

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Proses adaptasi terhadap lingkungan dan domestikasi tanaman yang berjalan lama menyebabkan keragaman genetik tanaman pada saat ini (Ahmad, 2013). Keragaman genetik pisang yang tinggi di Indonesia memberikan manfaat dengan tersedianya sumber daya genetik yang melimpah untuk memenuhi kebutuhan manusia, salah satunya dalam sektor pangan (Ahmad, 2013).

Pisang termasuk dalam genus *Musa* dari famili Musaceae yang merupakan tumbuhan herba dan partenokarpi (Lamere *and* Rao, 2015). Pisang merupakan tanaman keempat terpenting di negara berkembang setelah beras, gandum, dan jagung (Frison *et al.*, 2004). Pada tahun 2017, nilai produksi pisang dunia mencapai 113.918.763 ton (FAO, 2018; Knoema, 2018).

Menurut studi arkeologi menunjukkan bahwa pisang yang dibudidayakan pada awalnya didomestikasi oleh petani di Asia Tenggara sekitar 7.000 tahun yang lalu, kemudian diperkenalkan ke wilayah lain di dunia oleh transmigran (Perrier *et al.*, 2011; Soorianathasundaram *et al.*, 2016). Wilayah Indo-Malesia merupakan pusat asal-usul dan keragaman pisang, kemudian menyebar hingga ke seluruh wilayah tropis dan subtropis di Asia, Amerika, dan Afrika (Simmonds *and* Shepherd, 1955; De Langhe *et al.*, 2009).

Pada saat ini sebagian besar pisang berevolusi dari dua induk liar yaitu pisang dengan genom A mempunyai nama latin *Musa acuminata* yang berhubungan

dengan cita rasa buah dan pisang dengan genom B mempunyai nama latin *Musa balbisiana* yang berhubungan dengan kandungan pati, ketahanan berbagai penyakit jamur dan virus (Swennen and Vuylsteke, 1990; Simmonds and Shepherd, 1955; Hohn *et al.*, 2008). Induk liar tersebut mempunyai peran penting terkait sumber plasma nutfah untuk meningkatkan kualitas pisang di masa depan (Hapsari dan Lestari, 2016). Pisang dengan genom A (*M. acuminata*) dan pisang dengan genom B (*M. balbisiana*) adalah spesies yang berasal dari Asia Tenggara (Daniells *et al.*, 2001; Israeli and Lahav, 2017).

Sebagian besar pisang yang dibudidayakan adalah diploid ($2n=2\times=22$), triploid ($2n=3\times=33$) atau tetraploid ($2n=4\times=44$) yang berasal dari hibridisasi inter dan intraspesifik yang melibatkan dua spesies liar diploid ($2n = 22$) yaitu *M. acuminata* Colla dan *M. balbisiana* Colla (Simmonds and Shepherd, 1955; Heslop-Harrison and Schwarzacher, 2007).

Kultivar pisang (*M. acuminata*) diploid berasal dari hibridisasi intraspesifik yang melibatkan spesies liar *M. acuminata* diploid, kemudian diikuti dengan perkembangan sifat partenokarpi dan sterilitas, berevolusi, dan seleksi oleh manusia (Daniells *et al.*, 2001). Kultivar pisang (*M. acuminata*) triploid merupakan hasil evolusi turunan dari pisang liar *M. acuminata* dan kultivar pisang (*M. acuminata*) diploid yang diduga akibat restitusi genom setelah penyerbukan serbuk sari pada bakal biji yang tidak membelah dengan sempurna set kromosomnya atau akibat meiosis abnormal (Megia, 2005) dan terjadi hibridisasi intraspesifik antar keturunan atau silang balik dengan moyangnya dalam kurun waktu yang panjang, sedangkan tetraploid merupakan hasil evolusi turunan dari pisang liar *M. acuminata*

dan kultivar pisang (*M. acuminata*) diploid yang mengalami autopoliploidi (Daniells *et al.*, 2001; Hapsari, 2015).

Studi keanekaragaman pada tanaman dapat dilakukan berdasarkan aspek morfologi dan molekuler, namun penggunaan data pada ciri-ciri morfologi sangat dipengaruhi oleh interaksi antara genotip dengan lingkungan (Prasad *et al.*, 2000). Pada saat ini marka molekuler banyak digunakan sebagai alat yang efektif untuk evaluasi keragaman genetik pada berbagai spesies tanaman (Salami *et al.*, 2017) karena marka molekuler didasarkan pada genotipe (Singh *et al.*, 2018). Teknik dengan penanda molekuler mempunyai kelebihan yaitu memberikan hasil yang cepat, dapat dilakukan pada tahap awal perkembangan tanaman, dan tidak bersifat merusak karena hanya membutuhkan sedikit sampel (Hapsari, 2015), serta faktor lingkungan membutuhkan waktu yang sangat lama untuk dapat mempengaruhi perubahan dan keragaman genetik (Lusiastuti, dkk., 2015; Huang *et al.*, 2016).

Indonesia mempunyai empat kebun raya yang berperan khusus dalam melakukan konservasi terhadap plasma nutfah Indonesia, satu diantaranya adalah Kebun Raya Purwodadi yang berperan dalam mengkonservasi tumbuhan di daerah dataran rendah kering, termasuk pisang (Fitriyah, dkk., 2017). Jawa Timur mempunyai plasma nutfah pisang lokal cukup tinggi dengan ciri morfologi yang beragam dan berbagai nama lokal (Hapsari, 2015). Keragaman tersebut merupakan sumber daya genetik yang perlu dikonservasi agar tetap tersedia di masa depan (Hapsari dan Lestari, 2016). Strategi konservasi diprioritaskan pada pisang kultivar dengan keragaman tinggi yang ditengarai oleh kekerabatan yang jauh (jarak genetik jauh dan similaritas rendah) (Hapsari, 2015).

Penelitian sebelumnya yang menggunakan penanda molekuler pada beberapa koleksi di Kebun Raya Purwodadi telah dilakukan oleh Hapsari *et al.* (2015a) mengenai identifikasi genom dan kekerabatan pada 68 pisang, meliputi *M. acuminata*, *M. balbisiana*, dan kultivar hibrid *M. acuminata* x *M. balbisiana* dari Jawa Timur menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*)-RFLP (*Restriction Fragment Length-Polymorphism*) berdasarkan sekuen *Internal Transcribed Spacer* (ITS) yang menunjukkan bahwa pisang kultivar genom AA/AAA menunjukkan pola pita yang sama, sehingga mereka 100% identik dan mengelompok pada satu grup. Hapsari (2015) melakukan studi pada 64 pisang kultivar dan liar spesies *M. acuminata*, *M. balbisiana*, serta *Ensete glaucum* dengan menggunakan sekuen ITS yang menunjukkan bahwa sekuen ITS mempunyai keragaman genetik tinggi, namun sekuen ITS belum mampu membedakan hingga ke level sub-spesies pada *M. balbisiana*.

Penelitian keragaman genetik pisang juga dilakukan di negara lain dengan berbagai metode, Wongniam *et al.* (2010) pada *M. acuminata* dan *M. balbisiana* dari Thailand menggunakan *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP); Mukunthakumar *et al.* (2013) pada 43 pisang *M. acuminata* ssp. *burmanica* dari India menggunakan *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD); dan Hasan and Khasim (2018) pada 11 *Musa* dari India berdasarkan sekuen ITS2.

Consortium for the Barcoding of Life (CBoL) (2009) merekomendasikan dua kombinasi lokus plastida untuk DNA *barcoding* tumbuhan yaitu gen *ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase* (*rbcL*) dan *maturase K* (*matK*). Penggunaan DNA *barcode* telah dilakukan oleh Hapsari *et al.* (2019) pada

Heliconia spp. berdasarkan sekuen gen *rbcL* dengan menyertakan *M. balbisiana* (Klutuk Ijo) dan *M. balbisiana* (Klutuk Wulung) sebagai *out-group* mengkonfirmasi bahwa sekuen *rbcL* mempunyai tingkat *sequence conservation* yang tinggi yaitu 0,932 dan variasi genetik yang rendah.

Pisang liar dan kultivar dari genus *Musa* telah mengalami sejarah evolusi yang kompleks, namun hanya sebagian yang terurai dan belum sepenuhnya dijelaskan (De Langhe *et al.*, 2009), sehingga diperlukan penanda molekuler yang dapat memberikan informasi akurat tentang proses evolusi melalui ragam genetik yang dapat digunakan untuk menelusuri *ancestral parents* dan garis keturunan pada peta haplotipe serta mengetahui jarak genetik dengan rekonstruksi pohon filogenetik. Penggunaan sekuen gen *rbcL* dan *matK* diharapkan dapat mengungkap sejarah evolusinya karena gen *rbcL* mempunyai laju mutasi yang lambat, sehingga diperkirakan masih membawa gen *ancestral* yang lebih banyak ditunjukkan dengan tingkat *sequence conservation* yang tinggi sedangkan gen *matK* mempunyai kecepatan evolusi yang tinggi dan urutan sekuen yang lebih bervariasi, sehingga lebih akurat dalam mengidentifikasi spesies (Barthet, 2006; Kolondam *et al.*, 2012).

DNA *barcode* pada lokus plastida yaitu gen *rbcL* dan *matK* pada berbagai kultivar pisang (*M. acuminata*) belum pernah dilakukan, namun pernah dilakukan pada tanaman lain yaitu pada pakis (Li *et al.*, 2011); anggrek (Kolondam *et al.*, 2012); famili Zingiberaceae (Vinitha *et al.*, 2014); *Solanum nigrum*, *Euphorbia helioscopia*, dan *Dalbergia sissoo* (Wattoo *et al.*, 2016). Hasil penelitian menunjukkan bahwa primer *rbcL* dan *matK* berhasil mengamplifikasi, mengidentifikasi, dan diskriminasi pada seluruh spesies tersebut.

Pada penelitian ini berfokus terhadap keragaman dan kekerabatan genetik berbagai kultivar pisang (*M. acuminata*) diploid (AA) dan triploid (AAA) dari berbagai asal daerah menggunakan DNA *barcoding* pada lokus *barcode* plastida yaitu gen *rbcL* dan *matK*. Kultivar pisang (*M. acuminata*) diploid yang akan diamati terdiri dari Pisang Berlin, Orlin, Rayap, dan Mas, sedangkan kultivar pisang (*M. acuminata*) triploid terdiri dari Pisang Billa, Moseng, Ambon Hong, Kreas, dan Kongkong. Semua pisang kultivar dari berbagai asal daerah yang akan diteliti belum pernah dilakukan penelitian keragaman dan kekerabatan genetiknya menggunakan metode DNA *barcoding* gen *rbcL* dan *matK*. Perbedaan antara penelitian ini dan penelitian yang telah dilakukan Hapsari *et al.* (2015a; 2015; 2019), Wongniam *et al.* (2010), Mukunthakumar *et al.* (2013), dan Hasan and Khasim (2018) yaitu spesies/subspesies pisang yang digunakan, asal daerah, dan metode yang digunakan yaitu DNA *barcoding* berdasarkan gen *rbcL* dan *matK*.

Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian keragaman dan kekerabatan genetik berbagai kultivar pisang (*M. acuminata*) diploid (AA) dan triploid (AAA) dari berbagai asal daerah menggunakan DNA *barcoding* gen *rbcL* dan *matK* perlu dilakukan karena sejauh ini informasi tersebut belum tersedia. Pada saat ini belum tersedia data sekuen kultivar pisang (*M. acuminata*) gen *rbcL* dan *matK* yang berasal dari Indonesia yang didepositkan di *GenBank*. Sekuen pisang dari Indonesia yang dideposit di *GenBank* yang merupakan koleksi Kebun Raya Purwodadi adalah sekuen *M. acuminata* dan *M. balbisiana* liar serta kultivar sekuen ITS yang dideposit oleh Hapsari (2015a) dan *M. acuminata* liar sekuen gen *rbcL* yang dideposit oleh Hapsari dan Lestari (2020).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Bagaimana keragaman genetik berbagai kultivar pisang (*M. acuminata*) diploid (AA) dan triploid (AAA) berdasarkan DNA *barcode* sekuen gen *rbcL*?
2. Bagaimana kekerabatan genetik berbagai kultivar pisang (*M. acuminata*) diploid (AA) dan triploid (AAA) berdasarkan DNA *barcode* sekuen gen *rbcL*?
3. Bagaimana keragaman genetik berbagai kultivar pisang (*M. acuminata*) diploid (AA) dan triploid (AAA) berdasarkan DNA *barcode* sekuen gen *matK*?
4. Bagaimana kekerabatan genetik berbagai kultivar pisang (*M. acuminata*) diploid (AA) dan triploid (AAA) berdasarkan DNA *barcode* sekuen gen *matK*?
5. Bagaimana strategi konservasi pisang berdasarkan informasi keragaman dan kekerabatan genetik sekuen gen *rbcL* dan *matK*?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, tujuan fungsional yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah untuk menganalisis :

1. Menganalisis dan mengevaluasi keragaman genetik berbagai kultivar pisang (*M. acuminata*) diploid (AA) dan triploid (AAA) berdasarkan DNA *barcode* sekuen gen *rbcL*.
2. Menganalisis dan mengevaluasi kekerabatan genetik berbagai kultivar pisang (*M. acuminata*) diploid (AA) dan triploid (AAA) berdasarkan DNA *barcode* sekuen gen *rbcL*.
3. Menganalisis dan mengevaluasi keragaman genetik berbagai kultivar pisang (*M. acuminata*) diploid (AA) dan triploid (AAA) berdasarkan DNA *barcode* sekuen gen *matK*.
4. Menganalisis dan mengevaluasi kekerabatan genetik berbagai kultivar pisang (*M. acuminata*) diploid (AA) dan triploid (AAA) berdasarkan DNA *barcode* sekuen gen *matK*.
5. Menyusun strategi konservasi pisang berdasarkan informasi keragaman dan kekerabatan genetik sekuen gen *rbcL* dan *matK*.

Tujuan operasional yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah :

1. Dapat mengidentifikasi hasil pensejajaran sekuen gen *rbcL* dan *matK* pada pisang.
2. Dapat menganalisis ragam genetik, pola haplotipe, membuat pohon filogeni untuk mengetahui hubungan kekerabatan secara genetik pada pisang berdasarkan DNA *barcode* sekuen gen *rbcL* dan *matK*.

1.4 Manfaat Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut :

1. Memberikan informasi mengenai keragaman dan kekerabatan genetik berbagai kultivar pisang (*M. acuminata*) diploid (AA) dan triploid (AAA) di Indonesia (khususnya di Jawa Timur).
2. Tersedianya data sekuen gen *rbcL* dan *matK* untuk berbagai kultivar pisang (*M. acuminata*) diploid (AA) dan triploid (AAA) yang merupakan koleksi Kebun Raya Purwodadi.
3. Dapat digunakan untuk mencari gen-gen penyebab penyakit pada tanaman pisang dan pengembangan pisang kultivar yang memiliki peluang lebih unggul dan toleran terhadap cekaman biotik maupun abiotik.
4. Sebagai informasi dasar dan rekomendasi bagi upaya konservasi plasma nutfah pisang di Indonesia (khususnya di Jawa Timur).
5. Bahan rujukan dan dapat dikembangkan untuk penelitian selanjutnya dalam mengidentifikasi hubungan kekerabatan secara genetik pada tanaman pisang dan lainnya.