

**KERAGAMAN GENETIK PISANG (*Musa spp.*) BERDASARKAN  
KARAKTER FENOTIP DAN MOLEKULAR MENGGUNAKAN  
PENANDA *RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA (RAPD)*  
DI KABUPATEN LUMAJANG**

**SKRIPSI**



**Disusun oleh:**

**ARIKA WAHYUNINGSIH  
H91214028**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL  
SURABAYA  
2019**

## PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Arika Wahyuningsih  
NIM : H91214028  
Program Studi : Biologi  
Angkatan : 2014

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul: “KERAGAMAN GENETIK PISANG (*Musa spp.*) BERDASARKAN KARAKTER FENOTIP DAN MOLEKULAR MENGGUNAKAN PENANDA *RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA (RAPD)* DI KABUPATEN LUMAJANG”. Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 24 Juli 2019  
Yang menyatakan,



(Arika Wahyuningsih)  
NIM H91214028

## LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi oleh

NAMA : Arika Wahyuningsih

NIM : H91214028

JUDUL : Keragaman Genetik Pisang (*Musa Spp.*) Berdasarkan Karakter Fenotip dan Molekular Menggunakan Penanda *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) Di Kabupaten Lumajang

Ini telah diperiksa dan disetujui untuk diujikan.

Surabaya, 24 Juli 2019

Dosen Pembimbing 1



(Yuanita Rachmawati, M.Sc.)  
NIP 198808192019032009

Dosen Pembimbing 2



(Dr. Moch Irfan Hadi, S.KM., M.KL.)  
NIP 198604242014031003

## PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Arika Wahyuningsih ini telah dipertahankan  
di depan tim penguji skripsi  
di Surabaya, (31 Juli 2019)

Mengesahkan,  
Dewan Penguji

Penguji I



(Yuanita Rachmawati, M.Sc.)  
NIP 198808192019032009

Penguji II



(Dr. Moch Irfan Hadi, S.KM., M.KL.)  
NIP 198604242014031003

Penguji III



(Ika Mustika, M.Kes.)  
NIP 198702212014032004

Penguji IV



(Nirmala Fitria Firdhausi, M.Si)  
NIP 198506252011012010

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi  
UIN Sunan Ampel Surabaya



Dr. Eni Purwati, M.Ag.  
NIP 196512211990022001



**KEMENTERIAN AGAMA**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA**  
**PERPUSTAKAAN**

Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300  
E-Mail: perpus@uinsby.ac.id

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Arika Wahyuningsih  
NIM : H91214028  
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi / Biologi  
E-mail address : arikatimi96@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah :

Sekripsi     Tesis     Desertasi     Lain-lain (.....)

yang berjudul :

Keragaman Genetik Pisang (*Musa spp.*) Berdasarkan Karakter fenotip dan Molekular Menggunakan Penanda Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) di Kabupaten Lumajang

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara **fulltext** untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 07 Agustus 2019

Penulis



(Arika Wahyuningsih)























dengan wujud yang sangat mirip dan menumbuhkannya di atas bumi agar manusia dapat mengambil pelajaran darinya.

Kegiatan eksplorasi, inventarisasi, dan pelestarian plasma nutfah pisang di Indonesia belum banyak dilakukan, terutama pada sampel pisang yang berasal dari daerah. Kebanyakan sampel yang diteliti adalah sampel koleksi dari kebun raya atau balai penelitian lainnya. Penelitian tersebut diantaranya analisis keragaman genetik pisang menggunakan sampel yang ada di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) (Ahmad, 2013), analisis hubungan kekerabatan dengan RAPD aksesori pisang koleksi Balai Penelitian Bioteknologi Bogor (Sukartini, 2008; Wahyuningtyas, dkk., 2009), pengelompokan 30 aksesori pisang dan hubungan kekerabatannya yang dilakukan di Kebun Koleksi Pisang Kebun Raya Purwodadi (Fitriyah, dkk., 2017), identifikasi morfologi pisang Koleksi Kebun Plasma Nutfah Kotamadya Yogyakarta (Jumari dan Pudjoarinto, 2000), dan di Kebun Percobaan Institut Pertanian Bogor (Sobir, 2006). Padahal komoditi pisang yang dikonsumsi saat ini berasal dari produksi pisang dari daerah-daerah. Selain karena koleksi tanaman yang berasal dari daerah yang terpisah-pisah. Koleksi masih terfokus pada daerah-daerah yang mudah dijangkau. Sehingga belum optimal dan seringkali kekurangan data pada beberapa kultivar yang berada di daerah-daerah (Sukartini, 2007).

Karakterisasi fenotip dan genetik diperlukan untuk melengkapi data dasar pisang. Data tersebut dapat menjadi sumber rujukan untuk meningkatkan produksi pisang baik untuk memperoleh kualitas buah yang lebih baik ataupun meningkatkan daya tahan tubuh buah pisang (Nisa dkk., 2010). Keterbatasan data tersebut akhirnya memunculkan banyak penelitian pisang yang fokus pada daerah tertentu saja. Karakterisasi fenotip lebih umum dilakukan karena mudahnya akses identifikasi baik dari segi analisis maupun biaya. Adapun analisis fenotip telah dilakukan di Kabupaten Malang dan Lumajang tetapi terbatas pada pisang Tanduk saja (Arifin dkk., 2017), Kalimantan Selatan (Nisa, dkk., 2010; Sari dan Badruzsaury, 2013), Jatinangor, Jawa Barat (Ismail, 2015), Ambon (Notanubun dan Karuwi, 2014), Kabupaten Kediri (Nedha, 2017), Aceh Besar (Rahmawati dan



Hayati, 2013), dan Sumatera Utara (Astuti dkk., 2017). Hasil identifikasi fenotip dapat menggambarkan hubungan kekerabatan filogenetik.

Keragaman genetik yang kini diketahui baik di pasaran maupun di balai penelitian merupakan gabungan dari proses adaptasi lingkungan dan domestikasi yang telah berlangsung lama. Indonesia sebagai salah satu negara penghasil pisang tertinggi di dunia memiliki keragaman genetik yang cukup tinggi. Hal tersebut menunjukkan bahwa sumber daya genetik di Indonesia memiliki kualitas yang sangatlah baik untuk memenuhi kebutuhan pangan yang stabil di masa yang akan datang (Ahmad, 2013).

Studi keragaman baik melalui aspek morfologi maupun molekular memiliki hubungan satu dengan yang lain. Perbedaan morfologi belum bisa memastikan adanya perubahan secara genetik, dikarenakan karakter morfologi dipengaruhi faktor lingkungan yang akan memicu adaptasi yang bersifat sementara maupun permanen. Penggunaan marka morfologi harus memperhatikan kondisi lingkungan dari objek yang diamati. Berbeda dengan marka morfologi, marka molekular tidak dapat berubah akibat pengaruh lingkungan. Oleh karena itu, marka molekular bisa digunakan sebagai alat ukur untuk mempelajari perbedaan dan perubahan genetik antar waktu atau lokasi dari suatu tingkat taksa atau populasi (Ahmad, 2013).

Kegiatan koleksi, konservasi dan pemanfaatan sumberdaya genetik tanaman merupakan salah satu komponen penting yang dibutuhkan dalam pengembangan tanaman (Rahmawati dan Hayati, 2013). Penerapan molekular sangat berguna dalam klasifikasi pisang karena penelitian terbaru menunjukkan bahwa DNA kloroplastik diwarisi dari induk betina sementara DNA mitokondria diwarisi dari induk jantan. Sehingga dengan pengembangan taksonomi molekular diharapkan dapat menentukan secara tepat asal induk kultivar pisang (Valmayor, dkk., 2000). Keragaman genetik molekular selain penting untuk melihat evolusi, dapat juga digunakan sebagai instrumen pengamatan di berbagai bidang, seperti verifikasi afinitas dan batasan antar spesies, deteksi bentuk reproduksi dan struktur keluarga, evaluasi tingkat migrasi dan penyebaran dalam populasi, dan untuk mengetahui spesies terancam punah (Walker and Rapley, 2008).







sinonim dari berbagai macam bahasa dan dialek di daerah-daerah. Akhirnya, kultivar yang sama diketahui dengan nama yang berbeda di negara yang berbeda. Sebaliknya, kultivar yang berbeda dapat disebut kultivar yang sama pada beberapa daerah (Valmayor, dkk., 2000; Deepthi, 2016).

*Musa paradisiaca* Linn. merupakan nama ilmiah pertama buah pisang. Publikasi pada tahun 1753 oleh Linnaeus dalam bukunya *Species Plantarum*, yang merupakan asal usul penamaan dalam botani modern. Klasifikasi *M.paradisiaca* L. didasarkan pada pertumbuhan bantalan pisang yang tumbuh panjang dan ramping yang tetap bertepung meskipun sudah matang. Pisang dalam klasifikasi ini harus dimasak terlebih dahulu untuk mengonsumsinya. Pada tahun 1959, Linnaeus mempublikasikan *Musa sapientum* Linn. dalam *Systema Nature*. Penamaan tersebut menjelaskan pisang yang dapat dikonsumsi meskipun tanpa dimasak/ pisang segar. Kedua klasifikasi diatas dapat diterapkan dengan baik di Amerika Latin dan Afrika Barat. Namun, menimbulkan kebingungan ketika diterapkan di kawasan Asia Tenggara (Valmayor, dkk., 2000).

Banyaknya keanekaragaman pisang menyebabkan klasifikasi Linnaeus tidak dapat diterapkan karena perbedaan morfologi bahkan jauh dari klasifikasi *M.paradisiaca* L. dan *M.sapientum* L. Langkah yang dilakukan para ahli taksonomi untuk mengatasi kekayaan keanekaragaman plasma nutfah, digunakanlah nama deskriptif seperti *M.nana* Lour. untuk pisang Dwarf Cavendish, *M.rubra* Firming. Von Wall. untuk pisang merah, *M.corniculata* Lour. untuk pisang raja tanduk, dan lain sebagainya. Situasi baru bisa diatasi setelah Cheesman (1948) dan Simmonds dan Shepherd (1955) menjelaskan asal usul pisang dan mengusulkan skema klasifikasi (Valmayor, dkk., 2000).

Simmonds dan Sheperd melakukan penelitian sitotaksonomi, dan menemukan bahwa klasifikasi Linnaeus berdasarkan pada kultivar hibrida. Simmonds dan Sheperd menjelaskan bahwa pisang yang dapat dikonsumsi berasal dari dua spesies liar yaitu, *M.acuminata* Colla dan *M.balbisiana* Colla yang bersifat endemik di kawasan Asia Tenggara. Cheesman mengusulkan pengelompokkan nama dan sinonim pisang menjadi 3 berdasarkan ciri morfologinya. Kelompok pertama menunjukkan karakter dominan



hibridisasi menghasilkan beberapa kombinasi baru baik diploid, triploid ataupun tetraploid (Valmayor, dkk., 2000).

Kekhawatiran utama penggunaan *M.paradisiaca* dan *M.sapientum* adalah sifat hibridanya. Namun, menurut aturan *International Code of Nomenclature for Cultivade Plants* (ICNCP), hibrid juga dapat diberi nama ilmiah. Namun, penamaan harus membawa awalan x untuk menunjukkan sifat hibrida dari spesies. Misalnya, *Musa x paradisiaca* Linn. harus digunakan karena binomial ini diterbitkan sebelum *M.sapientum* dan penamaan tersebut diakui sebagai jenis spesies pisang. *Musa x paradisiaca* berlaku untuk semua hibrida *M.acuminata* dan *M.balbisiana* tanpa memperhatikan komposisi genom masing-masing. Penamaan tersebut telah diakui oleh ICNCP (Valmayor, dkk., 2000; Deepthi, 2016).

## 2.2 Persebaran Pisang

Tumbuh di daerah tropis dan subtropis di seluruh dunia, pisang secara botani diklasifikasikan sebagai buah beri. Jika dilihat dari asal katanya, kata pisang berasal dari kata Arab “Banan”, yang berarti jari (*National Geographic*, 2017). Keragaman genetik pisang memiliki struktur genom kompleks akibat adanya evolusi baik yang berasal dari persilangan sendiri, mutasi, ataupun seleksi manusia (Wahyuningtyas, dkk., 2009). Keragaman pisang dapat ditemukan dari pulau Sumatera hingga pulau Irian jaya. Pisang berkembang biak secara vegetatif namun keragaman pisang yang ada saat ini sangatlah luas. (Sari dan Badruzsaufari, 2013; Sembiring, dkk., 2015).

Pisang adalah kekayaan tertinggi yang dimiliki wilayah Asia dan Pasifik. Hampir 25 spesies pisang menghuni hutan dan tersebar mulai dari India dan Pasifik, sepanjang utara Nepal dan meluas hingga Australia (INIBAP, 2006). Asia Tenggara merupakan pusat asal pisang tetapi budidaya telah menyebar ke seluruh daerah tropis dan sub-tropis di dunia (Lamare adn Rao, 2015). Setidaknya 3 tahun yang lalu pisang masuk di kawasan Afrika, kemudian dikembangkan oleh petani hingga mencapai 200 kultivar pisang yang tersebar di Afrika Timur, Afrika Barat, dan Afrika Tengah. Pisang masuk ke Amerika latin dan Carribean setelah kedatangan Columbus (INIBAP, 2006). Asia













Namun dalam pertumbuhannya, satu tanaman pisang hanya bisa berbunga dan berbuah satu kali. Berdasarkan intensitas tumbuhnya tersebut, pisang dapat dijadikan sumber pangan dalam setiap tahunnya terutama saat masa paceklik (Megia, 2000; FAO, 2002; Rahmawati dan Hayati, 2013).

Pisang merupakan sumber karbohidrat dan vitamin A, vitamin B, vitamin C, vitamin D, selain itu pisang juga mengandung natrium, kalsium, pottasium, kalium dan magnesium. Buah pisang mudah dicerna, bebas dari lemak dan kolesterol (Kumar dkk., 2012; Lamare and Rao, 2015; Soorianathasundaram, dkk., 2016). Adanya karbohidrat yang tinggi tersebut, maka pisang dapat digunakan sebagai alternatif pengganti beras khususnya di daerah rawan pangan (Nehda, dkk., 2017). Dalam satu buah pisang terkandung sekitar 22.84 g karbohidrat, 74.91 g air, 89 kkal, 1.09 g protein, total lemak 0.33 g, total serat makanan sebanyak 2,60 g. Vitamin yang terkandung di dalam buah pisang diantaranya vitamin C dalam jumlah yang paling besar, kemudian ada thiamin, riboflavin, niasin, asam pantotenat, vitamin B<sub>6</sub>, folat, beta karoten, vitamin A, dan vitamin D. Sedangkan kandungan mineral dalam buah pisang di dominasi oleh pottasium, selain itu terdapat pula kalsium, besi, magnesium, fosfor, sodium, seng, mangan selenium, fluorida, dan tembaga (Soorianathasundaram, dkk., 2016; Kookal dan Thimmaiah, 2018).

Pisang memiliki rasa yang enak, selain itu juga pisang mengandung gizi, vitamin, dan kalori yang bermanfaat untuk kesehatan (Notanubun dan Karuwai, 2014). Manfaat mengkonsumsi pisang bagi kesehatan diantaranya adalah menjaga usus yang sehat, memelihara kesehatan jantung, perlindungan terhadap stroke, perlindungan dari bisu, dapat meningkatkan mood, meningkatkan energi, mengurangi retensi air dan masih banyak lagi (kumar dkk., 2012). Pisang bernilai ekonomis yang tinggi di Indonesia dan merupakan tanaman serbaguna, mulai dari akar, batang, daun, bunga, buah hingga kulitnya dapat dimanfaatkan (Kasrina dan Anis, 2013).

## **2.5 Produksi dan Produktivitas Pisang**

Pisang merupakan tanaman yang dibudidayakan lebih dari 150 negara dengan total produksi pada tahun 2012 sebanyak 140 ton dengan lebih dari





6,78% setiap tahunnya. Lumajang dikenal sebagai salah satu lumbung pangan/padi di Propinsi Jawa Timur. Salah satu produk unggulan Lumajang ada hasil produksi buahnya seperti buah pisang. Angka produksi pisang di Kabupaten Lumajang sendiri pada tahun 2015 sebesar 1.106.506 Kw dan nilai produktivitas sebesar 233.43 Kw/Ha. Nilai produksi tersebut mengalami peningkatan dari tahun sebelumnya yaitu sebesar 0,17 % (Setiawan dkk., 2016).

## 2.6 Karakterisasi Molekular

Karakterisasi molekular merupakan salah satu langkah untuk melakukan analisis molekular terhadap sampel target. Karakter molekular memiliki keunggulan jika dibandingkan dengan karakter morfologi. Karakter molekular lebih bersifat stabil terhadap perubahan lingkungan. Berbeda dengan karakter morfologi yang terkadang bersifat plastis karena faktor lingkungan (Ahmad, 2013). Adapun langkah-langkah karakterisasi molekular adalah sebagai berikut:

### 2.6.1 Isolasi DNA

Isolasi DNA tumbuhan dapat menggunakan beberapa metode. Metode pertama, sel-sel tanaman dilisiskan dengan detergen ionik, diolah dengan protease dan dimurikan dengan sentrifugasi. Metode kedua menggunakan deterjen nonionik *cetyltrimethylammonium bromide* (CTAB) untuk melisiskan sel dan memurnikan asam nukleat. Asam nukleat diperoleh dari presipitasi isopropanol atau etanol. Metode pertama melalui proses yang cukup panjang dan menghasilkan asam nukleat yang sangat murni. Metode kedua membutuhkan beberapa optimasi tetapi tetap cocok digunakan dalam isolasi dan lebih banyak digunakan karena bersifat fleksibel. Sampel baiknya diletakkan di tempat gelap selama 1 sampai 2 hari untuk mengurangi kandungan pati dalam jaringan. Sampel diambil dari tumbuhan yang lebih muda karena memiliki kandungan polisakarida yang lebih rendah sehingga memberikan kualitas dan hasil DNA yang lebih baik daripada tumbuhan tua (Ausubel, dkk., 2003; Saravanaperumal and Terza, 2012).



Prinsip dasar isolasi DNA yaitu dengan memecah dan mengekstraksi jaringan sehingga akan terbentuk sel yang terdiri dari sel-sel jaringan, DNA, dan RNA. Ekstrak tersebut kemudian dipurifikasi dan menghasilkan pelet sel yang mengandung DNA/RNA. Tahapan Isolasi DNA terdiri dari Isolasi sel, lisis dinding dan membran sel, ekstraksi dalam larutan, purifikasi, dan presipitasi. Tahapan penting isolasi DNA ada 2, yaitu sentrifugasi dan presipitasi. Sentrifugasi merupakan pemisahan substansi berdasarkan berat jenis molekul, pada tahap ini akan menghasilkan dua fase, yaitu molekul yang lebih berat akan berada di dasar dan molekul yang lebih ringan berada di bawah (Faatih, 2009).

### **2.6.2 Polymerase Chain Reaction (PCR)**

PCR adalah metode enzimatik *in vitro* untuk menghasilkan fragmen DNA spesifik dalam jumlah besar dengan panjang dan sekuens yang telah ditentukan. PCR adalah prosedur cepat untuk amplifikasi enzimatik *in vitro* dari sekuens spesifik. PCR merupakan satu metode yang kuat dan sensitif dalam berbagai analisis molekular seperti biologi molekular, diagnostik, genetika populasi dan analisis forensik (Anggereini, 2008; Joshi dan Deshpande, 2010; Atawodi, dkk., 2010).

Komponen utama Amplifikasi DNA adalah templat DNA, sepasang primer dan DNA *polymerase*. Selain itu terdapat komponen pendukung yaitu *deoxynucleotida Triposphat* (dNTP), kofaktor  $MgCl_2$ , larutan buffer dan air (Handoyo dan Rudiretna, 2000; Nicholl, 2008).

#### **a. Template DNA**

Template DNA merupakan target cetakan untuk pembentukan molekul DNA baru. Template DNA dapat berupa DNA kromosom, DNA plasmid atau fragmen DNA (Handoyo dan Rudiretna, 2000).

#### **b. Primer**

Primer memiliki peran yang sangat penting karena proses PCR bergantung pada primer yang digunakan. Konsentrasi primer bervariasi mulai dari 1.0 hingga 25 pmoles untuk setiap reaksi PCR, sesuai dengan kebutuhan (Walker and Rapley, 2008).





Penggunaan PCR yang sangat luas memunculkan variasi metode yang baru. Diantaranya *Allele-Specific PCR (AS-PCR)*, *Assembly (Polymerase Cycling Assembly of PCA) PCR*, *Asimetric PCR*, *Co-Amplification at Lower Denaturation Temperature (COLD)-PCR*, *Colony PCR*, *Digital PCR (dPCR)*, *High Fidelity PCR*, *Hot Start/cold finish PCR*, *Inverse PCR*, *Multiplex PCR*, dan masih banyak variasi PCR yang lain (Patel, dkk., 2015).

### 2.6.3 Elektroforesis

Elektroforesis gel agaros adalah metode sederhana dan sangat efektif untuk memisahkan, mengidentifikasi, dan memurnikan fragment DNA. Elektroforesis dapat digunakan untuk analisis atau preparasi dan juga bisa digunakan untuk analisis kualitatif atau kuantitatif. Metode yang mudah dan paling banyak digunakan adalah elektroforesis dalam gel agarose horizontal. Pewarnaan DNA saat visualisasi menggunakan ethidium bromida alternatif pewarna lain seperti SYBRGreen atau Gelstar, yang memiliki sensitivitas yang serupa dan tidak terlalu berbahaya digunakan. Zat warna ini nantinya akan berikatan dengan DNA dengan memasukkan antara pasangan basa dan akan membiaskan warna orange/ merah yang kuat ketika disinari sinar UV (Sambrook and Russel, 2001; Ausubel, dkk., 2003; Walker and Rapley, 2008).

Protokol elektroforesis dibagi menjadi 3 tahap: (1) pembuatan gel agarose sesuai ukuran fragmen yang diharapkan. Gel agaros dapat digunakan untuk memisahkan molekul lebih dari 100 pasang basa. Gel agaros dimasukkan ke dalam tangki elektroforesis dengan menambahkan buffer; (2) Gel diletakkan diantara dua elektroda dalam tangki. Sampel DNA dimasukkan ke dalam sumur dan dijalankan dengan tegangan dan waktu tertentu. *Loading dye* ditambahkan dalam sampel sebelum dimasukkan kedalam sumur. Buffer tersebut bertujuan untuk meningkatkan kepadatan sampel, memastikan dengan baik bahwa DNA sudah tenggelam di dasar sumur, dan menambah warna pada sampel (Sambrook and Russel, 2001). Aliran arus listrik antara elektroda menyebabkan DNA bermigrasi keluar dari sumuran gel, tetapi tetap bergerak lurus sesuai dengan sumurnya masing-masing; dan (3) gel diwarnai dengan ethidium bromida atau jika













Tabel 3.2. Karakter Fenotip Kualitatif Berdasarkan IPGRI

Bagian Tubuh	Karakter	Keterangan	
Perawakan	Ketegakan daun	1. Tegak 2. Sedang 3. Merunduk 4. Lain-lain	
	Kecacatan tumbuh	1. Normal 2. Cacat	
Batang	Warna batang	1. Hijau-kuning 2. Hijau sedang 3. Hijau 4. Hijau gelap 5. Hijau-merah 6. Merah 7. Merah-ungu 8. Biru 9. <i>Chimerical</i> 10. Lain-lain	
	Permukaan batang	1. Kusam (berlilin) 2. licin (tidak berlilin)	
	Warna getah	1. Seperti air 2. Seperti susu 3. Merah-ungu 4. Lain-lain	
	Lilin pada selubung daun	1. Sangat sedikit atau hampir tidak terlihat 2. Sangat sedikit 3. Sedang 4. Banyak	
	Daun	Bercak di luar tangkai daun	1. Jarang 2. Kecil 3. Pigmentasi luas 4. Tanpa pigmentasi
		Warna bercak	1. Coklat 2. Coklat tua 3. Coklat-hitam 4. Hitam-ungu 5. Lain-lain
		Bentuk saluran tangkai daun III	1. Margin terbuka 2. Lebar dan tegak 3. Lurus dan tegak 4. Melengkung ke dalam 5. Tumpang tindih
		Margin tangkai daun	1. Ada 2. Sedikit 3. Tidak ada
		Tipe sayap daun	1. Kering 2. Tidak kering
	Warna margin tangkai		1. Hijau 2. Pink-ungu hingga merah 3. Ungu to biru 4. Lainnya
Tepi margin daun		1. Tanpa warna 2. Berwarna	

<b>Bagian Tubuh</b>	<b>Karakter</b>	<b>Keterangan</b>	
Daun	Warna permukaan atas daun	1. Hijau-kuning 2. Hijau sedang 3. Hijau 4. Hijau tua 5. Hijau tua dengan bercak/ bintik merah ungu 6. Biru 7. Lainnya	
	Tampilan permukaan atas daun	1. Kusam / 2. Berkilau (licin)	
	Warna permukaan bawah daun	1. Hijau-kuning 2. Hijau sedang 3. Hijau 4. Hijau tua 5. Biru 6. Merah-ungu 7. Lainnya	
	Tampilan permukaan bawah daun	1. Kusam 2. Berkilat	
	Lilin pada daun	1. Sangat sedikit hampir tidak ada 2. Sedikit 3. Sedang 4. Banyak	
	Titik penyisipan bilah daun pada tangkai daun	1. Simetris / 2. Asimetris 2. Asimetris	
	Bentuk dasar pangkal daun	1. Kedua sisi membulat 2. Satu sisi membulat, satu sisi meruncing 3. Kedua sisi meruncing	
	Jantung Pisang	Warna tangkai	1. Hijau cerah 2. Hijau 3. Hijau tua 4. Merah atau pink/ungu 5. Bercak/bintik ungu-coklat sampai biru 6. Lainnya
		Tangkai berambut	1. Tidak berambut 2. Sedikit berambut 3. Berambut pendek 4. Berambut (>2 mm)
		Tipe rakis	1. Pendek 2. Ada dan tetap panjang
Posisi rakis		1. Vertikal ke bawah 2. Berdempetan dengan batang 3. Melengkung 4. Horizontal 5. Tegak lurus	
Tipe ujung tunas		1. Normal 2. Degenerasi sebelum dewasa 3. Tidak ada	
Bentuk ujung tunas		1. <i>Like a top</i> 2. Lanset 3. Sedang 4. Bujur telur 5. Membulat	

<b>Bagian Tubuh</b>	<b>Karakter</b>	<b>Keterangan</b>	
Jantung pisang	Bentuk dasar tunas	1. Tepi sempit 2. Sedang 3. Tepi lebar	
	Bentuk ujung tunas	1. Meruncing 2. Sedikit meruncing 3. Sedang 4. Tumpul 5. Tumpul dan membelah	
	Warna permukaan luar	1. Kuning 2. Hijau 3. Merah 4. Merah-ungu 5. Ungu-coklat 6. Ungu 7. Biru 8. Pink-ungu 9. Orange-merah 10. Lainnya	
	Warna permukaan dalam	1. Hampir putih 2. Kuning or hijau 3. Orange merah 4. Merah 5. Ungu 6. Ungu-coklat 7. Pink-ungu 8. Lainnya	
	Warna ujung tunas	1. Ada bercak kuning 2. Tidak ada bercak kuning	
	Warna <i>stripes</i> pada ujung	1. Tidak berubah 2. Berubah	
	Bekas braktea pada rakis	1. Sangat terlihat 2. Tidak terlihat	
	Pudarnya warna pada dasar tunas	1. Warna tidak sampai pada ujung tunas 2. Warna Homogen (tetap ada hingga ujung tunas)	
	Buah	Bentuk buah (longitudinal)	1. Lurus 2. Lurus di bagian tengah 3. Seperti kurva 4. Seperti kurva seperti huruf S 5. Lain-lain
		Bentuk ujung buah	1. Meruncing 2. Panjang meruncing 3. Berujung tumpul 4. Seperti leher botol 5. Membulat
Sisa bunga di ujung buah		1. Tidak ada 2. Ada 3. Sedikit pada dasar ujung buah	
Permukaan tangkai		1. Tanpa rambut 2. Berambut	

Tabel 3.3. Karakter Fenotip Kuantitatif Berdasarkan IPGRI

Bagian Tubuh	Karakter	Keterangan
Batang	Tinggi batang semu	1. < 2 m
		2. 2.1 – 2.9 m
		3. > 3 m
	Jumlah Anakan	Dihitung apabila tinggi > 30 cm
	Pertumbuhan anakan	1. lebih tinggi dari induk
		2. lebih dari $\frac{3}{4}$ tinggi induk
		3. antara $\frac{1}{4}$ dan $\frac{3}{4}$ dari tinggi induk
		4. tidak tumbuh
	Letak anakan dari induk	1. Jauh dari induk (> 50 cm dari induk)
		2. Dekat dengan induk
		3. Dekat dengan induk (berdempetan)
Daun	Lebar margin tangkai	1. <1.1 cm
		2. > 1 cm
		3. Tidak terdefinisi
	Panjang bilah daun	1. <171 cm
		2. 171-220 cm
3. 221-260		
4. >260		
Lebar bilah daun	1. <71 cm	
	2. 71-80	
	3. 81-90	
	4. >90	
Panjang tangkai	1. <51 cm	
	2. 51-70 cm	
	3. >70 cm	
Jantung	Panjang gagang bunga	1. <31 cm
		2. 31-60 cm
		3. >60 cm
	Jumlah node kosong pada tangkai bunga	
	Lebar tangkai	1. <7 cm
		2. 7-12 cm
		3. >12 cm
Panjang tunas	1. < 21 cm	
	2. 21-30 cm	
	3. >30 cm	
Buah	Jumlah buah	1. <13
		2. 13-16
		3. >16
	Panjang buah	1. <16
		2. 16-20
3. 21-25		
4. 26-30		
5. >30		

### 3.4.3 Karakterisasi Molekular

Prosedur kerja karakterisasi genetik dapat dilakukan dengan melakukan sterilisasi pada ruangan kerja terlebih dahulu. Meja kerja di sterilisasi menggunakan alkohol 70% sedangkan alat-alat yang digunakan disterilisasi dengan autoklaf.

#### a. Isolasi DNA

Isolasi DNA merupakan prosedur kunci untuk menghasilkan analisis molekular. Pada penelitian ini digunakan daun muda dikarenakan mengandung sedikit sumber kontaminan dibandingkan dengan bagian lain dari pisang. Tahapan isolasi dilakukan berdasarkan Thermo Scientific GeneJET Plant Genomic DNA Purification mini kit dengan modifikasi. Berikut merupakan tahapan isolasi pada penelitian ini:

- 1) Daun muda ditimbang sebanyak 200 mg dan dihaluskan menggunakan mortar. Setelah halus, daun halus dimasukkan kedalam tube 1.5 ml dan ditambahkan 350  $\mu$ l *Lysis Buffer A* kemudian di vortex hingga homogen.
- 2) Ditambahkan 50  $\mu$ l *Lysis Buffer B* dan 20  $\mu$ l RNase A, kemudian di vortex hingga homogen lalu di inkubasi pada suhu 65° C selama  $\pm$  1 jam.
- 3) Ditambahkan 130  $\mu$ l *Precipitation Solution*, vortex hingga homogen kemudian diinkubasi pada suhu -20 selama 5 menit. Setelah itu, disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 20.000 gravitasi.
- 4) Supernatan hasil dari sentrifugasi diambil  $\pm$  500  $\mu$ l dan dipindahkan ke dalam tube 1,5 ml. Kemudian ditambahkan 400  $\mu$ l *PlantgDNA solution*, 400  $\mu$ l etanol 96% dan divortex selama  $\pm$  10 detik.
- 5) Mixture sebanyak 650  $\mu$ l dipindahkan ke dalam *spin coloumn* dan disentrifugasi selama 1 m dengan kecepatan 6.000 g, lalu filtrat dalam tube dibuang. Sisa mixture dipindahkan ke dalam *spin coloumn* kemudian di sentrifugasi lagi selama 1 m 6.000 g.
- 6) Ditambahkan 500  $\mu$ l *Wash Buffer I* kemudian di sentrifugasi selama 1 m dengan kecepatan 8.000 g lalu filtrat dibuang.

- 7) Ditambahkan 500  $\mu$ l *Wash Buffer II*, setelah itu sentrifugasi selama 3 menit dengan kecepatan 20.000 g lalu filtrat dibuang. Kemudian di sentrifugasi lagi selama 1 menit dengan kecepatan 20.000 g dan *spin coloumn* dipindahkan ke dalam tube 1.5 ml baru.
- 8) Ditambahkan 100  $\mu$ l *Elution Buffer* pada bagian tengah *coloumn* kemudian di inkubasi pada suhu ruangan. Setelah 5 menit dilakukan sentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 8.000 g. (Tahapan ini diulang untuk mendapatkan 2 tube isolat DNA).

**b. Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian DNA**

Pengukuran DNA dilakukan menggunakan spektrofotometer. Tahapan ini diawali dengan pelarut akhir yang digunakan saat isolasi sebagai blanko pada *Bio-Drop*. Pada penelitian ini pelarut akhir yang digunakan adalah *Elution Buffer*. Pelarut sebanyak 2  $\mu$ l diteteskan di bagian tengah *Bio-Drop*. Setelah itu dibersihkan dengan menggunakan tissue sebelum memulai pada sampel DNA hasil isolasi. Isolat DNA diambil 2  $\mu$ l dan diteteskan di bagian tengah *Bio-Drop* dan didapatkan hasil pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA. Setiap pergantian isolat, dilakukan pembersihan pada *Bio-Drop* terlebih dahulu menggunakan pelarut akhir.

**c. Amplifikasi DNA**

Amplifikasi DNA dimulai dengan sterilisasi terlebih dahulu *Laminar air flow* (LAF) menggunakan alkohol 70%. LAF beserta semua alat yang dibutuhkan disterilisasi menggunakan sinar Ultraviolet selama 15 menit. Waktu tunggu sterilisasi digunakan untuk mempersiapkan bahan yang dibutuhkan seperti *Buffer mix PCR*, primer RAPD, *Nuclease Free Water* (NFW), dan sampel DNA. Prosedur kerja amplifikasi PCR dilakukan di dalam *laminar air flow* untuk menghindari kontaminasi. Amplifikasi pada penelitian ini menggunakan 10 primer RAPD (Tabel 3.4.).





### 1) Pembuatan *gel agarose* 2%

*Agarose* sebanyak 2 g (Lamare dan Rao, 2015) ditimbang menggunakan neraca analitik, kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer. *Buffer* TAE 1X sebanyak 100 ml ditambahkan kedalam erlenmeyer. Kemudian dipanaskan pada suhu 100°C sampai mendidih dengan diaduk. *Agarose* yang telah mendidih diangkat dan didiamkan hingga hangat-hangat kuku, lalu ditambahkan *Cyber Green* sebagai pewarna sebanyak 10 µl dan dihomogenisasi. *Agarose* dituang ke dalam cetakan dan ditunggu hingga memadat.

### 2) Mix PCR

*Agarose* yang sudah memadat dipindah kedalam elektroforesis. Kemudian ditambahkan TAE 1X hingga larutan merendam *agarose*. Ladder sebanyak 2 µl dimasukkan kedalam sumuran. 3 µl sampel DNA diambil dan ditambahkan 1 µl *loading dye*. Kemudian di resuspensi menggunakan pipet. Sampel tersebut dimasukkan ke dalam sumuran disebelah ladder. Begitu seterusnya hingga sampel DNA yang terakhir. Setelah semua sampel dimasukkan kedalam sumuran, elektroforesis ditutup dan dimulai *running* dengan kecepatan 130 volt selama 30 menit. Hasil elektroforesis diamati menggunakan *gel documentation* dibawah sinar ultraviolet (UV).

### e. Visualisasi Produk PCR

Visualisasi produk PCR menggunakan *gel documentation system*. Sistem tersebut disambungkan dengan *software EnduroGDSTouch* untuk melihat hasil visualisasi. Hasil elektroforesis berupa gel *agarose* dimasukkan kedalam *gel documentation system*. UV transluminator dinyalakan melalui *software* di layar komputer menunjukkan pita DNA yang berpendar. Hasil visualisasi disimpan dan diberi keterangan.

## 3.5 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini disajikan secara deskriptif yang terdiri atas 2 data yaitu data kualitatif dan data kuantitatif. Adapun data-data tersebut adalah sebagai berikut:

### 3.5.1 Data Fenotip

Data kualitatif dan kuantitatif karakterisasi fenotip seperti pada panduan deskriptor pisang berdasarkan IPGRI tahun 1996. Data fenotip hasil pengamatan dianalisis menggunakan *hierarchical cluster* untuk mengetahui kekerabatan antar kultivar pisang menggunakan software SPSS.

### 3.5.2 Data Molekular

Pada karakterisasi genetik, data kuantitatif diperoleh dengan melakukan pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA. Data kekerabatan diperoleh dari penerjemahan adanya pita DNA. Panjang pita DNA dibaca dengan menggunakan bantuan DNA standar (Ladder) 100 bp dan 1 kb. Keragaman genetik dihitung berdasarkan kemunculan pita DNA. Pita yang muncul pada gel diasumsikan sebagai alel RAPD (Sembiring dkk., 2015). Munculnya pita dianggap 1 dan tidak ada pita DNA (0) untuk mengetahui derajat kemiripan. Analisis kluster berupa data dendogram menggunakan metoda SHAN pada program NTSys-PC (*Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*).











































desain untuk mengisolasi 100 mg jaringan tumbuhan dengan mengikuti protokol. Genom DNA yang dihasilkan memiliki rasio absorbansi A260/A280 antara 1.7 sampai 1.9. Kit ini dikembangkan untuk menghasilkan genom DNA yang memiliki kualitas tinggi yang berasal dari berbagai macam spesies tumbuhan dan tipe jaringan. Kit ini menggunakan teknologi membran berbasis silika dalam bentuk *spin column*. Standar sesuai prosedur membutuhkan waktu selama 30 menit meliputi lisis sel dan menghasilkan DNA murni dengan ukuran lebih dari 30 kb. DNA murni bergantung pada spesies dan jaringan pada ukuran genom, ploidi, jumlah sel dan usia sampel. Isolat murni dari sumber yang baik seperti daun muda gandum misalnya, dari jumlah sampel yang diisolasi sebanyak 100 mg akan menghasilkan isolat murni sebanyak 20 - 30  $\mu\text{g}$  (Thermo scientific, 2012; Thermo Scientific, 2014).

Prosedur isolasi DNA merupakan langkah yang cukup sulit untuk dilakukan, dikarenakan setiap tanaman mengandung senyawa fenol yang berbeda-beda. Senyawa tersebut dapat menghambat isolasi DNA untuk mendapatkan isolat DNA yang murni. Senyawa polifenol merupakan sumber kontaminan dan sering menjadi penghambat berhasilnya isolasi dan *purifikasi* DNA (Randriani dkk., 2012; Devi, dkk., 2013). DNA yang di isolasi dapat berasal dari sampel segar ataupun sampel kering. Namun berdasarkan penelitian yang dilakukan Saravanaprimal dan Terza (2012), menunjukkan bahwa sampel segar lebih mudah diisolasi dibandingkan dengan sampel kering. Pengambilan sampel muda pada fase awal pertumbuhan tidak merusak spesies karena hanya membutuhkan sampel yang sedikit (Gusmiaty dkk., 2016).

Daun tumbuhan mengandung banyak senyawa metabolit sekunder, polisakarida dan polifenol yang menjadi permasalahan selama isolasi genomic DNA. Devi dkk.(2013) dan Siddique (2014), menyatakan Ordo Zingiberales yang di dalamnya termasuk pisang mengandung banyak polisakarida, fenol, alkaloid, dan flavonoid. Ekstraksi DNA pisang ketika digunakan untuk analisis PCR banyak mengalami kendala, khususnya ketika menggunakan ekstraksi DNA dari jaringan yang dewasa. Kualitas DNA yang















panjang basa 100-2000 bp (Randriani, dkk., 2012), pada tumbuhan pinus menghasilkan panjang basa 80-900 bp (Gusmiaty, dk., 2016) dan tumbuhan iles-iles menghasilkan panjang basa 300-1.500 bp (Poerba, 2008). Pengelompokan 27 kultivar pisang menggunakan RAPD menghasilkan dendogram dengan nilai koefisien antara 0.57 – 1.00. Nilai koefisien yang tinggi menunjukkan semakin dekat hubungan kekerabatan antar kultivar pisang. Pada koefisien 1.00 menunjukkan bahwa individu-individu tersebut memiliki kemiripan 100% (Wahyuningtyas, dkk., 2009). Hasil pengelompokan menggunakan program NTSys 2.02 diperoleh 2 kelompok besar pada koefisien 0.60. Pada nilai koefisien tersebut terdapat satu kultivar *outgroup* dengan kode sampel 19 yaitu pisang bruntel.

Pada koefisien 0.62 di dalam dendogram similaritas terbentuk 2 kelompok besar. Kelompok pertama terdiri atas 3 kultivar yaitu sampel 1 (Pisang barlian), sampel 3 (Pisang Raja nangka) dan sampel 25 (Pisang Astrali) dan kelompok 2 terdiri atas 24 kultivar yaitu sampel 2 (Pisang Agung Talun), 9 (Pisang susu), 10 (Pisang Barlin), 12 (Pisang Cavendish), 14 (Pisang Embog Abang), 6 (Pisang Kayu), 4 (pisang Agung Jawa), 7 (Pisang Ambon), 8 (Pisang Mas), 16 (Pisang Candi), 17 (Pisang Gajih Bali/Raja Bali), 23 (pisang Sringin), 27 (Pisang cici), 21 (Pisang Jaran), 13 (Pisang Sobo Gajih), 24 (Pisang Kopyok), 22 (pisang Raja Awak), 5 (Pisang Kongkong), 26 (Pisang Klutuk), 11 (Pisang Embog), 15 (Pisang Raja Sajen), 18 (Pisang Santen), 20 (Pisang Wangi) dan 19 (Pisang Bruntel).

Pada koefisien 0.68 terbentuk 5 kelompok, kelompok pertama terdiri atas dua individu (pisang barlian dan raja nangka), kelompok kedua terdiri atas 1 individu (pisang astrali), kelompok tiga terdiri atas 20 individu (pisang agung talun, susu, barlin, cavendish, embog abang, kayu, agung jawa, ambon, mas, candi, gajih bali/raja bali, sringin, cici, jaran, sobo gajih, kopyok, raja awak, kongkong, klutuk dan embog), kelompok empat terdiri atas 3 individu (pisang raja sajen, santen dan wangi) dan kelompok kelima terdiri atas satu individu yaitu pisang bruntel.

Kelompok pertama pada nilai koefisien 0.68 yang terdiri atas 2 individu (barlin dan raja nangka) didapatkan 15 alel RAPD. Pada kedua individu

tersebut terdapat 2 pita pembeda, yaitu satu pita yang hanya dimiliki oleh sampel barlian yang berada pada panjang basa  $\pm 925$  bp dan satu pita yang hanya dimiliki oleh pisang raja nangka yaitu  $\pm 800$  bp. Kelompok kedua hanya satu individu, yang artinya individu ini memiliki ragam genetik yang berbeda dengan individu lainnya. kelompok dua memiliki jumlah alel yang teramplifikasi sebanyak 7 alel. Kelompok ketiga memiliki banyak pita yang cukup variatif sejumlah 36 alel dengan pembentukan sub kelompok individu lagi di dalamnya. Pada kelompok empat terdiri atas 3 individu dengan 20 alel. Pita penciri dari 2 sampel diantaranya adalah sampel nomor 15 (pisang raja sajen) memiliki satu alel yang tidak dimiliki oleh individu lain yaitu  $\pm 1375$  bp dan sampel nomor 18 (Pisang Santen) memiliki satu alel unik yang berukuran  $\pm 700$  bp. Kelompok terakhir terdiri hanya atas satu individu yaitu sampel nomor 19 (pisang bruntel) yang memiliki satu alel unik dengan panjang basa  $\pm 1000$  bp.

Pisang bruntel merupakan individu *outgroup* berdasarkan analisis molekular tetapi jika dilihat dari analisis fenotip, pisang bruntel tidak berada pada *outgroup*. Pisang bruntel berkerabat dengan pisang santen dan pisang sringin yang memiliki panjang basa yang sama yaitu  $\pm 630$  bp. Pada panjang basa lain ketiganya menunjukkan perbedaan. Sembiring, dkk. (2015) menyatakan perbedaan pola pita berdasarkan jumlah dan ukuran pita menggambarkan adanya genom tanaman yang sangat kompleks. Berdasarkan karakter fenotip pisang bruntel dan pisang santen memiliki tinggi batang yang berdekatan yaitu 135 cm dan 140 cm sedangkan tinggi batang pisang sringin 390. Ketiganya memiliki jumlah buah per sisir 15 – 16 biji. Berdasarkan analisis molekular, ketiganya berada dalam grup yang sama dan pada koefisien 0.60 pisang bruntel membentuk *outgroup* sedangkan pisang santen dan pisang sringin berada pada sub-grup yang sama. Pada koefisien 0.77 pisang santen dan pisang sringin terpisah menjadi sub-grup lagi.

Pada penelitian ini terdapat perbedaan hasil analisis terhadap 27 sampel pisang berdasarkan karakter fenotip dan molekular. Kultivar-kultivar pisang dapat masuk dalam satu grup yang sama berdasarkan karakter fenotip tetapi tidak dapat berada pada satu grup berdasarkan karakter molekular. Menurut









- Cheesman, E.E. 1948. Classification of the Bananas. *Kew Bulletin*. 3(2).
- Christelova, P., Valarik, M., Hibrova, E., Houwe, I.V.D., Channeliere, S., Roux, N., dan J. Dolezel. 2011. A Platform for Efficient Genotyping in *Musa* Using Microsatellite Markers. *AoB Plant*.
- Deepthi, V. Phani. 2016. Taxonomic Scoring and Genomic Grouping in Bananas. *Flora and Fauna*. 22(2).
- Ekasari, T.W.D., Retnoningsih, A. dan T. Widianti. 2012. Analisis Keanekaragaman Kultivar Pisang Menggunakan Penanda PCR-RFLP pada Internal Transcribed Spacer (ITS) DNA Ribosom. *Jurnal MIPA* 35(1).
- Ennos, A.R., Spatz, H-CH. and T. Speck. 2000. The Functional Morphology of the Petioles of the Banana, *Musa textilis*. *Journal of Experimental Botany*. 51(353).
- Faatih, Mukhlissul. 2009. Isolasi dan Digesti DNA Kromosom. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*. 10(1).
- Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAO). 2015. *Banana Fact and Figure (Banana Cultivar)*. Diakses pada 11 Januari 2019. <[www.fao.org](http://www.fao.org)>
- Gusmiaty, Restu, M., Asrianny dan S.H. Larekeng. 2016. Polimorfisme Penanda RAPD untuk Analisis Keragaman Genetik *Pinus merkusii* di Hutan Pendidikan UnHas. *Jurnal Natur Indonesia*. 16(2).
- Hakkinen, M. and W. Hong. 2007. New Species and Variety of *Musa* (Musaceae) from Yunnan, China. *NOVON*. 17(4).
- Handoyo, D. dan A. Rudiretna. 2000. Prinsip Umum dan Pelaksanaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Unitas*. 9(1).
- Hapsari, Lia. 2014. Wild *Musa* Species Collection of Purwodadi Botanic Garden: Inventory and Its Morpho-taxonomic Review. *The Journal of Tropical Life Science*. 4(1).
- Hartwell, L.H., Hood, L., Goldberg, M.L., Reynolds, A.E., and L.M Silver. 2008. *Genetics, From Genes to Genomes*, Fourth Edition. United State : The McGraw Hill Companies.
- Howell, E.C., Newbury, H.J., Swennen, R.L., Withers, L.A., and B.V.F. Lloyd. The Use of RAPD for Identifying and Classifying *Musa* Germplasm. *Genome Information*.
- Ismail, A., Wicaksana, N. dan A. Daulati. 2015. Heritabilitas, Variabilitas dan Analisis Kekerabatan Genetik Pada 15 Genotip Pisang (*Musa paradisiaca*)



- Nisa, C., Badruzsauri, dan E. Wijaya. 2010. Penentuan Genom Fenetik Kultivar Pisang Yang Tumbuh di Kalimantan Selatan. *Zira'ah* Volume 29 Nomor 3.
- Notanubun. R. dan R. L. Karuwai. 2014. Hubungan Kekerbatan Fenetik Varietas Pisang (*Musa* sp.) di Pulau Ambon. *Biopendix*. 1(1).
- Oktaviani, Nella. 2017. *Statistik Pertanian 2017*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. Kementerian Pertanian – Republik Indonesia.
- Patel, S.V., Bosmania, T.C., Bhalani, H.N., Singh, P. and A. Kumar. 2015. Polymerase Chain Reaction (PCR). *Agrobisnis Newsletter*. 13(9).
- Pierce, B.A. 2012. *Genetic, A Conceptual Approach*, Fourth Edition. New York: W.H. Freeman and Company.
- Poerba, Y.S. dan D. Martanti. 2008. Keragaman Genetik Berdasarkan Marka Random Amplified Polymorphic DNA pada *Amorphophallus muelleri* Blume di Jawa. *BIODIVERSITAS*. 9(4).
- Poerba, Y.S. Imelda, M. dan D. Martanti. 2012. Analisa Kestabilan genetik Pisang Kepok 'Unti Sayang' Hasil Mikroprogasi dengan Marka RAPD dan ISSR. *Berita Biologi*. 11(2).
- Rahmawati M. dan E. Hayati. 2013. Pengelompokan Berdasarkan Karakter Morfologi Vegetatif Pada Plasma Nutfah Pisang Asal Kabupaten Aceh Besar. *Jurnal Agrista*. 17(3).
- Randriani, E., Tresniawatim C., dan Syafaruddin. 2012. Pemanfaatan Teknik *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) untuk Pengelompokan Secara Genetik Plasma Nutfah Jambut Mete. *Buletin RISTR*. 3(1).
- Reece, R.J. 2004. *Analysis of Genes and Genomes*. Universty of Manchester, United Kingdom.
- Sambrook, J. and D.W. Russel. 2001. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Volume 1. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Saravanaperumal, S.A. and A. La Terza. 2012. Polyphenolic free DNA Isolation and Optimization of PCR-RAPD for Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) from Mature and Young Leaves. *African Journal of Biotechnology*. 11(35).
- Sardos J., Rouard M., Hueber Y., Cenci A., Hyma KE., van den Houwe I., Hribova E., Courtois B., and zRoux N. 2016. A Genome-Wide Association Study on the Seedless Phenotype in Banana (*Musa* spp.) Reveals the Potential of a Selected Panel to Detect Candidate Genes in a Vegetatively Propagated Crop. *Plos One*. 11(5).

- Sari, Sasi G. dan Badruzsauhari. 2013. Hubungan Kekerbatan Fenetik Beberapa Varietas Pisang Lokal Kalimantan Selatan. *Jurnal Penelitian Sains*. 16(1).
- Sembiring, I.M.S., Putri, L.A.P dan H. Setiado. 2015. Aplikasi Penanda Lima Primer RAPD (*Random Amplified Polimorphic DNA*) untuk Analisis Keragaman Genetik Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) Sumatera Utara. *Jurnal Agroekoteknologi*. 4(1).
- Setiawan, Agus. 2016. *Buku Data Ekonomi Daerah Kabupaten Lumajang Tahun 2016*. Bagian Ekonomi Sekretariat Daerah, Kabupaten Lumajang.
- Silva, T.A., Schnell, R.J., Meerow, A.W., Brown, J.S. and G. Gordon. 2009. A Study on the Morphological and Pysicochemical Characteristics of Five Cooking Banana. *Journal of Agronomy*. 8(1).
- Simmonds, N.W. and K. Shepherd. 1995. The Taxonomy and Origins of the Cultivated Banana. *Journ. Linn. SOC. – Botany*. Vol. 50.
- Singh, W.A., Singh, N.S., Handique, P.J., and H.S. Devi. 2015. Morpho-taxonomical and Molecular Assessment of *Musa* Genotypes from North-East India by Morphological and Inter-retrotransposon Amplified Polymorphism Markers. *Plant Syst Evol*. 301.
- Snutad, D.P. and M.J. Simmons. 2012. *Principles of Genetics*, Sixth Edition. United State : John Wiley and Sons Company
- Sobir. 2006. Studi Keragaman Morfologi Aksesori Pisang Koleksi dari Kabupaten Lampung Selatan. *Floribunda*. 3(1).
- Soorianathasundaram, K., Narayana., CK. And G. Paliyath. 2016. Bananas and Plantains. *Encyclopedia of Food and Health*.
- Sukartini. 2007. Pengelompokkan Aksesori Pisang Menggunakan Karakter Morfologi IPGRI. *Jurnal Hortikultura*. 17(1).
- Susantidiana, Wijaya, A., Lakitan, B. dan M. Surahman. 2009. Identifikasi Beberapa Aksesori Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Melalui Analisis RAPD dan Morfologi. *Jurnal Agronomi Indonesia*. 37(2).
- Suwandi, Nuryati, L., Waryanto, B., Rohmah, Y. dan Victor. 2016. *Outlook Komoditas Pertanian Sub Sektor Hortikultura*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. Kementerian Pertanian - Republik Indonesia.
- Suwandi, Susanti, A.A., Waryanto, B., Muliany, P.H., Sholikhah, S.N., Widaningsih, R., Heni, T., Suryani, R., Suyati, Indra, B., Tarmat, Bonavia, V.S. 2016. *Statistik Daerah Kabupaten Lumajang Tahun 2016*. Badan Pusat Statistik Kabupaten Lumajang.

- ThermoScientific. 2012. GeneJET Plant Genomic DNA Purification Mini Kit #K0791, #K0792. Thermo Fisher Scientific Inc.
- ThermoScientific. 2014. High Yields of Pure DNA & RNA from Different Sources. Thermo Fisher Scientific Inc.
- Valmayor, R.V., Jamaluddin, S.H., Silayoi, B., Kusumo, B., Danh, L.D., Pascua, O.C. and R.R.C. Espino. 2000. Banana Cultivar Names and Synonyms in Southeast Asia. *International Network for the Improvement of Banana and Plantain (INIBAP)- Asia and the Pacific Office*, Los Baños, Laguna, Philippines.
- Venkataramana K., Jarret, R.K., and R.S. Rana. 1995. DNA Profiling of Banana and Plantain Cultivars Using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) and Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) Markers. *Electrophoresis*. 16.
- Wahyuningtyas, W., Retnoningsih, A., dan Enni S. R. 2009. Keanekaragaman Genetika Pisang Bergenom B Berdasarkan Penanda Mikrosatelit. *Biosaintifika*. 1(1).
- Walker, J.M. and R. Rapley. 2008. *Molecular Biomethods Handbook*, Second Edition. United Kingdom: Humana Press, LLC.
- Wijayanto, T., Boer, D., dan L. Ente. 2013. Hubungan Kekerabatan Aksesori Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* Formatyca) di Kabupaten Munda Berdasarkan Karakter Morfologi dan Penanda RAPD. *Jurnal Agroteknos*. 3(3).
- Youssef, M and R.M.E-G. Medrano. 2015. Genetic Relationship Among *Musa balbisiana* Accessions and Identification of SRAP Markers Linked to *Musa B* Genome. *Journal Agricultural Chemistry and Biotechnology*. 7(2).
- Zulfahmi. 2013. Penanda DNA untuk Analisis Genetik Tanaman. *Jurnal Agroteknologi*. 3(2).