

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Tanaman Pisang (*Musa sp.*)

2.1.1 Tanaman Pisang Dalam Al-Qur'an

Buah pisang dalam Al-Qur'an yaitu terdapat surat Al-Waqiah ayat 28-29 :

فِي سِدْرٍ مَّخْضُودٍ وَطَلْحٍ مَّنْضُودٍ

Artinya : berada di antara pohon bidara yang tak berduri, dan pohon pisang yang bersusun-susun (buahnya), (Qs. Al-Waqiah/56:28-29).

Kata **طَلْح** (*Tahl*) ada yang memahaminya dalam arti pohon pisang atau pohon kurma. Banyak juga yang melukiskan sebagai pohon yang batangnya sangat kuat, dahannya panjang dan tinggi, daunnya sangat hijau, memiliki duri tapi tidak mengganggu dan memiliki aroma yang harum (Shihab, 2002). Ciri-ciri pohon tersebut banyak yang lebih mengartikan pohon pisang. Pisang merupakan salah satu buah di surga dengan pohonnya yang lembut dahannya dan dekat antar buahnya (Al-Sheikh, 2004).

Menurut Ibnu Katsir (2004) kalimat **فِي صَدْرٍ مَّخْضُودٍ** yang artinya “berada diantara pohon bidara yang tidak berduri” yaitu pohon yang dipenuhi oleh buah-buahan. Ibnu Jarir dalam syairnya mengatakan bahwa kata pohon ini adalah pohon pisang. Sedangkan Arti kata **مَنْضُودٍ** yakni buahnya yang bersusun-susun. Ibnu Jarir juga menyatakan bahwa buah yang bersusun itu adalah buah pisang (Ibnu Katsir dalam Abdullah, 2004). Walaupun pisang bukan tumbuhan yang berasal dari semenanjung Arab, kemungkinan besar orang Arab telah mengenal pisang. Buah tersebut diperkirakan ditanam untuk pertama kali di wilayah

Mediterania lebih kurang pada tahun 650 M, yaitu pada saat kebangkitan Islam (Al-Zein, 2004).

2.1.2 Klasifikasi Tanaman Pisang

Kedudukan tanaman pisang dalam sistem taksonomi adalah sebagai berikut kingdom dari tanaman ini adalah plantae division magnoliophyta atau tumbuhan berbiji. Class dari tanaman ini adalah Liliopsida, termasuk order Zingiberales. Family Musaceae, genera Musa dan speciesnya *Musa sp.* (Sudarsono, 2005).

2.1.3 Morfologi Tanaman

Sistem perakaran tanaman pisang tumbuh dari bonggol bagian samping bawah, berakar serabut dan tidak memiliki akar tunggang. Pertumbuhan akar pada umumnya berkelompok menuju arah samping (mendatar) di bawah permukaan tanah, dan ke arah dalam (bawah) mencapai sepanjang 4-5 m, namun daya jangkau akar hanya menembus pada kedalaman tanah antara 150-200 cm (Rukmana, 1999).

Batang pisang dibedakan atas 2 macam, yaitu batang asli yang disebut bonggol dan batang semu. Bonggol terletak dibawah permukaan tanah dan mempunyai beberapa mata (*pink eye*) sebagai cikal bakal anakan, dan merupakan tempat melekatnya akar. Batang semu tersusun dari pelepah-pelepah daun yang saling menutupi, tumbuh tegak dan kokoh di atas permukaan tanah. Bentuk daun pisang pada umumnya panjang lonjong dengan lebar tidak sama, bagian ujung daun tumpul, dan tepinya rata. Letak daun terpencar dan tersusun dalam tangkai berukuran relatif panjang dengan helai daun yang mudah robek (Rukmana, 1999).



Gambar 2.1 Habitus tanaman pisang (A), batang semu tanaman pisang (B), pelepah daun pisang (C) (Dokumentasi pribadi, 2014).

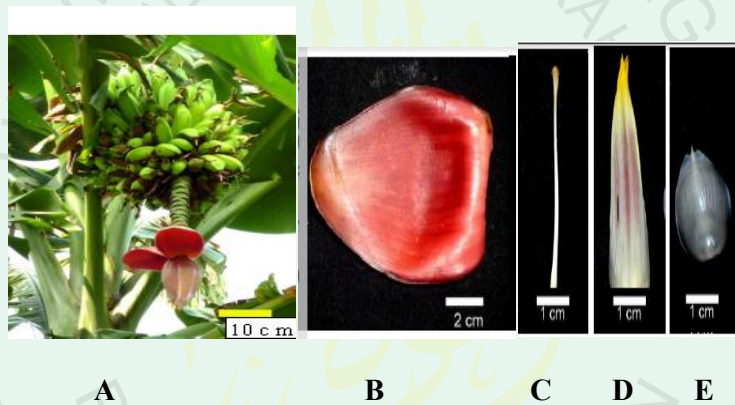


Gambar 2.2 Bentuk daun tua tanaman pisang (A), bentuk daun muda tanaman pisang (B) (Dokumentasi pribadi, 2014).

Bunga pisang yang disebut jantung atau ontong tumbuh dari ujung batang. Susunan bunga terdiri atas daun-daun pelindung yang saling menutupi dan bunganya terletak pada setiap ketiak diantara daun pelindung membentuk sisir. Bunga pisang termasuk bunga berumah satu. Letak bunga betina berada di bagian

pangkal, sedangkan bunga jantan di tengah, dan bunga sempurna di bagian ujung (Rukmana, 1999).

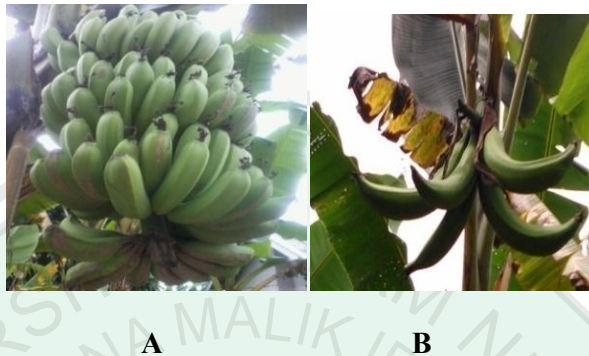
Hiasan bunga jelas dapat dibedakan dalam kelopak dan bunganya. Kelopak berbentuk tabung memanjang, berbagi 2 dengan tepi bergigi yang berbeda-beda. Mahkota berbibir 2 dan bagian atasnya berigi-rigi, benang sari 5 dan 1 lagi tereduksi. Tangkai sari berbentuk benang, kepala sari berbentuk garis, beruang 2. Bakal buah tenggelam, beruang 3, tiap ruang berisi banyak biji, kepala sari berbentuk lekuk (Tjitrosoepomo, 1996).



Gambar 2.3 Tandan buah dengan braktea membuka (A), warna braktea bagian dalam (B), kepala putik (C), tepal (D), tepal bebas (E) (Ahmad, 2013).

Buah pisang tersusun dalam tandan, tiap tandan terdiri atas beberapa sisir, dan terdapat 6-22 buah pisang atau tergantung pada varietasnya. Buah pisang pada umumnya tidak berbiji bersifat $3n$ (triploid), kecuali pisang batu (klutuk) diploid ($2n$). Proses pembuahannya tanpa menghasilkan biji yang disebut *partenokarpi*. Ukuran buah pisang bervariasi, panjang berkisar antara 10-18 cm dengan diameter sekitar 2,5-4,5 cm. Buah bengkok dengan ujung meruncing dengan membentuk leher botol. Daging buah (*mesocarp*) tebal dan lunak, kulit buah (*epikarp*) yang

masih mudah berwarna hijau, namun setelah tua (matang) berubah menjadi kuning dan strukturnya tebal sampai tipis (Rukmana, 1999).



Gambar 2.4 Buah pisang Cavendish (A), buah pisang Agung (B) (Dokumentasi Pribadi, 2014).

2.1.4 Keanekaragaman Genetik Tanaman Pisang

Keragaman genetik tanaman dapat bersumber dari proses meiosis dan mutasi. Meiosis adalah proses rekombinasi gen melalui segregasi acak. Meiosis hanya melibatkan keragaman genetik yang telah ada di dalam populasi atau jenis yang bersangkutan. Mutasi merupakan perubahan genetik yang terjadi akibat penyimpangan yang terjadi pada proses pewarisan sifat dan merupakan sumber keragaman baru dalam populasi tanaman (Rimbawanto, 2008).

Keanekaragaman genetik juga terjadi diakibatkan oleh adanya hibridisasi atau kawin silang dengan 2 sifat yang berbeda. Pada populasi seksual, gen direkombinasi pada setiap generasi, menghasilkan genotipe baru. Kebanyakan keturunan spesies seksual mewarisi separuh gennya dari induk betina dan separuhnya lagi dari induk jantan, dengan demikian susunan genetiknya berbeda dengan kedua induknya atau dengan individu yang lain di dalam populasi (Indrawan, 2007).

Pemahaman tentang keragaman genetik suatu jenis tanaman merupakan salah satu unsur utama dalam memanfaatkan sumber genetik tanaman. Keragaman genetik merupakan modal dasar bagi suatu jenis tanaman untuk tumbuh, berkembang dan bertahan hidup dari generasi ke generasi. Kemampuan tanaman beradaptasi dengan perubahan lingkungan tempat tumbuh ditentukan oleh potensi keragaman genetik yang dimiliki oleh tanaman. Semakin tinggi keragaman genetiknya semakin besar peluang tanaman untuk beradaptasi dengan lingkungannya (Finkeldey, 2007).

Beberapa literatur mencatat bahwa daerah asal sumber genetik (plasma nutfah) pisang adalah kawasan Asia Tenggara. Para ahli botani memastikan daerah asal tanaman pisang adalah India, Indonesia dan Fhillipina. Hasil ekspedisi Nikolai Ivanovich Vavilov seorang ahli botani Rusia, menyimpulkan bahwa daerah asal tanaman pisang adalah Indo-Cina, Malaysia, Filipina dan Indonesia (Rukmana, 1999).

Pisang budidaya saat ini diduga berasal dari pisang liar *M. acuminata* Colla ($2x=22$) dan *M. balbisiana*. Mutasi, seleksi manusia dan kultur jaringan memegang peranan penting dalam evolusi tanaman pisang (Rukmana, 1997). Ploidi dan komposisi genom yang berasal dari *M. acuminata* disimbolkan dengan huruf A sedangkan yang berasal dari *M. balbisiana* disimbolkan dengan huruf B. Persilangan antara pisang liar *M. acuminata* dan *M. balbisiana* menghasilkan hibrid- hibrid diploid AB, triploid AAB dan ABB serta tetraploid AAAB, AABB, dan AB BB (Simmonds, 1996).

Hibridisasi antara *M.acuminata* dan *M.balbisiana* mudah terjadi di alam, sehingga akan terbentuk sifat yang berbeda pada waktu dan lokasi yang berbeda. Partenokarpi dan rasa yang lebih enak dari *M. acuminata* jika dikombinasikan dengan *M. balbisiana* yang keras memungkinkan pisang buah diproduksi di wilayah tropik. Disamping sifat keras *M. balbisiana* juga menyumbangkan sifat lebih tahan terhadap penyakit dan masam (Rubatzy, 1998). Jarak genetik dan hubungan kekerabatan jenis tanaman pisang dan jenis lainnya merupakan gambaran dari keanekaragaman populasi (Simmonds, 1996).

2.1.5 Penyakit Pada Tanaman Pisang

Penyakit-penyakit yang menyerang tanaman pisang terutama adalah layu fusarium yang disebabkan oleh cendawan *Fusarium oxysporum* Schelet. Penyakit layu fusarium dilaporkan pertama kali ada tahun 1874. Saat ini dilaporkan terdapat di hampir seluruh negara produsen pisang (Da Silva, 2000). Di Indonesia penyakit ini dilaporkan telah menyebar ke hampir seluruh wilayah (Sulyo, 2002).

Infeksi terjadi ketika patogen menembus sistem akar, patogen menyerang jaringan empulur batang melalui akar yang luka atau terinfeksi. Penyebaran terjadi melalui pembuluh xilem kemudian ke dalam rhizom dan batang semu. Batang yang terserang akan kehilangan banyak cairan dan berubah warna menjadi kecoklatan (Robinson, 1999 dan Direktorat Jenderal Pertanian Tanaman Pangan, 1994). Tanda lain adalah pada batang semu terlihat adanya sedikit lapisan coklat atau bintik menjadi jelas sampai pelepah daun yang lebih tua (Ploetz *et al.*, 2003).

Nelson (1993) menyatakan bahwa spesies *Fusarium* pada tanaman dapat mengakibatkan gejala bercak daun, busuk akar, busuk buah dan penyakit layu.

Populasi patogen dapat bertahan secara alami di dalam tanah dan pada akar tanaman yang sakit. Apabila terdapat tanaman peka, melalui akar yang luka dapat segera menimbulkan infeksi. Tanaman yang terserang tidak akan mampu berbuah atau buahnya tidak terisi (Direktorat Jenderal Pertanian Tanaman Pangan, 1994). Beberapa faktor yang mempengaruhi perkembangan penyakit layu *fusarium* yaitu kultivar pisang, drainase, kondisi lingkungan dan tipe tanah (Moore *et al.*, 1995).



Gambar 2.5 Isolat dan konidia *F. Oxysporum* (Djaenudin, 2011).



Gambar 2.6 Daun yang terserang penyakit *F. Oxysporum* (Dinas Pertanian Cianjur, 2013).

Penyakit ini mudah menular melalui bibit dan alat pertanian yang dipakai terutama terjadi pada tanah yang aerasinya kurang baik, dan air menggenang. Pada tanah lempung berpasir penyakit ini dapat meluas dengan cepat (Direktorat Jenderal Pertanian Tanaman Pangan, 1994). Tanaman pisang yang sudah terserang

penyakit layu fusarium tidak dapat dipulihkan lagi, sehingga penggunaan varietas tanaman pisang tahan menjadi alternatif pengendaliannya (Gusnawaty, 2005).

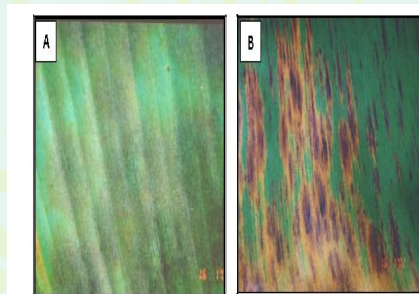
Berdasarkan analisis QTL pada kultivar pisang Barley, letak gen ketahanan terhadap layu fusarium berada pada kromosom 2H dan 5H. Lokasi gen ini pada kromosom 2H terdapat pada lokus *vrs1*. RGA dan homologi gen ketahanan terhadap penyakit digambarkan dengan pemetaan pada kultivar Barley. Sebagian RGA tersebut tidak dapat diketahui letaknya, hanya yang lokasinya terdekat resistance QTL diidentifikasi (Hori, 2005).

Penyakit lain yang menyerang adalah penyakit layu darah (*Blood disease*) penyakit layu darah menempati urutan pertama dalam daftar penyakit pisang yang sangat berbahaya dan mengancam perkebunan pisang. Penyakit layu darah (*blood disease*) banyak ditemukan pada pisang kepok. Menurut Hasna (2011) penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Ralstonia Race 2* yang dibawa serangga dan masuk melalui bekas luka dari bunga jantan yang gugur. Supriati (2010) menyatakan penyakit ini dicirikan dengan keluarnya cairan kental berwarna kemerahan dari berkas pembuluh saat bonggol dari tanaman yang terserang dibelah. Gejala luar diperlihatkan dengan terjadinya pengeringan pada bunga jantan, penguningan daun, dan layu. Pada serangan yang parah, batang semu kecoklatan dan membusuk.

Menurut Sunarjono (1987) menunjukkan penularan penyakit darah dapat terjadi melalui bibit, tanah, air irigasi, alat-alat pertanian, dan serangga. Selain faktor-faktor tersebut, penyebaran penyakit darah pada suatu wilayah juga sangat

ditentukan oleh aktivitas petani dalam memelihara tanaman, serta aktivitas pedagang ketika melakukan panen buah dan bunga pisang.

Penyakit *speckle* daun pisang adalah penyakit yang disebabkan oleh *Cladosporium musae* yang mengakibatkan defoliiasi daun yang berat. Penyakit ini disebut juga penyakit bercak daun pisang yang terdapat di seluruh negara penghasil pisang di dunia (Jones, 2000). Gejala pada daun terdapat bercak-bercak kecil, berwarna cokelat tua sampai hitam, yang mengumpul dengan jarak yang hampir sama. Masing-masing bercak adalah sebesar kepala jarum. Pada daun tua bercak-bercak dapat bersatu membentuk bercak yang besar (Semangun, 2007).



Gambar 2.7 Gejala awal penyakit *speackle* daun (A), gejala lanjut penyakit *speackle* daun (B) (Sahlan, 2010).

Penyakit lain yang berbahaya adalah kerdil pisang (*Banana Bunchy Top Virus*). Gejala penyakit kerdil pisang dapat timbul pada bermacam-macam umur tumbuhan, dan dapat bervariasi. Pada tingkatan yang lebih jauh daun-daun muda lebih tegak, lebih pendek, lebih sempit, dengan tangkai yang lebih pendek dari pada biasa, dan menguning sepanjang tepinya yang lama-lama akan mengering. Tanaman terhambat pertumbuhannya dan daun-daun membentuk roset pada ujung batang palsu (Semangun, 2007). Kadang-kadang satu-satunya gejala pada tanaman yang terinfeksi hanya satu daun yang kuning yang tidak

membuka. Penyakit ini disebabkan oleh virus yang dikenal sebagai virus kerdil pisang (*bunchy top virus*), yang juga disebut sebagai *Musa virus 1* (Magee) Smith atau *Banana virus 1* J. Johnson (Semangun, 2007).

2.2 Bentuk-Bentuk Ketahanan Tumbuhan

2.2.1 Ketahanan Mekanis

Ketahanan mekanis dibagi menjadi 2 yaitu ketahanan mekanisme pasif dan ketahanan mekanisme aktif. Tumbuhan yang mempunyai ketahanan mekanis pasif mempunyai struktur-struktur morfologi yang menyebabkannya sukar diinfeksi oleh patogen. Misalnya tumbuhan mempunyai epidermis yang berkutikula sangat tebal, adanya lapisan lilin dan mempunyai stomata sedikit. Adanya lapisan lilin pada permukaan kutikula menyebabkan permukaan tumbuhan tidak basah pada waktu hujan sehingga menghindarkan berkembangnya spora jamur (Semangun, 2006).

Ketahanan mekanis aktif adalah hasil sifat-sifat fisika dan kimia tumbuhan yang membatasi perkembangan patogen. Sifat-sifat ini sudah ada, terlepas dari berkontakannya patogen dengan tumbuhan inang. Pada resistensi aktif atau dinamik mekanisme hanya bekerja setelah inang mengalami invansi patogen. Mekanisme ketahanan aktif merupakan interaksi antara sistem-sistem genetik tumbuhan inang dan patogen. Pada umumnya mekanisme pertahanan aktif dianggap mempunyai arti yang lebih penting daripada mekanisme pertahanan pasif (Semangun, 2006).

2.2.2 Ketahanan Kimiawi

Ketahanan kimiawi dibagi menjadi 2 yaitu ketahanan kimiawi pasif dan ketahanan kimiawi aktif. Ketahanan kimiawi pasif adalah jika suatu parasit hanya

dapat menyerang tumbuhan tertentu yang mempunyai isi sel yang susunan kimianya cocok baginya. Karena kebanyakan jenis tumbuhan susunan kimianya berbeda dengan tumbuhan lain. Ketahanan kimiawi aktif hanya bekerja jika inang mengalami invansi patogen dan merupakan hasil interaksi antara sistem genetik inang dan patogen (Semangun, 2006).

2.2.3 Ketahanan Fungsional

Ketahanan fungsional adalah ketahanan tumbuhan yang menyebabkan tumbuhan tidak terserang oleh patogen. Penyebabnya adalah adanya struktur morfologis atau adanya zat-zat kimia yang menahan, melainkan karena pertumbuhannya yang sedemikian rupa sehingga dapat menghindari (*to escape*) penyakit, meskipun sebenarnya tumbuhan itu sendiri sebenarnya rentan. Tumbuhan melewati fase rentannya pada saat tidak ada patogen atau pada waktu lingkungan tidak cocok untuk infeksi, karena itu ketahanan ini disebut juga ketahanan palsu (Semangun, 2006).

2.3 Genetika Sifat Ketahanan

2.3.1 Ketahanan Gen Tunggal

Beberapa sifat ketahanan adalah monogenik (ketahanan spesifik atau vertikal) misalnya karat pada rami cabbage yellow, embun tepung pada barley, antrachnose pada kacang-kacangan, kudis pada ketimun, kerdil rumput pada padi (Crowder, 2006). Ketahanan monogenik biasanya sangat mudah untuk dideteksi sekalipun pada fase kecambah dan sangat spesifik melawan satu atau beberapa jenis pathogen (Yudiarti, 2007).

Ketahanan vertikal mempunyai tipe atau ciri untuk dapat dibedakan dengan ketahanan tipe lainnya yaitu (Semangun,2006) :

1. Ketahanan vertikal umumnya ditentukan oleh satu atau sedikit gen. Oleh karena itu ketahanan ini mudah ditangani oleh para pemulia tanaman. Program pemuliaan tumbuhan hampir semuanya menggunakan ketahanan vertikal.
2. Pada umumnya ketahanan vertikal memberikan pengaruh tinggi, tetapi ketahanan ini mudah hilang jika timbulnya ras baru yang virulen. Jika ketahanan hilang maka kultivar akan sangat rentan terhadap patogen.
3. Ketahanan vertikal kebanyakan baru beroperasi setelah patogen masuk ke dalam tumbuhan dan sering berbentuk reaksi hipersensitifitas.
4. Ketahanan vertikal menyebabkan tertundanya permulaan epidemi. Tetapi sekali epidemi mulai, laju perkembangannya mirip dengan yang terjadi pada varietas yang rentan sama sekali.

2.3.2 Ketahanan Gen Ganda

Ketahanan horizontal yang bekerja terhadap ras atau strain patogen dan karenanya tidak mudah hilang mempunyai sifat memberikan ketahanan yang lebih rendah tingkatannya dibanding dengan ketahanan vertikal. Ketahanan ini jarang menyebabkan kekebalan (imunitas) atau ketahanan tingkat tinggi (Semangun, 2006). Pada umumnya diwariskan secara poligenik dan diperkirakan banyak gen terkait dengan tipe ini. Mekanisme yang menyebabkan ketahanan horizontal ini diduga bekerja sebelum maupun sesudah patogen masuk ke dalam badan tumbuhan. Pada umumnya tidak berhubungan dengan reaksi hipersensitif.

Ketahanan horizontal menyebabkan berkurangnya pembentukan spora dan tampak bahwa laju perkembangan epidemi berkurang. Kemungkinan semua kultivar mempunyai beberapa ketahanan horizontal terhadap infeksi (Semangun, 2006).

Ketahanan gen ganda tidak dapat dideteksi pada fase kecambah, akan tetapi akan sering meningkat pada sejalan dengan kedewasaan tanaman. Lingkungan sangat berpengaruh pada ketahanan poligenik ini dan lebih sulit untuk memanipulasinya di dalam pelaksanaan program produksi tanaman daripada ketahanan oligogenik (Yudiarti, 2007).

2.3.3 Pewarisan Ketahanan

Pada bermacam-macam tumbuhan ketahanan menurun secara monohibrid biasa ditentukan oleh satu pasang gen dan pada F₂ mengadakan segregasi 3:1, seperti ada ketahanan kubis terhadap *Fusarium* dan ketahanan buncis terhadap penyakit layu bakteri. Pada padi persilangan antara kultivar tahan dengan yang rentan terhadap penyakit tungro (virus) menghasilkan F₁ yang tahan dan pada F₂ terjadi segregasi dengan perbandingan lebih kurang 9:7 (Semangun, 2006).

Ketahanan ketimun terhadap penyakit embun tepung ditentukan oleh gen-gen polimerik. Demikian pula ketahanan tembakau terhadap penyakit lanas var. *Nicotianae* (*Phytophthora nicotianae*). Ketahanan kentang (*Solanum tuberosum*) terhadap penyakit kutil (*Synchytrium endobioticum*) ditentukan oleh tiga pasang gen. Sedangkan ketahanan kentang terhadap hawar daun (*Phytophthora infestans*) ditentukan oleh 6 pasang gen dominan yang berasal dari *Solanum demissum*, R₁ sampai R₆ (Semangun, 2006).

Berdasarkan penelitian padi paling sedikit diketahui 13 gen ketahanan terhadap ras-ras *Pyricularia oryzae*, penyebab penyakit karah (blas). Di Indonesia diketahui terdapat 8 ras. Ketahanan ditentukan oleh gen dominan dan kadang-kadang beberapa gen pengubah. Kebanyakan gen ini adalah independen, meskipun beberapa diantaranya merupakan alel yang terletak pada lokus yang sama. Cara pewarisan ketahanan dapat berbeda antar sumber ketahanan. Ketahanan terhadap penyakit layu bakteri pada tomat (*Lycopersicon esculentum*) var. *Cerasiforme* (tomat berbuah kecil-kecil) diwariskan secara poligenik dan mempunyai efek pleiotropik yang menarik.

Gen ketahanan pada pisang telah berhasil diisolasi secara spesifik dari 3 pisang yaitu kultivar Rejang, Calcuta dan Klutuk. Hasil amplifikasi gen ketahanan antara 500-550 bp. Gen ini merupakan pengendali ketahanan terhadap penyakit layu *Fusarium* (Sutanto, 2012). Suastika (2006) menyatakan bahwa tanaman pisang kultivar Kepok, Mas dan Tanduk merupakan kultivar rentan terhadap penyakit *Black Sigatoka Virus* (BSV). Hasil persilangan antar kultivar menghasilkan tanaman pisang yang tahan terhadap penyakit BSV, dan diduga mengekspresikan gen CP yang berfungsi sebagai ketahanan terhadap penyakit BSV.

2.4 Penggunaan Marka Genetik (Molekuler)

2.4.1 Pengertian dan Macam-Macam Marka Genetik (Molekuler)

Marka genetik adalah salah satu bioteknologi yang telah berkembang pesat. Marka ini adalah suatu metode penunjuk keberadaan rangkaian nukleotida (DNA atau RNA) dan protein yang dapat menyandikan suatu sifat atau memberikan informasi tentang keberadaan posisi suatu sekuens didalam genom.

Marka genetik dapat digunakan untuk identifikasi suatu individu atau genotip, derajat kekerabatan antar genotip, dan adanya variasi genetika suatu populasi tanaman (Brown, 1996). Penanda DNA juga dapat menentukan determinasi gen atau kompleks gen yang diinginkan dalam suatu genotip spesifik, dan pengembangan varietas tanaman baru melalui transformasi. Pemilihan marka yang akan digunakan dalam analisis genetik perlu mempertimbangkan tujuan yang diinginkan, sumber dana yang dimiliki, fasilitas yang tersedia, serta kelebihan dan kekurangan masing-masing tipe marka (Azrai, 2006).

Penerapan berbagai marka genetik akhir-akhir ini menunjukkan perkembangan yang semakin pesat. Teknik ini telah banyak membantu dalam berbagai bidang, seperti evaluasi keanekaragaman hayati tanaman, mikroba dan hewan, identifikasi jenis (taksonomi) tanaman maupun mikroba. Marka genetik berperan juga dalam ketahanan tanaman terhadap penyakit atau penentu sifat tertentu (*marker aided selection*) dan dalam pemetaan genom (Bangun, 2007).

Berbagai teknik molekuler yang telah dikembangkan antara lain adalah RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), DAF (*DNA Amplified Fingerprinting*), RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), AFLP (*Amplification Fragment Length Polymorphism*) dan STMS (*Sequence Tagged Microsatellites*) yang masing-masing mempunyai kelebihan dan kelemahan. Oleh karena itu, kombinasi beberapa teknik akan memberikan data yang lebih komprehensif dan akurat. Penentuan teknik yang digunakan sangat penting untuk mendapatkan hasil sesuai dengan yang diinginkan. Umumnya strategi pemilihan

teknik berdasarkan pada tujuan studi, ketersediaan dana dan fasilitas serta kemampuan sumber daya manusia (Bangun,2007).

Penggunaan teknik RAPD memang memungkinkan untuk mendeteksi polimorfisme fragmen DNA yang diseleksi dengan menggunakan satu primer arbitrase, terutama karena amplifikasi DNA secara *in vitro* dapat dilakukan dengan baik dan cepat dengan adanya PCR. Penggunaan penanda RAPD relatif sederhana dan mudah dalam hal preparasi. Teknik RAPD memberikan hasil yang lebih cepat dibandingkan dengan teknik molekuler lainnya. Teknik ini juga mampu menghasilkan jumlah karakter yang relatif tidak terbatas, sehingga sangat membantu untuk keperluan analisis keanekaragaman organisme yang tidak diketahui latar belakang genomnya (Suryanto,2003).

Prinsip kerja marka RAPD adalah berdasarkan perbedaan amplifikasi PCR pada sampel DNA dari sekuen oligonukleotida pendek yang secara genetik merupakan kelompok marka dominan. Primer RAPD bersifat random dengan ukuran panjang biasanya 10 nukleotida. Jumlah produk amplifikasi PCR berhubungan langsung dengan jumlah dan sekuen yang komplementer terhadap primer di dalam genom tanaman (Suryanto,2003).

Marka SCAR dan STS merupakan marka berbasis PCR yang diperoleh melalui sekuensing fragmen RFLP, RAPD, dan AFLP atau gen yang sudah diketahui ukurannya. Primer SCAR memiliki panjang 18-25 nukleotida. Kegunaan marka SCAR jauh lebih tinggi dibandingkan dengan marka RAPD. Meskipun marka SCAR secara genetik bersifat dominan, namun dapat

dikonversi menjadi marka kodominan melalui pemotongan dengan menggunakan enzim restriksi (Azrai, 2005).

Marka mikrosatelit merupakan sekuen DNA yang bermotif pendek dan diulang secara tandem dengan 2 sampai 5 unit nukleotida yang tersebar dan meliputi seluruh genom, terutama pada organisme eukariotik. Akhir-akhir ini, mikrosatelit banyak digunakan untuk karakterisasi dan pemetaan genetik tanaman, di antaranya jagung, padi, anggur, kedelai, jawawut, gandum, dan tomat (Gupta, 1996; Powell, 1996).

Menurut Powell (1996), beberapa pertimbangan untuk penggunaan marka mikrosatelit dalam studi genetik di antaranya marka terdistribusi secara melimpah dan merata dalam genom, variabilitasnya sangat tinggi (banyak alel dalam lokus), sifatnya kodominan dan lokasi genom dapat diketahui, merupakan alat uji yang memiliki ketepatan yang sangat tinggi, merupakan alat bantu yang sangat akurat untuk membedakan genotipe, evaluasi kemurnian benih, pemetaan, dan seleksi genotip untuk karakter yang diinginkan, studi genetik populasi dan analisis diversitas genetik. Kelemahan teknik ini adalah markah SSR tidak tersedia pada semua spesies tanaman, sehingga untuk merancang primer baru membutuhkan waktu yang lama dan biaya yang cukup mahal (Azrai, 2005).

Marka AFLP merupakan jenis marka yang berdasarkan pada amplifikasi selektif dari potongan DNA hasil restriksi genomik total dengan enzim restriksi endonuklease. Hasil amplifikasi tersebut dipisahkan dengan elektroforesis, kemudian divisualisasi dengan menggunakan otoradiografi atau pewarnaan perak

(*silver staining*) (Vos, 1995). Sebenarnya marka ini mirip marka RAPD, tetapi primernya spesifik dan jumlah pitanya lebih banyak.

Marka SNP dapat dikategorikan sebagai ‘marka generasi ketiga’. Marka ini merupakan mutasi titik di mana satu nukleotida disubstitusi oleh nukleotik lain pada lokus tertentu. SNP merupakan tipe yang lebih umum untuk membedakan sekuen di antara alel, kodominan di alam, dan menandakan marka polimorfik dari suatu sumber yang tidak pernah habis untuk penggunaannya pada resolusi tinggi dalam pemetaan genetik suatu karakter. Deteksi marka SNP bersifat kodominan, berdasarkan pada amplifikasi primer yang berbasis pada informasi sekuen untuk gen spesifik. Uji dengan markah SNP dapat dilakukan pada tanaman seperti padi dan jagung yang informasi genomnya sudah cukup lengkap (Phillips, 1994).

2.4.2 Penggunaan *Resistance Gen Analog* (RGA) Untuk Mengetahui Hubungan Kekerabatan Antar Tanaman.

Penggunaan marka molekuler merupakan salah satu bentuk kekuatan manusia dalam bidang keilmuan. Kekuatan tersebut tidak terlepas atas kekuatan dan izin Allah sehingga manusia dapat melakukannya. Allah berfirman dalam surat Ar-Rahman ayat 33 yang berbunyi :

يَمْعَشَرِ الْجِنَّ وَالْإِنْسِ إِنَّ اسْتَطَعْتُمْ أَنْ تَنْفُذُوا مِنْ أَقْطَارِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ
فَأَنْفُذُوا لَا تَنْفُذُونَ إِلَّا بِسُلْطَانٍ ﴿٣٣﴾

Artinya :Hai jama'ah jin dan manusia, jika kamu sanggup menembus (melintasi) penjuru langit dan bumi, Maka lintasilah, kamu tidak dapat menembusnya kecuali dengan kekuatan (Qs.Ar-Rahman/55 :33).

Kata تَنْفُذُوا mempunyai arti menembus atau melintasi, kata tersebut menerangkan bahwa para jin dan manusia tidak akan mampu melintasi setiap

penjuru langit dan bumi, bagaimana mungkin hal itu bisa tersebut sementara kalian adalah hamba-hamba yang lemah serta dikuasai olehnya (Al-Qarni, 2008). Kata **الأبسلطن** mempunyai arti “kecuali dengan kekuatan” (Al-Sheikh, 2004) bermakna bahwa jika Allah menghendaki memberi kekuatan pada manusia dengan kekuatan, dukungan dan izin Allah akan terjadi walaupun sebenarnya sangat sulit untuk dilakukan (Bahreisy, 1993).

Salah satu contoh adalah penggunaan marka molekuler tersebut adalah marka RGA. Marka ini adalah suatu hasil dari perkembangan teknologi modern yang sebelumnya tidak dapat dilakukan. Dengan izin dan kekuatan Allah, manusia dapat menggunakan teknik tersebut untuk mengetahui hubungan kekerabatan tanaman pisang berdasarkan gen ketahanannya.

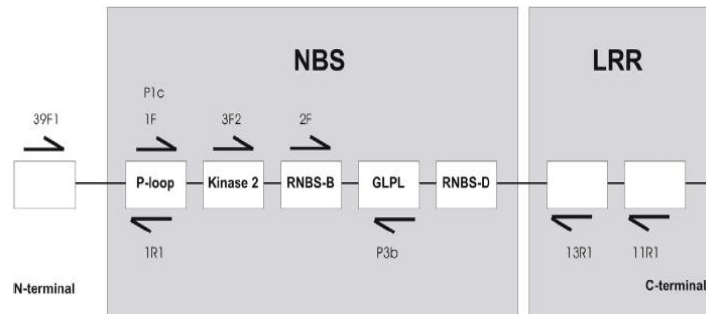
RGA adalah gen yang memberikan perlawanan terhadap berbagai bakteri patogen, jamur, nematode atau virus dan telah diisolasi dari varietas spesies tanaman. RGA dapat dijadikan marka spesifik yang dibuat berdasarkan urutan gen ketahanan. Gen-gen yang mengatur ketahanan telah diklon dari berbagai spesies. Perbandingan gen-gen tersebut menunjukkan struktur yang mirip (Chen, 1998).

Gen-gen ketahanan (*R-Gene*) dapat dikelompokkan kedalam 5 kelas, berdasarkan kemiripan fungsi atau urutan asam amino dan protein yang dikodenya. Kelas-kelas penyusun R-Gen adalah encode protein yang terdiri dari *Nucleotide Binding site* (NBS) dan *Leuchine Rich Repeat* (LRR) pada terminal C, domain NBS tanpa LRR, LRR domain dengan *serine threoninprotein kinase* tanpa NBS, protein kinase tanpa NBS dan LRR dan domain *Coiled coil* (CC).

Kelas terbesar adalah gen ketahanan dengan motif NBS-LRR yang dicirikan oleh *Nucleotide Binding Site (NBS)* pada terminal N dan *Leucine Rich Repeats (LRR)* pada terminal C.

Gen NBS-LRR letaknya tersebar dan tidak merata diantara kromosom, tetapi beberapa berkumpul sebagai multigene lokal (Meyers *et al.*, 1999). NBS-LRR kelas dibagi dalam dua subkelas, yang TIR dan non-TIR, tergantung pada terdapatnya domain di terminal N yang homologi dengan Interleukin-1 (TIR) yaitu reseptor pada *Drosophila* dan mamalia (Meyers *et al.*, 1999). Gen Non-TIRNBS-LRR terdapat di kedua kelas tanaman monokotil dan dikotil, sedangkan TIR-NBS-LRR genhanya terbatas pada tanaman dikotil (Meyers *et al.*, 2003; Zhou *et al.*, 2004).

Kesamaan yang tinggi antara RGA tertentu dan R-Gen yang diisolasi dari spesies angiosperma lain, seperti *Arabidopsis*, tomat, dan padi yang menunjukkan hubungan kekerabatan dengan spesies lain. RGA telah diisolasi dari berbagai tanaman seperti pisang, sereal, tebu, gandum dan tomat. Kloning dan karakterisasi RGA menawarkan potensi dalam pemuliaan tanaman yang tahan penyakit melalui bantuan penanda seleksi. Gen ketahanan atau resistance gene (*R gene*) dari berbagai spesies tanaman disusun oleh kesamaan dalam motif struktural asam amino. Sepasang primer oligonukleotida dapat dirancang dari motif yang terkonservasi (*Conserved region*) dari P-loop dan wilayah GLPL (Asam amino yang bersifat hidrofobik) (Tiing, 2012).



Gambar 2.8 Contoh motif yang terkonservasi NBS-LRR sebagai target primer RGA (Miller, 2008).

Kemajuan terbaru dalam karakterisasi molekuler gen ketahanan tanaman (*R-gen*) telah menyebabkan perkembangan penanda langsung dikenal sebagai *Resistance gene analogs polimorfisme* (RGAP). Penanda RGAP didasarkan pada rancangan primer dari daerah terkonservasi domain termasuk NBS, LRR dan protein kinase resisten gen (Chen, 1998). Beberapa penanda RGAP telah berhasil digunakan untuk mengembangkan marka molekuler terkait dengan gen ketahanan dalam gandum (Chen, 2006), barley dan jagung (Bustamam, 2004).

Primer RGA terdapat 2 sifat yaitu repetitif dan spesifik pada ketahanan penyakit tertentu. Primer repetitif didesain dari kelas domain NBS-LRR sehingga akan terjadi amplifikasi pada saat *annealing* dalam proses PCR. Domain ini digunakan untuk mendesai primer disebabkan sifatnya yang terkonservasi atau sekuensnya relatif sama dengan tanaman lain. Hasil dari primer ini adalah polimorfisme antar tanaman dengan ketahanan yang berbeda. Kepentingan primer ini hanya digunakan untuk pengelompokan atau mengetahui hubungan kekerabatan antar tanaman (Bustamam, 2004). Sifat primer spesifik adalah primer yang didesain berdasarkan daerah terkonservasi gen ketahanan pada

penyakit tertentu. Primer ini menghasilkan produk PCR yang berukuran spesifik. Kepentingan primer ini adalah digunakan untuk identifikasi RGA pada tanaman tertentu (Sutanto, 2012).

Isolasi dan karakterisasi *R-gene* ini penting untuk melengkapi petunjuk mekanisme resistensi, interaksi yang melibatkan gen dalam pengenalan patogen dan evolusi *R-gene*. Gen resisten yang telah teridentifikasi dapat dipindahkan ke spesies tanaman lain untuk mempelajari mekanisme resistensi pada individu yang memiliki latar belakang genetik yang jauh berbeda (Aarts, 1998). Pendekatan kandidat gen telah digunakan untuk mengisolasi gen-gen resisten pada tanaman lain. Kemiripan di antara gen-gen resisten tersebut memungkinkan penggunaan marka molekuler untuk mengidentifikasi gen-gen ketahanan tanaman lain, artinya klon NBS-LRR yang diisolasi dari satu spesies dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan *R-gene* pada spesies tanaman yang lain (Parker, 1997).

RGA pada sirih (*Piper sp.*) berhasil diklon dengan menggunakan pasangan primer CNL298F/NBSIR yang didesain untuk mengidentifikasi keaslian dan keragaman dari NBS domain gen resisten dari *Musa spp.*. Dendogram menunjukkan bahwa kode PcRGAt7 dan PcRGAt9 dari *Piper colubrum* pada kluster menunjukkan kekerabatan yang dekat dengan RGA dari anggota *Piper nigrum* L. Selain itu anggota dari *Piper colubrinum* Link. yaitu PcRGAt5, PcRGAt6 dan PcRGAt8 ditemukan lebih berhubungan dengan jenis *Prunus* dan *Malus baccata* tipe NBSnya daripada dengan PcRGAt7 dan PcRGAt9. Hasil tersebut menunjukkan bahwa tipe protein NBS gen resisten terdiri dari banyak gen pada spesies *Piper* (Tiing, 2012).

Primer oligonukleotida telah didesain dengan dasar dari motif NBS yang terkonservasi dari gen resisten dari *Arabidopsis* dan tembakau digunakan untuk mengamplifikasi RGA dari padi. Primer yang diamplifikasi terdiri kira-kira 500 bp. Analisis restriksi menghasilkan amplifikasi beberapa pita yang berbeda (Mago, 1999). RGA juga telah diamplifikasi pada temulawak dengan menggunakan primer daerah yang terkonservasi (P-Loop dan GLPL) pada NBS dari R-gene yang menyediakan sumber sekuens yang analog yang disebut dengan *resistance gene candidates* (RGCs) dari temulawak liar *Curcuma aromatica*, *Curcuma angustifolia* dan *Curcuma zeodania*. Sebanyak 21 temulawak telah berhasil diisolasi RGA dari tanaman tersebut dan dikelompokkan menjadi 4 kelompok (Kar, 2013).

Hasil penelitian Sun (2010) menunjukkan dua puluh fragmen RGA yang diisolasi dari pisang *Goldfinger*, didapatkan ukuran sekitar 530 bp. Analisis tersebut menghasilkan motif NBS R-gen dalam lokasi yang tepat. Hasil *Allignment* (pengurutan sekuens) antara 20 RGA berkisar dari 41,1% sampai 99,3%, sedangkan identitas sekuens asam amino menunjukkan nilai antara 33,2 % sampai 96,3 %. Perbandingan antara asam amino didasarkan pada urutan pisang NBS atau gen ketahanan LRR analog untuk 4 spesies pisang di GenBank dengan kode EU123872 menunjukkan identitas kesamaan urutan 93 %, 87 %, 93 % dan 88 %. Hasil pengurutan asam amino 16 pisang yang lain dengan NBS RGA dalam penelitian dihasilkan kesamaan 38 % - 65 % asam amino yang homolog dengan *R-Gene* tanaman lain. Hasil tersebut menunjukkan bahwa genketahanan NBS pisang merupakan multigen yang terkonservasi.

2.5 Analisis Keanekaragaman Genetik Dari Marka Molekuler

Pita DNA yang dihasilkan karena polimorfisme melalui elektroforesis dapat dianalisis. Untuk melihat keanekaragaman genetik dari suatu kelompok organisme ini dan untuk menempatkannya pada posisi-posisi tertentu dalam pohon filogeni telah dimanfaatkan beberapa program statistik khusus seperti NT-Sys, Popgen, Arlequin dan Treecon. Masing-masing software digunakan sesuai dengan kebutuhan analisis (Suryanto, 2003).

Bobot molekul dari pita-pita yang terbentuk dianggap sebagai variabel yang digunakan untuk membedakan satu organisme dengan organisme lain. Cara ini dapat dibuat kesepakatan biner, seperti jika ada pita pada suatu posisi berat molekul dianggap bernilai 1, jika tidak ada bernilai 0 (Suryanto, 2003).