

## Jurnal Biotek

p-ISSN: 2581-1827 (print), e-ISSN: 2354-9106 (online)  
Website: <http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/biotek/index>

### Variasi Genetik dan Filogeografi Pisang Raja (*Musa spp.*) di Pulau Jawa Berdasarkan Sekuen *Internal Transcribed Spacer*

Didik Wahyudi<sup>1\*</sup>, Lutfiana Hasanah Gusmiati<sup>1</sup>, Lia Hapsari<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Indonesia

<sup>2</sup>Kebun Raya dan Kehutanan, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Cibinong, Jawa Barat, Indonesia

\*Correspondence email: [didik\\_wahyudi@bio.uin-malang.ac.id](mailto:didik_wahyudi@bio.uin-malang.ac.id)

(Submitted: 22-08-2023, Revised: 22-12-2023, Accepted: 25-12-2023)

#### ABSTRAK

Pisang Raja adalah kultivar pisang penting bagi masyarakat Jawa sejak zaman dahulu, dengan banyak variasi morfologi dan nama daerah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui variasi genetik dan filogeografi Pisang Raja di Pulau Jawa berdasarkan sekuen *Internal Transcribed Spacer* (ITS). Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai acuan pengembangan kultivar Pisang Raja unggul yang tahan terhadap penyakit serta memudahkan petani dalam memilih kultivar Pisang Raja yang sesuai dengan kondisi lokal daerah yang ada di pulau Jawa. Penelitian ini menggunakan 9 sampel Pisang Raja (*in-group*) dan 2 sampel pisang liar (*out-group*). Metode penelitian diawali dengan isolasi DNA, uji kualitatif dan kuantitatif, amplifikasi primer ITS1 dan ITS4, dan sekuensing. Analisis data yang dilakukan meliputi polimorfisme, filogenetik (MP, ML, NJ dan BI) dan haplotipe. Hasil menunjukkan bahwa sekuen ITS pada pisang Raja teramplifikasi dengan panjang 600-700 bp dan konten GC 61.70%. Analisis polimorfisme menunjukkan variasi genetik Pisang Raja di Pulau Jawa sangat tinggi. Analisis filogenetik menghasilkan 4 pohon filogenetik dengan topologi yang kurang lebih sama, dimana *in-group* terbagi menjadi 2 klad yaitu klad I (AAA dan AAB) dan klad II (AAA dan ABB). Similaritas genetik tertinggi dimiliki oleh Raja Brentel dengan Raja Bali (89,43%) dan terendah oleh Raja Gareng dengan Raja Seribu (56,82%). Analisis haplotipe menghasilkan 11 haplotipe yang mengelompok menjadi 4 grup. Evolusi Pisang Raja berasal dari dua tetua yaitu *M. acuminata* dan *M. balbisiana*. Filogeografi aliran gen ITS pada Pisang Raja berasal dari wilayah Jawa Tengah kemudian menyebar ke Jawa Timur dan Jakarta. Hal ini diduga karena tingginya pemanfaatan yang diikuti oleh penanaman Pisang Raja oleh masyarakat Jawa Tengah untuk acara ritual dan seremonial pada masa lampau yang berpengaruh pada proses domestikasi. Hasil dari penelitian ini dapat menjadi dasar untuk strategi konservasi genetik Pisang Raja.

**Kata Kunci:** filogenetik, haplotipe, pisang raja, polimorfisme, sekuensing

#### ABSTRACT

*Pisang Raja is an important banana cultivar for the Javanese people since ancient times, with many morphological variations and local names. This study aims to determine the genetic variation and phylogeography of Pisang Raja based on Internal Transcribed Spacer (ITS) sequences. The results of the research can be used as a reference for developing superior Pisang Raja cultivars that are resistant to disease and make farmers easier to choose Pisang Raja cultivars that suit with geographical conditions on Java Island. This study used 9 samples of Pisang Raja (in-group) and 2 samples of wild bananas (out-group). The research method started with DNA isolation, qualitative and quantitative tests, ITS1 and ITS4 primer amplification, and sequencing. Data analysis*



performed included polymorphism, phylogenetics (MP, ML, NJ and BI) and haplotype. The results showed that the ITS sequences in Pisang Raja was amplified with a length of 600–700 bp and GC content of 61.70%. Polymorphism analysis showed that the genetic variation of Pisang Raja in Java was very high. Phylogenetic analysis resulted in 4 phylogenetic trees with relatively same topologies, where the in-groups were divided into 2 clades, namely clade I (AAA and AAB) and clade II (AAA and ABB). The highest genetic similarity was showed by Raja Brentel and Raja Bali (89.43%) and the least was Raja Gareng and Raja Seribu (56.82%). Haplotype analysis formed 11 haplotypes which grouped into 4 groups. Pisang Raja evolution comes from two ancestors, i.e. *M. acuminata* and *M. balbisiana*. The phylogeography of ITS gene flow in Pisang Raja originates from Central Java then spread to East Java and Jakarta. This is presumably due to the high utilization followed by the planting of Pisang Raja by the people of Central Java for ritual and ceremonial events in the past which influenced the domestication process. The results of this study can served as the reference for genetic conservation strategy of Pisang Raja.

**Keywords:** haplotype, phylogenetic, Pisang Raja, polymorphism, sequencing

**How to cite:** Wahyudi, D., Gusmiati, L. H., & Hapsari, L. (2023). Variasi genetik dan Filogeografi Pisang Raja (*Musa spp.*) di Pulau Jawa Berdasarkan Sekuen Internal Transcribed Spacer. *Jurnal Biotek*, 11(2), 196–210. <https://doi.org/10.24252/jb.v11i2.40807>

## PENDAHULUAN

Buah pisang merupakan komoditas hortikultura dari kelompok buah-buahan utama bagi penduduk dunia, termasuk Indonesia. Menurut Badan Pusat Statistik (2023), produksi pisang di Indonesia pada tahun 2022 mencapai 9,24 juta ton, naik sebesar 5,77% (504 ribu ton) dari tahun 2021. Pusat keragaman dan produksi pisang kultivar terbesar di Indonesia berada di pulau Jawa, Sumatera, Sulawesi dan Bali. Beberapa kultivar pisang yang diunggulkan di Indonesia antara lain, pisang Ambon, Pisang Raja, Pisang Kepok dan Pisang Tanduk. Khususnya Pisang Raja, disukai oleh masyarakat karena memiliki tekstur daging tebal, warna kuning jingga dengan rasa yang manis, dapat dimakan langsung sebagai buah meja atau diolah menjadi berbagai makanan (Kurnianto et al., 2023). Lebih lanjut, pemanfaatan Pisang Raja, selain untuk dikonsumsi buahnya, juga memegang peranan yang sangat penting sebagai komponen wajib untuk acara ritual upacara adat keagamaan dan berbagai acara seremonial tradisional lainnya, khususnya bagi masyarakat Jawa kuno sejak zaman dahulu hingga saat ini (Hapsari et al., 2017). Sebagai tambahan, Pisang Raja juga dimanfaatkan sebagai bahan obat tradisional dan kosmetik (Ekayanti et al., 2023).

Tingginya permintaan akan kebutuhan Pisang Raja untuk berbagai keperluan tersebut diduga diikuti oleh tingginya pembudidayaan Pisang Raja di berbagai daerah pada masa lampau hingga saat ini. Peranan manusia dalam proses evolusi pisang, termasuk Pisang Raja melalui proses seleksi dan domestikasi memunculkan banyaknya variasi Pisang Raja dengan berbagai bentuk morfologi

dan nama lokal (De Langhe et al., 2009; Perrier et al., 2011). Terdapat lebih dari 40 variasi Pisang Raja di Indonesia, terutama di Pulau Jawa di antaranya Raja Lingi, Raja Warangan, Raja Bandung, Raja Gintung, Raja Gareng, Raja Delima, dll. (Hapsari et al. 2017). Banyaknya variasi dan penggunaan nama lokal pada Pisang Raja di berbagai daerah tersebut menimbulkan permasalahan dalam tata nama ilmiah (Valmayor et al., 2000).

Untuk mengetahui tata nama ilmiah pisang berdasarkan genom dapat dilakukan dengan pendekatan morfologi maupun molekuler. Namun, saat ini pendekatan molekuler lebih diutamakan karena objektivitasnya dan tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Pendekatan molekuler yang sering digunakan pada pisang di antaranya yaitu AFLP (Safhi et al., 2023), RAPD (Probojati et al., 2019), ISSR (Wahyudi et al., 2022) dan sekuen DNA spesifik baik dari genom inti maupun kloroplas. Pendekatan menggunakan sekuen DNA spesifik dinilai lebih akurat untuk mengetahui variasi genetik (Janssens et al., 2016). Beberapa sekuen DNA spesifik yang sering digunakan untuk identifikasi pisang adalah ITS (Liu et al. 2010; Li et al., 2013; Lamare et al., 2017; Hapsari et al. 2018), Rbcl (Hiariej et al. 2015; Hapsari et al. 2020), trn-L (Retnoningsih et al., 2014), MatK (Probojati et al., 2021; Hariyanto et al., 2021) dan atpB (Lamare, 2017).

Daerah ITS merupakan sekuen DNA spesifik yang diketahui paling cocok digunakan untuk analisis pada genus *Musa* berdasarkan hasil review oleh Hapsari (2015), di antaranya untuk konfirmasi identifikasi genom, analisis variasi genetik, filogenetik dan histori evolusi biogeografi. Daerah ITS yang terletak di genom inti ribosomal merupakan gen pengkode rDNA yang terkonservasi. Daerah ITS terdiri dari ITS 1 dan ITS 2, dimana ITS 1 terletak diantara gen 18S dan 5,8S sedangkan ITS 2 berada diantara gen 5,8S dan 26S, dengan panjang sekitar 700–900 bp (Hřibová et al., 2011). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengungkap variasi genetik, dan filogeografi pada 9 kultivar Pisang Raja di Pulau Jawa menggunakan sekuen ITS. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai informasi dasar untuk klarifikasi tata nama taksonomi pisang Raja dan sebagai acuan dasar dalam menyusun strategi konservasi genetik. Selain itu, informasi mendalam tentang variasi genetik Pisang Raja dapat digunakan sebagai acuan dalam pemilihan kultivar unggul serta memudahkan petani dalam memilih kultivar Pisang Raja yang sesuai dengan kondisi lokal daerah mereka masing-masing.

## METODE PENELITIAN

### Lokasi Penelitian

Analisis molekuler dilakukan di Laboratorium Genetika dan Molekuler, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang, Jawa Timur.

### Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan adalah 9 kultivar Pisang Raja sebagai *in-group* dan 2 pisang liar sebagai *out-group* (Tabel 1). Bahan tanaman merupakan koleksi pisang dari Kebun Plasma Nutfah Pisang, Dinas Pertanian dan Pangan, Giwangan, Kota Yogyakarta. Sampel bahan tanaman berupa daun muda yang masih menggulung, disimpan dalam kantong teh dan dimasukkan dalam *dry box* yang berisi silika gel agar awet untuk analisis lebih lanjut di laboratorium.

Tabel 1. Daftar Sampel Kultivar Pisang Raja (*In-Group*) Dan Pisang Liar (*Outgroup*)

Kode	Nama lokal/ spesies	Genom	Asal koleksi	Ket.
R1	Raja Delima	AAA	Malang, Jawa Timur	In-group
R2	Raja Sereh	AAB	Purworejo, Jawa Tengah	In-group
R3	Raja Kisto	AAB	Banyuwangi, Jawa Timur	In-group
R4	Raja Bali	ABB	Bantul, Jawa Tengah	In-group
R5	Raja Gareng	AAB	Temanggung, Jawa Tengah	In-group
R6	Raja Seribu	AAB	Menteng, DKI Jakarta	In-group
R7	Raja Kutuk	AAB	Purworejo, Jawa Tengah	In-group
R8	Raja Brentel	ABB	Sukoharjo, Jawa Tengah	In-group
R9	Raja Lini	AAB	Gunung Kidul, Jawa Tengah	In-group
AA	<i>M. acuminata</i>	AA	Pasuruan, Jawa Timur	Out-group
BB	<i>M. balbisiana</i>	BB	Pasuruan, Jawa Timur	Out-group

### Ekstraksi DNA dan PCR amplifikasi

DNA total diekstraksi dari daun muda menggunakan kit ekstraksi DNA dari Promega (*The Wizard® Genomic DNA Purification Kit*). Konfirmasi hasil ekstraksi DNA dilakukan secara kualitatif dengan elektroforesis gel agarosa 1%, pada tegangan 100 V selama 25 menit. Analisis kuantitatif dengan nanodrop (AE-200 Nano Nucleic Acid Analyzer).

Amplifikasi daerah ITS dilakukan dengan primer ITS-L *forward* (TCG TAA CAA GGT TTC CGT AGG TG) dan ITS-4 *reverse* (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC) (Hapsari, 2015), dengan konsentrasi primer adalah 10  $\mu\text{M}/\mu\text{L}$ . Amplifikasi dilakukan dengan total volume sebanyak 30  $\mu\text{L}$  yang mengandung 3  $\mu\text{L}$  sampel DNA (30 ng/ $\mu\text{L}$ , 6  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O, 6  $\mu\text{L}$  primer (*forward* dan *reverse*) (10 pmol), dan 15  $\mu\text{L}$  PCR mix. Reaksi PCR dilakukan dengan suhu pre-denaturasi 94 °C selama 4 menit, denaturasi 94 °C selama 30 detik, annealing 48 °C selama 30 detik, elongasi 72 °C selama 1 menit, dan post-elongasi 72 °C selama 1 menit. Tahap denaturasi hingga elongasi diulang sebanyak 35 siklus dengan menggunakan MyCycler Thermal Cycler BIO-RAD. Hasil amplifikasi daerah ITS divisualisasi dengan uji elektroforesis menggunakan gel agarosa 1%. Proses sequencing DNA dilakukan menggunakan jasa sekuensing di Firstbase Malaysia dengan ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer.

### **Analisis Data**

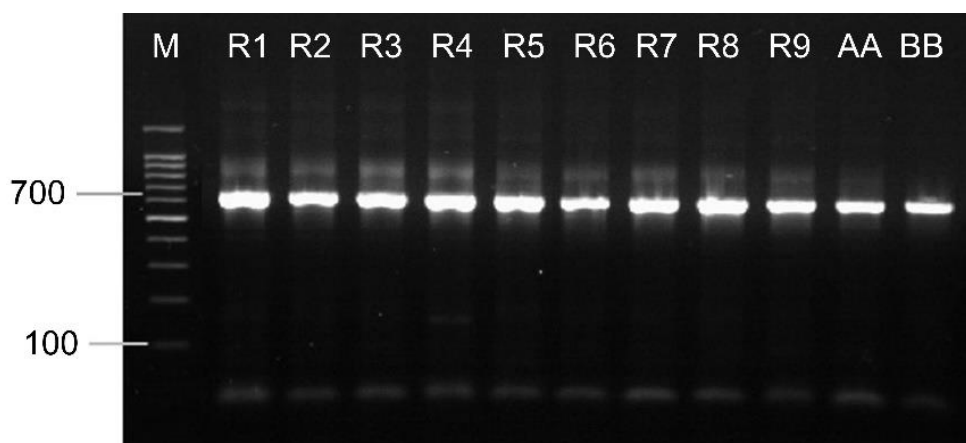
Sekuen daerah ITS hasil sequencing dibaca dan dievaluasi menggunakan software ABI Sequence Scanner versi 1.0. Sekuen daerah ITS disejajarkan menggunakan software Clustal X2 (Larkin et al., 2007). Analisis variasi genetik dilakukan dengan DnaSP versi 6. Analisis filogenetik dilakukan menggunakan software MEGAX (Kumar et al., 2013) berdasarkan model evolusi Kimura 2 parameter (K2P) dengan metode algoritma Neighbor Joining (NJ), Maximum Parsimony (MP) dan Maximum Likelihood (ML), sedangkan, analisis filogenetik dengan metode Bayesian Inference (BI) dilakukan menggunakan software BEAUti dan BEAST versi 1.8.4 (Drummond et al., 2012), dengan model evolusi terbaik yang digunakan adalah model TPM3uf+G. Visualisasi pohon filogenetik dilakukan dengan software Figtree versi 1.4.4. Analisis jarak berpasangan juga dilakukan pada software MEGAX untuk menghasilkan jarak dan similaritas genetik. Analisis haplotipe dilakukan menggunakan software Haplotype Network versi 10.2 (Forster 2020).

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **PCR Amplifikasi dan Sekuensing**

Amplifikasi daerah ITS pada 9 kultivar Pisang Raja dan 2 pisang liar menghasilkan amplicon dengan panjang 600–700 bp pada seluruh sampel (Gambar 1). Selanjutnya, sekuensing pada amplicon ITS menghasilkan sekuen DNA dengan panjang sekitar 654–674 bp. Panjang sekuen daerah ITS pada tanaman pisang ini sesuai dengan hasil-hasil penelitian sebelumnya seperti oleh Hřibová et

al. (2011) dan Hapsari 2015. Panjang sekuen ITS ini juga kurang lebih sama dengan tumbuhan monokotil lainnya seperti pada jahe-jahean  $\pm 800$  bp (Saudah et al., 2022), anggrek  $\pm 700$  bp (Sharma et al. 2012); *Lilium*  $\pm 900$  bp (Sultana et al., 2011), dan pearl millet  $\pm 800$  bp (Almutairi, 2021).



Gambar 1. Elektroforegram amplicon ITS pada sampel pisang. Ket: R1=Raja Delima; R2=Raja Sereh; R3=Raja Kisto; R4=Raja Bali; R5=Raja Gareng; R6=Raja Seribu; R7=Raja Kutuk; R8=Raja Brentel; R9=Raja Lini; AA=*M. acuminata*; BB=*M. balbisiana*

### Variasi Genetik

Hasil pensejajaran sekuen ITS dari 9 kultivar Pisang Raja dan 2 pisang liar menghasilkan jumlah sekuen DNA akhir sebanyak 605 bp. Sekuen ITS pada Pisang Raja mengandung sekuen GC yang lebih tinggi dibandingkan AT yaitu dengan rata-rata sebesar 61.70%. Organisme dengan DNA yang memiliki banyak GC lebih rawan terhadap mutasi sehingga disebut sebagai *hotspots of mutation* (Kiktev et al., 2018).

Hasil analisis polimorfisme diketahui bahwa Pisang Raja memiliki variasi genetik yang sangat tinggi. Sebanyak 432 sekuen bersifat polimorfik atau variatif, 126 sekuen adalah monomorfik atau terkonservasi dan 67 sekuen mengalami insersi-delesi (Tabel 2). Variasi sekuen yang tinggi ini diduga diantaranya disebabkan oleh adanya rekombinasi materi genetik sebagai hasil dari hibridisasi inter dan intra-spesies tetua, dan antar keturunan atau silang balik, terjadinya mutasi spontan, munculnya allopoliploidi dan autopoliploidi, juga perkembangan sifat partenokarpi dan sterilitas kemudian berevolusi melalui proses domestikasi dan seleksi oleh manusia dalam kurun waktu yang panjang (Liu et al. 2013; Baurens et al., 2018; Martin et al. 2020).

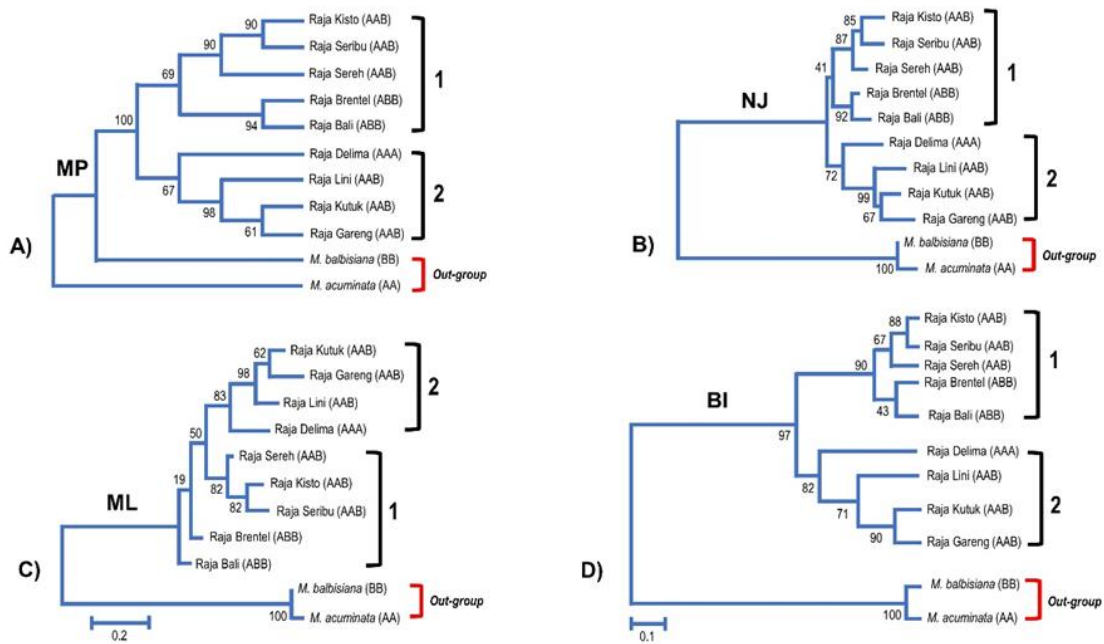
Analisis lebih lanjut pada sekuen polimorfik pada Pisang Raja diketahui terdapat situs dengan motif singleton variabel dan parsimoni informatif (Tabel 2). Adanya variasi singleton ini menunjukkan karakter autopomorfi yang dapat dijadikan penciri takson (Ahrens et al., 2016; Hapsari et al., 2018). Sementara itu, parsimoni informatif merupakan situs yang sedikitnya memiliki dua jenis nukleotida dan dua dari mereka muncul dengan frekuensi minimum sebanyak dua, bermanfaat untuk analisis filogenetik (Smith, 2019).

Tabel 2. Variasi Genetik Pisang Raja di Jawa berdasarkan Sekuen ITS

Tipe situs DNA	Jumlah situs DNA
Monomorfik	126
Polimorfik	432
Inseri-delesi	67
Singleton (2 varian)	39
Singleton (3 varian)	8
Parsimoni informatif (2 varian)	220
Parsimoni informatif (3 varian)	145

### Hubungan Kekerabatan dan Evolusi

Analisis hubungan kekerabatan pada 9 sampel pisang Raja dengan pisang liar sebagai *out-group* menggunakan metode MP, NJ, ML dan BI menghasilkan topologi pohon filogenetik yang kurang lebih sama. Pisang liar *M. balbisiana* dan *M. acuminata* sebagai *out-group* diketahui memisah secara jelas dengan dukungan bootstrap tinggi (100) (Gambar 1). Hasil penelitian ini membuktikan bahwa kedua spesies pisang liar tersebut merupakan tetua atau kerabat primitif dari Pisang Raja, sebagaimana disebutkan pertama kali oleh Simmonds dan Shepherd (1955).



Gambar 2. Pohon filogenetik Pisang Raja berdasarkan sekuen ITS, dengan metode algoritma: A. Maximum Parsimony, B. Neighbor Joining, C. Maximum Likelihood, dan D. Bayesian Inference

Lebih detail pada *in-group* terbagi menjadi 2 klad. Klad 1 terdiri atas Pisang Raja bergenom AAB (Raja Kisto, Raja Seribu, dan Raja Sereh) dan ABB (Raja Brentel dan Raja Bali). Sementara, klad 2 terdiri atas Pisang Raja bergenom AAA (Raja Delima) dan AAB (Raja Lini, Raja Kutuk dan Raja Gareng) (Gambar 1). Berdasarkan hasil penelitian ini diketahui bahwa pembagian genom AAB bersarang dengan AAA dan juga ABB. Hal ini didukung dengan hasil penelitian sebelumnya oleh Hapsari et al. (2018), bahwa pisang genom AAB berperan sebagai pisang perantara yang menghubungkan pisang genom B dan pisang genom A. Menurut De Langhe et al. (2009), dalam evolusinya pisang genom AA muncul lebih dulu, diikuti oleh pisang genom AAA, AAB, dan kemudian ABB. Lebih lanjut, grup genom pada pisang tidak dapat dipisahkan dengan jelas karena variasi dan mutasi genetik yang masih berlangsung secara kontinu (Hariyanto et al., 2021).

### Similaritas Genetik

Similaritas genetik tertinggi dari keseluruhan sampel pisang baik *in-group* maupun *out-group* ditunjukkan oleh Raja Brentel (ABB) dengan *M. balbisiana* (BB) dan *M. acuminata* (AA) dengan nilai masing-masing 96,75% dan 94,99%. Sementara itu, di antara Pisang Raja saja, maka similaritas tertinggi adalah pada Raja Brentel (ABB) dan Raja Bali (ABB) yaitu sebesar 89,42%. Sedangkan, similaritas



terendah ditemukan pada Raja Gareng (AAB) dan Raja Seribu (AAB) dengan nilai 56,82% (Tabel 3).

Tabel 3. Similaritas Genetik 9 Kultivar Pisang Raja (*In-Group*) dan 2 Pisang Liar (*Out-Group*) Berdasarkan Sekuen ITS

	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	AA	BB
R1	100										
R2	70,97	100									
R3	64,04	87,37	100								
R4	65,73	79,02	72,19	100							
R5	68,92	64,70	60,04	63,13	100						
R6	64,27	85,43	86,25	65,61	56,82	100					
R7	69,35	66,27	61,60	64,16	82,26	58,29	100				
R8	71,97	82,73	76,88	89,42	67,18	72,31	64,73	100			
R9	71,21	69,24	65,67	71,75	77,00	60,02	83,13	75,29	100		
AA	72,71	82,33	77,56	87,77	71,53	71,68	67,75	94,88	77,40	100	
BB	68,55	79,64	74,42	87,20	64,40	69,29	62,90	96,75	72,57	92,09	100

Ket: R1=Raja Delima; R2=Raja Sereh; R3=Raja Kisto; R4=Raja Bali; R5=Raja Gareng; R6=Raja Seribu; R7=Raja Kutuk; R8=Raja Brentel; R9=Raja Lini; AA=*M. acuminata*; BB=*M. balbisiana*

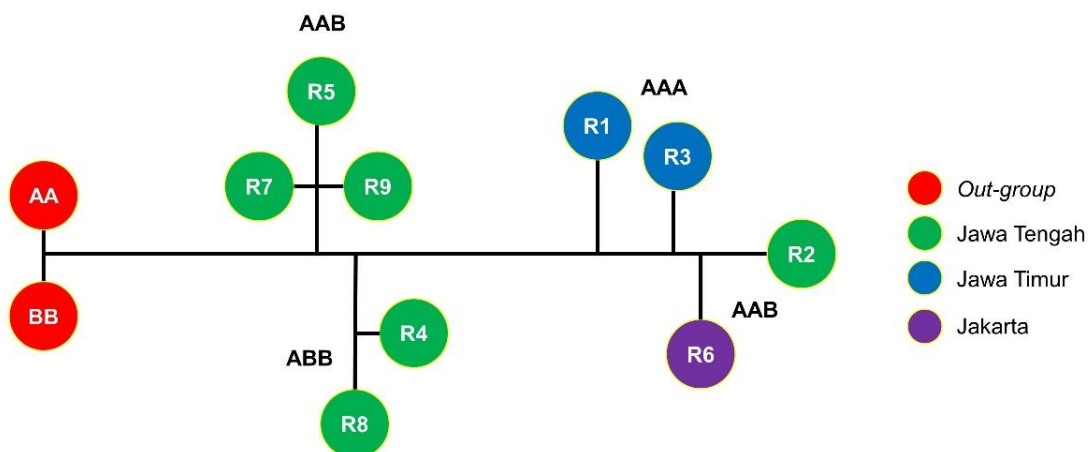
Nilai similaritas genetik berperan penting dalam penyusunan strategi konservasi terutama dalam manajemen koleksi *ex-situ* misalnya di kebun plasma nutfah dan kebun raya. Pisang yang memiliki nilai similaritas genetik yang tinggi, dalam praktiknya apabila ada keterbatasan sumber daya maka dapat dipilih salah satu untuk dikoleksi (Fiani, 2015; Gusmiati et al. 2018). Sementara itu, pisang yang memiliki nilai similaritas rendah khususnya dengan tetuanya, maka dapat direkomendasikan jika memungkinkan untuk dilakukan persilangan dalam rangka mendapatkan keturunan yang bervariasi (Arruum et al., 2021). Namun, penelitian lanjutan terkait fenologi perlu dilakukan.

### Keragaman dan Jaringan Haplotipe

Haplotipe adalah sekelompok alel dalam suatu organisme yang diwariskan dari induk kepada keturunannya. Analisis haplotipe berdasarkan sekuen ITS pada 9 kultivar Pisang Raja dari Jawa khususnya wilayah Jawa Timur, Jawa Tengah dan Jakarta dan 2 pisang liar sebagai *out-group* menunjukkan keragaman haplotipe yang tinggi ( $Hd=1,00$ ), dimana masing-masing pisang membentuk haplotipe sendiri

dengan jaringan yang terkoneksi (Gambar 2). Jaringan haplotipe digunakan untuk memvisualisasikan hubungan genetik silsilah pada tingkat intraspesifik, menilai dan membuat kesimpulan tentang aliran gen, biogeografi, seleksi dan sejarah evolusi hibridisasi dalam suatu rentang waktu (Paradis, 2018, Hapsari et al., 2020; Leitwein et al., 2020).

Berdasarkan jaringan haplotipe yang terbentuk dalam penelitian ini, filogeografi aliran gen ITS pada Pisang Raja diketahui berasal dari wilayah Jawa Tengah kemudian menuju Jawa Timur dan Jakarta (Gambar 1). Hal ini diduga karena tingginya pemanfaatan yang diikuti oleh penanaman Pisang Raja oleh masyarakat Jawa Tengah untuk kebutuhan sehari-hari khususnya untuk ritual keagamaan dan acara seremonial keraton pada masa lampau. Pisang Raja baik tanaman dan buahnya sangat dihargai dan memiliki makna filosofi yang mendalam bagi masyarakat Jawa kuno, sehingga menjadi komponen wajib dalam acara ritual dan seremonial. Pisang Raja melambangkan harapan besar laksana para raja yang berbahagia, sukses, makmur, menjadi orang benar dan bijaksana (Hapsari et al., 2017). Oleh karena tingginya permintaan tersebut, maka diduga budidaya dan domestikasi Pisang Raja dari Jawa Tengah kemudian menyebar ke wilayah terdekatnya yaitu ke Jawa Timur dan Jakarta.



Gambar 2. Jaringan Haplotipe Pisang Raja di Jawa berdasarkan sekue ITS. Ket: R1=Raja Delima; R2=Raja Sereh; R3=Raja Kisto; R4=Raja Bali; R5=Raja Gareng; R6=Raja Seribu; R7=Raja Kutuk; R8=Raja Brentel; R9=Raja Lini; AA=*M. acuminata*; BB=*M. balbisiana*

Tingginya variasi genetik dan haplotipe pada pisang kultivar, termasuk Pisang Raja diduga karena adanya mutasi serta adaptasi tanaman pisang terhadap

iklim dan lingkungan. Selanjutnya, dipertahankan dengan perbanyakkan vegetatif (klonal), yang kemudian dielaborasi oleh seleksi alam dan buatan, juga penyebaran oleh manusia, dll. (Hapsari et al., 2018; Hariyanto et al., 2021). Domestikasi pisang merupakan proses yang relatif berkesinambungan, sangat kompleks, terjadi selama ribuan tahun dan melibatkan banyak tahap, dan sering terpisah dalam waktu dan tempat (De Langhe et al., 2009; Perrier et al., 2011). Peranan manusia dalam evolusi pisang menambah tekanan pada rekombinasi genom, perubahan dan pemisahan genetik dari spesies baru yang terbentuk. Namun, peristiwa spesiasi pada Pisang Raja ini diduga masih belum sempurna dan masih berlangsung sehingga belum dapat dipisahkan secara jelas dan belum dapat diidentifikasi ke level spesies baru.

## KESIMPULAN

Variasi genetik Pisang Raja di Jawa berdasarkan sekuen ITS tergolong sangat tinggi. Sekuen ITS pada pisang Raja tinggi GC sehingga menjadi hotspot terjadinya mutasi. Filogenetik Pisang Raja terbagi menjadi 2 klad yaitu klad I (AAA dan AAB) dan klad II (AAA dan ABB), dengan nilai similaritas 56,82–89,42%. Nilai keragaman haplotipe juga sangat tinggi, dengan jaringan haplotipe yang menggambarkan proses evolusi filogeografi Pisang Raja berasal dari wilayah Jawa Tengah kemudian menuju Jawa Timur dan Jakarta, yang diduga berkaitan dengan tingginya pemanfaatan dan penanaman Pisang Raja pada masa lampau yang berpengaruh pada proses domestikasi. Pengetahuan tentang variasi genetik Pisang Raja ini akan sangat dibutuhkan dalam perakitan bibit Pisang Raja unggul yang tahan terhadap penyakit serta diharapkan dapat meningkatkan pemahaman masyarakat akan pentingnya keanekaragaman genetik Pisang Raja dan dampaknya pada keberlanjutan pertanian Pisang Raja di Indonesia. Selain itu, hasil lain dari penelitian ini juga menunjukkan bahwa sekuen ITS cocok digunakan untuk studi variasi genetik dan filogeografi pada Pisang Raja. Namun sekuen ITS belum dapat membedakan dengan jelas antara genom AAA, AAB dan ABB, karena proses evolusi yang masih berjalan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahrens, D., Fujisawa, T., Krammer, H. J., Eberle, J., Fabrizi, S. & Vogler, A. P. (2016). Rarity and incomplete sampling in DNA-Based species delimitation. *Systematic Biology*, 65(3), 478–494. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syw002>
- Almutairi, Z. (2021). Molecular identification and phylogenetics of local pearl millet cultivars using Internal Transcribed Spacers of nuclear ribosomal DNA.

- Plant Genetic Resources*, 19(4), 339–346.  
<https://doi.org/10.1017/S1479262121000393>
- Arruum, Z.S. & Waluyo, B. (2021). Keberhasilan dan kompatibilitas penyerbukan sendiri dan silang pada hibridisasi interspesifik ciplukan (*Physalis* spp). *Jurnal Agro*, 8(1), 84–99. <https://doi.org/10.15575/9368>
- Baurens, F. C., Martin, G., Hervouet, C., Salmon, F., Yohomé, D., Ricci, S., Rouard, M., Habas, R., Lemainque, A., Yahiaoui, N. & D'Hont, A. (2019). Recombination and large structural variations shape interspecific edible bananas genomes. *Molecular Biology and Evolution*, 36(1), 97–111. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy199>
- BPS. Badan Pusat Statistik. (2023). *Statistik Hortikultura 2022*. Badan Pusat Statistik Republik Indonesia. <https://www.bps.go.id/publication/2023/06/09/03847c5743d8b6cd3f08ab76/statistik-hortikultura-2022.html>
- De Langhe, E., Vrydaghs, L., de Maret, P., Perrier, X. & Denham, T. (2009). Why bananas matter: An introduction to the history of banana domestication. *Ethnobotany Research and Application*, 7, 165–177. <https://ethnobotanyjournal.org/index.php/era/article/view/356/229>
- Drummond, A.J., Suchard, M.A., Xie, D., Rambaut, A (2012). Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution*. 29(8), 1969–73. doi: 10.1093/molbev/mss075
- Ekayanti, N.L.F., Megawati, F. & Dewi, N.L.K.A.A. (2023). Artikel review: pemanfaatan tanaman pisang (*Musa paradisiaca* L.) sebagai sediaan kosmetik. *USADHA: Jurnal Integrasi Obat Tradisional*, 2(2), 1–6. <https://doi.org/10.36733/usadha.v2i2.6217>
- Fiani, A. (2015). Review: Strategi konservasi sumber daya genetik aren (*Arenga pinnata*). *Prosiding Seminar Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, 1(3), 687–690. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m010350>
- Forster, M. (2020). Network 10.2.0.0. user guide. Fluxus Technology Ltd. All rights reserved.
- Gusmiati, L.H., Hapsari, L. & Wahyudi, D. (2018). Morphological diversity and clustering of 10 cooking bananas (*Musa* cv. Group ABB) collection of Purwodadi Botanic Garden - LIPI. *Floribunda*, 5(8), 299–314. <https://www.ptti.or.id/journal/index.php/Floribunda/article/view/220>
- Hapsari, L., Lestari, D.A. & Probojati, R.T. (2020). Haplotype network analysis of wild banana relatives *Ensete glaucum*, *Musa acuminata* and *Musa balbisiana* based on cpDNA *rbcL* sequences in ex-situ collection. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 80(3), 301–307. <https://doi.org/10.31742/IJGPB.80.3.9>
- Hapsari, L., Azrianingsih, R. & Arumingtyas, E.L. (2018). Genetic variability and relationship of banana cultivars (*Musa* L.) from East Java, Indonesia based on the *Internal Transcribed Spacer* region nrDNA sequences. *Journal of Tropical Biology and Conservation* 15:101–120. <https://doi.org/10.51200/jtbc.v15i0.1482>
- Hapsari, L., Kennedy, J., Lestari, D.A., Masrum, A. & Lestarini, W. (2017). Ethnobotanical survey of bananas (*Musaceae*) in six districts of East Java, Indonesia. *Biodiversitas*, 18(1), 160–174. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d180122>
- Hapsari, L. (2015). Keragaman dan kekerabatan genetik pisang (*Musa* L.) di Jawa Timur berdasarkan sekuen daerah *Internal Transcribed Spacer*. Tesis.

- Program Magister Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.  
<http://repository.ub.ac.id/id/eprint/157810/>
- Hariyanto, S., Ainiyah, R.K., Utami, E.S.W. & Hapsari, L. (2021). Genetic diversity and network within dessert bananas (*Musa acuminata* cv. AA and AAA) inferred by newly designed matK marker. *International Journal of Conservation Science*, 12, 585–598. [https://ijcs.ro/public/IJCS-21-44\\_Hariyanto.pdf](https://ijcs.ro/public/IJCS-21-44_Hariyanto.pdf)
- Hiariej, A., Arumingtyas, E.L., Widoretno, W. & Azrianingsih, R. (2015). Genetic kinship of tongkat langit banana (*Musa troglodytarum* L.) from Moluccas based on rbcL gene sequence. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 75(4), 526–528. <https://doi.org/10.5958/0975-6906.2015.00085.1>
- Hřibová, E., Čížková, J., Christelová, P., Taudin, S., de Langhe, E. & Doležel, J. (2011) The ITS1– 5.8S–ITS2 sequence region in the Musaceae: structure, diversity and use in molecular phylogeny. *PLoS ONE*, 6(3): e17863. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017863>
- Janssens, S. B., Vandeloek, F., De Langhe, E., Verstraete, B., Smets, E., Vandenhouwe, I. & Swennen, R. (2016). Evolutionary dynamics and biogeography of Musaceae reveal a correlation between the diversification of the banana family and the geological and climatic history of Southeast Asia. *The New Phytologist*, 210(4), 1453–1465. <https://doi.org/10.1111/nph.13856>
- Kiktev, D.A., Sheng, Z., Lobachev, K.S. & Petes, T.D. 2018. GC content elevates mutation and recombination rates in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *PNAS*, 115(30), E7109–E7118. [www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1807334115](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1807334115)
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35, 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev%2Fmsy096>
- Kurnianto, B.K., Lestari, M.D. & Dewi, E. (2023). Metode pemasaran Pisang Raja (*Musa paradisiaca* L) menjadi olahan nuget melalui media online. *KOMITMEN: Jurnal Ilmiah Manajemen*, 4(1), 30–36. <https://doi.org/10.15575/jim.v4i1.23512.g8341>
- Lamare, A., Arman, M.O. & Satyawada, R.R. (2017). Phylogenetic implications of the internal transcribed spacers of nrDNA and chloroplast DNA fragments of *Musa* in deciphering the ambiguities related to the sectional classification of the genus. *Genetic Resources Crop and Evolution*, 64, 1241–1251. <https://doi.org/10.1007/s10722-016-0433-9>
- Larkin, M.A., Blackshields, G., Brown, N.P., Chenna, R., McGettigan, P.A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I.M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J.D., Gibson, T.J. & Higgins, D.G. (2007). Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23, 2947–2948. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm404>
- Leitwein, M., Duranton, M., Rougemont, Q., Gagnaire, P. A. & Bernatchez, L. (2020). Using haplotype information for conservation genomics. *Trends in Ecology and Evolution*, 35(3), 245–258. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.10.012>
- Li, L.F., Wang, H.Y., Zhang, C., Wang, X.F., Shi, F.X., Chen, W.N. & Ge, X.J. (2013). Origins and domestication of cultivated banana inferred from chloroplast

- and nuclear genes. *PLoS ONE*, 8(11), e80502. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080502>
- Liu, A.Z., Kress, W.J. & Li, D.Z. (2010). Phylogenetic analyses of the banana family (Musaceae) based on nuclear ribosomal (ITS) and chloroplast (trnL-F) evidence. *Taxon*, 59 (1), 20–28. <https://doi.org/10.1002/tax.591003>
- Martin, G., Carreel, F., Coriton, O., Hervouet, C., Cardi, C., Derouault, P., Roques, D., Salmon, F., Rouard, M., Sardos, J., Labadie, K., Baurens, F. C. & D'Hont, A. (2017). Evolution of the banana genome (*Musa acuminata*) is impacted by large chromosomal translocations. *Molecular biology and evolution*, 34(9), 2140–2152. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx164>
- Paradis E. 2018. Analysis of haplotype networks: The randomized minimum spanning tree method. *Methods in Ecology and Evolution*, 9, 1308–1317. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12969>
- Perrier, X., De Langhe, E., Donohue, M., Lentfer, C., Vrydaghs, L., Bakry, F., Carreel, F., Hippolyte, I., Horry, J.p., Jenny, C. Lebot, V., Risterucci, A.M., Tomekpe, K., Doutrelepon, H., Ball, T., Manwaring, J., Maret, P.D. & Denham, T. (2011). Multidisciplinary perspectives on banana (*Musa* spp.) domestication. *PNAS*, 108(28), 2011, 11311–11318. <https://doi.org/10.1073/pnas.1102001108>
- Probojati, R.T., Listyorini, D., Sulisetijono, S. & Wahyudi, D. (2021). Phylogeny and estimated genetic divergence times of banana cultivars (*Musa* spp.) from Java Island by maturase K (matK) genes. *Bulletin of the National Research Centre*, 45(33). <https://doi.org/10.1186/s42269-021-00492-3>
- Probojati, R.T., Wahyudi, D. & Hapsari, L. 2019. Clustering analysis and genome inference of Pisang Raja local cultivars (*Musa* spp.) from Java Island by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Marker. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 4(2), 42–53. <https://doi.org/10.22146/jtbb.44047>
- Safhi, F.A., Alshamrani, S.M., Alshaya, D.S., Hussein, M.A.A. & Abd El-Moneim, D. (2023). Genetic diversity analysis of banana cultivars (*Musa* sp.) in Saudi Arabia Based on AFLP Marker. *Current Issues in Molecular Biology*, 45, 1810–1819. <https://doi.org/10.3390/cimb45030116>
- Sharma, S.K., Dkhar, J., Kumaria, S., Tandon, P. & Rao, S.R. (2012). Assessment of phylogenetic inter-relationships in the genus *Cymbidium* (Orchidaceae) based on internal transcribed spacer region of rDNA. *Gene*, 495(1), 10–15. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2011.12.052>
- Simmonds, N.W. & K. Shepherd. (1955). The taxonomy and origins of the cultivated banana. *Journal of Linnean Society (Botany)*, 55, 302–312. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1955.tb00015.x>
- Smith, M.R. (2019). Bayesian and parsimony approaches reconstruct informative trees from simulated morphological datasets. *Biology Letters*, 15, 20180632. <http://dx.doi.org/10.1098/rsbl.2018.0632>
- Sultana, S., Lim, Y.P., Bang, J.W. & Choi, H.W. (2011). Internal transcribed spacer (ITS) and genetic variations in *Lilium* native to Korea. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 52, 502–510. <https://doi.org/10.1007/s13580-011-0050-7>
- Valmayor, R.V., Jamaluddin, S.H., Silayoi, B., Kusumo, S., Danh, L.D., Pascua, O.C. & R.R.C. Espino. (2000). *Banana cultivar names and synonyms in Southeast Asia*. International Network for the Improvement of Banana and Plantain – Asia and the Pacific Office. Los Banos, Laguna, Philippines. <https://hdl.handle.net/10568/105378>

Wahyudi, D., Nursita, D.C. & Hapsari L. (2022). Genetic diversity among and within genome groups of banana cultivars based on ISSR Markers. *International Journal of Agriculture and Biology*, 28, 366–374. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.1990>