

**KERAGAMAN GENETIK PISANG (*Musa spp.*) DI JAWA TIMUR
BERDASARKAN MARKA ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*)**

SKRIPSI

Oleh:
DWI CANDRA NURSITA
NIM. 16620060/S-1



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

**KERAGAMAN GENETIK PISANG (*Musa spp.*) DI JAWA TIMUR
BERDASARKAN MARKA ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*)**

SKRIPSI

**OLEH:
DWI CANDRA NURSITA
NIM. 16620060**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri 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**

**KERAGAMAN GENETIK PISANG (*Musa spp.*) DI JAWA TIMUR
BERDASARKAN MARKA ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*)**

SKRIPSI

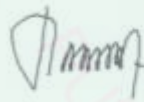
Oleh :

Dwi Candra Nursita

NIM. 16620060

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
Tanggal: 10 Desember 2020

Pembimbing I



Didik Wahyudi, S. Si, M. Si
NIP. 198601022018011001

Pembimbing II



Dr. H. Ahmad Barizi, M. A.
NIP. 1973121219980310008



Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi

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

**KERAGAMAN GENETIK PISANG (*Musa spp.*) DI JAWA TIMUR
BERDASARKAN MARKA ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*)**

SKRIPSI

Oleh:
Dwi Candra Nursita
16620060

Telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai salah satu
persyaratan dalam untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal : Desember 2020

Penguji Utama	<u>Dr. Evika Sandi Savitri, M.P</u> NIP. 197410182003122002	
Ketua Penguji	<u>Lia Hapsari, S.P., M.Si</u> NIP. 198208102009122001	
Sekretaris Penguji	<u>Didik Wahyudi, S.Si, M.Si</u> NIP. 19860102 201801 1 001	
Anggota Penguji	<u>Dr. H. Ahmad Barizi, M.A</u> NIP. 197312121998031008	



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

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan mengharap ridho Allah Subhanahu Wa Ta'Ala di bawah naungan rahmat dan hidayahNya, sebuah karya yang begitu sederhana ini kupersembahkan untuk orang-orang spesial, terkhusus bagi kedua orang tua penulis yaitu Bapak Nuryanto dan Ibu Eny Kurniasih yang senantiasa memberikan dukungan dan doa yang tiada hentinya demi keberhasilan dan kesuksesan penulis. Teruntuk kakak Erry Nurdianingsih dan Adik Dimas Permana Sakti yang juga senantiasa menghibur dan memberi motivasi di kala susah saat mengerjakan skripsi ini. Terima kasih juga kepada sahabat saya Indira Nurul Aulia dan Denis Amalia yang telah membantu memberikan semangat dan motivasi kepada penulis. Terima kasih kepada teman-teman Biologi 2016 yang banyak memberikan pengalaman berharga bagi penulis, terkhusus untuk Keluarga Besar Biologi B 2016 (KB3'16) yang telah bersama-sama dari awal pertemuan hingga di akhir pertemuan, dengan suka duka yang yang tak terlupakan pastinya.

Tidak lupa ucapan terima kasih penulis ucapkan pada rekan-rekan Kos Istiqomah (Denis, Olan, Dyah, Pipid dan Ainun) yang telah menemani penulis selama pandemi ini. Terimakasih juga saya ucapkan untuk seluruh member Enhypen khususnya Jake yang telah memberikan semangat dan mengajarkan penulis untuk terus bangkit. Terakhir untuk Almamater tercinta, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk dapat menimba ilmu di Jurusan Biologi, yang telah memberikan banyak pelajaran baik dari segi materi ataupun dalam hal kehidupan.

MOTTO

Let's live nicely with confident, and

Run for your dream



SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dwi Candra Nursita
NIM : 16620060
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Keragaman Genetik Pisang (*Musa spp.*) di Jawa Timur
Berdasarkan Marka ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*)

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian ini tidak terdapat unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali secara tertulis dikutip dalam naskah dan disebutkan dalam sumber kutipan atau daftar pustaka. Apabila pernyataan hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur penjiplakan, maka saya bersedia untuk bertanggungjawab serta diproses sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Malang, 10 Desember 2020

Yang Membuat Pernyataan



Dwi Candra Nursita
NIM.16620060

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.



KATA PENGANTAR

Bismillahirrohmanirrohim..

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada kehadiran Allah Subhanahu Wa Ta'ala, yang telah memberikan nikmat berupa rahmat, taufiq serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan sebaik-baiknya. Shalawat dan salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad *Shallallahu 'Alaihi Wasallam* yang telah rela berkorban untuk mengeluarkan manusia dari zaman jahiliyah menuju zaman yang diridhoi oleh Allah Subhanahu Wa Ta'ala yaitu ajaran agama islam.

Alhamdulillah berkat taufiq serta hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “**Keragaman Genetik Pisang (*Musa spp.*) di Jawa Timur berdasarkan Marka ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*)**”. Dalam proses penyelesaian skripsi ini penulis banyak mendapat bimbingan dan bantuan, serta saran dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis haturkan ucapan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M. Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M. Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M. P. Selaku Ketua Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Didik Wahyudi, S. Si., M. Si, selaku dosen pembimbing biologi penulis yang telah memberikan banyak waktu, bimbingan, serta arahan hingga dapat terselesaikannya skripsi ini dengan baik.
5. Dr. H. Ahmad Barizi, M. A., selaku dosen pembimbing integrasi sains dan islam yang telah banyak meluangkan waktunya untuk membimbing penulis tentang sains dan perspektif agama islam.
6. Lia Hapsari, S. P., M. Si, selaku dosen penguji yang memberikan kritik serta saran terkait pengerjaan skripsi penulis hingga terselesaikan dengan baik.

7. Dr. Kiptiyah, M. Si., selaku dosen wali yang telah memberikan banyak saran serta motivasi selama perkuliahan dan perwalian.
8. Bapak/Ibu dosen Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmu serta pengalamannya kepada penulis selama studi.
9. Kedua orang tua penulis Bapak Nuryanto dan Ibu Eny Kurniasih, serta keluarga yang selalu memberikan doa dan restu kepada penulis untuk dapat menyelesaikan skripsi ini
10. Segenap teman-teman Biologi angkatan 2016 dan teman-teman (KB3) Keluarga Besar Biologi B yang selalu memberi semangat antar sesama, bahu membahu ikut menemani dalam penelitian.
11. Teman-teman bimbingan (Ihda, Rizky dan Faiq) yang telah menemani penulis dalam pengambilan data skripsi, dan saling support satu sama lain dalam hal kebaikan.
12. Sahabat saya Indira Nurul Aulia dan Denis Amalia yang telah memberikan motivasi, membantu dan menemani penulis dalam mengerjakan skripsi.
13. Semua pihak yang terlibat dalam memberikan bantuan dan dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini.

Semoga bantuan yang tulus dari berbagai pihak, mendapatkan imbalan yang setimpal dari Allah Subhanahu Wa Ta'ala. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan kesalahan baik dalam penulisan atau pokok bahasannya, untuk itu dengan hati yang terbuka penulis selalu menerima kritikan dan saran untuk kesempurnaan skripsi ini. Dengan mengucap *Alhamdulillahirabbil 'alamin*, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis sendiri khususnya dan juga bagi para pembaca pada umumnya, untuk kemajuan ilmu pengetahuan dan pendidikan di masa depan.

Malang, 10 Desember 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
MOTTO.....	vi
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS	vii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	viii
KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT	xvii
مستخلص البحث	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.5 Batasan Masalah	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Botani Umum Pisang	7
2.1.1 Taksonomi Pisang.....	7
2.1.2 Morfologi Pisang	8
2.2 Syarat Tumbuh Pisang	12
2.3 Persebaran Pisang	13
2.4 Tata Nama dan Pengelompokan Pisang Kultivar	15
2.5 Keragaman Genetik	16
2.6 Provinsi Jawa Timur	17

2.7	Marka ISSR (<i>Inter Simple Sequence Repeat</i>)	18
BAB III METODE PENELITIAN		18
3.1	Rancangan Penelitian.....	18
3.2	Waktu dan Lokasi Penelitian	18
3.3	Alat dan Bahan	19
3.3.1	Alat	19
3.3.2	Bahan	19
3.4	Prosedur Penelitian	20
3.4.1	Ekstraksi dan Isolasi DNA	20
3.4.2	Uji Kualitas DNA	22
3.4.3	Amplifikasi DNA dan Visualisasi.....	22
3.5	Analisis Data	23
3.5.1	Skoring Data.....	23
3.5.2	Analisis Keragaman Genetik.....	23
3.5.3	Analisis <i>Clustering</i> dan Principal coordinates Analysis (PCoA)	23
3.5.4	Analisis Kekuatan Primer	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		37
4.1	Analisis Keragaman Genetik.....	37
4.2	Analisis Pengelompokan berdasarkan Genom	39
BAB V PENUTUP		48
5.1	Kesimpulan	48
5.2	Saran.....	48
DAFTAR PUSTAKA.....		38
LAMPIRAN		45

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Pengelompokan pisang kultivar berdasarkan akumulasi skor	16
Tabel 2. 2 Karakteristik dari berbagai tipe marka molekuler.	18
Tabel 3. 1 Sampel pisang yang digunakan	20
Tabel 3. 2 Jenis primer yang digunakan.....	20
Tabel 4. 1 Hasil analisis keragaman genetik 16 kultivar pisang.....	37
Tabel 4. 2 Hasil analisis keragaman genetik kultivar pisang berdasarkan kelompok genom.....	38
Tabel 4. 3 Nilai koefisien similaritas 16 kultivar pisang berdasarkan koefisien similaritas Jaccard.....	40
Tabel 4. 4 Analisis Polimorfisme Hasil Amplifikasi 16 Kultivar Pisang di Jawa Timur menggunakan Marka ISSR.	44
Tabel 4. 5 Hasil uji kuantitatif ekstraksi DNA 16 kultivar pisang.	45



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bagian-bagian tumbuhan pisang	9
Gambar 2.2 Variasi warna pada braktea pisang.....	11
Gambar 2.3 Penampakan(a) male bud, (b) bunga jantan.	11
Gambar 3.1 Peta wilayah pengambilan sampel.....	18
Gambar 4.1 Dendrogram 16 kultivar pisang berdasarkan indeks similaritas Jaccard.....	41
Gambar 4.2 Visualisasi hasil amplifikasi 16 kultivar pisang	42
Gambar 4.3 Pengelompokkan 16 kultivar pisang berdasarkan <i>Principal coordinate Analysis</i> (PCoA)	46



DAFTAR LAMPIRAN

<i>Lampiran 1</i>	45
<i>Lampiran 2</i>	46
<i>Lampiran 3</i>	49



ABSTRAK

Nursita, Dwi C. 2020. **Keragaman Genetik Pisang di Jawa Timur berdasarkan Marka ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*)**. Skripsi. Program Studi Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: Didik Wahyudi, S. Si., M. Si. dan Dr. H. Ahmad Barizi, M. A.

Kata Kunci: *Keragaman genetik, Pisang, Jawa Timur, Marka ISSR.*

Pisang merupakan tanaman hortikultura yang penting karena memiliki potensi produksi yang cukup tinggi. Indo-Malesia adalah kawasan pusat utama asal-usul serta keragaman pisang liar maupun kultivar. Tercatat sedikitnya 325 kultivar pisang di Indonesia. Jawa Timur merupakan salah satu provinsi yang merupakan pusat keragaman pisang di pulau Jawa. Marka ISSR banyak digunakan dalam penelitian keragaman dan stabilitas genetik serta hubungan kekerabatan pada pisang. Penelitian mengenai penggunaan marka ISSR untuk mendeteksi keragaman genetik pisang di Jawa Timur juga masih belum ditemukan. Informasi mengenai genotip sangat penting digunakan dalam keberhasilan pengelolaan konservasi tumbuhan dan pemuliaan tanaman. Penelitian ini bersifat eksploratif kualitatif yang dilakukan untuk mengetahui keragaman genetik pisang di Jawa Timur berdasarkan marka ISSR. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 16 kultivar pisang yang diambil dari 10 kabupaten/kota. Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap yaitu ekstraksi dan isolasi DNA, uji kualitas DNA, amplifikasi PCR menggunakan 5 primer ISSR (UBC-834, 835, 843, 848 dan 855) dan visualisasi DNA hasil amplifikasi. Analisis data berupa analisis keragaman menggunakan GenAlex 6.5, *Clustering* dan *Principal Coordinates Analysis* (PCoA) menggunakan PAST 3.0 dan analisis kekuatan primer. Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa keragaman genetik pisang di Jawa Timur tergolong tinggi karena nilai heterozigositas mencapai 0.41 dan persentase pita polimorfik yang dihasilkan mencapai 100%, sedangkan berdasarkan kelompok genomnya pisang dengan kelompok genom ABB memiliki tingkat keragaman tertinggi. Analisis *clustering* dan PCoA membagi 16 kultivar pisang menjadi 4 cluster. Hasil analisis kekuatan primer menunjukkan bahwa primer UBC-835 merupakan primer terbaik dalam amplifikasi sampel ditinjau dari nilai PIC, EMR, MI dan Rp.

ABSTRACT

Nursita, Dwi C. 2020. **Genetic Diversity of Banana (*Musa spp.*) in East Java based on ISSR Marker (*Inter Simple Sequence Repeat*)**. Skripsi. Biology Department. Science and Technology Faculty. State Islamic University (UIN) of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor: Didik Wahyudi, S. Si., M. Si. and Dr. H. Ahmad Barizi, M. A.

Keywords: *Genetic diversity, Banana, East Java, ISSR marker.*

Banana is an important horticultural crop because has a high production. Indo-Malesia is a major center for the origin and diversity of wild and cultivar bananas. At least 325 banana cultivars have been found in Indonesia. East Java is a province with the center of banana diversity. ISSR marker widely used in the study of diversity and genetic stability of bananas. Information about genotypes is very important for management of plant conservation and plant breeding. This research is a qualitative and exploratory conducted to determine the genetic diversity of bananas in East Java based on ISSR markers. The sample used in this study were 16 banana cultivars taken from 10 districts/cities. This research consisted of DNA extraction and isolation, DNA quality testing, PCR amplification using 5 ISSR primers and visualization of amplified DNA. Data analysis in the form of diversity analysis using GenAlex 6.5, Clustering and Principal Coordinates Analysis (PCoA) using PAST 3.0 and primary strength analysis. The results of the diversity analysis showed that the genetic diversity of bananas in East Java was high because the heterozygosity value reached 0.41 and the percentage of polymorphic bands produced reached 100%, while based on the genome grouping of bananas with the ABB genome group, it had the highest diversity level. The clustering analysis and PCoA divided 16 banana cultivars into 4 clusters. The results of the primary strength analysis show that UBC-835 primer is the best primer for amplification in terms of the value of PIC, EMR, MI and Rp.

مستخلص البحث

نور ستة، ديوي ج. 2020. التنوع الوراثي للموز في الجاوى الشرقية عند ماركة تكرار التسلسل البسيط الوسطي (ISSR). البحث الجامعي. قسم علم الأحياء. كلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف: ديديك وحيودي الماجستير والدكتور أحمد بارزي الحاج الماجستير.

الكلمات الرئيسية: التنوع الوراثي، الموز، الجاوى الشرقية، ماركة ISSR.

كان الموز نبات البستنة المهمة لأن لها قوة الإنتاج العالية. كانت الإندونيسية-ماليزيا منطقة مركزية رئيسية لنشأة الموز البري والمستنبت وتنوعه. كتبت أقل تقريبا 325 مستنبت موسى في إندونيسية. والجاوى الشرقية إحدى الدوائر التي كانت مركز أنواع الموز في الجاوى. ظل تنوع الوراثة بين مستنبت الموز في الجاوى الشرقية أوسع بسبب اختلاف الإقليم والظروف الجغرافية بين المنطقة فيها. تكون معلومة الوراثة المحتملة لمعالجة الصفة والمتأقلمة بالبيئة القاسية أهمًا استخدامها في الحصول على إدارة محافظة النبات. وماركة ISSR أكثر استخداما في بحث تنوع الوراثة وثباتها وعلاقة القرابة بالموز. كان هذا البحث بحثا وصفيا استطلاعيا كيفيا تقوم به الباحثة لمعرفة أنواع وراثية الموز في الجاوى الشرقية بناء على ماركة ISSR. والعينة التي تم استخدامها في هذا البحث 16 صنف الموز المأخوذ عشوائيا من 10 المدن. يتكون هذا البحث من المراحل وهي استخراج الحمض النووي وعزله، تجربته، تضخيم استجابة التسلسل (PCR) بخسمة تمهيدات ISSR (834, 835, 843, 848 dan 855) UBC-834, 835, 843, 848 dan 855) وتصور تضخيم الحمض النووي. ويكون تحليل البيانات تحليل التنوع باستخدام GenAlex 6.5 والمجموعة وتحليل المكون الرئيسي PAST 3.0 وتحليل القوة الأساسية. تدل نتائج هذا البحث على أن تنوع وراثية الموز في الجاوى الشرقية يدخل على أعلى المراتب بسبب النسبة المئوية لعصابات متعددة الإشكال التي تم الحصول عليها تبلغ إلى مائة في المائة. يقسم تحليل المجموعة وتحليل المكون الرئيسي 16 مستنبت الموز إلى ثلاث مجموعات وأما نتائج تحليل القوة الأساسية فتدل على أن أساس UBC-835 أساس حسن استخدامه ي تضخيم العينة منظورا من قيمة PIC, EMR, MI و Rp.

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pisang adalah tanaman buah yang tergolong dalam famili Musaceae dan ordo Zingiberales (Kharadi *et al.*, 2014). Pisang juga merupakan tanaman yang telah banyak dibudidayakan oleh manusia sejak munculnya sistem pertanian (De Langhe *et al.*, 2009). Selain itu, pisang adalah tanaman hortikultura yang penting karena memiliki potensi produksi yang cukup tinggi. Pisang merupakan produk ekspor di banyak negara, pada tahun 2017 produksi global pisang mencapai 144 juta ton dan produksi pisang di Indonesia sendiri mencapai 7,1 juta ton (Kementrian Pertanian, 2016).

Kawasan Indo-Malesia merupakan pusat utama asal-usul serta keragaman pisang liar maupun kultivar (Espino *et al.*, 1992; De Langhe *et al.*, 2009). Tercatat sedikitnya 325 kultivar pisang di Indonesia (Valmayor *et al.* 2000) tersebar luas di Sumatera, Bali, Nusa Tenggara, Jawa, Kalimantan, Sulawesi, Maluku, dan Papua. Provinsi Jawa Timur merupakan salah satu provinsi yang merupakan pusat keragaman pisang di pulau Jawa. Hasil eksplorasi yang dilakukan Hapsari *et al.* (2013), terdapat sekitar 49 macam kultivar pisang yang ditemukan di Jawa Timur.

Keragaman yang terdapat di bumi merupakan salah satu kebesaran dan kekuasaan yang ditunjukkan oleh Allah SWT sebagaimana yang telah tertulis dalam surah al-An'am (6): 99 sebagai berikut:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ

مُشْتَبِهًا وَعَيْرَ مُتَشَابِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَلِكُمْ لآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ۝

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

Menurut Al-Maraghi (1993), lafadz وَالرِّمَّانَ وَالزُّبْنَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَعَيْرَ مُتَشَابِهٍ menjelaskan penciptaan buah zaitun dan delima dimana pada buah delima tersebut ada yang serupa dalam sebagian sifatnya, ada pula yang tidak serupa dalam sebagian hal lainnya. Bagian yang serupa tersebut dapat berupa bentuk, daun dan buahnya. Sedangkan, sebagian hal lainnya yang tidak serupa adalah warna buah dan rasa. Adanya perbedaan warna buah dan rasa merupakan akibat dari adanya interaksi antar gen sehingga menghasilkan penampakan morfologi yang berbeda-beda pada setiap individu. Keragaman pada tanaman perlu dipelajari guna mempermudah manusia dalam identifikasi, penamaan dan pengelompokkan tanaman.

Tata nama pisang pertama kali dikenalkan oleh Linnaeus berdasarkan ciri buahnya. *Cooking banana* dicirikan dengan pisang yang banyak mengandung pati bahkan ketika sudah matang sehingga membutuhkan proses pemasakan sebelum dikonsumsi. Pisang ini memiliki nama ilmiah *Musa paradisiaca* Linn, sedangkan *Musa sapientum* Linn. (*dessert banana*) merupakan pisang yang dapat dikonsumsi secara langsung (Valmayor *et al.*, 2000). Namun, penamaan pisang yang telah dilakukan tersebut kurang cocok diterapkan pada daerah-daerah dengan

keragaman pisang yang tinggi seperti Indonesia, sehingga pada tahun 1955 Simmonds dan Shepherd merubah sistem klasifikasi dan tata nama menjadi tata nama yang berdasarkan genom untuk pisang kultivar (Simmonds, 1959; Espino *et al.*, 1992; Valmayor *et al.*, 2000; INIBAP, 2006).

Penamaan pisang berdasarkan genom didasarkan dari dugaan bahwa pisang kultivar merupakan keturunan dari kedua tetua pisang liar (Simmonds, 1959). Pisang dengan genom “A” berasal dari *Musa acuminata*, sedangkan genom “B” berasal dari *Musa balbisiana*. Penamaan pisang berdasarkan genom dilakukan dengan sistem skoring berdasarkan karakter morfologi sehingga dapat ditentukan komposisi genom dan tingkat ploidi pada pisang (Simmonds dan Shepherd, 1955; Simmonds, 1959).

Penggunaan pendekatan morfologi terhadap pengelompokkan pisang kultivar di Indonesia telah banyak dilakukan (Sumardi dan Wulandari, 2010; Rahmawati dan Hayati, 2013; Gusmiati *et al.*, 2018). Namun demikian, penelitian dengan pendekatan morfologi dianggap kurang akurat karena seringkali dipengaruhi oleh faktor lingkungan, memakan banyak waktu, bersifat subjektif serta sulit digunakan untuk skala yang besar (Probojati *et al.*, 2019). Oleh karena itu dibutuhkan penelitian menggunakan penanda molekuler untuk hasil data yang lebih valid (De Jesus *et al.*, 2012).

Marka molekuler yang banyak digunakan untuk mempelajari keragaman serta kekerabatan pisang diantaranya adalah RAPD (Kiran *et al.*, 2015; Sundari *et al.*, 2017; Poerba *et al.*, 2018; Susilo *et al.*, 2018; Probojati *et al.*, 2019), ISSR (Qin *et al.*, 2011; Kharadi *et al.*, 2014; Babu *et al.*, 2018; Das *et al.*, 2018;

Wahyudi *et al.*, 2020), SRAP (Zozimo *et al.*, 2018; Boonsrangsom *et al.*, 2020), dan AFLP (Youssef *et al.*, 2011; Vroh-Bi *et al.*, 2011).

Marka ISSR memiliki beberapa kelebihan diantaranya adalah mudah, cepat, biaya yang dikeluarkan lebih murah, jumlah DNA yang dibutuhkan sedikit, tidak dipengaruhi oleh musim dan kondisi lingkungan, mewakili lokus di seluruh genom dan dapat menghasilkan polimorfisme yang lebih tinggi lebih tinggi dari RAPD (Son *et al.*, 2012; Sulassih *et al.*, 2013).

Marka ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) merupakan marka dominan berbasis PCR yang mengamplifikasi daerah diantara dua mikrosatelit berupa urutan basa N yang berulang dan terdiri dari dua hingga tujuh motif. Marka ISSR juga mampu memisahkan dua jenis alel yang bersifat homozigot dan heterozigot. Marka ISSR telah banyak digunakan dalam penelitian keragaman dan stabilitas genetik serta hubungan kekerabatan pada pisang (Lu *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2017). Penelitian mengenai penggunaan marka ISSR untuk mendeteksi keragaman genetik pisang di Jawa Timur juga masih belum ditemukan, selain itu analisis mengenai keragaman genetik juga sangat penting digunakan dalam keberhasilan pengelolaan konservasi tumbuhan. Oleh karena itu, dalam penelitian ini akan dilakukan analisis keragaman genetik dan pengelompokan kultivar pisang berdasarkan marka molekuler ISSR. Adapun sampel pisang yang digunakan, dipilih berdasarkan daerah dengan produksi pisang tertinggi di Jawa Timur dan pisang dengan komposisi genom yang berbeda tiap daerah. Data hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan dalam program pemuliaan serta konservasi pisang, khususnya pisang di Jawa Timur.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimanakah keragaman genetik pisang (*Musa spp.*) di Jawa Timur berdasarkan penanda ISSR?
2. Bagaimanakah pengelompokan genom antar kultivar pisang di Jawa Timur berdasarkan penanda ISSR?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui keragaman genetik pisang (*Musa spp.*) di Jawa Timur berdasarkan penanda ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*).
2. Mengetahui pengelompokan genom antar kultivar pisang di Jawa Timur berdasarkan penanda ISSR.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi mengenai keragaman genetik dan hubungan kekerabatan pisang (*Musa spp.*) di Jawa Timur berdasarkan penanda ISSR.
2. Data keragaman genetik pisang (*Musa spp.*) di Jawa Timur dapat digunakan sebagai dasar program pemuliaan dan konservasi tanaman pisang di Jawa Timur.

1.5 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Sampel yang digunakan adalah daun pisang yang diambil dari 10 kabupaten/kota di provinsi Jawa Timur.
2. Primer yang digunakan adalah UBC 834, 835, 843, 848 dan 855.
3. Analisis molekuler yang dilakukan meliputi; analisis keragaman genetik yang terdiri dari jumlah alel yang diamati (N_a), jumlah alel efektif (N_e), rata-rata heterozigositas yang diharapkan dalam setiap populasi (H_e) dan indeks informasi Shannon (I) dan persentase lokus polimorfik ($P\%$); analisis kekuatan primer dan pengelompokan kultivar pisang

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Botani umum pisang

2.1.1 Taksonomi pisang

Famili Musaceae berkerabat dekat dengan famili Heliconiaceae, Lowiaceae dan Strelitziaceae, Maranthaceae, Cannaceae, Costaceae dan Zingiberaceae. Namun demikian, terdapat karakter famili Musaceae yang membedakan dengan famili lain yaitu susunan daunnya spiral serta merupakan tumbuhan berumah satu (*monoecious*) (Simpsons, 2010). Famili Musaceae terbagi menjadi 3 genus yaitu *Musa*, *Ensete* dan *Musella*. Namun, pada beberapa literatur genus *Musella* dianggap termasuk kedalam genus *Ensete* karena memiliki kemiripan sifat dan jumlah kromosom yang sama (Häkkinen dan Väre, 2008; Liu *et al.*, 2010).

Genus *Musa* pertama kali dideskripsikan oleh Linnaeus dengan nama *Musa paradisiaca* dan *Musa sapientum* (Valmayor *et al.*, 2000). Namun demikian sekarang diakui sebagai hibrida dari kelompok kultivar AAB dengan nomenklatur *Musa x paradisiaca* L. dimana "x" menunjukkan itu adalah hibrida (Purseglove, 1972 dan Hobhouse *et al.*, 2004). Menurut Cheesman (1947), terdapat 4 *section* pada genus yaitu *Eumusa*, *Australimusa*, *Rhodochlamys*, dan *Callimusa*.

Genus *Ensete* pertama kali dideskripsikan oleh Paul Fedorowitsch Horaninow pada tahun 1862 (Kress, 1990). Menurut Simmonds (1962), terdapat 6 spesies dari genus *Ensete* diantaranya adalah *E. ventricosum*, *E. homblei*, *E. gilletti*, *E. glaucum*, *E. superbum*, *E. perrieri* dan *E. wilsonii*. *Ensete ventricosum* memiliki ciri khas yaitu memiliki warna keunguan pada *pseudostem*

dan pelepahnya (Purseglove, 1972).

2.1.2 Morfologi pisang

Tanaman pisang merupakan salah satu tanaman yang disebutkan dalam al-Qur'an surah al-Waqi'ah (56) ayat 29-31;

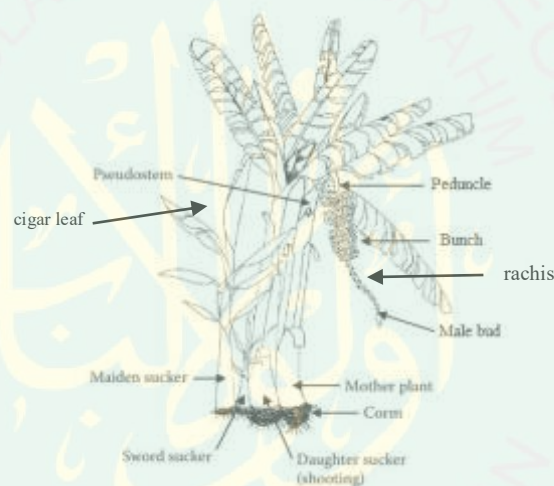
﴿٢٩﴾ وَطَلْحٍ مَّنضُودٍ ﴿٣٠﴾ وَظِلِّ مَمْدُودٍ ﴿٣١﴾ وَمَاءٍ مَّسْكُوبٍ

Artinya: “dan pohon pisang yang bersusun-susun (buahnya), dan naungan yang terbentang luas, dan air yang tercurah.” (Q.S. Al-Waqi'ah (57); 29-31).

Lafadz طَلْح (Talh) dalam kitab Tafsir Al-Maraghi memiliki arti pohon pisang dan lafadz مَنْضُودٍ memiliki arti tersusun buahnya dari bawah sampai ke atas, sehingga tampaknya tidak memiliki batang buah. Pisang merupakan tanaman herba tahunan dan *monoecious* (Robinson, 1999; Simpson, 2010). Pisang dapat tumbuh hingga ketinggian 2-9 meter di atas permukaan tanah. Tanaman pisang memiliki sistem perakaran berupa akar adventif yang lunak. Akar pada pisang terdiri atas akar primer yang akan berkembang menjadi akar sekunder dan tersier yang lebih pendek dan tebal daripada akar primer. Akar primer pisang berwarna putih saat muda dengan ketebalan 5-8 mm. Akar primer tumbuh disepanjang rhizome secara berkelompok tiga atau empat (Purseglove, 1972; Robinson, 1999).

Terdapat dua jenis batang pada tanaman pisang yaitu batang sejati dan *pseudostem* (batang semu) (Gambar 2.1). Batang sejati pada pisang tertanam didalam tanah dan biasa disebut dengan bonggol (*corm*) (Gambar 2.1). Bonggol terletak di pangkal batang semu, berukuran pendek, memiliki tipe percabangan simpodial dan memiliki banyak mata tunas calon anakan tanaman pisang (Espino

et al., 1992; Siemonsma dan Pilluek, 1994). Pada sekeliling pohon pisang biasanya akan tumbuh beberapa rimpang yang akan menjadi tunas baru yang berasal dari bonggol. Bonggol pisang memiliki ruas yang pendek dan tertutup daun. Bonggol pisang yang telah dewasa dapat berkembang hingga mencapai diameter 300 mm. Bonggol pada pisang berfungsi sebagai organ penyimpanan untuk mendukung pertumbuhan buah serta perkembangan anakan (Siemonsma dan Pilluek, 1994; Robinson, 1999).



Gambar 2.1 Bagian-bagian tumbuhan pisang (Karamura *et al.*, 2011)

Batang semu (*pseudostem*) tersusun atas pelepah-pelepah daun yang menutup dan menekan secara rapat serta tumbuh mengelompok dalam rumpun (Dasuki, 1991). *Pseudostem* pada tanaman pisang berperawakan *slender* (ramping) hingga *robust* (besar), terdapat lapisan lilin pada beberapa spesies, berwarna hijau kekuningan hingga merah keunguan, memiliki rongga udara dan mengeluarkan getah pohon berwarna bening atau putih susu (IPGRI, 1996).

Daun pisang terdiri atas 3 bagian yaitu pelepah daun, tangkai daun dan lembaran daun (Rubatzky dan Yamaguci, 1998). Daun pisang memiliki susunan daun spiral (Dasuki, 1991). Daun pisang akan menggulung ketika masih muda yang selanjutnya akan berkembang menjadi sehelai daun yang besar berbentuk lonjong hingga lanset (*lanceolate*) (Siemmons dan Pilluek, 1994).

Daun pisang umumnya berbentuk lonjong atau lanset memanjang. Daun pisang yang telah dewasa memiliki panjang 1,5 meter hingga 2,8 meter dengan lebar 0,7-1 meter (Robinson, 1999). Lembaran daun pada pisang melebar dengan urat daun pinnatus dan paralel satu sama lain (Dasuki, 1991). Daun pisang memiliki warna yang berbeda pada kedua bagiannya. Pada bagian dorsal daun pisang biasanya berwarna hijau kekuningan hingga biru. Pada bagian ventral berwarna hijau kekuningan hingga merah keunguan. Pada daun pisang biasanya juga dilengkapi dengan lapisan lilin. Daun pisang memiliki pangkal daun yang beragam mulai dari meruncing pada kedua sisi, meruncing pada satu sisi dan membulat disisi lainnya serta membulat pada kedua sisi (IPGRI, 1996).

Pisang memiliki tipe perbungaan berupa bunga majemuk dan tersusun dalam rakis. Bunga pisang tumbuh keatas dari rhizoma melewati *pesudostem* kemudian terkulai (Simpson, 1953; Backer dan Brink, 1968). Bunga pisang tersusun atas seludang pelindung (braktea) yang saling menutupi. Bunga pisang memiliki bentuk dan yang beragam mulai dari berbentuk seperti gangsing, meruncing, sedang, bulat telur dan bulat. Selain itu seludang pelindung (braktea) pada pisang juga memiliki warna yang bervariasi mulai dari kuning hingga ungu (Gambar 2.2) (IPGRI, 1996).



Gambar 2.2 Variasi warna pada braktea pisang (Dok. Pribadi)

Bunga pisang terdiri dari bunga betina, bunga jantan dan bunga netral (hermafrodit). Bunga betina terletak pada bagian pangkal, bunga netral pada bagian tengah serta bunga jantan pada bagian ujung. Bunga betina memiliki ovarium yang tertanam dalam tangkai bunga dan terdiri atas 3 karpel. Bunga betina merupakan bunga yang berkembang menjadi buah, sedangkan bunga jantan tidak akan berkembang dan tetap tertutup dengan daun pelindung (braktea) (Ashari, 1995; Suyanti dan Ahmad, 2008; Karamura *et al.*, 2011). Bunga jantan tersusun atas kepala putik, tangkai putik, benang sari, kepala sari, lobus *compound tepal*, *compound tepal*, tepal bebas dan ovarium (IPGRI, 1996).



Gambar 2.3 Penampakan(a) male bud, (b) bunga jantan (Dok. Pribadi)

Buah pisang tergolong kedalam buah buni (*berry*). Buah pisang umumnya bersifat triploid (3n) karena tidak berbiji, tetapi pada pisang liar berbiji bersifat diploid (2n) (Rukmana, 1999). Buah pisang tersusun dalam tandan dimana setiap tandan terdiri atas beberapa sisir pisang. Setiap satu sisir biasanya terdiri dari 6-22 buah pisang tergantung pada varietasnya. Buah pisang memiliki ukuran yang bervariasi, panjangnya 10-18 cm dengan diameter 2,5-4,5 cm. *Mesocarp* (daging buah) pisang tebal dan lunak. Kulit buah (*epicarp*) berwarna kuning hingga hitam tergantung varietasnya (IPGRI,1996). Kulit buah pisang memiliki struktur kulit yang tebal hingga tipis tergantung varietasnya (Cahyono, 2002).

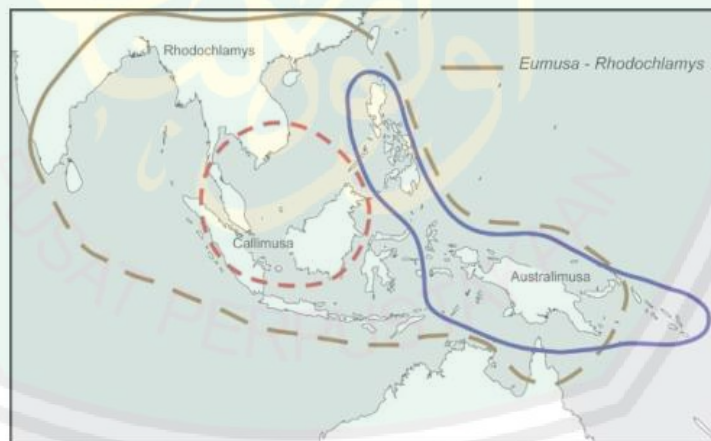
2.2 Syarat Tumbuh Pisang

Pisang dapat tumbuh pada daerah tropis yang hangat dan lembab. Pisang adalah tanaman pionir yang dapat tumbuh di berbagai jenis lingkungan termasuk lingkungan yang ekstrim mulai dari lingkungan dengan tanah berpasir hingga tanah liat berkapur (Simmonds, 1973; Hapsari *et al.*, 2015b). Pisang dapat ditemukan tumbuh pada dataran dengan ketinggian 100-1200 mdpl (Ritung *et al.*, 2011).

Tanaman pisang tumbuh baik pada daerah dengan curah hujan 1500-2500 mm/tahun. Suhu optimum pertumbuhan pisang yaitu 25 °C hingga 27 °C. Pada musim kemarau pisang dapat tumbuh apabila kedalaman air tanahnya tidak lebih dari 150 cm dibawah permukaan tanah (Mujiyo *et al.*, 2017).

2.3 Persebaran Pisang

Indo-Malesia merupakan pusat keragaman pisang baik jenis pisang liar maupun pisang kultivar. Persebaran pisang berdasarkan jumlah kromosomnya terbagi menjadi 4 seksi *Rhodochlamys*, *Eumusa*, *Australimusa* dan *Callimusa*. Seksi *Rhodochlamys* tersebar luas di Asia Tenggara (Myanmar, Thailand hingga Assam). Seksi *Eumusa* tersebar mulai dari bagian timur India, Asia Tenggara (meliputi Indonesia, Thailand, Myanmar, Filipina, Malaysia, Vietnam dan Papua Nugini) hingga bagian utara Australia. Seksi *Australimusa* tersebar mulai dari bagian timur laut Indonesia, bagian selatan Filipina hingga Melanesia. Seksi *Callimusa* tersebar pada bagian selatan Vietnam, Semenanjung Malaya hingga pulau Kalimantan dan Sumatra (Gambar 2.4) (De Langhe *et al.*, 2009).



Gambar 2.4 Peta persebaran seksi genus *Musa* (De Langhe *et al.*, 2009)

Musa acuminata dan *Musa balbisiana* merupakan nenek moyang pisang kultivar. Pisang kultivar terbentuk karena adanya hibridisasi alami yang berasal dari kedua tetua pisang baik secara *inter-* maupun *intra-species*. Hibridisasi alami

juga dapat terjadi diantara keturunan dengan tetuanya maupun antar keturunannya. Hibridisasi yang terjadi diantara keturunannya dapat mengakibatkan terjadinya mutasi, *autoploidi*, *alloploidi* maupun partenokarpi. Hal tersebut yang menyebabkan adanya keturunan yang beragam pada pisang (Simmonds, 1959; Espino, 1992; Valmayor, 2002; De Langhe, 2009).

Dugaan bahwa pisang kultivar merupakan keturunan dari pisang liar telah dikonfirmasi dengan adanya studi genetik. Hasil studi menyatakan bahwa terdapat 4 spesies pisang liar yang berperan sebagai *gen pool* dari pisang kultivar. Keempat spesies pisang tersebut diantaranya adalah *Musa balbisiana* sebagai pendonor genom B, *Musa acuminata* sebagai pendonor genom A, *Musa textilis* sebagai pendonor genom T dan *Musa schizocarpa* sebagai pendonor genom S (De Langhe, 2009).

Musa acuminata dan *Musa balbisiana* tersebar luas di wilayah Asia, baik yang bagian yang beriklim tropis maupun subtropics (Nasution, 1991). Terdapat 3 sub spesies *Musa balbisiana* yang telah teridentifikasi, diantaranya adalah Bakeri, Liukiunensis dan Dechangensis. Pada *Musa acuminata* terdapat lebih banyak sub spesies yang teridentifikasi. Adapun persebarannya meliputi 15 sub spesies ditemukan di Indonesia (Acuminata, Zebrina, Tamentosa, Sumantrana, Rutilifes, Nakaii, Microcarpa, Malaccencis, Longepetiola, Halabanensis, Flava, Carifera, Breviformis, Bantamensis dan Alasensis), 3 sub spesies (Siamea, Burmanica dan Burmanicoides) ditemukan di India, Myanmar hingga Thailand dan 2 sub spesies lainnya ditemukan di Papua Nugini (Banksii) serta di wilayah kepulauan Filipina (Errans) (Li, 2010 dan Li, 2013).

2.4 Tata Nama dan Pengelompokan Pisang Kultivar

Klasifikasi dan tata nama pisang telah lama menjadi masalah yang rumit. Masalah muncul dari deskripsi sederhana *dessert banana* (pisang meja) dan *cooking banana* (pisang olahan) pada buku “*Species Plantarum*”. Pada buku tersebut diketahui bahwa penamaan pisang didasarkan pada karakteristik buah pisang. *Cooking banana* memiliki nama ilmiah *Musa paradisiaca* Linn., dengan ciri mengandung banyak pati sehingga membutuhkan proses pemasakan sebelum dikonsumsi. Sedangkan *dessert banana* diberi nama *Musa sapientum* Linn. dengan ciri ketika buah masak dapat dikonsumsi secara langsung dan rasanya manis (Valmayor *et al.*, 2000). Penamaan pisang yang telah dilakukan tersebut kurang cocok diterapkan pada daerah-daerah dengan keragaman pisang yang tinggi seperti negara-negara di Asia Tenggara oleh karena itu dibuat tata penamaan baru berdasarkan genom sebagai dasar tata nama pisang kultivar (Simmonds, 1959; Espino *et al.*, 1992; Valmayor *et al.*, 2000; INIBAP, 2006).

Tata nama dan klasifikasi pisang dilakukan dengan menggunakan sistem *scoring* berdasarkan karakter morfologi nenek moyang pisang. *Musa acuminata* merupakan donor dari genom A dan *Musa balbisiana* merupakan donor dari genom B. Sistem *scoring* ini berdasarkan pada 15 karakter pembeda pada pisang dengan skor 1-5. Apabila memiliki karakter yang mendekati *M. acuminata* maka pisang akan diberi skor 1. Sedangkan bila mendekati karakter *M. balbisiana* akan diberi skor 5. Pisang yang memiliki karakter diantara kedua pisang (*M. acuminata* dan *M. balbisiana*) diberi skor 3. Selanjutnya identifikasi pengelompokan genom digolongkan berdasarkan penjumlahan skor (Tabel 2.1) (Valmayor *et al.*, 2000;

INIBAP, 2006).

Tabel 2.1 Pengelompokan pisang kultivar berdasarkan akumulasi skor (Hapsari *et al.*, 2015a)

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

2.5 Keragaman Genetik

Keragaman hayati dapat didefinisikan sebagai variasi yang ada pada semua spesies tumbuhan dan hewan, termasuk materi genetiknya dan ekosistem tempat hidupnya. Keragaman terbagi dalam tiga tingkatan yaitu: keragaman genetik (variasi dalam gen dan genotip), keragaman spesies dan keragaman ekosistem (komunitas spesies dan lingkungannya) (Rao & Hodgkin, 2002).

Keragaman genetik pada umumnya dianggap sebagai jumlah variabilitas gen diantara individu-individu dari suatu varietas atau populasi dari suatu spesies (Brown, 1983). Perbedaan genetik pada suatu individu dapat berupa perbedaan dalam urutan DNA, karakteristik biokimia, sifat fisiologis maupun karakter morfologis. Variasi yang muncul pada keragaman genetik dapat disebabkan karena adanya mutasi dan rekombinasi. Selain itu adanya seleksi, penyimpangan genetik dan aliran gen juga menyebabkan adanya variasi (Rao & Hodgkin, 2002).

Faktor yang mungkin mempengaruhi struktur genetik suatu populasi tanaman diantaranya adalah iklim, edafik dan biotik. Keragaman genetik

merupakan dasar untuk suatu individu bertahan hidup atau beradaptasi dengan lingkungannya. Adaptasi yang dapat dilakukan oleh suatu individu karena adanya variasi alel yang sesuai dengan lingkungannya (Rao & Hogdkin, 2002).

2.6 Provinsi Jawa Timur

Jawa Timur adalah salah satu provinsi yang terletak di Pulau Jawa. Secara geografis provinsi Jawa Timur terletak diantara 111° - $114^{\circ}4'$ Bujur Timur dan $7^{\circ}12'$ - $8^{\circ}48'$ Lintang Selatan. Secara administratif Jawa Timur memiliki luas wilayah sebesar 48.039,14 km². Provinsi Jawa Timur berbatasan dengan provinsi Jawa Tengah pada bagian Barat, Selat Bali pada bagian Timur, Laut Jawa pada bagian Utara dan Samudra Hindia pada bagian Selatan. Provinsi Jawa Timur terdiri atas 9 Kota dan 29 Kabupaten (BPS, 2015).

Jawa Timur memiliki kondisi topografi yang bervariasi yang terdiri dari dataran (83%), perbukitan atau pegunungan (11%) dan tebing terjal yang tingginya mencapai 1000 mdpl (6%). Sebagian besar (65,49%) wilayah di Jawa Timur tersusun atas dataran dengan tanah alluvial yang memiliki tingkat kesuburan tinggi sehingga sangat cocok digunakan untuk bercocok tanam. Provinsi Jawa Timur merupakan salah satu provinsi penghasil produksi buah-buahan terbesar di Indonesia seperti Mangga, Pisang, Jeruk Siam dan Nanas. Berdasarkan data statistik tanaman buah dan sayuran tahun 2015, provinsi Jawa Timur merupakan provinsi penghasil buah pisang terbesar di Pulau Jawa (BPS, 2015).

2.7 Marka ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*)

Marka molekuler adalah variasi dalam urutan DNA yang lokasinya telah diketahui serta terkait dengan sifat atau gen tertentu sehingga dapat digunakan untuk mengidentifikasi individu atau spesies. Marka molekuler dapat digambarkan sebagai variasi yang mungkin muncul sebagai akibat dari adanya mutasi atau pergantian pada lokus genom yang diamati (Varshney *et al.*, 2007; Al-Samarai & Al-Kazaz, 2015).

Marka molekuler sebagian besar dikategorikan sebagai marka berbasis DNA dan digunakan untuk mendeteksi polimorfisme DNA. Secara garis besar marka molekuler berbasis DNA dikelompokkan menjadi dua kelompok berdasarkan metode pendeteksiannya yaitu marka molekuler berbasis PCR dan non PCR. Marka molekuler berbasis PCR terdiri dari RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), Mikrosatelit SSR dan SNP (Tabel 2.2) (Agrawal & Shrivastava, 2014).

Tabel 2. 2 Karakteristik dari berbagai tipe marka molekuler (Kalia *et al.*, 2011)

Karakteristik	Marka Molekuler		
	SSR	RFLP	RAPD/AFLP/ISSR
Kebutuhan data sekuen	Penting	Tidak Perlu	Tidak Perlu
Tingkat Polimorfisme	Tinggi	Redah	Rendah-Sedang
Sifat Pewarisan	Kodominan	Kodominan	Dominan
Transferabilitas intraspesifik	Rendah-Sedang	Sedang-Tinggi	Rendah-Sedang
Kegunaan dalam <i>marker-assisted selection</i>	Tinggi	Sedang	Rendah-Sedang
Biaya dan tenaga yang diperlukan dalam pengembangannya	Tinggi	Tinggi	Rendah-Sedang

Marka ISSR adalah marka yang berbasis PCR yang melibatkan segmen diantara dua daerah ulangan mikrosatelit yang identik menggunakan primer

berulang yang berorientasi berlawanan arah (Gupta *et al.*, 1994; Wu *et al.*, 1994). Marka ISSR memiliki beberapa kelebihan diantaranya adalah mudah, cepat, biaya yang dikeluarkan lebih murah, jumlah DNA yang dibutuhkan sedikit, tidak dipengaruhi oleh musim dan kondisi lingkungan, mewakili lokus di seluruh genom dan dapat menghasilkan polimorfisme yang lebih tinggi lebih tinggi dari RAPD (Son *et al.*, 2012; Sulassih *et al.*, 2013).

Marka ISSR telah banyak digunakan untuk mempelajari keragaman genetik pada pisang seperti keragaman genetik pisang kultivar di Karnataka India yang menunjukkan perbedaan konstitusi genom dan pola evolusi yang berbeda dari kultivar (Babu *et al.*, 2018); penggunaan marka ISSR pada beberapa hibrida pisang menunjukkan konfirmasi hibridisasi beserta hubungan filogenetik hibrida dengan tetuanya (Das *et al.*, 2018); Marka ISSR dapat membedakan kelompok genom AAA dan AAB pada kultivar pisang di Gujarat, India (Kharadi *et al.*, 2014) serta dapat memisahkan populasi *M. acuminata* (genom A) dari *M. balbisiana* (genom B) di Indonesia (Poerba *et al.*, 2018).

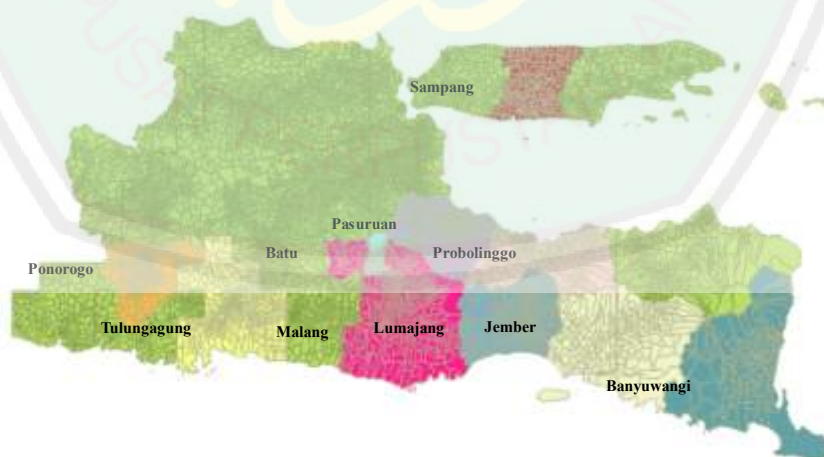
BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksploratif kualitatif yang dilakukan untuk mengetahui keragaman genetik 16 kultivar pisang di Jawa Timur berdasarkan marka molekuler (ISSR).

3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2020 hingga bulan November 2020. Sampel daun pisang diambil dari 10 kabupaten/kota di provinsi Jawa Timur. Isolasi DNA sampel, PCR, elektroforesis, dan analisis data dilakukan di Laboratorium Genetika dan Molekular Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.



Gambar 3. 1 Peta wilayah pengambilan sampel.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah *mortar* dan *pestle*, *freezer*, *waterbath* (Memmert), *vortex*, spektrofotometer (BioRAD), *Gel Doc/UV transiluminator*, tabung eppendorf 1,5 ml, *thermocycler*, mikropipet 0,5-10 μ l, mikropipet 0,5-1000 μ l, *white tip*, *yellow tip*, *blue tip*, mikrotube 0,2 ml, mikrotube 0,5 ml, rak mikrotube, spatula, neraca analitik, cetakan agar, perangkat elektroforesis (BioRAD), *power supply*, gelas ukur 25 ml (IWAKI), Erlenmeyer 100 ml (IWAKI), *microwave*, *spindown* (WEALTEC), *Molecular Imager*[®] *Agar Doc*[™] *XR System BIO-RAD* dan *AE-200 Nano Nucleic Acid Analyzer*.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya adalah daun segar pisang yang masih menggulung (Tabel 3.1), *Wizard Genomic DNA Purification Kit*, agarose, larutan buffer TBE $\frac{1}{2}$ x (*Tris Boric EDTA*), Etidium bromida (Etbr), *loading dye* (Thermo Scientific, California, USA), *nuclease-free water* (Thermo Scientific, California, USA), *DreamTaq Gene PCR Master Mix*, primer ISSR (Tabel 3.2), marker 100bp DNA ladder dan marker 1kb.

Tabel 3. 1 Sampel pisang yang digunakan

No.	Nama Lokal Pisang	Kode Sampel	Grup Genom	Daerah Asal	Keterangan
1	Cici	J1	AAw	Purwodadi, Pasuruan	Outgroup
2	Klutuk Ijo	J2	BBw	Purwodadi, Pasuruan	Outgroup
3	Mas Kripik	J3	AA	Senduro, Lumajang	Ingroup
4	Jambe	J4	AA	Tulungagung, Tulungagung	Ingroup
5	Grito	J5	AA	Krucil, Probolinggo	Ingroup
6	Cebol	J6	AAA	Pasrujambe, Lumajang	Ingroup
7	Kongkong	J7	AAA	Lawang, Malang	Ingroup
8	Kidang	J8	AAA	Kalisat, Jember	Ingroup
9	Candi	J9	AAB	Ambulu, Jember	Ingroup
10	Raja Ketan	J10	AAB	Siman, Ponorogo	Ingroup
11	Raja Temen	J11	AAB	Lawang, Malang	Ingroup
12	Porem	J12	AAB	Purwodadi, Pasuruan	Ingroup
13	Tlekung	J13	ABB	Tlekung, Batu	Ingroup
14	Tajinan	J14	ABB	Glagah, Banyuwangi	Ingroup
15	Sabeh Biru	J15	ABB	Camplong, Sampang	Ingroup
16	Kates	J16	ABB	Nongkojajar, Pasuruan	Ingroup

Tabel 3. 2 Jenis primer yang digunakan (Wahyudi *et al.*, 2020)

No.	Nama Primer	Sequence (5'-3')	MT (°C)	AT(°C)
1	UBC834	AGA GAG AGA GAG AGA GYT	51,6	46,6
2	UBC835	AGA GAG AGA GAG AGA GYC	53,9	48,9
3	UBC843	CTC TCT CTC TCT CTC TRA	51,6	46,6
4	UBC848	CAC ACA CAC ACA CAC ARG	53,9	48,9
5	UBC855	ACA CAC ACA CAC ACA CYT	51,6	46,6

Keterangan: R=A/G;Y=T/C; MT (*Melting Temperature*); AT (*Anealing Temperature*).

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Ekstraksi dan Isolasi DNA

Ekstraksi dan isolasi DNA dilakukan menggunakan *Wizard® Genomic DNA Purification Kit*. Tahap awal yang dilakukan adalah dihaluskan daun pisang segar dengan menambahkan nitrogen cair menggunakan alu dan lumpang hingga daun membentuk serbuk. Selanjutnya 40 mg daun yang telah halus diambil dan dimasukkan kedalam tube 1,5 ml lalu ditambahkan 600 µl nuclei lisis. Larutan kemudian divortex 1-5 detik hingga membentuk suspensi. Selanjutnya suspensi

diinkubasi 15 menit pada suhu 65°C. Tahap berikutnya ditambahkan 3 µL larutan RNase kedalam suspensi, dilanjutkan dengan membolak-balik tube sebanyak 2-5 kali hingga suspensi tercampur secara merata. Suspensi yang telah tercampur rata kemudian diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C dan didiamkan 5 menit pada suhu ruang.

Tahap presipitasi dilakukan dengan cara menambahkan 200 µL *protein precipitation solution* kedalam tabung, lalu larutan divortex selama 20 detik. Untuk memisahkan molekul berdasarkan berat molekulnya, larutan disentrifuge pada kecepatan 13.000 hingga 16.000 rpm selama 30 menit. Langkah berikutnya diambil supernatant dari dalam tabung dan dipindahkan ke tabung baru lalu ditambahkan 600 µL isopropanol DNA. Campuran antara DNA dan isopropanol dihomogenkan dengan membolak-balikkan tube secara perlahan. Setelah homogen, larutan disentrifuge kembali pada kecepatan 13.000 hingga 16.000 rpm selama 1 menit dengan suhu ruang.

Tahap purifikasi DNA dilakukan dengan cara mengambil bagian pellet hasil sentrifugasi DNA dan isopropanol. Selanjutnya ditambahkan ethanol 70% sebanyak 600 µL (suhu ruang), lalu dibolak-balik secara perlahan beberapa kali untuk mencuci DNA pada sampel. Larutan selanjutnya disentrifuge kembali pada kecepatan 13.000 hingga 16.000 rpm selama 1 menit dalam suhu ruang untuk memisahkan larutan. Langkah berikutnya diambil supernatant dengan mikropipet dan di buang lakukan secara hati-hati. Pellet yang telah bersih dari supernatant lalu dikering-anginkan selama 15 menit. Selanjutnya ditambahkan DNA *Rehydration Solution* sebanyak 100 µL dan dihomogenkan dengan membolak-

balik tube. Tahapan isolasi yang terakhir yaitu inkubasi larutan DNA selama 1 jam pada suhu 65 °C. Untuk penyimpanan sampel, diletakkan sampel pada lemari pendingindengan suhu 4 °C agar dapat digunakan dalam kurun waktu yang lama.

3.4.2 Uji Kualitas DNA

Hasil isolasi DNA selanjutnya diuji secara kuantitatif dengan menggunakan NanoDrop[®] Spectrophotometer ND-1000. *Template* DNA diambil 1 µL dan dibaca pada panjang gelombang 260 dan 280 nm. Tingkat kemurnian DNA dikatakan bagus apabila nilai OD (*Optical Density*) 260/280 nm yang diperoleh diantara 1,8-2,0 (Azmat *et al.*, 2012).

3.4.3 Amplifikasi DNA dan Visualisasi

Langkah awal dalam amplifikasi DNA dilakukan yaitu dengan membuat koktail pada tube PCR dengan volume total 10 µL yang terdiri dari 1 µL sampel DNA, 3 µL *nuclease free water*, 1 µL 10 pmol primer, dan 5 µL DreamTaq DNA polymerase. Protokol siklus thermal yang digunakan yaitu 40 siklus amplifikasi. Denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, kemudian *annealing* suhu sesuai dengan tabel primer ISSR (Tabel 3.2) selama 45 detik dan ekstensi pada suhu 72°C selama 2 menit. Produk hasil amplifikasi selanjutnya dianalisis menggunakan elektroforesis dalam gel agarose 2%, dengan pewarna etidium bromida (Etbr). Elektroforesis dilakukan pada tegangan 80 V selama 30 menit dan gel hasil elektroforesis divisualisasikan menggunakan UV transilluminator.

3.5 Analisis Data

3.5.1 Skoring Data

Pemberian nilai pada pita DNA hasil amplifikasi bertujuan untuk memperkirakan tingkat polimorfisme. Cara pemberian nilainya yaitu skor “1” untuk pita DNA yang muncul dan nilai “0” untuk pita DNA yang tidak muncul (Isaza *et al.*, 2012).

3.5.2 Analisis Keragaman Genetik

Hasil skoring yang berupa data biner selanjutnya dianalisis keragaman genetiknya menggunakan *software* GenAlEx 6.5 (Peakall & Smouse, 2012). Parameter yang hitung meliputi jumlah alel yang diamati (n_a), jumlah alel efektif (n_e), rata-rata heterozigositas yang diharapkan dalam setiap populasi (H_e), dan indeks informasi Shannon (I) sebagai ukuran keragaman gen dan persentase pita polimorfik ($P\%$) (Resmi *et al.*, 2016). Keragaman genetik dapat ditentukan dengan melihat nilai rata-rata heterozigositas yang diharapkan (H_e), dimana nilai keragaman genetik maksimumnya adalah 0,5 (Weising *et al.*, 2005).

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

Analisis *clustering* dan PCoA didapatkan dari analisis hasil skoring pita DNA menggunakan program Palaeontological Statistics (PAST) 3.0 (Hammer, 2001). Analisis ini dilakukan untuk mengetahui pengelompokan dan nilai similaritas diantara kultivar pisang. Analisis similaritas dan *clustering* dilakukan menggunakan metode *Unweighted Paired Group Method Arithmetic* dengan

koefisien persamaan Jaccard (Jaccard, 1901):

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

Keterangan:

S_{jac} = indeks similaritas

P_i = skor 1 (muncul *band*)

Q_i = skor 0 (tidak muncul *band*)

3.5.4 Analisis Kekuatan Primer

Analisis untuk menentukan primer yang paling efisien dalam amplifikasi dapat dilihat melalui beberapa parameter, diantaranya *Polymorphic Information Content* (PIC), *Marker Indeks* (MI), *Resolving Power* (RP), dan *Effective Multiplex Ratio* (EMR) (Laurentin dan Karlovsky, 2007). *Polymorphic Information Content* (PIC) digunakan sebagai standar untuk mengevaluasi hasil amplifikasi PCR berdasarkan pita DNA. Nilai PIC berkisar antara 0-0.5, dimana semakin tinggi nilai PIC maka primer tersebut makin baik untuk mengetahui adanya variasi genetik. Rumus untuk menghitung nilai PIC adalah sebagai berikut (Roldan-Ruiz, 2000):

$$PIC_i = 2f(1 - f) \quad (1)$$

Keterangan:

f = frekuensi pita DNA yang muncul

$1-f$ = frekuensi pita DNA yang tidak muncul

Effective multiplex ratio (EMR) adalah parameter yang digunakan untuk menghitung total pita DNA yang muncul pada setiap primer dan jumlah pita DNA polimorfik. Rumus untuk menghitung nilai EMR adalah sebagai berikut (Medhi, *et al.*, 2014).

$$EMR = np \binom{np}{n} \quad (2)$$

Keterangan:

n = produk dari total jumlah pita DNA yang muncul pada setiap primer

np = jumlah pita DNA polimorfik

Marker indeks (MI) digunakan untuk mengetahui indeks primer dalam menghasilkan pita DNA polimorfik. Rumus yang digunakan untuk memperoleh nilai MI adalah sebagai berikut (Varshney, 2007):

$$MI = PIC \times EMR$$

Resolving power digunakan untuk menunjukkan kemampuan primer yang paling informatif dalam membedakan pita DNA antar genotip (Prevost dan Wilkinson, 1999). *Resolving power* (RP) dihitung pada masing-masing primer dapat dihitung menggunakan rumus:

$$I_b = 1 - [2 \times (0,5 - P)]$$

P = nilai proporsi dari 10 genotip yang mengandung pita DNA (McGregor *et al.*, 2000).

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Analisis Keragaman Genetik

Parameter yang dapat digunakan dalam mendeteksi keragaman genetik dalam populasi diantaranya adalah persentase lokus polimorfik (P%), jumlah alel yang diamati (n_a), jumlah alel efektif (n_e) dan nilai heterozigositas (H_e) Resmi *et al.*, (2016). Hasil analisis 16 kultivar pisang menunjukkan rata-rata jumlah alel yang diamati (n_a) adalah 2,0 dan jumlah alel efektif 1,73. Adapun nilai heterozigositas (H_e) pada total populasi pisang di Jawa Timur sebesar 0,413 dan persen lokus polimorfis (P%) pada populasi pisang dalam penelitian mencapai 100%. Nilai heterozigositas digunakan untuk mengukur tingkat keragaman genetik suatu populasi. Selain dari nilai heterozigositas, keragaman genetik juga dapat diketahui berdasarkan persentase lokus polimorfik. Menurut Ajambang *et al.* (2012), semakin tinggi persentase lokus polimorfik maka semakin tinggi pula tingkat heterozigositasnya. Berdasarkan hasil analisis keragaman genetik, 16 kultivar pisang memiliki keragaman yang tergolong tinggi. Menurut Weising *et al.*, (2005), marka dominan seperti ISSR memiliki nilai H_e maksimum adalah 0,5.

Tabel 4.1 Hasil analisis keragaman genetik 16 kultivar pisang (lampiran 3)

Variabel	Mean
n_a^*	2.0 ± 0.00
n_e^*	1.73 ± 0.05
I^*	0.60 ± 0.02
H_e^*	0.41 ± 0.02
P%	100%

Keterangan: n_a^* = jumlah alel yang diamati; n_e^* = jumlah alel efektif; I^* = indeks informasi Shannon; H_e^* = Indeks keragaman genetik Nei; P% = persentase lokus polimorfik.

Tabel 4. 2 Hasil analisis keragaman genetik kultivar pisang berdasarkan kelompok genom

Variabel	Genom AA	Genom AAA	Genom AAB	Genom ABB
na*	1.13 ± 0.15	0.94 ± 0.12	1.60 ± 0.13	1.63 ± 0.14
ne*	1.42 ± 0.09	1.13 ± 0.05	1.70 ± 0.08	1.72 ± 0.07
I*	0.30 ± 0.06	0.11 ± 0.04	0.50 ± 0.06	0.53 ± 0.05
He*	0.21 ± 0.04	0.07 ± 0.03	0.35 ± 0.04	0.38 ± 0.03
P%	43.75%	18.75%	71.88%	81.25%

Keterangan: na* = jumlah alel yang diamati; ne* = jumlah alel efektif; I* = indeks informasi Shannon; He* = Indeks keragaman genetik Nei; P% = persentase lokus plimorfik.

Hasil analisis keragaman genetik berdasarkan kelompok genomnya, kelompok genom ABB menunjukkan keragaman genetik tertinggi diikuti oleh genom AAB dilihat dari nilai heterozigositasnya. Sedangkan pisang dengan kelompok genom AAA merupakan kelompok pisang yang paling kurang beragam. Dilihat dari jumlah alel yang diamati (na), jumlah alel efektif (ne) dan persentase lokus polimorfik (P%) tertinggi terdapat pada kelompok genom ABB (Tabel 4.2). Tingkat keragaman genetik yang tinggi pada genom ABB mungkin disebabkan karena pisang bergenom ABB memiliki sifat yang diturunkan dari kedua tetuanya yaitu *Musa acuminata* dan *Musa balbisiana* sehingga sifatnya juga akan semakin bervariasi. Hasil analisis keragaman genetik berdasarkan kelompok genomnya memiliki hasil yang berbeda dengan penelitian Resmi *et al.*, (2016) dimana pisang bergenom AA yang memiliki nilai keragaman tertinggi. Hasil penelitian Hippolyte *et al* (2012) diketahui bahwa terdapat keragaman yang lebih besar pada genom B dari hibrida interspesifik, seperti ABB, daripada BB.

Keragaman genetik dalam populasi dianggap sangat penting untuk adaptasi terhadap lingkungan yang berubah dan untuk kelangsungan hidup suatu spesies

dalam jangka panjang. Populasi yang seragam secara genetik lebih rentan terhadap penyakit dan patogen dan lebih mungkin punah akibat adanya penyebaran satu penyakit yang merusak (Resmi *et al.*, 2016). Selain itu, estimasi keragaman genetik dan hubungan genetik antara berbagai aksesori liar dan kultivar akan membantu mengembangkan pendekatan baru untuk pemuliaan dan membantu strategi konservasi jangka panjang.

4.2 Analisis Pengelompokan berdasarkan Genom

Analisis pengelompokan pisang terdiri atas beberapa bagian yaitu analisis koefisien similaritas, *clustering* dan *principal coordinate analysis*. Hasil analisis koefisien similaritas pada 16 kultivar pisang berdasarkan hasil skoring fragmen pita DNA, dimana total pita yang dihasilkan dari 5 primer ISSR yang digunakan adalah 258 pita dengan rata-rata pita yang dihasilkan tiap primer adalah 51,6. Panjang amplicon pita DNA yang dihasilkan berkisar antara 250 bp hingga 2000 bp dan dari keseluruhan pita yang dihasilkan, semua pita merupakan pita polimorfik. Pita polimorfik merupakan pita DNA yang hanya dimiliki oleh sebagian sampel saja dan tidak ditemukan pada sampel lain. Adanya pita polimorfik diakibatkan karena tidak terjadinya amplifikasi pada suatu lokus akibat dari perbedaan susunan basa pada sampel DNA (Sulistiyawati & Widyatmoko, 2017).

Nilai koefisien similaritas 16 kultivar pisang berkisar antara 0 hingga 0,96 (Tabel 4.3). Nilai koefisien similaritas tertinggi terdapat pada sampel pisang Candi (J9) dengan pisang Raja Ketan (J10). Sedangkan sampel pisang dengan nilai

koefisien similaritas terendah terdapat pada sampel pisang Cici (J1) dengan pisang Klutuk Ijo (J2). Nilai koefisien similaritas yang nilainya mendekati 1 artinya kultivar tersebut semakin berkerabat dekat. Menurut Pratiwi (2012), nilai koefisien similaritas yang semakin mendekati 1 menandakan kultivar tersebut semakin dekat secara genetik.

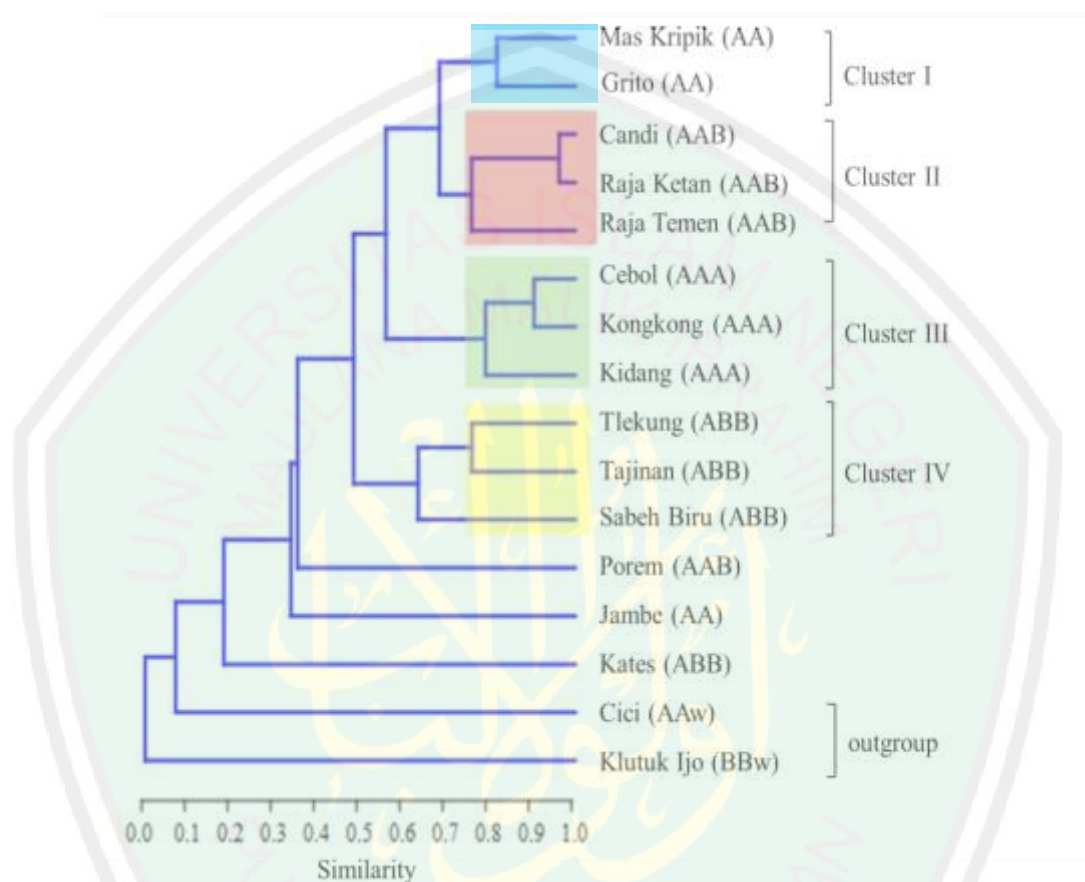
Tabel 4.3 Nilai koefisien similaritas 16 kultivar pisang berdasarkan koefisien similaritas Jaccard

	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10	J11	J12	J13	J14	J15	J16
J1	1															
J2	0	0														
J3	0.11	0	1													
J4	0.08	0	0.36	1												
J5	0.09	0	0.82	0.55	1											
J6	0.05	0	0.46	0.23	0.62	1										
J7	0.05	0	0.41	0.19	0.56	0.90	1									
J8	0.04	0	0.46	0.30	0.61	0.79	0.79	1								
J9	0.08	0	0.63	0.41	0.71	0.59	0.59	0.75	1							
J10	0.07	0	0.67	0.39	0.75	0.62	0.62	0.72	0.96	1						
J11	0.10	0	0.63	0.50	0.72	0.46	0.41	0.52	0.74	0.78	1					
J12	0.00	0	0.20	0.20	0.26	0.33	0.39	0.40	0.41	0.39	0.18	1				
J13	0.08	0	0.45	0.33	0.53	0.47	0.47	0.52	0.67	0.70	0.61	0.38	1			
J14	0.05	0	0.36	0.19	0.45	0.54	0.60	0.59	0.59	0.62	0.52	0.45	0.76	1		
J15	0.05	0	0.29	0.43	0.38	0.27	0.27	0.37	0.52	0.50	0.39	0.50	0.75	0.52	1	
J16	0.14	0	0.26	0.00	0.22	0.30	0.30	0.21	0.19	0.22	0.29	0.00	0.15	0.24	0.0	1

Keterangan: J1 (Pisang Cici); J2 (Pisang Klutuk Ijo); J3 (Pisang Mas Kripik); J4 (Pisang Jambe); J5 (Pisang Grito); J6 (Pisang Cebol); J7 (Pisang Kongkong); J8 (Pisang Kidang); J9 (Pisang Candi); J10 (Pisang Raja Ketan); J11 (Pisang Raja Temen); J12 (Pisang Porem); J13 (Pisang Tlekung); J14 (Pisang Tajinan); J15 (Pisang Sabeh Biru); J16 (Pisang Kates).

Pengelompokan (*clustering*) pada penelitian ini ditentukan berdasarkan nilai minimum similaritas dengan nilai minimum similaritas yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0,67. Apabila nilai similaritas $\geq 0,67$ maka akan

dikelompokkan menjadi satu kelompok. Sedangkan apabila nilai similaritasnya $\leq 0,67$ maka dianggap sebagai kelompok yang berbeda (Gambar 4.1).

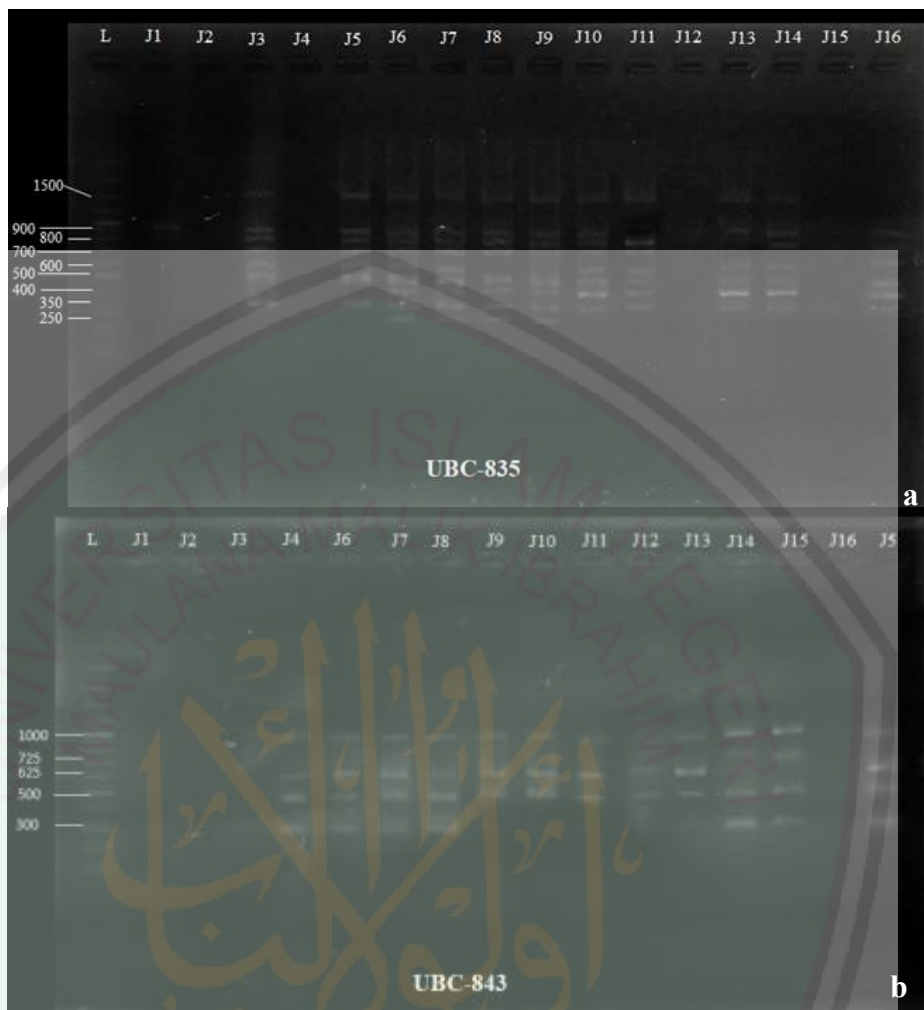


Gambar 4.1 Dendrogram 16 kultivar pisang berdasarkan indeks similaritas Jaccard.

Analisis *clustering* membagi 16 kultivar pisang menjadi 4 *cluster* dengan outgroup berdasarkan kelompok genomnya. *Cluster* I diisi oleh bergenom diploid A yaitu Pisang Mas Kripik dan Pisang Grito dengan koefisien similaritas sebesar 0,82; *cluster* II diisi oleh pisang bergenom AAB yang terdiri dari Pisang Candi, Pisang Raja Ketan dan Pisang Raja Temen dengan nilai koefisien similaritas 0,96 untuk Pisang Candi dan Raja Ketan, 0,74 untuk Pisang Candi dan Raja Temen

serta 0,18 untuk Pisang Raja Ketan dan Raja Temen; *cluster* III diisi oleh pisang bergenom triploid A yaitu Pisang Cebol, Pisang Kongkong dan Pisang Kidang dengan koefisien similaritas sebesar 0,90 untuk Pisang Cebol dan Kongkong, 0,79 untuk Pisang Cebol dan Kidang serta 0,79 untuk Pisang Kongkong dan Kidang.

Cluster IV diisi oleh pisang bergenom ABB yang terdiri dari Pisang Tlekung, Pisang Tajinan dan Pisang Sabehe Biru dengan nilai koefisien similaritas sebesar 0,76 untuk Pisang Tlekung dan Pisang Tajinan, 0,75 untuk Pisang Tlekung dengan Sabehe Biru serta 0,52 untuk Pisang Tajinan dengan Sabehe Biru. Pisang Porem (AAB), Pisang Kates (ABB) dan Pisang Jambe (AA) merupakan pisang yang keluar dari kelompok genomnya. Hal ini disebabkan karena tidak munculnya pita DNA pada beberapa primer (lampiran 2). Oleh karena itu dibutuhkan adanya proses pemilihan primer sehingga dapat diketahui primer mana yang paling cocok dalam mengamplifikasi DNA pisang. Surahman *et al.* (2012), menyatakan bahwa pemilihan primer merupakan hal yang sangat mempengaruhi keberhasilan proses amplifikasi DNA target. Jika primer yang digunakan tidak sesuai dengan sekuens nukleotida target, maka tidak akan terjadi proses penggandaan oleh enzim taq-polimerase sehingga amplifikasi tidak dapat terjadi jika primer yang digunakan tidak komplementer dengan susunan nukleotida target.



Gambar 4.2 Visualisasi hasil amplifikasi 16 kultivar pisang menggunakan primer (a) UBC-835 dan (b) UBC-843. Keterangan: J1 (Pisang Cici), J2 (Pisang Klutuk Ijo); J3 (Pisang Mas Kripik), J4 (Pisangng Jambe), J5 (Pisang Grito), J6 (Pisang Cebol), J7 (Pisang Kongkong), J8 (Pisang Kidang), J9 (Pisang Candi), J10 (Pisang Raja Ketan), J11 (Pisang Raja Temen), J12 (Pisang Porem), J13 (Pisang Tlekung), J14 (Pisang Tajinan), J15 (Pisang Sabeh Biru), J16 (Pisang Kates), L (marker 100 bp).

Pemilihan primer dapat ditentukan dengan melihat parameter seperti nilai *Polymorphic Information Content*, *Effective Multiplex Ratio*, *Marker Index* dan *Resolving Power* (Chesnokov & Artemyeva, 2015; Laurentin & Karlovsky, 2007). Hasil pemilihan primer didapatkan bahwa primer UBC-835 merupakan primer

yang paling cocok untuk mengamplifikasi 16 kultivar pisang (Tabel 4.4). Hal ini berbeda dengan Wahyudi (2020), dimana primer ISSR terbaik yang digunakan dalam amplifikasi 16 kultivar pisang di pulau Jawa adalah UBC-843.

Penyebab lain yang dapat mengakibatkan tidak adanya amplifikasi pada produk PCR adalah perlakuan pada suhu aneling. Suhu aneling yang tidak sesuai dengan primer yang digunakan menyebabkan tidak terjadinya proses penempalan primer. Suryanto (2003), menyatakan bahwa suhu sangat berpengaruh terhadap keberhasilan proses amplifikasi DNA.

Tabel 4.4 Analisis polimorfisme hasil amplifikasi 16 kultivar pisang di Jawa Timur menggunakan marka ISSR

No.	Primer	TNB	NPB	PB (%)	PIC	EMR	MI	RP
1.	UBC-834	7	7	100	0.45	49	21.98	6.25
2.	UBC-835	9	9	100	0.46	81	37.34	19.4
3.	UBC-843	5	5	100	0.40	25	9.92	5.5
4.	UBC-848	4	4	100	0.43	16	6.88	4.75
5.	UBC-855	7	7	100	0.45	49	21.88	7
Total		32	32	500	2.18	220	97.99	42.88
Rata-rata		6.4	6.4	100	0.44	44	19.6	8.58

Keterangan: TNB (*Total Number of Bands*), NPB (*Number of Polymorphic Bands*), PB (*Polymorphic Band Percentage*), PIC (*Polymorphic Information Content*), EMR (*Effective Multiplex Ratio*), MI (*Marker Index*), RP (*Resolving Power*).

Faktor lain yang dapat menyebabkan terjadinya kegagalan pada saat proses amplifikasi yaitu tingkat kemurniaan DNA. Weishing *et al.* (2005), menjelaskan bahwa jika DNA yang akan diperbanyak tidak murni akan menyebabkan gangguan pada saat proses penempelan primer dan hal tersebut juga akan dapat menyebabkan terganggunya aktifitas enzim polimerase. Hasil nilai kemurnian dari Pisang Jambe, Pisang Kates dan Pisang Porem menunjukkan bahwa ketiga

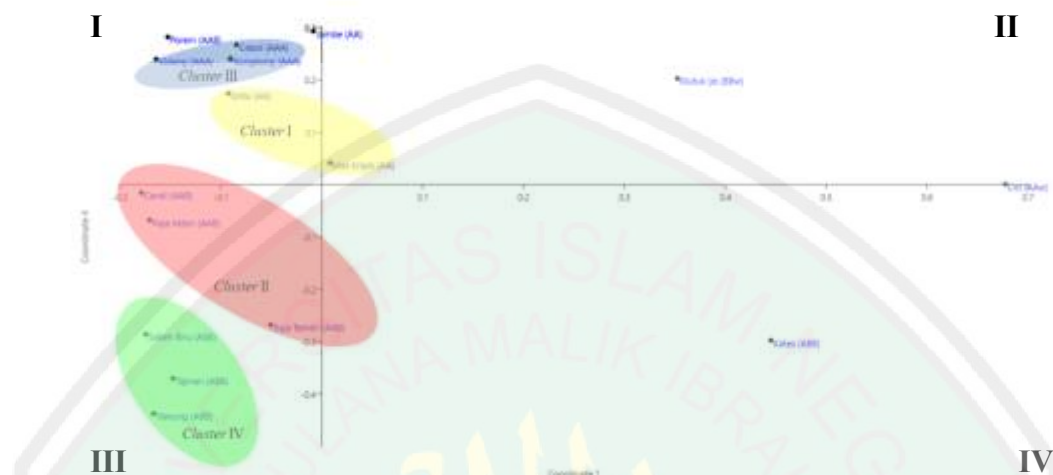
sampel teridentifikasi terkontaminasi protein dengan nilai kemurnian ≤ 1.8 (Tabel 4.5). Selain faktor yang telah disebutkan *human error* juga menjadi salah satu penyebab tidak terjadinya amplifikasi sehingga tidak munculnya pita DNA.

Tabel 4. 5 Hasil uji kuantitatif ekstraksi DNA16 kultivar pisang

No.	Nama Lokal Pisang	Kode Sampel	Kemurnian (A260/A280)	Konsentrasi (ng/ μ l)
1.	Cici	J1	1.70	90.8
2.	Klutuk Ijo	J2	1.53	70.9
3.	Mas Kripik	J3	1.70	135.0
4.	Jambe	J4	1.73	63.1
5.	Grito	J5	1.34	41.4
6.	Cebol	J6	1.70	125.0
7.	Kongkong	J7	1.87	286.0
8.	Kidang	J8	1.77	206.0
9.	Candi	J9	2.14	252.0
10.	Raja Ketan	J10	1.81	114.0
11.	Raja Temen	J11	1.76	201.0
12.	Porem	J12	1.42	46.9
13.	Tlekung	J13	1.48	42.9
14.	Tajinan	J14	1.73	148.0
15.	Sabeh Biru	J15	1.83	112.0
16.	Kates	J16	1.72	156.0

Hasil analisis *clustering* kemudian dilanjutkan dengan analisis PCoA (*Principal Coordinate Analysis*) berdasarkan dua koordinat utama yang menunjukkan persebaran plot tiap individu. Analisis PCoA dilakukan untuk melihat apakah pengelompokkan sudah sesuai dengan nilai indeks koefisien similaritas Jaccard. Analisis PCoA yang dilakukan berdasarkan titik koordinat 1 dan 4. Pengelompokan 16 kultivar pisang berdasarkan titik koordinat 1 dan 4 menunjukkan bahwa 16 kultivar pisang menyebar pada keempat kuadran.. Hasil analisis PCoA menunjukkan bahwa semua sampel telah mengelompok sesuai

dengan nilai koefisien similaritasnya (Gambar 4.1).



Gambar 4.3 Pengelompokan 16 kultivar pisang berdasarkan *Principal coordinate Analysis (PCoA)*.

Terbentuknya pengelompokan 16 kultivar pisang ini merupakan suatu bentuk keteraturan yang dapat diketahui dari informasi genetik dimana informasi genetik ini akan diturunkan pada keturunannya. Hal tersebut telah dijelaskan dalam Al-Qamar ayat 49, sebagai berikut:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ

Artinya: “*Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran*” (Q.S Al-Qamar (54): 49).

Berdasarkan tafsir Ibnu Katsir, Allah SWT telah menetapkan dan menciptakan segala sesuatu sesuai ukurannya dan memberi petunjuk ketetapan itu kepada makhluk-Nya. Dari adanya ketetapan itu dapat diketahui bahwasanya Allah SWT telah menetapkan takdir bagi semua makhluk bahkan sebelum

mahluk itu diciptakan (Katsir, 2004). Ketetapan inilah yang menjadikan 16 kultivar pisang tersebut dapat dikelompokkan sesuai dengan kelompoknya.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penanda ISSR dapat digunakan untuk menentukan keragaman genetik pisang serta membedakan 16 kultivar pisang berdasarkan kelompok genomnya. Hasil penelitian ini juga dapat memberikan wawasan tentang hubungan genetik diantara 16 kultivar pisang di Jawa Timur, sehingga dapat membantu program konservasi dan pemuliaan pisang.



BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini yaitu:

1. Tingkat keragaman genetik pada 16 kultivar pisang di Jawa Timur tergolong tinggi dengan nilai heterozigositas 0,41 dan persentase pita polimorfik yang mencapai 100%, sedangkan berdasarkan kelompok genomnya pisang dengan kelompok genom ABB memiliki keragaman tertinggi dan pisang dengan kelompok genom AAA merupakan kelompok genom dengan keragaman terendah.
2. Berdasarkan marka ISSR, 16 kultivar pisang di Jawa Timur pengelompokan pisang terbagi menjadi 4 *cluster* sesuai dengan genomnya, dimana *cluster* I terdiri atas pisang dengan genom AA; *cluster* II terdiri atas pisang bergenom AAB; *cluster* III terdiri atas pisang bergenom AAA dan *cluster* IV terdiri atas pisang bergenom ABB.

5.2 Saran

Saran dalam penelitian ini adalah perlu ditambahkan jumlah sampel dari populasi yang berbeda sehingga bisa diketahui lebih spesifik keragaman pisang dilihat dari genomnya, selain itu data keragaman genetik mengenai kultvar pisang yang lebih banyak diharapkan dapat bermanfaat dalam program pemuliaan dasar tetapi juga dalam pengelolaan dan konservasi pisang.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal, P. K & R. Shrivastava. 2014. Molecular markers. *Biotechnol. Adv.* 1(1).
- Ajambang, W., Sudarsono, D. Asmono, N. Toruan. 2012. Microsatellite markers reveal Cameroon's wild oil palm population as a possible solution to broaden the genetic base in the Indonesia-Malaysia oil palm breeding programs. *Afr. J. Biotechnol.* 11:13244- 13249.
- Al-Imam A. F. I. I. K. 2007. **Terjemah tafsir Ibnu Katsir juz 27**. Bandung: Sinar Baru al-Gensindo.
- Al-Maraghi, A., M. 1993. **Tafsir Al-Maraghi**. Terjemahan Anshori Umar Sitanggal dkk. Semarang. Toha Putra Press.
- Al-Samarai, F. R & A.A. Al-Kazaz. 2015. Molecular markers: an introduction and applications. *Eur. J. Mol. Biotechnol.* 9(3):118-130.
- Ashari. 1995. **Hortikultura aspek budidaya**. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Azizah, A. 2009. Perbandingan pola pita amplifikasi DNA daun, bunga dan buah kelapa sawit normal dan abnormal. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. *Skripsi*.
- Azmat, M.A., I.A. Khan, H.M.N. Cheema, I.A. Rajwana, A.S. Khan and A.A. Khan. 2012. Extraction of DNA suitable for PCR applications from mature leaves of *Mangifera indica* L. *J. Zhejiang Univ-Sci.* 13(4):239-243.
- Babu, A.G., G. Prabhuling, R.S. Karani, D. Satish, R.K. Patil, S.R. Mulla, Raghavendra G & Jagadeesha R.C. 2018. Genetic diversity analysis among banana cultivars through ISSR markers. *J. Pharmacogn. Phytochem.* 7(6):1576-1580.
- Backer, C. A. & R.C.B.V.D. Brink. 1968. **Flora of Java (Spermatophytes only)**. Wolters-Noordhoof. V.-Groningen. Belanda.
- Boonsrangsom, T., B. Phetnin, K. Ratanasut & K. Sujipuli. (2020). Assessment of Genetic Diversity among Musa Cultivars based on Sequence-Related Amplified Polymorphism Technique. *Naresuan University Journal: Science and Technology (NUJST)*. 28(2):52-61.
- [BPS] Badan Pusat Statistik. 2015. Data produksi hortikultura basis data pertanian. <http://www.bps.go.id/>. Diakses pada tanggal 12 Maret 2020.
- Brown W. L. 1983. Genetic diversity and genetic vulnerability – an appraisal. *Econ. Bot.* 37(1):4-12
- Brown, N., S. Venkatasamy, G. Khittoo, T. Bahorun & S. Jawaheer. 2009. Evaluation of genetic diversity between 27 banana cultivars (*Musa* spp.) in Mauritius using RAPD markers. *African J. Biotech.* 8:1834-1840.
- Cahyono, B. 1996. **Pisang usaha tani dan penanganan pascapanen**. Kanisius. Yogyakarta.
- Cahyono, B. 2002. **Pisang usaha tani dan penanganan pascapanen**. Kanisius. Yogyakarta.
- Cheesman, E.E. 1947. Classification of the bananas. Chapter II. The genus *Musa*

- L. Kew Bulletin*. 2:106-117.
- Chesnokov, Yu & A. Artem'eva. 2015. Evaluation of the measure of polymorphism. *Sel'skokhozyaistvennaya Biol.* 50: 571-578.
- Crouch, J. H., D. Vuylsteke & R. Ortiz. 1998. Perspectives on the application of biotechnology to assist the genetic enhancement of plantain and banana (*Musa* spp.). *Electron J. Biotechnol.* 1:1-8.
- Dasuki, U. A. 1991. **Sistematik tumbuhan tinggi**. Pusat Antar Universitas Bidang Ilmu Hayati ITB. Bandung.
- Das, S. C., T.N. Balamohan, K. Poornima & I. Van Den Berg. 2018. Evaluation of genetic diversity in some banana hybrids using ISSR markers. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 7(1):146-157.
- De Jesus O.N, E. de Oliveira e Silva, E.P. Amorim, C.F. Ferreira, J.M.S. de Campos, G. de Gaspari Silva & A. Figueira. 2013. Genetic diversity and population structure of *Musa* accessions in ex-situ conservation. *BMC Plant Biology* 13(41):1-22.
- De Langhe, E., L. Vrydaghs, P. de Maret, X. Perrier & T. Denham. 2009. Why bananas matter: An introduction to the history of banana domestication. *Ethnobot. Res. Appl.* 7:165-177.
- De Langhe, E. 2009. Relevance of banana seeds in archaeology. *Ethnobot. Res. Appl.* 7:271-281.
- Espino, R.R.C., S.H. Jamaludin, B. Silayoi & R.E. Nasution. 1992. **Musa L. (edible cultivars)**. Prosea Foundation. Bogor.
- Gupta, M., Y.S. Chyi, J.R. Severson, J.L. Owen. 1994. Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theoret. Appl. Genetics.* 89:998-1006.
- Gusmiati, L. H., L. Hapsari & D. Wahyudi. 2018. Keberagaman dan pengelompokan morfologi 10 pisang olahan (*Musa* cv. Grup ABB) koleksi Kebun Raya Purwodadi – LIPI. *Floribunda* 5(8):299-314.
- Hammer, O., D.A.T. Harper & P.D. Ryan. 2001. PAST: Palentological Statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* (1):1-9.
- Häkkinen, M. & H. Väre. 2008. Taxonomic history and identity of *Musa dasycarpa*, *M. velutina* and *M. assamica* (*Musaceae*) in Southeast Asia. *J. Systematics Evolution* 46(2): 230-235.
- Hapsari, L., A. Masrum & D.A. Lestari. 2013. **Laporan eksplorasi dan inventarisasi keragaman pisang (Musaceae) di wilayah Kabupaten Banyuwangi, Jember dan Lumajang**. UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi-LIPI. Pasuruan.
- Hapsari, L., A. Masrum & D.A. Lestari. 2015a. **Album koleksi pisang kebun raya purwodadi seri I: 2010-2015**. UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi-LIPI. Pasuruan.
- Hapsari, L., A. Masrum & D.A. Lestari. 2015b. Diversity of bananas (*Musa* spp.) in Madura island, East Java: exploration and inventory. *J Biodivers Environ Sci.* 6(3):256-264.
- Hapsari, L. & D.A. Lestari. 2016. Fruit characteristic and nutrient values of four Indonesian banana cultivars (*Musa* spp.) at different genomic groups. *J.*

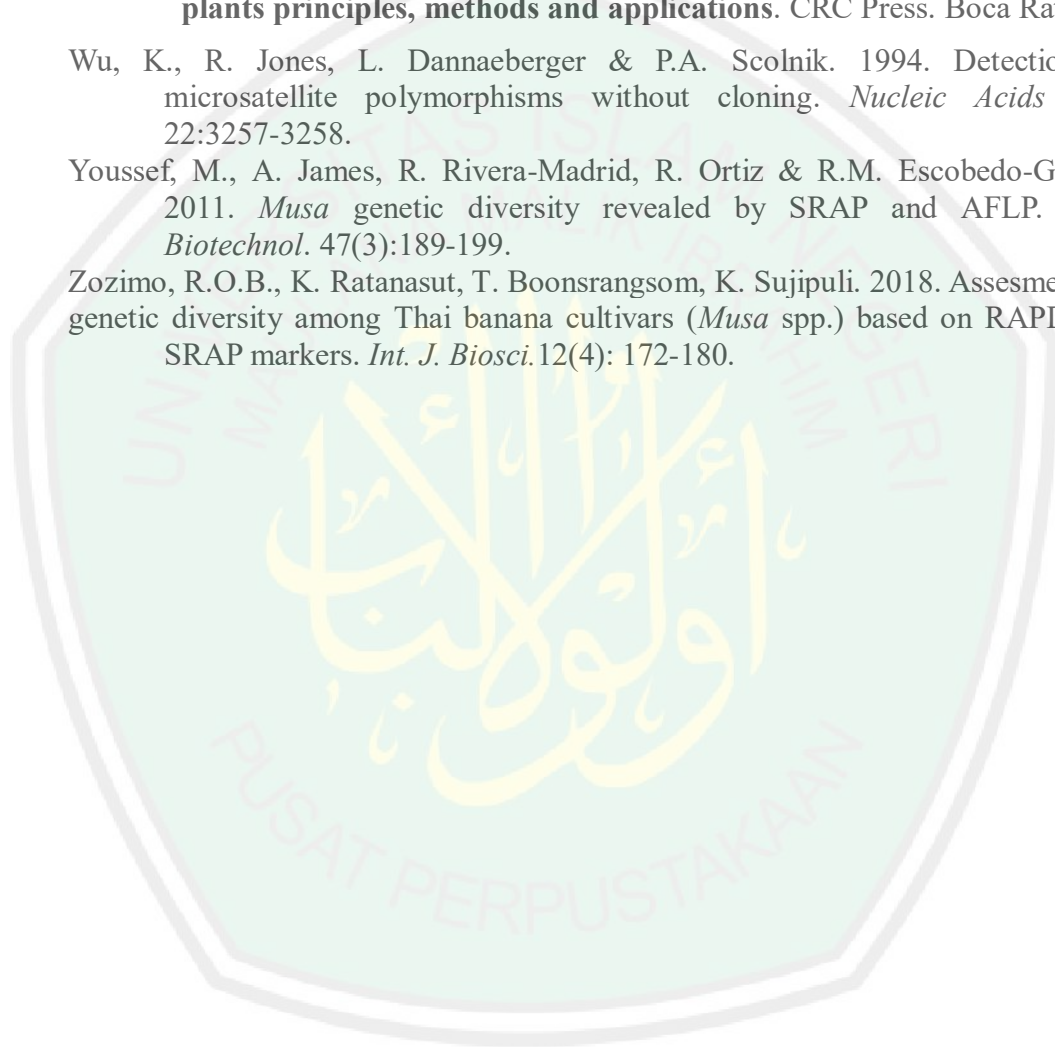
- Agric. Sci.* 38(3):303-311.
- Hippolyte I, C. Jenny, L. Gardes, F. Bakry, R. Rivallan, V. Pomies, P. Cubry, K. Tomekpe, A. M. Risterucci, N. Roux, M. Rouard, E. Arnaud, M. Kolesnikova-Allen & X. Perrier. 2012. Foundation characteristics of edible *Musa* triploids revealed from allelic distribution of SSR markers. *Ann. Bot.* 109:937-951.
- Hobhouse, H., S., Knapp and M., Lowndes. 2004. *Seeds of Trade*. <http://www.nhm.ac.uk/nature-online/life/plants-fungi/seeds-of-trade/>. Diakses tanggal 12 Maret 2020.
- INIBAP (International Network for the Improvement of Banana and Plantain). 2006. **Global conservation strategy for *Musa* (banana and plantain)**. A consultative document prepared by INIBAP with the collaboration of numerous partners in the *Musa* research and development community. International Network for the Improvement of Banana and Plantain. Montpellier.
- IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute). 1996. **Descriptors for banana (*Musa* spp)**. International Plant Genetic, Resources Institute Rome Monllier. Perancis.
- Isaza, L., M. L. Marulanda & A. M. Lopez. 2012. Genetic diversity and molecular characterization of several *Heliconia* species in Colombia. *Genet. Mol. Res.* 11(4):4552-4563.
- Jaccard, P. 1901. Étude comparative de la distribution florale dans une portion des Alpes et des Jura. *Bull. Soc. vaud. sci. nat.* 37(1901):547-579.
- Jameela, H., A. N. Sugiharto & A. Soegianto. 2014. Keragaman genetik dan heritabilitas karakter komponen hasil pada populasi F₂ buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) Hasil persilangan varietas introduksi dengan varietas lokal. *Jurnal Produksi Tanaman* 2(4):324-329.
- Karamura, D., E. Karamura & G. Blomme. 2011. **General plant morphology of *Musa***. Chapman and Hall. London.
- Kharadi, A., S. Chaudhary, M. Pandey, A. Chaudhary, M.C. Sharma & S.K. Chikara. 2014. Analysis of genetic diversity among banana cultivars prevalent in Gujarat region of India using ISSR markers. *Indian J. Res. Pharm. Biotechnol.* 2(2):14-20.
- Kementrian Pertanian. 2016. Outlook komoditas pertanian sub sector hortikultura. <http://www.epublikasi.setjen.pertanian.go.id/arsip-outlook/76-outlook-hortikultura/424-outlook-pisang-2016>. Diakses tanggal 12 Maret 2020.
- Kiran, U., S. K. Moahnty, P. S. Roy, L. Behera & P. K. Chand. 2015. Genetic diversity among banana cultivars from Odisha using RAPD markers. *Sci. Res. Repot.* 5(2):118-124.
- Kress, W., J. 1990. The phylogeny and classification of *Zingiberales*. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 77(4):698-721.
- Lakshmanan, V., B. Neelwarne & Sreedhar. 2007. Micropropagation in banana using high levels of cytokinins does not involve any genetic changes as revealed by RAPD and ISSR markers. *Plant Growth Regul.* 51:193-205.
- Laurentin, H.E. & P. Karlovsky. 2006. Genetic relationship and diversity in a sesame (*Sesamum indicum* L.) germplasm collection using amplified

- fragment length polymorphism (AFLP). *BMC Genetics*. 7(10):1-10.
- Liu, A.Z., W.J. Kress & D.Z. Li. 2010. Phylogenetic analysis of the banana family (Musaceae) based on nuclear ribosomal (ITS) and chloroplast (*trnL-F*) evidence. *Taxon*. 59 (1):20-28.
- Lu, Y., X. Zhang, J. Pu, Y. Qi & Y. Xie. 2011. Molecular assessment of genetic stability in banana cultivars (*Musa* spp.) from China using ISSR markers. *Aust. J. Crop Sci.* 5(1):25-31.
- McGregor, C.F., C.A. Lambert, M.M. Greyling, J.H. Louw & L. Warnich. 2000. A comparative assessment of DNA fingerprinting techniques (RAPD, ISSR, AFLP and SSR) in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.) germplasm. *Euphytica* 113 (2):135-144.
- Medhi, K., D. K. Sarmah, M. Deka & B. S. Bhau. 2014. High gene flow and genetic diversity in three economically important *Zanthoxylum* spp. of upper Brahmaputra valley zone of NE India using molecular markers. *Meta Gen.* 2:706-721.
- Millah, M.I., N.A. Habibah, E. Suwarni & A. Retnoningsih. 2012. Analisis keragaman genetika dan diferensiasi Jati Jawa dan Madura berdasarkan marka mikrosatelit untuk mendukung fingerprinting Jati. *Biosantifika* 4(2):113-120.
- Mondal, T.K. 2002. Assessment of genetic diversity of tea (*Camellia sinensis* L. Kuntze) by inter-sequence repeated polymerase reaction. *Euphytica* 128:307-315.
- Mujiyo, H. Widdijanto, A. Herawati, F. Rochman & R. Rafirman. 2017. Potensi lahan untuk budidaya pisang di kecamatan Jenawi Karanganyar. *J. Sustain. Agric.* 32(2): 142-148.
- Nasution, R. E. 1991. A taxonomic study of the species *Musa acuminata* Colla with its intraspecific taxa in Indonesia. *Memoirs of Tokyo University of Agriculture* 32:1-122.
- Nasution, R. E. & I. Yamada. 2001. **Pisang-pisang liar di Indonesia**. Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi-LIPI. Balai Penelitian Botani, Herbarium Bogoriense. Bogor.
- Probojati, R.T., D. Wahyudi & L. Hapsari. 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(2):42-53.
- Peakall, R. & P. E., Smouse. 2012. GenAIEx 6.5: Genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* 28(19):2537-2539.
- Poerba, Y.S., D. Martanti. & F. Ahmad. 2018. Genetic variation of wild *Musa acuminata* Colla from Indonesia based on RAPD and ISSR markers. *HAYATI*. 26 (2):1-18.
- Pratiwi, Putri. 2012. Analisis Variasi Genetik Beberapa Populasi *Globba leucantha* Miq. Di Sumatera Barat dengan RAPD. Universitas Andalas. *Tesis*.
- Prevost, A. & M.J. Wilkinson. 1999. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theor. App. Genet.* 98:107-112.

- Purseglove, J.W. 1972. **Tropical crops monocotyledons**. Longman Group Limited. London.
- Qin, X.Q., H.X. Peng, X. Long & J.Y. Yao. 2014. Preliminary study on ISSR analysis and classification of wild *Musa* germplasm in Guangxi, China. *Acta Hort.* 897:259-262.
- Rahmawati, M & E. Hayati. 2013. Pengelompokan berdasarkan karakter morfologi vegetatif pada plasma nutfah pisang asal kabupaten aceh besar. *Jurnal Agrista* 17(3):111-118.
- Rao & Hodgkin. 2002. Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic Resources. *Plant Cell, Tissue Organ Cult.* 68:1–19.
- Reddy, M.P., N. Sarla & E.A. Siddiq. 2002. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica* 128:9-17.
- Resmi, L., A.R. Nair & A.S. Nair. 2016. Population genetic structure and diversity analysis of South Indian banana cultivars. *J. Plant Breed. Crop Sci.* 8(1):1-12.
- Ritung, S., K. Nugroho, Mulyani A., & Suryani E. 2011. **Petunjuk teknis evaluasi lahan untuk komoditas pertanian**. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Bogor.
- Riupassa, P.A., T. Chikmawati, Miftahudin & Suharsono. 2015. The molecular diversity-based ISSR of *Durio tanjungpurensis* originating from West Kalimantan Indonesia. *Makara J. Sci.* 19:27-33.
- Robinson, J.C. 1999. **Bananas and plantains**. New York: CABI Publishing.
- Roldan-Ruiz, I., J. Dendauw, E. VanBockstaele, A. Depicker & M. De Loose. 2000. AFLP marker reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). *Mol. Breed.* 6:125-134.
- Rubatzky dan Yamaguchi. 1998. **Plant physiology**. Springer. Jepang.
- Rukmana, R. 1999. **Usaha tani pisang**. Kanisius. Yogyakarta.
- Sambrook, J. Russel D.W. 1989. **Molecular cloning: a laboratory manual 3rd edition**. Laboratory Press. New York.
- Selvarasu, A. & K. Rajamani. 2017. Molecular and agro-morphological genetic diversity assessment of *Gloriosa superba* mutants. *Eur. J. Med. Plant.* 21(1):1-13.
- Siemonsma, J.S. & K. Piluek. 1994. **Plant resources of South-East Asia**. PROSEA. Bogor.
- Silva, A.V.C., A.L.S. Nascimento, M.F. Vitória, A.R.C. Rabbani, A.N.R. Soares & A.S. Lédo. 2017. Diversity and genetic stability in banana genotypes in a breeding program using inter simple sequence repeats (ISSR) markers. *Gen. Mol. Res.* 16(1):1-9.
- Simmonds, N. W. 1962. **The evolution of the bananas**. Longman Inc. New York.
- Simpson, M.G. 1953. **Plant systematics**. Elsevier Academic Express.
- Simpson, M. G. 2010. **Plant Systematics**. Elsevier Academic Express.
- Simmonds, N.W. & K. Shepherd. 1955. The taxonomy and origins of the cultivated bananas. *J. Linn. Soc. Bot.* 55(359):302-312.
- Simmonds N.W. 1956. Botanical results of the banana collecting expedition,

- 1954-5. *Kew Bulletin* 11(3):463-490.
- Simmonds, N.M. 1959. **Bananas**. Longman Inc. New York.
- Simmonds, N. W. 1973. **Bananas**. 2nd ed. Longman Inc. New York.
- Singh, H.P., S. Uma & S. Sathiamoorthy. 2001. **A tentative key for identification and classification of Indian bananas**. National Research Centre for Banana (NRCB). India.
- Singh, N., R. Bajpai, K.S. Mahar, V. Tiwari, D.K. Upreti, T.S. Rana. 2014. ISSR and DAMD markers revealed high genetic variability within *Flavoparmelia caperata* in Western Himalaya (India). *Physiol. Mol. Biol. Pla.* 20(4):501–508.
- Susilo, H., S. Darmayani, M.. Shofi & A.R.P. Raharjeng. 2018. RAPD analysis of the genetic diversity among accessions of micropropagation bananas from Indonesia. *J. Phys. Conf. Ser.* 1114:1-8.
- Son, J.H., K.C. Park, S. Lee, J.H. Kim, M.S. Kim. 2012. Species relationship among *Allium* species by ISSR analysis. *Hortic. Environ. Biothechnol.* 53:256-262.
- Sundari, L.A. Estri, H. Luchman, A. Rodiyati & W. Didik. 2017. Genetic Variability of Local Durian (*Durio zibethinus* Murr.) in Ternate Island Based on RAPD Markers. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology* 18(1):68-75.
- Suyanti & A. Supriyadi. 2008. **Pisang: budidaya, pengolahan, dan prospek pasar**. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Suhardiman, P. 1997. **Budidaya pisang Cavendish**. Kanisius. Jogjakarta.
- Sulassih, Sobir & E. Santosa. 2013. Phylogenetic analysis of mangosteen (*Garcina mangostana* L.) and its relatives based on morphological and Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) markers. *SABRAO J.* 45: 478-490.
- Sulistiyawati, P. & A.Y.P.B.C. Widyatmoko. 2017. Keragaman genetik populasi kayu merah (*Pterocarpus indicus* willd) menggunakan penanda random amplified polymorphism DNA. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* 11(1): 67-76.
- Sumardi, I. & M. Wulandari. 2010. Anatomy and morphology character of five Indonesian banana cultivars (*Musa* spp.) of different ploidy level. *Biodiversitas* 11(4):167-175.
- Surahman, M., Giyanto, A. Takdir & A. Hipi. 2012. Evaluasi kemurnian genetik dengan marka mikrosatelit dan aplikasi rizobakteria untuk meningkatkan produksi dan mutu benih jagung hibrida. *Indonesia. J. Agric. Sci.* 17(1): 22-34.
- Suryanto. 2003. Melihat keanekaragaman organisme melalui beberapa teknik genetika molekuler. *Digitized by usu digital library*.
- Valmayor, R.V., S.H. Jamaluddin, B. Silayoi, S. Kusumo, L.D. Danh, O.C. Pascua & R.R.C. Espino. 2000. **Banana cultivar names and synonyms in Southeast Asia**. International Network for the Improvement of Banana and Plantain Asia and the Pacific Office. Philippines.
- Varshney, R.K., K. Chabane, P.S. Hendre, R.K. Aggarwal & A. Graner. 2007. Comparative assessment of EST-SSR, EST-SNP and AFLP markers for evaluation of genetik diversity and conservation of genetik resources using

- wild cultivated and elite barleys. *Plant Sci.* 173:638-649.
- Vroh-Bi, I., C. Anagbogu, S. Nnadi & A. Tenkouano. 2011. Genomic characterization of natural and somaclonal variations in bananas (*Musa* spp.). *Plant Mol. Biol. Rep.* 29(2):440-448.
- Wahyudi, D., K. Rifliyah & Uslan. 2020. Genome evaluation of banana cultivars based on morphological character and Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) molecular marker. *Biodiversitas* 21(7): 2982-2990.
- Weising, K., H. Nybom, K. Wolff & G. Kahl. 2005. **DNA fingerprinting in plants principles, methods and applications.** CRC Press. Boca Raton.
- Wu, K., R. Jones, L. Dannaeburger & P.A. Scolnik. 1994. Detection of microsatellite polymorphisms without cloning. *Nucleic Acids Res.* 22:3257-3258.
- Youssef, M., A. James, R. Rivera-Madrid, R. Ortiz & R.M. Escobedo-Gracia. 2011. *Musa* genetic diversity revealed by SRAP and AFLP. *Mol. Biotechnol.* 47(3):189-199.
- Zozimo, R.O.B., K. Ratanasut, T. Boonsrangsom, K. Sujipuli. 2018. Assesment of genetic diversity among Thai banana cultivars (*Musa* spp.) based on RAPD and SRAP markers. *Int. J. Biosci.* 12(4): 172-180.



LAMPIRAN*Lampiran 1***JADWAL PENELITIAN**

No.	Waktu (Bulan)	Kegiatan
1.	Desember	Penentuan topik penelitian
2.	Januari-Maret	Konsultasi proposal
3.	April	Seminar proposal skripsi
4.	Oktober	Pelaksanaan penelitian di dalam Laboratorium Genetika dan Molekuler Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang
5.	November	Pengolahan data
6.	Desember	Seminar hasil skripsi



Lampiran 2

GAMBAR VISUALISASI DNA HASIL AMPLIFIKASI

UBC-834

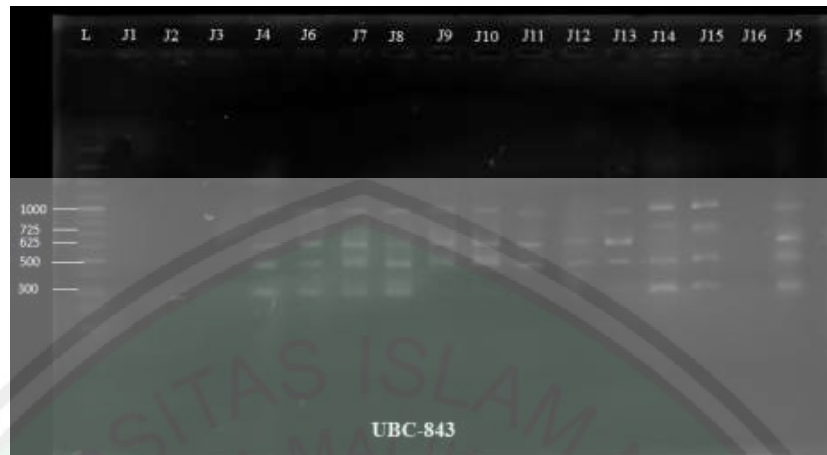


Keterangan : Visualisasi hasil amplifikasi 16 kultivar pisang menggunakan primer UBC-834. J1 (Pisang Cici), J2 (Pisang Klutuk Ijo); J3 (Pisang Mas Kripik), J4 (Pisang Jambe), J5 (Pisang Grito), J6 (Pisang Cebol), J7 (Pisang Kongkong), J8 (Pisang Kidang), J9 (Pisang Candi), J10 (Pisang Raja Ketan), J11 (Pisang Raja Temen), J12 (Pisang Porem), J13(Pisang Tlekung), J14 (Pisang Tajinan), J15 (Pisang Sabeh Biru), J16 (Pisang Kates), L (marker 100 bp).

UBC-835



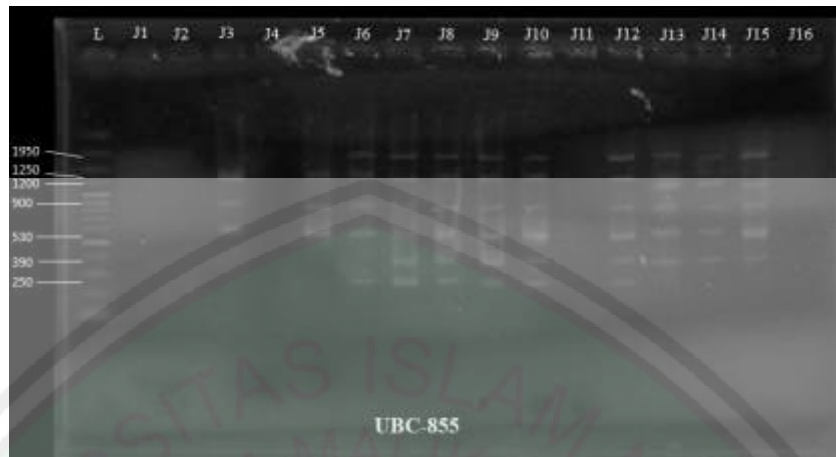
Keterangan : Visualisasi hasil amplifikasi 16 kultivar pisang menggunakan primer UBC-835. J1 (Pisang Cici), J2 (Pisang Klutuk Ijo); J3 (Pisang Mas Kripik), J4 (Pisang Jambe), J5 (Pisang Grito), J6 (Pisang Cebol), J7 (Pisang Kongkong), J8 (Pisang Kidang), J9 (Pisang Candi), J10 (Pisang Raja Ketan), J11 (Pisang Raja Temen), J12 (Pisang Porem), J13(Pisang Tlekung), J14 (Pisang Tajinan), J15 (Pisang Sabeh Biru), J16 (Pisang Kates), L (marker 100 bp).

UBC-843

Keterangan : Visualisasi hasil amplifikasi 16 kultivar pisang menggunakan primer UBC-843. J1 (Pisang Cici), J2 (Pisang Klutuk Ijo); J3 (Pisang Mas Kripik), J4 (Pisangng Jambe), J5 (Pisang Grito), J6 (Pisang Cebol), J7 (Pisang Kongkong), J8 (Pisang Kidang), J9 (Pisang Candi), J10 (Pisang Raja Ketan), J11 (Pisang Raja Temen), J12 (Pisang Porem), J13(Pisang Tlekung), J14 (Pisang Tajinan), J15 (Pisang Sabeh Biru), J16 (Pisang Kates), L (marker 100 bp).

UBC-848

Keterangan : Visualisasi hasil amplifikasi 16 kultivar pisang menggunakan primer UBC-848. J1 (Pisang Cici), J2 (Pisang Klutuk Ijo); J3 (Pisang Mas Kripik), J4 (Pisangng Jambe), J5 (Pisang Grito), J6 (Pisang Cebol), J7 (Pisang Kongkong), J8 (Pisang Kidang), J9 (Pisang Candi), J10 (Pisang Raja Ketan), J11 (Pisang Raja Temen), J12 (Pisang Porem), J13(Pisang Tlekung), J14 (Pisang Tajinan), J15 (Pisang Sabeh Biru), J16 (Pisang Kates), L (marker 100 bp).

UBC-855

Keterangan : Visualisasi hasil amplifikasi 16 kultivar pisang menggunakan primer UBC-855. J1 (Pisang Cici), J2 (Pisang Klutuk Ijo); J3 (Pisang Mas Kripik), J4 (Pisangng Jambe), J5 (Pisang Grito), J6 (Pisang Cebol), J7 (Pisang Kongkong), J8 (Pisang Kidang), J9 (Pisang Candi), J10 (Pisang Raja Ketan), J11 (Pisang Raja Temen), J12 (Pisang Porem), J13(Pisang Tlekung), J14 (Pisang Tajinan), J15 (Pisang Sabeh Biru), J16 (Pisang Kates), L (marker 100 bp).

Lampiran 3

HASIL SKORING PITA DNA

UBC-834

UBC-834	Aaw	BBw	AA	AA	AA	AAA	AAA	AAA	AAB	AAB	AAB	AAB	ABB	ABB	ABB	ABB
	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10	J11	J12	J13	J14	J15	J16
690 bp	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0
800 bp	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
1000 bp	1	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0
1200 bp	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
1250 bp	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
1500 bp	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0
2000 bp	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0
Σ Pita DNA	1	0	6	6	6	1	0	2	6	6	6	0	5	0	5	0

Keterangan: Total 7 pita yang muncul pada setiap sampel

UBC-835

UBC-835	Aaw	BBw	AA	AA	AA	AAA	AAA	AAA	AAB	AAB	AAB	AAB	ABB	ABB	ABB	ABB
	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10	J11	J12	J13	J14	J15	J16
250 bp	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
350 bp	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1
400 bp	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1
500 bp	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0
600 bp	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1
700 bp	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1
800 bp	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1
900 bp	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1
1500 bp	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0
Σ Pita DNA	1	0	6	0	6	7	7	6	6	7	7	0	6	6	0	5

Keterangan: Total 9 pita yang muncul pada setiap sampel

UBC-843

UBC-843	AAw	BBw	AA	AA	AA	AAA	AAA	AAA	AAB	AAB	AAB	AAB	ABB	ABB	ABB	ABB
	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10	J11	J12	J13	J14	J15	J16
300 bp	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
500 bp	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
625 bp	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
725 bp	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0
1000 bp	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0
Σ Pita DNA	0	0	0	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	4	4	4

Keterangan: Total 5 pita yang muncul pada setiap sampel

UBC-848

UBC-848	AAw	BBw	AA	AA	AA	AAA	AAA	AAA	AAB	AAB	AAB	AAB	ABB	ABB	ABB	ABB
	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10	J11	J12	J13	J14	J15	J16
450 bp	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0
500 bp	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0
600 bp	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
1000 bp	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0
Σ Pita DNA	0	0	2	2	2	1	1	3	4	4	4	3	4	4	4	0

Keterangan: Total 4 pita yang muncul pada setiap sampel

UBC-855

UBC-855	AAw	BBw	AA	AA	AA	AAA	AAA	AAA	AAB	AAB	AAB	AAB	ABB	ABB	ABB	ABB
	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10	J11	J12	J13	J14	J15	J16
250 bp	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0
390 bp	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0
530 bp	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0
900 bp	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0
1200 bp	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
1250 bp	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0
1950 bp	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0
Σ Pita DNA	0	0	3	0	3	5	6	6	6	6	0	6	5	5	5	0

Keterangan: Total 7 pita yang muncul pada setiap sampel



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

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

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Dwi Candra Nursita
NIM : 16620060
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil / Genap TA. 2019/2020
Pembimbing : Didik Wahyudi, S. Si., M.Si.
Judul Skripsi : Keragaman Genetik Pisang (*Musa spp.*) di Jawa Timur berdasarkan Marka ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*)

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	21 Februari 2020	Konsultasi BAB I	
2.	2 Maret 2020	Konsul revisi BAB I	
3.	3 Maret 2020	Konsultasi BAB II dan III	
4.	10 Maret 2020	Konsultasi Revisi BAB II, III	
5.	12 Maret 2020	Konsultasi BAB I, II, III	
6.	3 Desember 2020	Konsultasi BAB IV	
7.	7 Desember 2020	Konsultasi BAB IV	
8.	8 Desember 2020	Konsultasi BAB IV	

Pembimbing Skripsi,

Didik Wahyudi, S. Si., M.Si.
NIP. 19860102201801 1 001



Malang, 30 Desember...2020
Ketua Program Studi Biologi,

Dwi Candra Nursita, M.P
NIP. 197410182003122002



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

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

BUKTI KONSULTASI AGAMA SKRIPSI

Nama : Dwi Candra Nursita
NIM : 16620060
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil / Genap TA. 2019/2020
Pembimbing : Dr. H. Ahmad Barizi, M. A.
Judul Skripsi : Keragaman Genetik Pisang (*Musa spp.*) di Jawa Timur berdasarkan Marka ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*)

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	13 April 2020	Konsultasi BAB I	
2.	13 April 2020	Konsultasi BAB II	
3.	4 Desember 2020	Konsultasi BAB III	
4.	10 Desember 2020	Konsultasi BAB IV	

Pembimbing Skripsi,

Dr. H. Ahmad Barizi, M. A.
NIP. 197312121998031008



10 Desember 2020
Ketua Program studi Biologi,

Dr. F. J. Sandi Savitri, M.P
NIP. 197401182003122002