeast India as Revealed by ITS and IRAP Markers. *Appl Biochem Biotechnol.* 172:3939–3948.
- Pagani, M et al. 2005. Marked Decline in Atmospheric Carbon Dioxide Concentrations During the Paleogene. *Science.* 309: 600-603.
- Pandey, Aseesh, and Sushma Tamta. 2015. High-molecular-weight dna extraction from six quercus species of kumaun Himalaya, India. *International Journal of Advanced Research.* 3: 30-34.
- Pellez et al. 2014. Validation of a Quick PCR Method suitable for Direct Sequencing. *Biotechnol.* 52: 351-358.
- Pereira, Jorge C., Raquel Chaves, Estela Bastos, Alexandra Leitão, and Henrique Guedes-Pinto. 2011. Technical note an efficient method for genomic dna extraction from different molluscs species. *International Journal of Molecular Sciences.* 12: 8086-8095.
- Pillay M, Ogundiwin E, Tenkuano A, & Dolezel J. 2006. Ploidy and genome composition of musa germplasm at The International Institute of Tropical Agriculture (IITA). *African Journal of Biotechnology.* 13: 1224-1232.
- Pirie MD, Vargas MPB, Botermans M, Bakker FT, Chatrou LW. 2007. Ancient paralogy in the cpDNA *trnL-F* region in Annonaceae: Implications for plant molecular systematics. *Am J Bot.* 94:1003-1016.
- Poerba, Yuyu Suryasari, Fajarudin Ahmad. 2010. Genetic variability among 18 cultivars of cooking bananas and plantains by RAPD and ISSR markers. *Biodiversitas.* 11: 118-123.
- Probojati, RT, Wahyudi D, Hapsari L. 2019. Clustering analysis and genome inference of Pisang Raja local cultivars (Musa spp.) from Java Island by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Marker. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology.* 4: 42 - 53.
- Retnoningsih, Amin. 2011. Hubungan kekerabatan filogenetika kultivar pisang di indonesia berdasarkan karakter morfologi. *Floribunda.* 4: 48-53.
- Retnoningsih, A., Rita Megia dan Alex Hartana. 2014. Phylogenetic Relationship of Indonesian Banana Cultivars Inferred from *trnL-F* intergenic Spacer of Chloroplast DNA. *Floribunda.* 4: 202-211.
- Rinaldi, Riki Mansyurdin, Catur Hermanto. 2014. Pendugaan ploidi dan kekerabatan beberapa aksesi pisang hasil koleksi Balitbu Tropika Solok. *Jurnal Sainstek.* 6: 17-23.
- Rochana T. 2012. Madurese people: A review anthropology. *Humanus.* 9:46-5

- Rosidiani, Erta Puri, Estri Laras Arumingtyas, Rodliyati Azrianingsih. 2013. Analisis Variasi Genetik *Amorphophallus muelleri* Blume Dari Berbagai Populasi Di Jawa Timur Berdasarkan Sekuen Intron TrnL. *Floribunda*. 4: 129.
- Rukmana, R. 1999. **Usaha Tani Pisang**. Jakarta: Kanisus
- Satuhu, S., dan A. Supriyadi. 1999. **Budidaya Pisang, Pengolahan da Prospek Pasar**. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Sedayu A, Eurlings MCM, Gravendeel B & Wilbert LA. 2010. Morphological character evolution of *Amorphophallus* (Araceae) based on a combined phylogenetic analysis of trnL, rbcL and LEAFY second intron sequences. *Botanical Studies*. 51: 473–490.
- Selvaraj D, Sarmadan RK & Sathiskumar R. 2008. Phylogenetic analysis of chloroplast *matK* gene from *Zingiberaceae* for plant DNA barcoding. *Bioinformation*. 3: 24–27.
- Semiarti, Endang, Aziz Purwantoro, Rindang Dwiyani, Esti Sri Lestari, Tantri Swandari. 2009. **Perbandingan Karakter Morfologi Dan Molekuler Vanda tricolor Lindl. var suavis forma Merapi DAN Vanda tricolor Lindl. var suavis forma Bali**. Seminar Nasional Biologi XX dan Kongres PBI XIV UIN Maliki Malang
- Shaw, J., E.B. Lickey, E.E. Schilling, and R.L. Small. 2007. Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions form phylogenetic studies in angiosperms: The tortoise and the hare III. *Am. J. Bot.* 94:275–288.
- Shiddiqah, M. 2002. **Biodiversitas dan Hubungan Kekerabatan Berdasarkan Karakter Morfologi berbagai Plasma Nutfah Pisang**. Bogor: IPB
- Shihab, M. Quraish. 2002. **Tafsir al-mishbah (pesan, kesan, dan keserasian al-Quran)**. Jakarta. Lentera Hati.
- Silvia. 2017. Diversity and genetic stability in banana genotypes in a breeding program using inter simple sequence repeats (ISSR) markers. *Genetics and Molecular Research*. 16.
- Simmonds, N. W. 1959. *Bananas* London: Longmans Hijau and Co. Ltd.
- Simmonds, N.W. dan K. Shepherd. 1955. The taxonomy and origins of the cultivated banana. *Journal of Linnean Society (Botany)*. 55:302-31.
- Simmonds, N. W. 1959. **Bananas**. London: Longmans Hijau and Co. Ltd.
- Simmonds, N. W. dan K. Shepherd. 1955. The taxonomand Origins of the Cultivated Bananas. *Journal of the Linnaean Society (Botany)*. 55

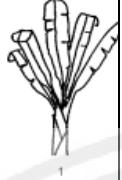
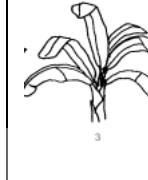
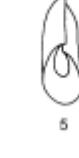
- Simmonds, N.W. 1962. **The Evolution of the Bananas**. Tropical Science Series. London: Longmans.
- Simpson, M.G. 2006. **Plant Systematics**. USA: Elsevier Academic Press
- Simpson, Michael G. 1953. **Plant Systhematic**. Elsevier. Elsevier Academic Express
- Singh, Wahengbam R., Sorokhaibam S. Singh dan Karuna Shrivastava 2014. Analysis of banana genome groups of wild and cultivated cultivars of Manipur, India using Score card method. *Pelagia Research Library Advances in Applied Science Research*. 5:35-38.
- Stover, R.H. and Simmonds, N.W. 1987. **Classification of banana cultivars**. In: **Stover RH and Simmonds NW (ed.) Bananas, 3<sup>rd</sup> edn.** New York: Wiley.
- Sudjadi, Bagod. 2006. **Biologi**. Yogyakarta: Yudhistira
- Suhardiman, P. 1997. **Cultivation of cavendish banana**. Yogjakarta: Kanisius.
- Sukhorukov AP, Nilova MV, Krinitina AA, Maxim A Zaika, Erst AS, Shepherd KA. 2018. Molecular phylogenetic data and seed coat anatomy resolve the generic position of some critical Chenopodoioideae (Chenopodiaceae - Amaranthaceae) with reduced perianth segments. *PhytoKeys*. 24:103-128.
- Sunarjono, H. 2000. **Budidaya Pisang Dengan Bibit Kultur Jaringan**. Bogor. Penebar Swadaya.
- Surahman, M, Desta W., Sobir. 2005. Analisis Kemiripan Kultivar Pisang Indonesia Berdasarkan Pada Penanda Fenotipik. *Stigma*. 8 (1)
- Swain S, S. Das, P.S. Munsi, P.C. Lenka, G.R. Rout and D. Swain. 2016. Molecular diversity study on dessert banana genotypes (*Musa spp.*) from Odisha using ISSR markers. *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology*. 9: 513-523.
- Swofford, D.L. 2002. PAUP\*. phylogenetic analysis using parsimony (\*and other methods). Version 4. Sinauer Associates. Sunderland, Massachusetts
- Taberlet P, Eric C, Fran CP, Ludovic G, Christian M, Alice V, Thierry V, Gerard C, Christian B, dan Eske W. 2007. Power and limitations of the chloroplast trnL (UAA) intron for plant DNA barcoding. *Nucleic Acids Research*. 35: 1-8.
- Taberlet P, Gielly, L, Pautou, G. and Bouvet, J. 1991 Universal primers for amplification of three noncoding regions of chloroplast DNA. *Plant Mol. Biol.* 17: 1105–1109.

- Tallei, T.E., Kolondam, B.J. 2015. DNA Barcoding of Sangihe Nutmeg (*Myristica fragrans*) using matK Gene. *HAYATI Journal of Biosciences* 22(1): 41-47.
- Tanabe, A.S. 2007. Kakusan: A computer program to automate the selection of a nucleotide substitution model and the configuration of a mixed model on multilocus data. *Mole. Ecol. Notes.* 7: 962-964.
- Trimanto. 2012. Karakterisasi Dan Jarak Kemiripan Uwi (*Dioscorea Alata* L.) Berdasarkan Penanda Morfologi Umbi. *Buletin Kebun Raya.* 15: 47-59.
- Tsai L, Yung-Chien Y, Hsing-M, Jenn-Che W, Adrian L, James CL. 2006. Species identification using sequences of the trnL intron and the trnL-trnF IGS of chloroplast genome among popular plants in Taiwan. *Forensic Science International.* 164: 193–200.
- Valmayor et al., RV., Jamaluddin SH, Silayoni B, Kusumo S, Danh LD, Pascua OC dan Espino RRC. 2000. **Banana Cultivar names and synonyms in south asia.** Los Banos: INIBAP.
- Virgilio M, Jordaeens K, Breman F, et al. 2012. *Turning DNA barcodes into an alternative tool for identification: African fruit flies as a model (Poster).* Consortium for the Barcode of Life (CBOL).
- Wahyudi, Didik, Rodiyati Azrianingsih, Retno Mastuti. 2013. Genetic variability of porang populations (*Amorphophallus muelleri*) in West Java and Central Java based on trnL intron sequences. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES).* 3: 31-41.
- Wang JF, Gong X, Chiang YC, Kuroda C. 2013. Phylogenetic patterns and disjunct distribution in *Ligularia hodgsonii* Hook. (Asteraceae). *J Biogeogr.* 40:1741–1754
- Wijayanto, Teguh, Dirvamena Boer, dan La Ente. 2013. Hubungan kekerabatan aksesi pisang kepok (*Musa paradisiaca formatypica*) di kabupaten Muna berdasarkan karakter morfologi dan marka molekuler RAPD. *Jurnal Agroteknos.* 3: 163-170.
- Woodruff DS. 2010. Biogeography and conservation in Southeast Asia: how 2.7 million years of repeated environmental fluctuations affect today's patterns and the future of the remaining refugial-phase biodiversity. *Biodiversity and Conservation.* 919–941.
- Youssef, M. and R. M. Escobedo-GraciaMedrano. 2016. Genetic Relationship Among *Musa balbisiana* Accessions and Identification of Srap Markers Linked to *Musa* B Genome. *J.Agric.Chem.and Biotechn.* 7: 39-47.

Yulita, Kusumadewi Sri. 2013. Secondary Structures of Chloroplast *trnL* Intron in Dipterocarpaceae and its Implication for the Phylogenetic Reconstruction. *Hayati Journal of Biosciences*. 20: 31-39.



## Lampiran 1

NO	Descriptor	Poin				
		1	2	3	4	5
<b>Secara Umum</b>						
1.	Bentukan susunan daun	Tegak 	Intermediet 	Jatuh 	Lainnya	
2.	Susunan daun	Normal : tidak tumpang tindih	Tipe kerdil : sangat tumpang tindih			
<b>Batang</b>						
3.	Tinggi batang	$\leq 2m$	2.1m-2.9m	$\geq 3m$		
4.	Aspek batang	Ramping	Normal	Besar		
5.	Warna batang	Hijau kekuningan	Hijau sedang - hijau	Hijau gelap - Hijau kemerahan	Merah - Merah keunguan	Ungu
6.	Permukaan batang	Kusam (berlilin)	Terang (tidak berlilin)			
7.	Warna dasar batang yang dominan (dibuka pelepah terluar)	Hijau berair - Hijau terang	Hijau	Krem	Pink keunguan	Merah keunguan - Ungu
8.	Semburat warna batang / pigmentasi	Pink	Pink keunguan	Merah	Merah keunguan	Ungu
9.	Warna getah	Berair	Putih susu	Merah keunguan	Lainnya	
10.	Lilin pada pelepah daun	Sangat sedikit	Sedikit	Cukup berlilin	Cukup banyak	Sangat berlilin
11.	Perkembangan anak anakan	Lebih tinggi dari induk	Sama dengan induk	Lebih dari $\frac{3}{4}$ tinggi induk	Antara $\frac{1}{4}$ - $\frac{3}{4}$ tinggi induk	Terhambat
12.	Posisi anakan	Jauh dari induk ( $> 50$ cm)	Dekat dengan induk	Dekat dengan induk (tumbuh di sudut)		
<b>Daun (Tangkai/pelepah/helai daun)</b>						
13.	Bercak/bintik pada dasar tangkai	Jarang	Bintik kecil	Bintik besar	Berwarna menyala	Tidak berwarna
14.	Warna bintik	Coklat muda	Coklat	Coklat tua	Coklat kehitaman	Hitam
15.	Kanal tangkai daun ke-3 (dihitung dari daun pertama/teratas)	Terbuka dengan margin tersebar 	Lebar dengan margin tegak 	Lurus dengan margin tegak	Margin melengkup ke dalam 	Margin tumpang tindih 

						
16.	Margin tangkai	Bersayap dan bergelombang	Bersayap dan	Bersayap dan memeluk batang	Tidak bersayap dan memeluk batang	Tidak bersayap dan tidak memeluk batang
17.	Tipe margin	Kering	Tidak kering			
18.	Warna margin	Hijau	Pink keunguan-merah	Ungu-biru	Lainnya	
19.	Tepi margin	Tidak berwarna	Dengan warna garis			
20.	Lebar margin	$\leq 1$ cm	>1 cm	Tidak bisa didefinisikan		
21.	Panjang helai daun	$\leq 170$ cm	171–220 cm	221–260 cm	$\geq 261$ cm	
22.	Lebar helai daun	$\leq 70$ cm	71–80 cm	81–90 cm	$\geq 91$ cm	
23.	Panjang tangkai (dari batang-helai)	$\leq 50$ cm	51–70 cm	$\geq 71$ cm		
24.	Warna permukaan atas daun	Hijau-kuning	Hijau sedang	Hijau	Hijau tua	Hijau tua dengan bintik merah keunguan
25.	Kenampakan permukaan atas daun	Kusam	Terang			
26.	Warna permukaan bawah daun	Hijau-kuning	Hijau sedang	Hijau	Hijau tua	Merah keunguan
27.	Kenampakan permukaan bawah daun	Kusam	Terang			
28.	Lilin pada daun (pada permukaan bawah)	Sangat sedikit	Sedikit berlilin	Cukup berlilin	Sangat berlilin	
29.	Titik penyisipan helai daun pada tangkai	Simetri	Asimetri			
30.	Bentuk dasar helai daun	Kedua sisi membulat	1 sisi Membulat – 1 sisi meruncing	Meruncing pada kedua sisi		
31.	Urat daun	Halus	Sedikit bergaris-garis	Sangat berkerut		

32.	Warna midrib permukaan dorsal	Kuning - Hijau terang	Hijau	Pink keunguan	Merah keunguan	Ungu-biru
33.	Warna midrib permukaan ventral	Kuning - Hijau terang	Hijau	Pink keunguan	Merah keunguan	Ungu-biru



## Lampiran 2

No	Kultivar Pisang													
	Mas	Rejang	Berlin	Koj o San ten	Am bon Hon g	Moro sebo	Tri olin	Brent el wara ngan	Raja Seribu	Ebu ng	Sa ba A w u	Raja Band ung	Klutu k ljo	Klutuk Wulung
1	2	1	2	3	2	1	1	3	2	2	2	2	2	1
2	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1
3	1	1	1	1	2	1	1	2	1	2	1	2	1	3
4	1	1	1	2	2	2	2	2	1	2	1	2	1	3
5	3	4	1	1	2	3	3	1	2	2	1	3	2	5
6	1	1	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	1	1
7	5	4	1	3	2	2	2	1	3	1	1	2	1	2
8	5	2	2	1	2	3	4	4	3	1	4	3	1	3
9	1	3	2	1	1	1	2	1	2	2	2	2	2	2
10	1	4	3	1	3	3	4	1	1	4	2	2	3	5
11	4	3	4	5	4	4	2	4	4	4	4	4	4	3
12	2	3	3	2	2	2	3	2	2	2	2	3	2	3
13	2	3	1	1	2	3	3	1	3	1	2	1	2	2
14	3	4	2	2	1	3	4	1	2	2	2	1	4	4
15	2	4	4	2	3	1	3	3	2	4	5	4	5	5
16	2	2	5	2	5	1	2	2	3	5	2	2	4	4
17	1	1	2	2	2	1	2	1	2	2	2	2	2	2
18	1	2	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1	3
19	2	2	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1	2
20	1	1	1	2	1	2	1	1	2	1	2	2	1	1
21	1	1	1	1	2	1	3	2	1	1	1	1	1	3
22	2	1	1	1	2	2	2	1	1	1	2	1	1	2
23	1	1	1	1	2	1	2	2	1	2	2	2	1	2
24	2	3	2	1	2	3	3	3	1	2	3	3	4	4
25	1	2	2	1	2	2	2	1	2	2	1	2	1	2
26	1	3	2	1	2	2	3	2	2	3	2	3	3	2
27	2	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1
28	1	3	3	1	2	2	3	3	1	3	3	2	3	4
29	2	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
30	2	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
31	2	3	2	2	2	2	3	2	2	2	2	2	2	2
32	1	3	1	1	1	2	3	1	1	1	2	1	1	5
33	1	2	2	2	2	2	2	2	1	1	2	1	2	1