

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi DNA

Analisis DNA dimulai dengan melakukan ekstraksi DNA total dari tanaman pisang. Ekstraksi DNA menggunakan metode CTAB (*cetyl trimethylammonium bromide*), tahap ekstraksi meliputi lisis sel, presipitasi dan purifikasi. Bagian tanaman yang diambil adalah bagian daun yang masih muda. Alasan digunakan organ daun dari tanaman karena bagian ini lebih mudah diekstrak secara teknik daripada bagian tanaman yang lainnya seperti akar, batang dan biji. Selain itu isolasi DNA dengan menggunakan metode CTAB, bagian daun menghasilkan pita DNA yang lebih jelas dan bersih dibandingkan dengan bagian biji (Nuraidah, 2010). Hasil konsentrasi dan kemurnian DNA dengan pengukuran *spektrofotometer* dapat dilihat pada tabel 4.6

Tabel 4.6 Pengukuran konsentrasi dan Kemurnian DNA hasil ekstraksi

No	Nama Pisang	Konsentrasi DNA(x50 ng/μl)	A260	A280	A260/A280 (Kemurnian)
1.	Agung Jawa	224,73	0,019	0,007	2,05
2.	Agung Semeru	771,89	15,403	7,917	1,95
3.	Mas Kirana	217,30	4,495	3,346	1,34
4.	Susu	777,69	0,039	0,023	1,68
5.	Kidang	935,3	0,047	0,022	2,04
6.	Cavendish	1131,28	2,640	1,234	2,07
7.	Embug	238,8	0,012	0,006	2,00
8.	Kepok	796	0,059	0,037	1,57
9.	Barley	159,2	0,009	0,004	2,00
10.	Raja Nangka	808,28	0,045	0,020	2,00
11.	Raja Mala	557,2	0,029	0,017	1,72
12.	Ambon Hijau	796,06	0,076	0,054	1,40

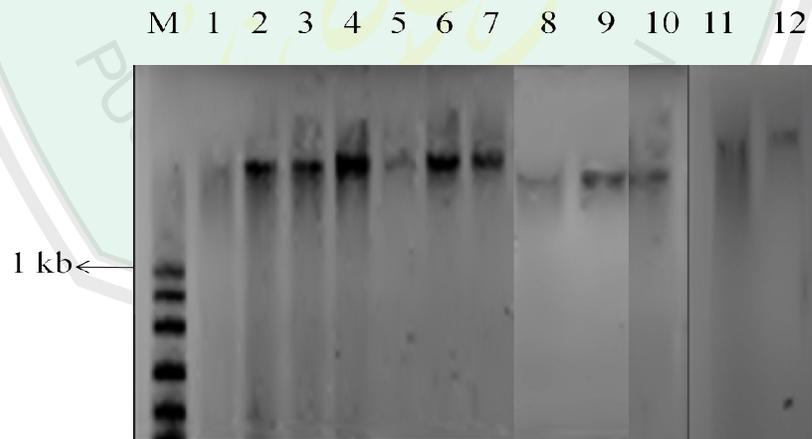
Berdasarkan tabel 4.4 hasil perhitungan konsentrasi DNA berkisar antara 159,2 sampai 1131 ng/ μ l. Banyak sedikitnya DNA yang dihasilkan dipengaruhi oleh beberapa faktor pada saat ekstraksi dan kondisi sampel. Komalasari (2009) menyatakan bahwa konsentrasi hasil ekstraksi DNA dipengaruhi oleh 2 faktor yaitu kecepatan ekstraksi pada waktu ekstraksi dan komposisi penambahan lisis buffer. Faktor kecepatan ekstraksi merupakan faktor paling berpengaruh karena pada tahap lisis sel dan presipitasi pengambilan supernatan harus dilakukan persampel, sehingga beberapa sampel terjadi pengendapan DNA.

Pengukuran dengan menggunakan spektrofometer juga dapat digunakan untuk mengetahui kemurnian DNA hasil ekstraksi. Tingkat kemurnian dapat ditentukan dengan cara menghitung rasio antara nilai 260 nm dan 280 nm pada sampel DNA. Nilai 260 nm merupakan nilai maksimal DNA dapat menyerap cahaya, nilai tersebut dapat digunakan untuk memperkirakan konsentrasi DNA, Sedangkan nilai 280 merupakan nilai maksimal residu protein dapat menyerap cahaya.

Berdasarkan hasil dari ekstraksi menunjukkan tingkat kemurnian DNA masing-masing sampel berkisar antara 1,34 sampai 2,02. Hasil ekstraksi dengan rasio 1,8 sampai 2,0 merupakan DNA dengan kemurnian yang tinggi dan tidak terkontaminasi dengan residu protein. Sampel-sampel yang menunjukkan DNA mendekati murni kultivar Raja Nangka (1,72) dan sampel DNA murni yaitu Agung Semeru (1,95), Embug (2,00), Barley (2,00). Hasil yang menunjukkan nilai kemurnian di bawah 1,8 menunjukkan masih adanya kontaminasi protein. Sampel-sampel yang mengandung adanya kontaminan protein adalah kultivar

Mas Kirana (1,34), Susu (1,68), Kepok (1,57) dan Ambon Hijau (1,40). Sampel-sampel yang menunjukkan kemurnian diatas 2,0 yaitu Raja Nangka (2,02), Cavendish (2,07), Agung Jawa (2,05), Kidang (2,04), Hasil ekstraksi dengan kemurnian diatas 2,0 menunjukkan adanya kontaminan senyawa berat molekul kecil misalnya RNA, sehingga diperlukan adanya purifikasi dengan *RNase*. DNA yang tidak murni disebabkan juga oleh adanya sisa-sisa etanol pada saat pengeringan yang tidak sempurna. Faktor lain yang menyebabkan DNA tidak murni adalah adanya sisa kandungan metabolit sekunder pada organ tanaman yang diekstrak (Fatchiyah, 2009).

Kualitas DNA hasil ekstraksi dianalisis dengan menggunakan gel agarose 1%, kemudian divisualisasikan dengan UV transiluminator. Hasil ekstraksi DNA pisang dapat dilihat pada gambar 4.11.



Gambar 4.11 Hasil elektroforesis DNA genom pisang dengan gel Agarose 1%. M merupakan marker 1 kb. Keterangan sumur : sumur 1 Pisang Mas Kirana; sumur 2 Pisang Susu; sumur 3 Pisang Kidang; sumur 4 Pisang Cavendish; sumur 5 Pisang Embug; sumur 6 Pisang Kepok; 7 Pisang Agung Jawa; sumur 8 Pisang Agung Semeru; sumur 9 Pisang Barley; sumur 10 Pisang Raja Nangka; sumur 11 Pisang Raja Mala; sumur 12 Pisang Ambon Hijau.

Berdasarkan hasil dari gambar 4.10 menunjukkan bahwa sampel nomor 1 (Mas Kirana) terlihat DNA yang didapatkan sangat sedikit konsentrasinya dan terdapat *smear*. Sampel nomor 2 (Susu), 3 (Kidang), 4 (Cavendish) dan 6 (Kepok) terlihat pita yang dihasilkan sangat tebal karena konsentrasi DNA tinggi tetapi masih ada *smear*. Sampel nomor 5 (Embug), 8 (Agung Semeru), 9 (Barley), 10 (Raja Nangka), 12 (Ambon Hijau) terlihat pita yang dihasilkan tipis, sedikit menyebar dan sampel no.11 (Raja Mala) pita yang dihasilkan sedikit lebih tebal. Perbedaan hasil pada masing-masing sampel tergantung pada banyaknya konsentrasi DNA yang terekstraksi. Kualitas DNA yang terekstraksi juga ditunjukkan oleh adanya *smear* pada pita DNA, semakin sedikit atau tidak adanya *smear* menunjukkan semakin baik kualitas DNA.

Irmawati (2003) menyatakan bahwa pita DNA yang tebal dan mengumpul (tidak menyebar) menunjukkan konsentrasi yang tinggi dan DNA total yang diekstrak dalam kondisi utuh. Sedangkan, pita DNA yang terlihat menyebar menunjukkan adanya ikatan antar molekul DNA yang terputus pada saat proses ekstraksi berlangsung, sehingga genom DNA terpotong menjadi bagian-bagian yang lebih kecil. Terputusnya ikatan antar molekul tersebut dapat disebabkan oleh adanya gerakan fisik yang berlebihan yang dapat terjadi dalam proses pemipetan, pada saat dibolak-balik dalam *ependorf*, disentrifus, atau bahkan karena temperatur yang terlalu tinggi dan karena aktivitas bahan-bahan kimia tertentu.

Hasil pengujian kuantitas dan kualitas DNA menunjukkan hasil yang berbeda antara lain pada sampel pisang Barley hasil spektrofotometer menunjukkan konsentrasi DNA sangat sedikit yaitu 159,2 ng/ μ l, akan tetapi pada

pengujian kualitas DNA menunjukkan pita yang tebal. Sampel pisang Raja Mala menghasilkan konsentrasi DNA 557,2 ng/ μ l, sedangkan pada hasil pengujian kualitas pita yang terbentuk tipis. Kemurnian sampel menunjukkan hasil mendekati murni yaitu 1,72, akan tetapi pada hasil uji kualitas terlihat adanya *smear* dan DNA bersifat menyebar. Perbedaan hasil kuantitas tersebut dapat diakibatkan oleh teknis pada saat pengukuran, antara lain pada saat melakukan homogenasi sebelum *spektrofotometer* sebagian DNA menempel pada *eppendorf* dan proses pipeting yang kurang tepat menyebabkan DNA terputus menjadi fragmen-fragmen. Kesalahan teknis tersebut menyebabkan konsentrasi DNA pada hasil *spektrofotometer* lebih sedikit daripada hasil uji kualitas DNA. Perbedaan kemurnian DNA disebabkan oleh sisa bahan, seperti adanya sisa *loading dye* yang terdapat pada pori gel Agarose. Sisa bahan yang lain adalah *Ethidium Bromida* yang terdapat pada pori-pori gel Agarose, sehingga terdapat *smear* tipis berada diantara pita DNA.

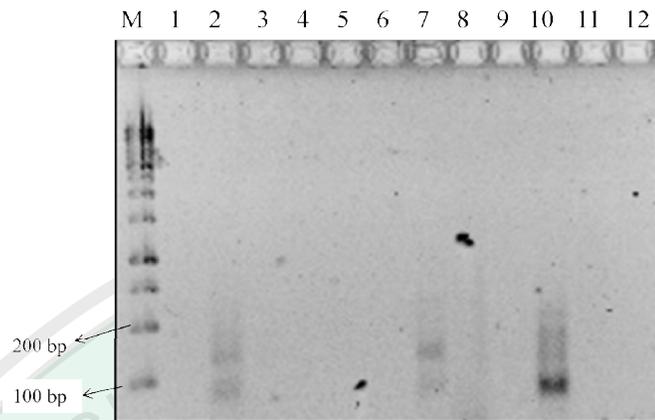
Hasil dari ekstraksi DNA tersebut selanjutnya digunakan sebagai *template* pada proses amplifikasi dengan menggunakan PCR. Sebelum dilakukan amplifikasi dilakukan pengenceran DNA terlebih dahulu. Pengenceran ini bertujuan untuk meminimalkan adanya kontaminasi seperti protein, fenol maupun sisa bahan pada saat ekstraksi. Selain itu pengenceran dapat digunakan untuk menentukan volume akhir DNA pada komposisi bahan PCR. Pengenceran dilakukan berdasarkan pendaran terang tidaknya visualisasi pita dan berdasarkan hasil konsentrasi hasil ekstraksi DNA.

Berdasarkan optimasi pengenceran DNA, pita yang terang dilakukan pengenceran sebanyak 20 x , artinya 1 mikrolit DNA ekstraksi diencerkan dengan menambahkan aquabidest steril sebanyak 19 mikrolit. Pengenceran ini berlaku untuk sampel pisang Cavendish, Kidang dan Raja Nangka. DNA yang kurang konsentrasinya dilakukan pengenceran sebanyak 10x (1 mikrolit DNA ekstraksi ditambah 9 mikrolit aquabidest) berlaku untuk sampel pisang Susu, Kepok, Agung Semeru dan Ambon Hijau. Pengenceran 7x digunakan untuk Raja Mala, sedangkan pengenceran 3x (1 mikrolit DNA ekstraksi ditambah 2 mikrolit aquabidest) digunakan untuk pita yang tipis yaitu Pisang Agung Jawa, Mas Kirana, Barley dan Embug. DNA hasil pengenceran ini yang akan dijadikan sebagai *template* dalam proses amplifikasi PCR. Pengenceran juga dilakukan untuk menentukan konsentrasi DNA *template* pada volume total reaksi PCR, pengenceran dilakukan hingga konsentrasi DNA 60 sampai 80 ng (Bustamam, 2004).

4.2 Amplifikasi DNA

4.2.1 Amplifikasi Menggunakan Primer NBS-NLRR

Proses amplifikasi DNA total dengan menggunakan primer NBS-NLRR (Kode akses NCBI AJ534312.1). Produk amplifikasi dari primer sekitar 200 sampai 800 bp. Hasil amplifikasi dan dielektroforesis dengan menggunakan gel agarose 1,2 % primer ini dapat dilihat pada gambar 4.12.



Gambar 4.12 Hasil elektroforesis DNA menggunakan primer NBS-LRR dengan gel Agarose 1,2. Keterangan sumur 1 Pisang Raja Mala; sumur 2 Pisang Ambon Hijau; sumur 3 Raja Nangka; sumur 4 Pisang Agung Jawa; sumur 5 Pisang Agung Semeru; sumur 6 Pisang Barley; sumur 7 Pisang Kepok; sumur 8; sumur 9 Pisang Embug (kontrol rentan); sumur 9 Pisang Cavendish; sumur 10 Pisang Kidang; sumur 11 Pisang Susu; sumur 12 Pisang Mas Kirana (kontrol tahan).

Hasil gambar 4.14 tersebut menunjukkan bahwa hanya 3 kultivar pisang (Ambon Hijau, Kepok, Kidang) yang dapat diamplifikasi dengan primer NBS-LRR. Pada sampel yang lain tidak terbentuk pita dan tidak terdapat *smear* dari proses PCR. Ukuran hasil amplifikasi berkisar 180 bp sampai 100 bp yang seharusnya hasil amplifikasi diatas 200 bp. Terdapat beberapa faktor yang menyebabkan tidak berhasilnya amplifikasi PCR yaitu komposisi PCR (kerusakan pada *Green Master Mix*), suhu *annealing* dan primer yang tidak sesuai.

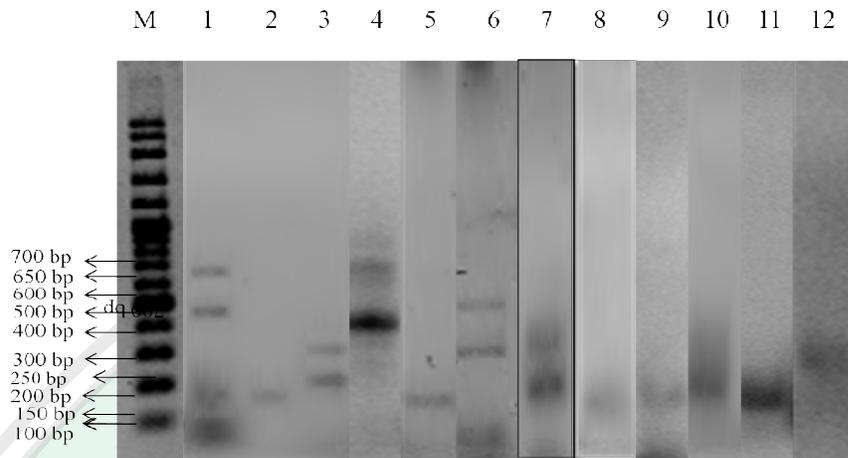
Faktor yang paling berpengaruh terhadap hasil penelitian ini adalah ketidaksesuaian primer terhadap sampel. Primer didesain berdasarkan daerah terkonservasi RGA pada tanaman pisang dengan bantuan *GenBank* di NCBI spesies *M. acuminata*. Sekuens sampel yang terdapat pada *GenBank* kemungkinan memiliki sekuens RGA yang berbeda, sehingga primer tidak dapat

menempel pada genom sampel. Kultivar pisang yang berhasil diamplifikasi kemungkinan mempunyai sekuen yang sama.

Fatchiyah (2009) menyatakan DNA *smear* dapat disebabkan oleh berlebihan pemakaian Mg^{++} , dNTP, *Taq* polimerase, primer dan DNA *template* atau adanya kontaminan pada DNA *template* sehingga menghambat aktivitas *taq polimerase*, Suhu *annealing* dan primer yang tidak sesuai juga menyebabkan DNA target tidak teramplifikasi. Yowono (2006) menyebutkan bahwa pada saat proses *annealing*, primer akan menempel pada untaian DNA yang telah terpisah menjadi untaian tunggal. Primer tersebut akan membentuk jembatan hidrogen dengan untaian DNA pada daerah sekuen yang komplementer dengan sekuen primer.

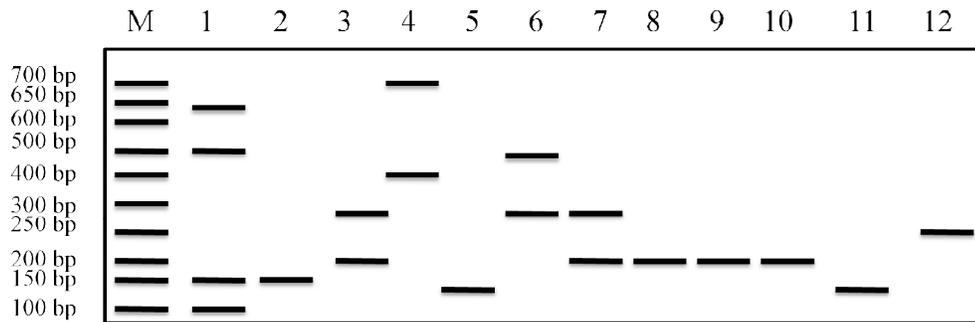
4.2.2 Amplifikasi Menggunakan Primer NLRR

Amplifikasi menggunakan primer NLRR yang bersifat repetitif sehingga menghasilkan pita RGA yang polimorfis. Banyaknya pita DNA yang terbentuk menunjukkan bahwa primer RGA merupakan primer yang multi lkus (nonspesifik). Primer RGA ini secara spesifik digunakan untuk mendeteksi variasi genetik yang berhubungan dengan ketahanan terhadap penyakit (Suyono, 2005). Prinsip dalam skoring untuk karakterisasi ini adalah menghitung sebanyak mungkin pita DNA yang muncul. Hasil amplifikasi terdapat pada gambar 4.13



Gambar 4. 13 Hasil elektroforesis dengan primer NLRR keterangan sumur 1 Pisang Mas Kirana (kontrol tahan); sumur 2 Pisang Barley; sumur 3 Pisang Susu; Sumur 4 Pisang Cavendish; sumur 5 Pisang Raja Nangka; sumur 6 Pisang Kidang; sumur 7 Pisang Agung Semeru (kontrol tahan); sumur 8 Pisang Agung Jawa; sumur 9 Pisang Ambon Hijau; sumur 10 Pisang Raja Mala; sumur 11 Pisang Embug (kontrol rentan); sumur 12 Pisang Kepok.

Berdasarkan gambar 4.13 hasil amplifikasi dengan menggunakan primer NLRR menunjukkan bahwa primer ini dapat mengamplifikasi semua sampel kultivar pisang. Pita amplikon pada sampel nomor 1 (Mas Kirana), 2 (Barley), 3 (Susu), 4 (Cavendish), 5 (Raja Nangka) dan 6 (Kidang) menghasilkan pita yang tegas dan tidak terdapat *smear*. Sampel nomor 5 (Raja Nangka), 7 (Agung Semeru), 8 (Agung Jawa), 9 (Ambon Hijau), 10 (Raja Mala), 11 (Embug), 12 (Kepok) menunjukkan adanya *smear* tipis, sehingga pada hasil PCR masih terdapat sedikit kontaminan protein. Hasil zimogram visualisasi pita dapat dilihat pada gambar 4.14.



Gambar 4. 14 Zimogram hasil pita amplifikasi keterangan sumur 1 Pisang Mas Kirana (kontrol tahan); sumur 2 Pisang Barley; sumur 3 Pisang Susu; sumur 4 Pisang Cavendish; sumur 5 Pisang Raja Nangka; sumur 6 Pisang Kidang; sumur 7 Pisang Agung Semeru (kontrol tahan); sumur 8 Pisang Agung Jawa; sumur 9 Pisang Ambon Hijau; sumur 10 Pisang Raja Mala; sumur 11 Pisang Embug (kontrol rentan); sumur 12 Pisang Kepok.

Berdasarkan hasil amplifikasi primer tersebut didapatkan pita yang polimorfis yang dapat membedakan dan mengelompokkan kultivar pisang. Ukuran pita yang dihasilkan dari proses amplifikasi berkisar antara 100 sampai 700 bp. Kultivar yang digunakan sebagai kontrol tahan I terhadap penyakit adalah Mas Kirana (sampel no.1) menghasilkan pita berukuran masing-masing 650 bp, 500 bp, 150 bp dan 100 bp. Kultivar Agung Semeru sebagai kontrol tahan II (sampel no.7) menghasilkan pita berukuran 300 bp dan 200 bp dan mempunyai satu pita yang sama dengan pisang Susu. Kultivar Embug digunakan sebagai kontrol rentan, menghasilkan satu pita berukuran 200 bp. Beberapa kultivar lain yang mempunyai ukuran 200 bp adalah Barley dan Raja Nangka. Kultivar Kepok menghasilkan satu pita berukuran 250 bp. Kultivar Agung Jawa, Raja Mala dan Ambon Hijau menghasilkan satu pita berukuran 200 bp. Kultivar Cavendish

menghasilkan 2 pita berukuran 700 bp dan 400 bp. Kultivar Kidang menghasilkan 2 pita berukuran 500 bp dan 300 bp.

Primer RGA yang digunakan untuk amplifikasi ini bersifat repetitif, yaitu primer yang mengamplifikasi sekuens DNA berulang pada daerah RGA. Primer ini bersifat spesifik untuk sifat ketahanan tanaman terhadap penyakit. Daerah amplifikasi pada primer ini repetitif pada RGA sekuens *forward* 'TAGGGCCTCTTGCATCGT dan *Reverse* 'TATAAAAAGTGCCGACT. Hasil dari primer ini yaitu perbedaan pita antara kultivar tahan dan yang bersifat rentan. Perbedaan tersebut diakibatkan oleh sekuens DNA yang berbeda sehingga ketika mengalami proses translasi akan menghasilkan kode protein yang berbeda. Pada saat melawan patogen tanaman harus meregulasikan faktor transkripsi secara tepat (dalam waktu yang tepat) setelah mengenali patogen, agar dapat mengaktifkan gen-gen yang berhubungan dengan pertahanan.

Campbell (2000) menyatakan bahwa produk translasi akan menghasilkan *Gen R (Resistance gen)*, peran dari gen ini adalah menjadi reseptor yang akan berpasangan dengan ligan dari patogen yaitu gen *Avr*. Pengikatan ligan pada reseptornya akan memicu suatu jalur transduksi sinyal yang menghasilkan respon pertahanan pada jaringan tumbuhan yang terinfeksi.

Jumlah hasil amplifikasi menunjukkan bahwa gen yang mengendalikan ketahanan pada penyakit bersifat poligen, artinya ketahanan terhadap penyakit dikendalikan oleh banyak gen yang saling menambah dan memberikan reaksi sehingga menimbulkan ketahanan yang luas. Semangun (2006) menyatakan ketahanan yang dikendalikan oleh banyak gen disebut juga ketahanan horizontal,

mekanisme dari ketahanan ini bekerja sebelum maupun sesudah patogen masuk ke dalam badan tumbuhan. Ketahanan horizontal menyebabkan berkurangnya pembentukan spora, akan tampak bahwa laju perkembangan epidemi berkurang. Kumpulan gen-gen pada pertahanan horizontal ini akan bertanggung jawab pada serangan patogen yang menginfeksi tanaman.

Banyaknya jumlah pita yang dihasilkan menunjukkan bahwa primer RGA bersifat multilokus (Bustaman, 2004). Hasil dari penggunaan primer RGA ini kurang spesifik untuk kepentingan identifikasi, karena banyak pita yang dihasilkan dan belum diketahui ukuran RGA dengan target tertentu. Sutanto (2013) menyatakan telah berhasil membuat desain primer RGA dengan target tertentu terutama untuk kepentingan marka SNAP berbasis RGA. Ukuran atau target yang dihasilkan antara lain 325 bp, 250 bp dan 287 bp. Produk primer yang dihasilkan bersifat spesifik pada sekuens target tertentu. Produk amplifikasi primer tidak bersifat polimorfis, sehingga dapat digunakan untuk identifikasi gen ketahanan. Sutanto (2012) menyatakan pasangan primer untuk spesifik RGA yaitu F9+F6 dengan sekuens Forward'GGNGGNRTIGGIAARACIAC dan reverse' AAGIGCTAAGIGGIAAGICC juga merupakan primer spesifik. Primer ini didesain berdasarkan daerah terkonservasi (*conserved domain*) NBS-LRR dengan target wilayah P-Loop dan GLPL dari RGA pisang. Primer ini menghasilkan satu pita amplikon yang berukuran 500-550 bp yang menjadi ukuran spesifik dari RGA.

Hasil dari penelitian memberikan pelajaran penting bahwa Allah Subhanahu Wata'ala menciptakan tumbuhan yang mempunyai sifat yang berbeda

meskipun tumbuh pada habitat yang sama (variasi genetik). Salah satu contoh variasi genetik yang disebutkan pada surat Ar-Ra'du adalah perbedaan rasa yang terdapat pada buah, selain itu tumbuhan juga mempunyai perbedaan pertahanan terhadap penyakit. Tumbuhan tersebut tumbuh pada tempat dan lingkungan yang sama. Hal ini sesuai dengan firman Allah dalam surat Ar-Ra'd ayat 4 yang berbunyi :

وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُتَجَوِّرَاتٌ وَجَنَّتْ مِنْ أَعْنَبٍ وَزَّرَعٌ وَخَيْلٌ صَنَوَانٌ وَغَيْرُهُ
صَنَوَانٌ يُسْقَى بِمَاءٍ وَاحِدٍ وَنُفِضَ لِبَعْضِهَا عَلَى بَعْضٍ فِي الْأُكُلِ إِنَّ فِي ذَلِكَ
لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ ﴿٤﴾

Artinya : dan di bumi ini terdapat bagian-bagian yang berdampingan, dan kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman dan pohon korma yang bercabang dan yang tidak bercabang, disirami dengan air yang sama. Kami melebihkan sebagian tanam-tanaman itu atas sebagian yang lain tentang rasanya. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda- tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berfikir.

Aljazairi (2007) menyatakan bahwa Allah menciptakan di bumi ini bagian-bagian yang berdampingan dengan sebagian yang lain. Ada tanah yang baik dan ada tanah yang buruk, ada tanah yang berair dan ada yang tidak. Allah menciptakan juga kebun-kebun anggur, korma dan lain-lain. Ada yang bercabang-cabang pada satu tangkai dan ada yang tidak bercabang. Maksud dari kata **سقى** “disirami” yaitu anggur-anggur dan tanaman-tanaman lainnya disiram atau berasal dengan air yang sama. Maksud dari **ونفضل** “dan kami melebihkan” adalah sebagian tanaman itu berbeda dengan sebagian yang lain salah satunya tentang rasanya. Apa yang dapat dirasakan, ada yang manis, asam, lezat dan tidak enak rasanya. Al-Mahalliyy (1990) menyatakan bahwa Allah menciptakan pohon kurma,

sekelompok padi-padian dan buah anggur, semua mendapat siraman jenis air yang sama, namun betapa berlainan hasil panennya. Keadaan ini dapat berlaku pada segala macamsayuran, buah-buahan atau hasil yang dapat dimakan mungkin saja berbeda dalam aneka varietas tumbuhan yang tak terhingga.

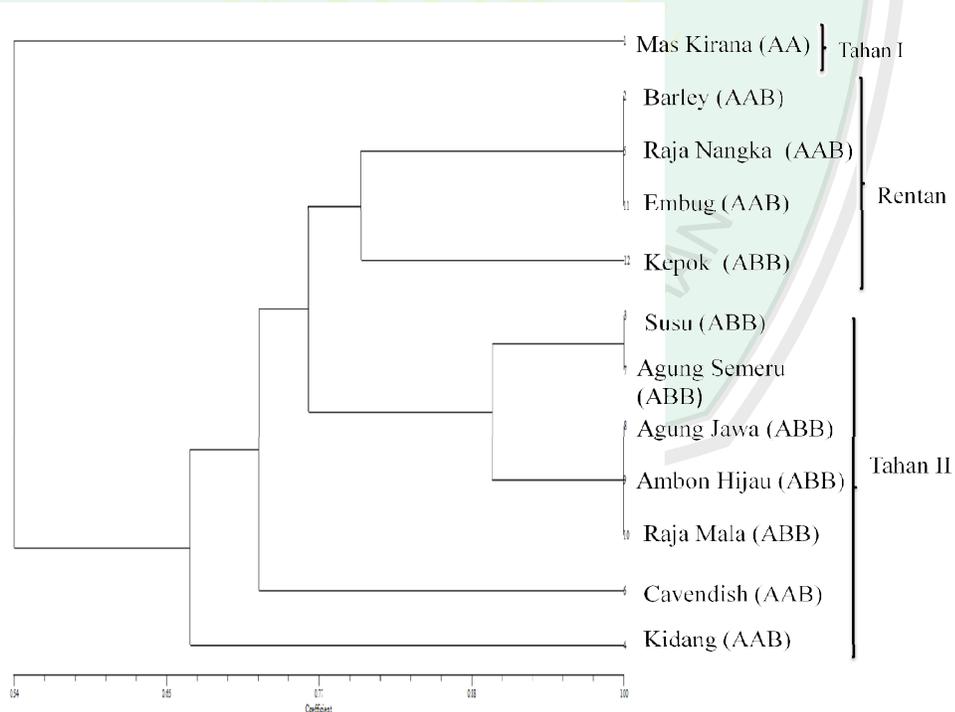
Tanaman-tanaman tersebut juga terdapat perbedaan lain antar lain seperti bunga, sifat, bau dan manfaatnya. Padahal semua berasal dari suatu zat alam yang sama yaitu air, tetapi menghasilkan tumbuh-tumbuhan dan buah yang beraneka macam warna dan rasa yang tak terhitung (Ibnu Katsir dalam Abdullah, 2007). Perbedaan sifat dapat pula diartikan dengan adanya perbedaan ketahanan terhadap penyakit. Ada tanaman pisang yang mempunyai sifat lebih tahan terhadap serangan penyakit ada juga yang rentan terhadap penyakit. Tanaman pisang tersebut hidup dan tumbuh di lingkungan yang hampir sama, akan tetapi dengan kekuasaan Allah tanaman pisang tersebut mempunyai sifat ketahanan terhadap penyakit yang berbeda.

Ayat tersebut terdapat bukti-bukti keesaan Allah, kekekalan dan petunjuk bagi siapa saja yang tidak mengenalnya. Allah mengingatkan dengan firman-firmannya meskipun berdampingan tetapi banyak perbedaan. Padahal perbedaan itu muncul dari tanah yang sama dan disirami dengan air yang sama. Keadaan seperti ini tidak akan terjadi kecuali atas kekuasaan Allah, yang memiliki ilmu yang tidak terbatas dan juga hikmah yang tidak luput dari segala sesuatu. Dialah Allah yang menciptakan segala sesuatu dan mengetahuinya (Al- Jazairi, 2007). Ayat tersebut menganjurkan manusia untuk berpikir dan merenungi dan mempelajari kejadian yang terdapat yang terdapat di bumi. Kejadian sebagai tanda

kekuasaan Allah dapat dijadikan sarana untuk lebih mendekatkan diri kepada Allah.

4.3. Dendrogram Pengelompokan Kultivar Pisang Untuk Sifat Ketahanan Terhadap Penyakit

Pengelompokan pisang (*Musa sp.*) untuk sifat ketahanan terhadap penyakit didasarkan pada hasil amplifikasi dengan menggunakan primer NLLR (Bustamam, 2004). Hasil pengelompokan tersebut merupakan kelompok berdasarkan jarak genetik yaitu semakin kecil jarak genetik maka semakin dekat kekerabatan genetiknya, sehingga semakin sama sifat ketahanan terhadap penyakit. Hasil pengelompokan disajikan dalam bentuk dendrogram dengan *software* NTSYS gambar 4.15.



Gambar 4.15 Dendrogram pengelompokan berdasarkan primer RGA-NLLR

Dendrogram tersebut memperlihatkan bahwa tingkat indeks similaritas sifat ketahanan terhadap penyakit tanaman dibagi menjadi 3 kelompok. Kultivar Mas Kirana sebagai kontrol tahan I mempunyai indeks kemiripan yang rendah dengan kelompok lain yaitu 0,54. Kultivar Embug sebagai kontrol rentan bergabung dengan kultivar Barley dan Raja Nangka mempunyai indeks kemiripan 1, artinya sifat ketahanan dari kultivar tersebut hampir sama. Kultivar Kepok juga bergabung dalam kelompok rentan dengan indeks kemiripan 0,81. Kultivar Agung Semeru sebagai kontrol tahan II bergabung dengan kultivar Susu dengan indeks kemiripan 1. Kelompok ini bergabung juga kultivar Agung Jawa, Ambon Hijau dan Raja Mala dengan indeks kemiripan antar kultivar tersebut 1, sedangkan dengan kontrol tahan II mempunyai indeks kemiripan 0,91. Kelompok tahan II ini bergabung kultivar Cavendish dengan indeks kemiripan 0,71 dan kultivar Kidang mempunyai indeks kemiripan 0,68.

Berdasarkan data filogenetik kultivar-kultivar yang memiliki tingkat kekerabatan dekat seperti kultivar Embug, Barley dan Raja Nangka dan Kepok kemungkinan mempunyai pola RGA yang hampir sama. Kesamaan ini mengakibatkan respon pertahanan terhadap penyakit sama. Kultivar yang mempunyai tingkat kekerabatan dekat dengan kultivar tahan II yaitu Agung semeru dan Susu mempunyai tingkat kekerabatan sama sehingga memiliki kesamaan respon terhadap penyakit. Kultivar Cavendish dan Kidang mempunyai pola pita RGA yang berada diantara kelompok kultivar Embug dan Agung Semeru sehingga respon terhadap penyakit memiliki kesamaan dengan kedua kelompok kedua kultivar tersebut. Kultivar Mas Kirana mempunyai indeks

kesamaan yang rendah yaitu 0,54 dengan kultivar lainnya dikarenakan ketahanan sangat berbeda dan secara genom kultivar bukan hasil persilangan yaitu genom AA. Campbell (2000) menyatakan respon pertahanan terhadap penyakit dikendalikan oleh gen ketahanan atau *Resistance gene (R Gene)*, sehingga dengan pola gen ketahanan yang sama dimungkinkan mempunyai respon terhadap penyakit yang hampir sama.

Bustamam (2004) menyatakan data hubungan kekerabatan yang dihasilkan dengan menggunakan primer RGA tidak semata-mata disebabkan oleh kesamaan gen-gen tahan penyakit oleh kultivar-kultivar tersebut, tetapi juga karena kultivar tersebut berada dalam pada satu filogeni meskipun berasal dari beberapa persilangan. Indeks kesamaan tersebut menunjukkan kesamaan, semakin mendekati 1 maka tidak ada variasi genetik, sedangkan semakin mendekati angka 0 maka jauh jarak genetiknya (Sutanto, 2003). Kultivar Mas Kirana dan Agung Semeru mempunyai perbedaan fragmen DNA yang dihasilkan oleh primer RGA NLRR. Kondisi ini memberikan peluang untuk ditemukannya urutan gen ketahanan dari tanaman yang sebelumnya tidak diketahui sifat ketahannya terhadap penyakit.

Data hasil hubungan kekerabatan tersebut dapat digunakan sebagai referensi untuk pelaksanaan perkawinan silang dalam pemuliaan tanaman pisang. Julisaniah (2008) menyatakan bahwa hasil diagram filogenetik pengelompokan dapat digunakan sebagai acuan dalam penentuan induk untuk pembuatan bibit. Semakin jauh hubungan kekerabatan antar sampel, maka semakin kecil keberhasilan persilangan, tetapi kemungkinan untuk memperoleh genotip unggul

lebih besar jika persilangan berhasil. Perkawinan antara individu berjarak genetik dekat atau hubungan kekerabatannya sama mempunyai efek peningkatan homozigositas, sebaliknya perkawinan antara individu berjarak genetik besar atau kekerabatannya jauh mempunyai efek peningkatan heterozigositas. Informasi ini bermanfaat bagi proses pemuliaan bibit unggul. Perkawinan tetua dengan variasi genetik tinggi akan menghasilkan individu dengan heterozigositas lebih tinggi.

Penentuan hubungan kekerabatan dari kultivar-kultivar pisang tersebut berdasarkan kemiripan dari sifat ketahanannya, sehingga kultivar yang mempunyai tingkat ketahanan yang sama dikelompokkan menjadi kelompok yang sama, dan sebaliknya kultivar yang mempunyai sifat ketahanan yang berbeda berada di kelompok yang lainnya. Penentuan hubungan kekerabatan berdasarkan indeks kemiripan ini juga digunakan untuk membedakan orang mukmin dengan orang yang lainnya, Rasulullah Shallallahu ‘Alaihi Wassalam bersabda :

المؤمنُ مرآةُ المؤمنِ

Artinya : Seorang mukmin merupakan cerminan saudaranya yang mukmin yang lain (Adabul Mufrod – Imam Bukhori, Abu Dawud – no.4918).

Kata المؤمن dalam hadits tersebut berarti orang mukmin, sedangkan kata مرآة bermakna cermin atau cerminan. Maksud dari hadist tersebut adalah bahwa seorang mukmin mempunyai sifat yang sama sehingga menjadi cerminan bagi orang mukmin yang lainnya. Sifat utama adalah sifat-sifat mereka yang berhubungan dalam hal ketauhidan. Qur’ani (2003) menyatakan bahwa orang mukmin merupakan cerminan bagi mukmin yang lain terutama dalam hal kualitas diri. Kualitas diri yang diutamakan adalah keimanan kepada Allah. Berdasarkan

Hadits tersebut sesuatu yang mempunyai sifat yang sama atau hampir sama maka dapat dijadikan “cermin” atau pada kelompok yang sama.

