

## IDENTIFIKASI MOLEKULER TANAMAN PISANG RAJALAWE BERDASARKAN GEN INTERNAL TRANSCRIBED SPACER (ITS)

**Firly Putri Fardilla<sup>1</sup>, Hermin Pancasakti Kusumaningrum<sup>1</sup> dan Wijanarka<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro

<sup>2</sup>Laboratorium Bakteriologi, Laboratorium Terpadu, Universitas Diponegoro

Semarang 50275 Telepon (024) 7474754; Fax. (024) 76480690

email : firlypfardilla@gmail.com

### ABSTRACT

Banana is one type of horticultural commodities in a group of fruits that have a socio-economic value is high enough for the people of Indonesia. Bananas have different varieties, one banana type *Rajalawe* found in Central Java. *Rajalawe* molecular identification has not been done before. This study aims to determine the result of the identification of the molecular basis of *Rajalawe* based on genes Internal transcribed spacer (ITS), in search of identity and kinship *Rajalawe*. The study was conducted by isolating DNA using a method *Rajalawe* Doyle & Doyle, followed by ITS gene amplification and sequencing analysis. The results of gene amplification ITS produce PCR product of 643 bp. The base sequence of the sequencing results are used for the construction of phylogenetic trees. Sequence similarity analysis *Rajalawe* show 95% homology with *Musa balbisiana* and alkaline difference of 1%. Phylogenetic tree analysis showed *Rajalawe* have a close relationship with *Musa balbisiana*. However, bananas *Rajalawe* has several different characters with *Musa balbisiana* with different base sequences by 5% whereas the base sequence homology between the banana *Musa balbisiana* and *Rajalawe* with 95%.

*Keywords: Molecular Identification, Pisang Rajalawe, Universal Primer ITS, Musa balbisiana.*

### ABSTRAK

Buah pisang merupakan salah satu jenis komoditi hortikultura dalam kelompok buah-buahan yang memiliki nilai social-ekonomi cukup tinggi bagi masyarakat Indonesia. Beragam varietas, salah satunya pisang *Rajalawe* yang ditemukan di Jawa Tengah. Identifikasi pisang *Rajalawe* secara molekuler belum pernah dilakukan sebelumnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil identifikasi secara molekuler pisang *Rajalawe* berdasarkan gen *Internal Transcribed Spacer* (ITS), untuk mencari identitas dan hubungan kekerabatan pisang *Rajalawe*. Penelitian dilakukan dengan mengisolasi DNA pisang *Rajalawe* menggunakan metode Doyle & Doyle, dilanjutkan dengan amplifikasi gen ITS dan analisis sekuensing. Hasil amplifikasi gen ITS menghasilkan produk PCR sebesar 643 bp. Urutan basa hasil sekuensing digunakan untuk konstruksi pohon filogenetik Analisis kesamaan sekuen pisang *Rajalawe*. menunjukkan homologi sebesar 95% dengan *Musa balbisiana* dan perbedaan basa sebesar 1%. Analisis pohon filogenetik menunjukkan pisang *Rajalawe* memiliki hubungan dekat dengan *Musa balbisiana*. Namun, pisang *Rajalawe* memiliki beberapa karakter yang berbeda dengan *Musa balbisiana* dengan perbedaan urutan basa sebesar 5%

sedangkan homologi urutan basa antara pisang *Rajalawe* dengan *Musa balbisiana* sebesar 95 %.

*Kata kunci: Identifikasi Molekuler, Pisang Rajalawe, Primer Universal ITS, , Musa balbisiana.*

## **PENDAHULUAN**

Indonesia merupakan negara yang mempunyai keanekaragaman flora yang beragam, berbagai macam tanaman terdapat di Indonesia. Salah satunya yang paling banyak adalah tanaman pisang. Buah pisang merupakan salah satu jenis komoditi hortikultura dalam kelompok buah-buahan yang memiliki nilai sosial-ekonomi cukup tinggi bagi masyarakat Indonesia. Buah pisang, dari yang mentah, hingga yang telah diolah dapat mempertinggi nilai ekonomi buah pisang. Neraca perdagangan pisang di Indonesia mencapai US\$10.000 juta, atau kurang lebih 240.000 ton. (Departemen Pertanian Republik Indonesia, 2005).

Tanaman pisang akan tumbuh baik jika persyaratan dan kebutuhan hidupnya terpenuhi dengan baik. Persyaratan ini diantaranya adalah keadaan tanah, keadaan iklim dan keadaan lingkungan. Budidaya pisang dapat dilakukan pada iklim tropis, medium tanah yang mengandung kaya unsur hara dan memiliki kandungan kapur dan berbagai ketinggian tempat. (Megia, 2005).

Di Indonesia, tanaman pisang memiliki berbagai varietas salah satunya pisang *Rajalawe* yang berasal dari Kabupaten Banjarnegara. Pisang ini memiliki karakteristik unggul antara lain memiliki buah besar, rasa manis-asam, produksi tinggi, kadar gula buah matang rendah dan kadar pati tinggi sehingga sangat cocok dijadikan pisang olahan sebagai bahan kripik (Bahri, 2009).

Kandungan gizi pisang juga cukup lengkap terdiri dari air, karbohidrat, protein, lemak dan vitamin A, B1, B2 dan C (Imam dan Akter, 2011). Kandungan pisang antara lain sumber provitamin A yang baik, vitamin B (B1, B2, B 6, dan 12), vitamin D, vitamin Z. Pisang juga mengandung air (68%), gula (25%), protein (2%), lemak dan minyak (1%), serat selulosa (1%). Selain itu pisang juga

mengandung pati dan asam tanin, kalsium, fosfor, besi, sodium, kalium (potassium), magnesium, dan seng. Hal ini tentu membuat pisang menjadi populer dalam masyarakat.

Pisang *Rajalawe* diklaim merupakan varietas unggul hasil sambung bonggol pisang varietas *Rajanangka* dan varietas *Gebyar* (Sugeng, 2011) karena tingkat kemiripannya. Tingkat kemiripan atau kecocokan karakter varietas diketahui dengan analisis terhadap karakter masing-masing. Penggunaan analisis ini secara umum memberikan gambaran seberapa besar kemiripan pola pengelompokan masing-masing. Hal itu dapat diketahui dengan melakukan karakterisasi atau identifikasi sifat masing-masing tanaman. Identifikasi tanaman pisang sangat penting untuk memilih tipe yang tepat yang potensi pasarnya bagus dan mengetahui informasi mengenai hama dan penyakit tanaman (Daniels, 1995). Selain itu identifikasi pisang *Rajalawe* merupakan suatu tindakan agar sumber plasma nutfah dapat terpelihara dan lestari (Samsurianto, 2009). Berbagai penelitian mengenai kandungan pisang tersebut sudah dilakukan, namun belum ada penelitian lebih lanjut mengenai molekuler pisang tersebut. Berdasarkan uraian di atas, maka penulis berkeinginan untuk menganalisis mengenai identitas molekuler DNA tanaman pisang Rajalawe

## **METODOLOGI PENELITIAN**

### **Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, serta di Laboratorium Bakteriologi, Laboratorium Terpadu, Universitas Diponegoro, Semarang, pada Mei hingga September 2016.

### **Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan adalah neraca digital, *microwave*, *microtube*, mikropipet, tip, *water bath*, mortar, *pestl*,

*ice gel*, *microcentrifuge*, vortek, satu set alat elektroforesis, *UV transilluminator*, *nanodrop*, dan *thermal cycler*.

Bahan-bahan yang digunakan adalah daun pisang *Rajalawe*, bufer ekstraksi CTAB, bufer Tris-EDTA (TE), bufer Tris-Asetat-EDTA (TAE), 2-*Mercaptoethanol* (2-ME), kloroform : isoamil alkohol (CIA) (24:1), isopropanol, 80% EtOH, ddH<sub>2</sub>O, alkohol, akuades steril, agarosa, *loading dye*, *Florosafe*, *loading dye* (Geneaid™), KAPA *Taq* Extra buffer tanpa Mg<sup>2+</sup>, MgCl<sub>2</sub>, dNTPs, KAPA *Taq* Extra Hotstart DNA Polymerase, *ice gel*, kapas, plastik klip, dan aluminium foil, dan primer universal ITS.

### Cara Kerja

#### Isolasi DNA dengan Metode Doyle & Doyle

Daun pisang *Rajalawe* ditimbang seberat 0,3 gram, dicuci bersih, dikeringkan, kemudian disemprot dengan alkohol 70%. Daun dipotong kecil-kecil menggunakan gunting yang telah disemprot alkohol kemudian digerus dengan mortar dan pestle sampai halus di atas *ice gel*. Hasil gerusan ditambahkan *extraction buffer* CTAB 2-ME yang telah diinkubasi 65°C. Selanjutnya sampel dimasukkan dalam mikrotube dan diinkubasi 65°C selama 30 menit. Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Supernatan dari sampel dipindah ke tabung mikrotube baru. CIA (24:1) ditambahkan ke dalam mikrotube sebanyak volume supernatan. Sampel divorteks kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit.

Lapisan bagian atas diambil dengan hati-hati kemudian ditambahkan dengan isopropanol dingin dengan volume yang sama. Inkubasi dilakukan pada suhu -20°C selama 1-2 jam. Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang sehingga tersisa pellet. Pellet dicuci dengan 80% EtOH. Sampel disentrifugasi kembali dengan kecepatan 8000 rpm selama 5 menit. 80% EtOH dibuang

sehingga tersisa pellet. Pellet dikeringanginkan *overnight*. Selanjutnya, sampel ditambahkan dengan 100 µl ddH<sub>2</sub>O kemudian divorteks. Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 5 menit dan diinkubasi dengan suhu -20°C. Uji kuantitatif DNA untuk mengetahui kemurnian dan konsentrasi setiap sampel DNA diukur menggunakan *nanodrop*.

#### Amplifikasi Gen ITS

Amplifikasi daerah target ITS dilakukan menggunakan *Kyratex thermo cycler*. Primer yang digunakan adalah ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCT GCGG-3') sebagai primer reverse dan ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') sebagai primer forward. Komponen reaksi PCR mengandung 50 µL yang terdiri atas 2,5 µL primer forward; 2,5 µL primer reverse; 1 µL DNA template; 10 µL KAPA *Taq* Extra buffer tanpa Mg<sup>2+</sup>; 3,5 µL MgCl<sub>2</sub>; 1,5 µL dNTPs, 0,5 µL KAPA *Taq* Extra Hotstart DNA Polymerase; dan 28,5 µL *nuclease free water*. Program tersebut dijalankan selama 35 siklus dengan siklus sebagai berikut: denaturasi awal 95°C selama 3 menit; denaturasi 95°C selama 30 detik, annealing 51,8°C selama 30 detik, ekstensi 72°C selama 1 menit, ekstensi akhir 72°C selama 10 menit, dan suhu penyimpanan pada tahap akhir 4°C.

#### Elektroforesis

Visualisasi hasil amplifikasi dilakukan menggunakan elektroforesis dengan cara memasukkan 5 µL produk amplifikasi dan DNA ladder (1 µL *loading dye* dengan 3 µL DNA ladder) ke dalam sumuran gel agarosa 1 %. Gel direndam dengan bufer TAE 1X, kemudian dielektroforesis dengan voltase sebesar 100 V selama 50 menit. Hasil pita yang terbentuk dilihat menggunakan UV Transilluminator.

#### Analisis Hasil Sekuensing dan Analisis Filogenetik

Sekuen gen ITS yang telah diamplifikasi selanjutnya disekuensing menggunakan jasa di Laboratorium 1st

BASE Malaysia. Tahapan sekuensing DNA berguna untuk memperoleh data urutan nukleotida daerah target dari sampel tanaman pisang *Rajalawe*. Hasil sekuensing yang berupa urutan basa nukleotida selanjutnya dianalisis homologinya menggunakan *Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)* yang tersedia online pada *National Center for Biotechnology (NCBI)*. Data yang diperoleh kemudian diidentifikasi hubungan kekerabatannya dengan beberapa spesies lain anggota *Musaceae*. Evaluasi pohon filogenetik dilakukan dengan menggunakan analisis bootstrap sebanyak 1000 ulangan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi DNA Pisang Rajalawe

Penelitian dilakukan dengan metode Doyle & Doyle menggunakan daun pisang *Rajalawe* yang diperoleh dari Balai Pengkajian Teknologi Pertanian, Kecamatan Ungaran, Kabupaten Semarang.

Metode Doyle & Doyle menggunakan larutan Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide (CTAB) buffer extraction (pre-inkubasi 65°C), kloroform-isoamylalkohol, isopropanol dingin, etanol absolut, H<sub>2</sub>O steril, ddH<sub>2</sub>O. Menurut Kress (2005) metode isolasi berbasis CTAB merupakan metode yang memiliki prosedur yang sederhana dan waktu pengerjaan yang tidak terlalu lama. Hasil isolasi DNA yang meliputi nilai konsentrasi dan kemurnian DNA dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 1. Hasil Uji Kuantitatif DNA pisang *Rajalawe*

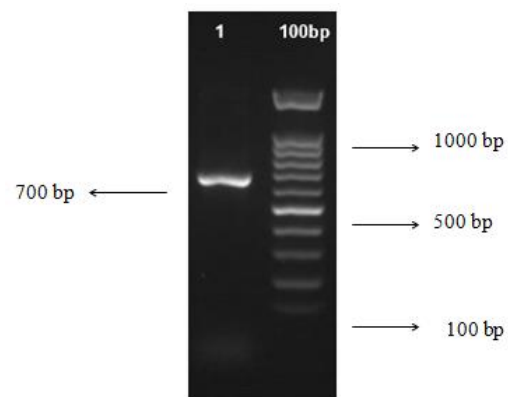
Konsentrasi	A <sub>260</sub>	A <sub>280</sub>	260/280	260/230
29,7 ng/ul	0,593	0,303	1,96	1,14

Kemurnian DNA dapat dilihat dari rasio absorbansi DNA (A<sub>260</sub> : A<sub>280</sub> : A<sub>320</sub>) dimana nilai rata-rata kemurnian (R) DNA yang diperoleh yaitu 1,96.

Menurut Fatchiyah (2012) DNA dapat dikatakan murni apabila telah mencapai nilai kemurnian antara 1,8 hingga 2,0. Nilai kemurnian DNA pada sampel menunjukkan DNA telah murni karena berkisar diantara 1,8 hingga 2,0 yaitu 1,96. Berdasarkan hasil analisis kemurnian dan konsentrasi tersebut memperlihatkan bahwa metode Doyle & Doyle berhasil dilakukan untuk mengisolasi DNA pisang *Rajalawe*.

### Amplifikasi Gen ITS Pisang Rajalawe

Amplifikasi DNA yang dilakukan dengan menggunakan primer ITS1 dan ITS4 memperoleh produk amplifikasi berukuran 700 bp yang dapat dilihat pada Gambar 1.



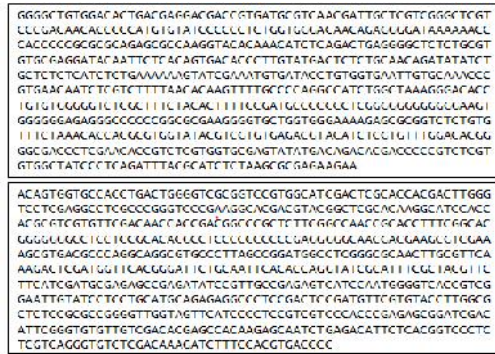
Gambar 4.1. Hasil visualisasi amplifikasi gen ITS dengan gel agarosa 1% (Keterangan: 100 bp DNA ladder; 1 = produk amplifikasi)

Hasil amplifikasi DNA pisang *Rajalawe* pada Gambar 4.1 menunjukkan pita DNA setelah diuji menggunakan metode elektroforesis gel agarose 1%. Hasil amplifikasi sampel pisang *Rajalawe* menunjukkan profil pita yang jelas serta spesifik berukuran sekitar 700 bp. Hal itu menunjukkan bahwa daerah ITS dapat teramplifikasi dengan baik.

### Analisis Sekuen Pisang Rajalawe

Proses sekuensing daerah ITS pisang *Rajalawe* dengan primer ITS1 dan ITS4 berhasil mendapatkan sekuen forward sebanyak 651 bp dan reverse

sebanyak 643 bp. Urutan basa nukleotida dari hasil sekuensing gen ITS dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 2. Urutan basa nukleotida hasil sekuensing pisang *Rajalawe* a. Urutan basa nukleotida sekuen forward b. Urutan basa nukleotida sekuen reverse (Keterangan: A: adenin; T: timin; G: guanin; C: sitosin)

Urutan basa nukleotida gen ITS selanjutnya dilakukan pencarian homologi sekuen menggunakan fasilitas *Basic Local Alignment Search*

*Tool* (BLAST) pada situs *website* (NCBI). Hasil analisis kesamaan urutan basa (homologi) diperoleh 123 spesies yang memiliki kemiripan urutan basa dengan pisang *Rajalawe*. Hasil tersebut dilanjutkan dengan analisis homologi berupa penjajaran urutan basa gen *Internal Transcribed Spacer* (ITS) antara pisang *rajalawe* dan *Musa balbisiana* menggunakan BLAST pada situs NCBI ditunjukkan pada Gambar 4.3.

Hasil dari BLAST menunjukkan pisang *rajalawe* memiliki homologi atau identik dengan *Musa balbisiana* dengan nilai persentase homologi 95% dan *gap* 1%. Kemunculan gap disebabkan oleh sifat dari gen ITS yang variatif. Gap menunjukkan terjadinya proses mutasi baik berupa delesi maupun insersi (Dewi, 2012).

Query	10	CCACCTGA-CTGGGGTTCGCGGTCCCGTGGCATCGACTCGCACCACGACTTGGGTCTCTCGAG	68
Sbjct	660	CCACCTGACCTGGGGTTCGCGGTCCCGTGGCATCGACTCGCACCACGACTTGGGTCTCTCGAG	601
Query	69	GCTTCGCCCAGGTTCCCGAAGGCACGACGTACGGCTCGCACAAGGCATCCACCACGCGTCTG	128
Sbjct	600	GCTTCGCCCAGGTTCCCGAAGGCACGACGTACGGCTCGCACAAGGCATCCACCACGCGTCTG	541
Query	129	TGTTTCGACAACCACCGACGGCCCGCTCTTCGGCCAACCGCACCTTTCGGCACgggggggC	188
Sbjct	540	TGTTTCGACAACCACCGACGGCCCGCTCTTCGGCCAACCGCACCTTTCGGCACCGGGGGCC	481
Query	189	CTCCTCCGCACACGCTTccccccccGAGGGGGCAACGACGAAAGCGTCAAGGCGTAC	248
Sbjct	480	ATCCTCCGCACACGCTTCCACCCTCCGAGGGGGCATCGGCGAAGCGTCAAGGCGTAC	421
Query	249	GCCCAGGCAGGCGTGCCTTAGCCGGATGGCCTCGGGCGCAACTTGCCTTCAAAGACTCG	308
Sbjct	420	GCCCAGGCAGGCGTGCCTTAGCCGGATGGCCTCGGGCGCAACTTGCCTTCAAAGACTCG	361
Query	309	ATGGTTACAGGATTTGCAATTCACACCAGGTATCGCATTTGCTACGTTCTTCATCGA	368
Sbjct	360	ATGGTTACAGGATTTGCAATTCACACCAGGTATCGCATTTGCTACGTTCTTCATCGA	301
Query	369	TGCGAGAGCCGAGATATCCGTTGCGGAGAGTCATCCAATGGGGTCACCGTCCGGAATTGTA	428
Sbjct	300	TGCGAGAGCCGAGATATCCGTTGCGGAGAGTCATCCAATGGGGTCACCGTCCGGAATTGTA	241
Query	429	TCTCTCGCATGCGAGAGGCTCCGACTCCGATGTTGCTGTACCTTGGCGCTCTCCGC	488
Sbjct	240	TCTCTCGCATGCGAGAGGCTCCGACTCCGATGTTGCTGTACCTTGGCGCTCTCCGC	181
Query	489	GCCGGGGTGGTAGTTTATCCCTCCGCTGCTCCACCAGAGCGGATCGACATTCGGGT	548
Sbjct	180	GCCGGGGTGGTAGTTTATCCCTCCGCTGCTCCACCAGAGCGGATCGACAT- CGGG-	123
Query	549	GTGTTGTCGACACGAGCCACAAGGCAATC-T-GAGACATTCTACGGTCCCTCTCGTCA	606
Sbjct	122	GTGTTGTCGAGACGAGCCGACGAGCAATCGTTGACGCATTC--ACGGTCTCTCTCGTCA	65
Query	607	GGTGTCTCGACAAAGATCTTTCC 630	

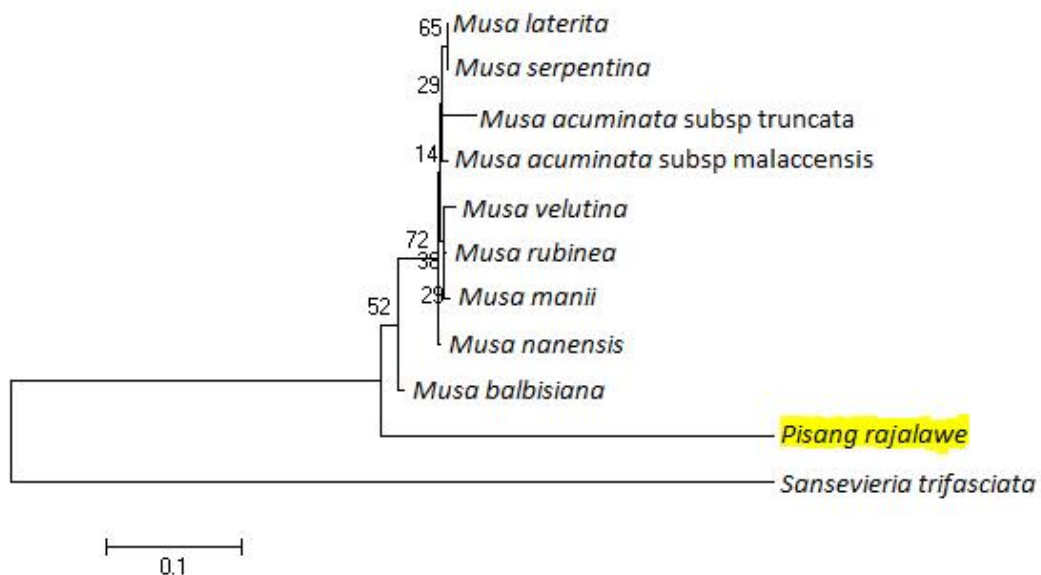
Sbjct 64 GTGGGTCTCGACAATGATCCTTCC 41

Gambar 4. Analisis Homologi Berupa Penjajaran Basa pisang *Rajalawe* (*Query*) dengan *Musa balbisiana* (*Sbjct*) Menggunakan Program BLAST.

Penyejajaran basa pisang *Rajalawe* (*Query*) dengan *Musa balbisiana* (*Sbjct*) yang merupakan hasil dari program BLAST menunjukkan letak persamaan sekaligus perbedaan basa. Persamaan dari kedua sekuen tersebut ditunjukkan dengan garis vertikal (|) yang menghubungkan antara *Query* dan *Sbjct*. Namun perbedaan antara kedua sekuen ditunjukkan dengan tidak adanya garis vertikal (|) yang menghubungkan antara *Query* dan *Sbjct*. Bagian yang tidak dihubungkan dengan suatu garis vertikal (|) menunjukkan letak

perbedaan dari kedua sekuen tersebut. Perbedaan tersebut dapat disebabkan oleh perubahan basa baik secara transisi maupun transversi. Transisi merupakan perubahan basa pirimidin menjadi purin, sedangkan transversi merupakan perubahan basa purin menjadi pirimidin. Menurut Nei dan Kumar (2000), perubahan basa tersebut pada akhirnya akan menyebabkan evolusi pada organisme. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa pisang *Rajalawe* memiliki kemiripan karakteristik dengan *Musa balbisiana*.

#### Analisis Filogenetik Pisang *Rajalawe*



Gambar 5. Pohon Filogenetik Pisang *Rajalawe* Berdasarkan Gen ITS

Pohon filogenetik di atas menggambarkan bahwa posisi pisang *Rajalawe* berada di dalam satu kluster dengan *Musa balbisiana* dibandingkan dengan spesies lainnya. Nilai *bootstrap*

antara pisang *Rajalawe* dengan *Musa balbisiana* dibandingkan dengan spesies lainnya sebesar 52%. Hasil ini

menunjukkan bahwa pisang *Rajalawe* berkerabat dekat dengan *Musa balbisiana*.

Pohon filogenetik berdasarkan marka molekuler ITS dapat dilihat dengan metode Neighbor-joining yang menunjukkan bahwa takson sampel, yaitu pisang *Rajalawe* berada dalam satu kelompok dengan *Musa* lainnya, yaitu *M. manii*, *M. rubiinea*, *M. nanensis*, *M. acuminata subs. malaccensis*, *M. Acuminata subsp. truncata*, *M. balbisiana*,

*M. velutina*, *M. serpentine*, dan *M. laterita*. Hal ini menunjukkan sampel pisang *Rajalawe* berada dalam kelompok monofiletik dengan *Musa* lainnya. Menurut Hidayat (2005), kelompok monofiletik merupakan kelompok yang anggotanya berasal dari satu nenek moyang. Anggota dalam kelompok monofiletik diasumsikan membawa sifat atau pola genetik dan biokimia yang sama. Nilai bootstrap pada pisang *Rajalawe* yaitu 52% sesuai dengan pernyataan Hall (2001), suatu klad dapat dipercaya dengan nilai bootstrap 90% dan tidak dipercaya dengan nilai bootstrap 25 %.

Konstruksi pohon filogenetik menempatkan *Sansevieria trifasciata* sebagai outgroup. Outgroup sangat dibutuhkan dalam konstruksi pohon filogenetik, sesuai dengan pernyataan Hidayat (2008), bahwa penambahan outgroup dilakukan guna mendapatkan informasi yang meyakinkan dari sekuen yang berhubungan.

Berdasarkan pohon filogenetik tersebut diketahui bahwa gen ITS dapat memberikan gambaran yang informatif mengenai filogenetik molekuler dari pisang *Rajalawe* pada tingkat spesies. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Purnamasari (2012) bahwa Daerah *Internal Transcribed Spacer* (ITS) merupakan daerah yang dapat digunakan sebagai penanda genetika karena memiliki variasi sekuens yang cukup tinggi bahkan dalam spesies yang sama.

#### SIMPULAN

Hasil identitas molekuler tanaman pisang *Rajalawe* berdasarkan gen *Internal Transcribed Spacer* (ITS) menunjukkan pisang *Rajalawe* berkerabat dekat dengan *Musa balbisiana* tetapi terdapat karakter yang berbeda dengan *Musa balbisiana*. Homologi urutan basa antara pisang *Rajalawe* dengan *Musa balbisiana* sebesar 95 % dan terdapat perbedaan urutan basa sebesar 5%.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Bahri S, 2009. *Pendampingan penerapan teknologi intensifikasi, diversifikasi, dan kelembagaan usaha tani di kabupaten banjarnegara*. BPTP Jawa Tengah.
- Daniels J. 1995. *Illustrated Guide to The Identification of Banana Varieties in The South Pasific*. ACIAR, Australia.
- Dewi, C.L.H. 2012. Analisis Biomolekuler Gen *Internal Transcribed Spacer* (ITS) dalam Studi Filogenetik *Zingiber loerzingii* Valetton (Zingiberaceae). *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Fatchiyah, Widyarti, S., Arumningtyas, E. L., Permana, S. 2012. *Buku Praktikum Teknik Analisis Biologi Molekuler*. Malang: UB Press.
- Hall, B.G. 2001. *Phylogenetic Trees Made Easy: A How - To Manual for Molecular Biologists*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts, USA.
- Hidayat T, Yukawa T, Ito M. 2005. Molecular Phylogenetics of Subtribe Aeridinae (Orchidaceae): Insights from Plastid matK and Nuclear Ribosomal ITS Sequences. *J Plant Res*.18:271-284.
- Hidayat T, Pancoro A. 2008. Kajian Filogenetika Molekuler dan Peranannya dalam menyediakan Informasi Dasar untuk Meningkatkan Kualitas Sumber Genetik Anggrek. *Jurnal Agrobiogen* (4)35-40.
- Imam, M.Z., and Akter, S. 2011. *Musa paradisiaca* L. and *Musa sapientum* L: a phytochemical and pharmavological review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 01(05): 14-20
- Megia R. 2005. *Musa* sebagai model genom. *Hayati*. 12: 167-170
- Nei, M dan Kumar S. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*.

Oxford University Press, United Kingdom.

Purnamasari, M. I., Prihatna, C., Gunawan, A.W., Suwanto, A. 2012. Isolasi dan Identifikasi Molekuler *Ganoederma* spp. yang Berasosiasi dengan Penyakit Busuk Pangkal Batang di Kelapa Sawit. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. Vol. 8. No.4.

Samsurianto. 2009. Analisa Jumlah Kromosom dan Hubungan Kekerbatan berdasarkan Penanda Fenotipe antar Karakter pada Beberapa Plasma Nutfah Pisang (*Musa sp.*) Asal Kalimantan Timur. *J. Bioprospek* (6):1. Simmonds.