

LAPORAN TEKNIS 2017

76/AIR 3/OT 02 02/02/2018

DATA RISET GALUR MUTAN PISANG

Ishak , Jumjunidang, Yulidar dan Anisiyah



PUSAT APLIKASI ISOTOP DAN RADIASI
BADAN TENAGA NUKLIR NASIONAL

2018

DATA RISET GALUR MUTAN PISANG

Ishak , Jumjunidang, Yulidar dan Anisiyah

Mengetahui/Menyetujui

Kepala Bidang Pertanian



Dr. Hawan Sugoro, M.Si
NIP. 19761018 200012 1 001

Kepala Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi



Totti Tjiptosumirat
NIP. 19630830 098803 1 002

Data Riset Galur Mutan Pisang
Ishak , Jumjunidang, Yulidar dan Anisiyah

Abstrak

Hasil penelitian pada tahun 2017 sudah menghasilkan data riset galur mutan pisang merupakan kelanjutan dari penelitian tahun 2016. Data riset hasil penelitian meliputi perbanyakan enam galur mutan pisang yang terpilih dilakukan dengan kultur jaringan di dua laboratorium yaitu laboratorium kultur jaringan Pemuliaan tanaman pada Pusat Aplikasi Isotop dan Laboratorium Biotrop di Bogor. Disamping itu dilakukan juga analisis Molekular galur mutan Br.09, Br.10, Br.11, Br.13, Br.23, dan Br.25. Identifikasi dan karakterisasi molekular dilakukan dengan teknik PCR dengan menggunakan primer Tropical Ras 4 (TR4). Semua primer yang digunakan terkait dengan ketahanan penyakit layu Fusarium pada tanaman pisang. Hasil Uji penyakit ketahanan terhadap penyakit layu Fusarium menunjukkan bahwa galur mutan pisang toleran terhadap Penyakit layu Fusarium RAS 4. Hasil analisis dan identifikasi molekular DNA genom menunjukkan bahwa diperoleh spesifik *fragment* terutama pada galur mutan Br.23 dan Br.13. Hasil uji kebenaran data agronomis yang dilakukan oleh Pusat Kajian Hortikultura Tropika IPB dinyatakan lolos, untuk dilanjutkan sebagai calon Varietas baru.

Kata kunci: pemuliaan mutasi, toleran Fusarium, galur mutan Br.23

Pendahuluan

Latar Belakang

Pisang merupakan salah satu komoditi perdagangan dunia yang mempunyai nilai lebih dari 44 milyar dolar, sedangkan perdagangan secara Internasional sekitar 9 milyar dolar (Ploetz, 2015). Menurut FAO (2014) bahwa pengekspor utama buah pisang adalah negara-negara Amerika Latin plus Karibia, kemudian menyusul beberapa negara Asia dan Afrika. Sedangkan negara konsumen terbesar adalah Amerika dan *European Countries* (EC), masing mencapai 27% dari total perdagangan pisang dunia. Penyakit yang paling ditakuti oleh petani pisang adalah penyakit layu yang disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum cubense* (Foc).

Di Indonesia, Penyakit layu *Fusarium* pada tanaman pisang telah menghancurkan industri perkebunan pisang di Lampung lebih kurang 2000 ha (Nasir dan Jumjunidang, 2002 cit. Nasir dkk, 2003) terutama perkebunan pisang jenis Cavendish. Jamur *Fusarium* terdiri empat ras, dimana ras 1 menyerang tanaman pisang group AAA, ras 2 menyerang tanaman pisang AAB seperti pisang raja sereh, sedangkan ras 3 menyerang jenis tanaman pisang hias (*Heliconia*) *Fusarium* ras 1 dan 4 telah menyerang jenis tanaman pisang dengan konstitusi genom AAA seperti pisang ambon, pisang barangan serta pisang bamban dari Sumatera Barat. *Fusarium* ras 1 paling umum menyerang sejenis pisang ambon dan *Gros Michel*, sedangkan ras 4. menyerang sejenis Cavendish, pisang ambon dan pisang raja sereh (Ploetz and Pegg, 2000: Stover and Buddenhagen, 1986). Penyakit layu *Fusarium* pertama kali teridentifikasi pada tahun 1933 di Jamaica telah menyerang pisang *Gros Michel* (Ploetz, 2015). Pisang *Gros Michel* adalah sejenis pisang ambon dengan konstitusi genom AAA (triploid) dan *parthenocarp*.

Pisang ambon dan barangan disebut juga dengan *edible banana* yaitu buah pisang dapat dimakan langsung tanpa dimasak terlebih dahulu. Pisang barangan mempunyai potensi ekonomi yang cukup tinggi oleh karena bisa disimpan lebih lama bila dibandingkan dengan pisang ambon karena mempunyai testur kulit yang agak tebal. Hal ini sangat menguntungkan bagi konsumen dan untuk tujuan ekspor yang dapat mendatangkan devisa bagi Negara. Tetapi sangat disayangkan bahwa jenis pisang barangan sangat peka terhadap penyakit layu *Fusarium*.

Perbaikan genetika tanaman pisang sangat sulit dilakukan dengan konvensional *breeding* oleh karena tanaman pisang pada umumnya *parthenocarpic*, triploid dan tidak mempunyai biji. Salah satu alternatif perbaikan genetika tanaman pisang terhadap ketahanan penyakit layu Fusarium adalah melalui mutasi induksi atau *genetic engineering*. Mutasi induksi tanaman pisang barangan sudah dilakukan untuk ketahanan terhadap penyakit layu Fusarium (Ishak dan Dwimahyani, 2005) dan pisang ambon kuning (Ishak dkk, 1996). Pemuliaan mutasi untuk memperoleh galur mutan toleran banana Mosaic Virus dilaporkan oleh El-Sayed *et al.*, 2011. Mutasi induksi pada tanaman yang diperbanyak dengan vegetatif sangat efisien sekali untuk memperoleh keragaman genetik seperti pada beberapa tanaman bunga krisan dan gladiol.

Identifikasi dan karakterisasi molekular galur mutan pisang ambon dan pisang barangan adalah untuk menentukan lokus gen yang termutasi serta melihat polymorphic DNA yang muncul akibat mutasi. Oleh karena mutasi dapat merubah struktur genetik dari suatu gen, melalui perubahan konstitusi basa DNA yang menyusun suatu gen. Kemungkinan mekanisme terjadinya perubahan basa DNA akibat iradiasi gamma pada sel somatik yaitu dari purin ke bentuk pirimidin atau sebaliknya. Kemungkinan lain perubahan dapat juga dari bentuk suatu pirimidin ke bentuk pirimidin lainnya protein akan mempengaruhi biochemical pathway didalam sel. Pada saat ini sudah diperoleh galur mutan yang toleran terhadap Fusarium Ras 4.

Bahan dan Metode

Uji Observasi untuk Sifat Agronomis

Sucker dari galur mutan pisang ambon Br.09; Br.10; Br.11; Br.13; Br.23; dan Br.25 diambil untuk diperbanyak secara kultur *in vitro* karena selama sepuluh tahun di lapangan menunjukkan penampilan fenotip yang bagus dan menghasilkan jumlah sisir lebih dari 8 sisir per tandan. Galur mutan pisang Br.11 dan Br.23 akan diajukan sebagai varietas baru hasil mutasi dengan menggunakan iradiasi gamma. Uji observasi dilakukan sesuai dengan buku petunjuk dari Direktorat Perbenihan Hortikultura yang diterbitkan pada tahun 2016. Sifat yang diamati untuk uji observasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Parameter Pengamatan Sifat Agronomis Galur Mutan Pisang Ambon Br.23

No.	Parameter	Kriteria
1	Tipe buah	Lihat gambar
2	Bentuk buah	Lihat gambar
3	Panjang buah	(cm)
4	Diameter buah	(cm)
5	Berat buah	(g)
6	Dompolan/kerapatan	Jumlah buah/sisir
7	Tangkai buah/tandan	(cm)
8	Warna kulit buah	Lihat gambar
9	Kulit buah	Tebal/tipis
10	Tekstur kulit buah	Tipis/agak tebal/tebal
11	Kekerasan buah	
12	Warna daging buah masak	Lihat gambar
13	Rasa daging buah	Manis/masam/manis kemasaman
14	Tekstu daging buah	Glutein/agak kering
15	Kandungan air buah	(%)
16	Aroma	Wangi/tidak wangi
17	Persentase buah yang bisa dimakan	(%)
18	Ketahanan buah dalam pengangkutan	(hari)
19	Ketahanan buah dalam penyimpanan	(hari)

Pemeliharaan Plasma Nutfah Galur Mutan Pisang di Lapang

Dua puluh enam galur mutan tanaman pisang ambon kuning di tanam di Kebun Percobaan Tanaman Pasar Jumat, Jakarta Selatan, koleksi plasma nutfah galur mutan tanaman pisang ini dipelihara secara berkesinambungan agar ketersediaan plasma nutfah untuk penelitian dan perbanyakan tanaman tidak terganggu. Pemupukan dan perbanyakan dari *sucker* dilakukan secara berkelanjutan.

Perbanyakan Tanaman

Perbanyakan tanaman dilakukan di dua Laboratorium Kultur Jaringan yaitu Laboratorium Kultur Jaringan Biotrop, Bogor dan Laboratorium Kultur Jaringan Pemuliaan Tanaman Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, Jakarta.

Enam galur mutan pisang Br.09, Br.10, Br.11, Br.13, Br.17, Br.23, Br.25 dan dua tanaman kontrol yaitu tanaman peka dan tanaman toleran dipilih untuk perbanyakan dengan teknik kultur jaringan. Media perbanyakan tanaman menggunakan media

Murashige and Skoog's (MS) (1962) terdiri dari: unsur makro dan unsur mikro menurut MS (Murashige and Skoog, 1962) dengan modifikasi vitamin yaitu: pyridoxin HCl 0.5 mg/L, thiamin HCl 0.5 mg/L, hormon BAP 5 mg/L dan IAA 0.5 mg/L.

Shoot-tip tanaman sebagai sumber eksplan diinduksi dari bongkol tanaman pisang yang diambil dari kebun percobaan. Bongkol tanaman yang mempunyai titik tumbuh dibersihkan dari tanah yang melekat kemudian dicuci dengan air kran. Bongkol kemudian ditanam dalam ember untuk pertumbuhan tunas-tunas baru. Setelah tanaman berumur 1 bulan kemudian diambil sebagai sumber eksplan. Bongkol tanaman berukuran sekitar 3 cm disterilkan menggunakan Natrium hypochlorite dengan konsentrasi 0.1% dalam aquades steril untuk selama 20 menit. Setelah itu bongkol tersebut dibilas dengan aquades steril sebanyak tiga kali dan dikultur dalam media MS seperti di atas untuk menginduksi shoot tip. Setelah dua bulan terlihat tunas mulai tumbuh disekitarbongkol tanaman tersebut.

Analisis Molekular Galur Mutan dan Tanaman Kontrol

Polymerase Chain Reaction (PCR) dilakukan dengan menggunakan berbagai jenis primer. Sekitar 200 mg daun setiap galur mutan yang terpilih dan dua tanaman kontrol di isolasi DNA menggunakan metode CTAB yang dikembangkan oleh Doyle and Doyle cit. Mahdi, et al (1993). Kedalam lumping porselin ditambahkan sekitar 1 mL larutan buffer CTAB kemudian daun digerus sampai halus setelah itu dipindah kedalam *centrifuge tube* berukuran 10 mL. Ke dalam tabung ditambahkan bufer CTAB sebanyak 4 mL kemudian digoyang secara perlahan-lahan sehingga tercampur sempurna antara buffer dengan sampel, setelah itu ditambah *equal volume* larutan campuran Chloroform dan Isoamylalcohol dengan perbandingan (24:1) ke dalam tabung dan goyang secara perlahan-lahan, setelah tercampur sempurna kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm dengan suhu 15°C selama 10 menit. Supernatan diambil dan dipindah ke dalam tabung baru, setelah itu ditambahkan 2 volume isopropanol dan digoyang sampai tercampur sempurna, kemudian dinginkan selama 2 jam di dalam freezer. Larutan disentrifugasi selama 10 menit, setelah itu supernatan dibuang dan pelet dibilas dengan alkohol absolut kemudian dikeringkan. Pelet DNA dilarutkan dengan "PCR water" sebanyak 1 mL dan dipindahkan ke eppendorf tube untuk digunakan selanjutnya.

Polymerase Chain Reaction (PCR)

Reaksi PCR dilakukan dalam microtube berukuran 200 μ L, Kedalam setiap tabung PCR dimasukkan: Taq DNA mix. 25 μ L, template DNA 20 μ L, dan primer 0.5 μ m dengan total volume 50 μ L. Suhu pemanasan dilakukan 94°C selama 4 menit. Kemudian masuk siklus reaksi PCR dengan suhu denaturasi 94°C selama 40 detik, annealing pada suhu 45°C selama 1 menit, suhu ekstensi 72°C selama 1 menit. Jumlah siklus reaksi adalah 45 siklus kemudian pendinginan pada suhu 27°C.

Agarose gel electrophoresis

Hasil reaksi PCR dilakukan elektroforesis menggunakan agarose dengan konsentrasi 1.5% dalam bufer Tris Asetat EDTA (TAE).

Hasil Penelitian

Perbanyakan galur mutan pisang dilakukan di Laboratorium Kultur jaringan Biologi tropika (Biotrop) dan Laboratorium kultur jaringan pemuliaan tanaman pisang. Plantlet galur mutan Br.13, Br.17 dan Br.23 sudah mencapai 1500 plantlet tanaman pisang. Saat ini sedang diperbanyak juga tiga galur mutan yaitu: Br.09, Br.10 dan Br.25. Tanaman yang ada didalam botol pada tahap perbanyakan. *Shoot-tip* yang sudah berkembang kemudian dipisahkan menjadi individual sehingga berkembang menjadi plantlet utuh. Sedangkan untuk perakaran plantlet akan dipindahkan ke media MS yang mengandung Indole butiric acid (IBA) dengan konsentrasi 5 mg/L. Selain perbanyakan galur mutan pisang ambon kuning, juga dilakukan membuat galur mutan baru dari pisang barangan dan Cavendish (grain nine) dengan dosis iradiasi berkisar 10-30 krad. Kultur *in vitro* pisang barangan dan Cavendish baru mencapai pada generasi M1V2.

Analisis molekular galur mutan pisang dilakukan dengan menggunakan berbagai jenis primer yang terkait dengan ketahan penyakit layu Fusarium. Primer PAL/PAR, PCL/PDR, dan PCL/PCR, adalah berasal dari publikasi Chen *et al.*(2013). Primer ini mengamplifikasi genom Fusarium yang berhubungan dengan ras 4. Penggunaan primer ini pada genom tanaman pisang menghasilkan DNA fragmen berkisar antara 150 -700 bp. Primer PCL/PDR pada galur mutan Br.13 menghasil polymorphic fragment 400 dan

700 bp dan DNA fragmen ini tidak ditemukan pada galur mutan lain. Sedangkan primer ScauS0901 diperoleh spesifik DNA fragmen 500 bp untuk Br.13.

Pengamatan sifat agronomis

Pengamatan sifat agronomis galur mutan Br.23 yang berhubungan dengan produksi seperti: berat buah per tandan, berat buah per sisir dan berat individual buah ditampilkan pada Tabel 3. Rata-rata berat buah per tandan berdasarkan lima kali pengamatan diperoleh sekitar 17.0 kg dan berat per sisir 1,9 kg. Berdasarkan angka tersebut maka dapat di hitung bahwa produksi galur mutan pisang Br.23 sekitar 17 ton /ha dalam satu kali panen, sedangkan kalau bibit berasal dari kultur jaringan diperkirakan dalam satu tahun dapat dilakukan dua kali panen dengan asumsi bahwa harga pisang ditempat berkisar Rp. 6000, maka nilai ekonomi berkisar $17000 \times 1,5 \times \text{Rp } 6000 = \text{Rp. } 153.000.000$ pada tahun ke dua. Galur mutan tanaman pisang yang berasal dari kultur jaringan ini sudah berbuah sekitar enam bulan setelah di tanam di lapang, kemudian empat bulan berikutnya yaitu setelah buah pertama diikuti oleh buah kedua dari anakan berikutnya. Setiap rumpun dipertahankan jumlah anakan paling banyak 3-4 anakan, dengan pemupukan dengan pupuk NPK secara teratur yaitu setiap empat bulan dengan takaran 50 g per rumpun. Pisang ambon mempunyai anakan yang banyak, oleh karena itu harus dikontrol yaitu dengan mematikan tunas-tunas yang muncul agar tidak berkembang menjadi "sucker" atau anakan baru.

Tabel 2. Pengamatan Morfologi dan Hasil Pengamatan Kualitatif Buah Pisang Galur Mutan Br.23

No.	Parameter	Keterangan
1	Tipe buah	Buah pisang dapat dimakan langsung “edible banana”
2	Bentuk buah	Agak melengkung
3	Panjang buah	Rata-rata
4	Diameter buah	3,7 cm
5	Berat buah	Rata-rata 117,8 gram
6	Dompolan/kerapatan	Rapat
7	Tangkai buah/tandan	
8	Warna kulit buah	Kuning sewaktu matang
9	Kulit buah	Agak tebal
10	Tekstur Kulit buah	
11	Kekerasan buah	Sedang
12	Warna daging buah masak	Kream muda
13	Rasa daging buah	Manis
14	Tekstur daging buah	
15	Kandungan air buah	73,0%
16	Aroma	Wangi
17	Persentase bagian yang dapat dimakan	68,0%
18	Ketahanan buah dalam pengangkutan	Agak tahan
19	Ketahanan buah dalam penyimpanan	4 hari pada suhu 25°C

Tabel 3. Berat Buah per (Tandan, Sisir dan Buah) dari Galur Mutan Br.23 dengan 15 Pengamatan sebagai Ulangan.

No.	Galur mutan	Jumlah sisir/tandan	Jumlah buah/sisir	Berat buah/tandan (kg)	Berat buah/sisir (kg)	Berat buah/satuan (g)
1	Br.23.01	8	16,1	13,6	1,7	116,5
2	Br.23.02	9	15,5	16,2	1,8	117,8
3	Br.23.03	10	15,8	23,0	2,3	110,5
4	Br.23.04	9	15,8	16,2	1,8	119,6
5	Br.23.05	9	17,2	15,3	1,7	113,7
6	Br.23.06	10	16,5	18,0	1,8	120,4
7	Br.23.07	10	16,3	22,0	2,2	119,0
8	Br.23.08	9	17,8	14,4	1,6	125,6
9	Br.23.09	10	15,5	19,0	1,9	117,5
10	Br.23.10	9	16,7	14,4	1,6	112,4
11	Br.23.11	9	15,3	20,7	2,3	113,2
12	Br.23.12	9	15,5	16,2	1,8	114,0
13	Br.23.13	9	18,3	19,8	2,2	119,5
14	Br.23.14	10	16,2	23,0	2,3	110,7
15	Br.23.15	9,3	17,0	13,5	1,5	141,4
	Rerata	9,3	16,4	17,7	1,9	117,8

Tabel 4. Pengamatan Jumlah Buah, Sisir/Tandan, Berat Buah dan Lama Umur Berbuah.

Galur/ulangan	Persentase buah yang dapat dimakan	lama berjantung sampai panen (hari)	Persentase kandungan air buah pisang	Diameter buah (cm)	Panjang buah (cm)	Panjang tangkai buah (cm)	Panjang tangkai buah/tandan (cm)
Br.23		107		3,8	19,5	2,5	78
Br.23		100		3,7	16,0	2,7	96
Br.23		107		3,8	17,5	2,6	85
Br.23		105		3,6	20,3	2,6	78
Br.23		107		3,7	19,4	2,5	77
Br.23		100		3,9	19,2	2,1	90
Br.23		110		3,7	17,5	2,1	89
Br.23		110		3,7	17,5	2,0	78
Br.23		105		3,7	18,0	2,0	82
Br.23		110		3,7	17,1	2,0	76
Br.23		102		3,7	18,1	2,0	75
Br.23		105		3,7	17,4	2,0	92
Br.23		102		3,7	16,5	2,0	80
Br.23		102		3,8	16,5	1,9	84
Br.23		105		3,4	16,0	1,9	
Rerata		105		3,7 cm	17,8 cm	2,19 cm	82,9 cm

Tabel 5. Data Sifat Agronomis Galur Mutan Pisang Br.23

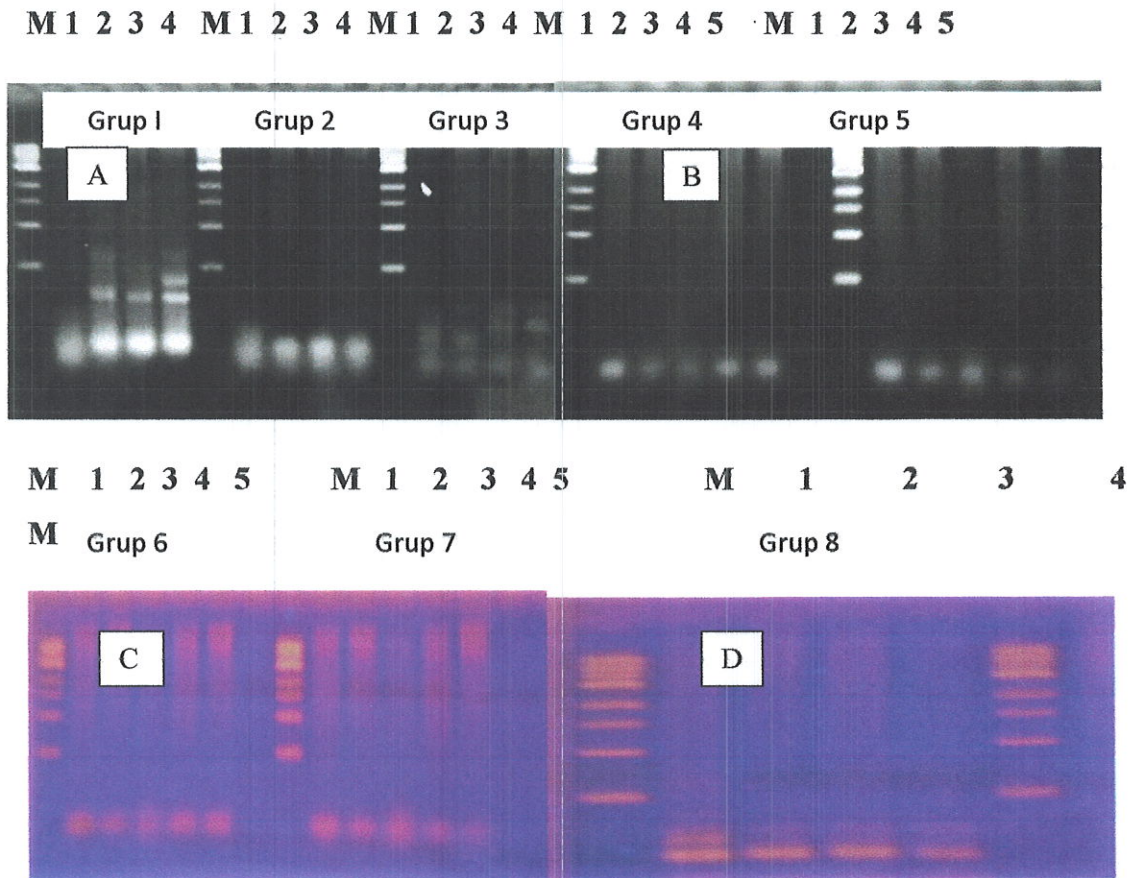
No.	Galur Mutan/Ulangan	Tinggi tanaman (cm)	lingkaran batang (cm)	Ukuran daun (cm)		Panjang tangkai daun (cm)
				P	L	
1	Br.23-01	210	50	207	86	38
2	Br.23-02	193	46	192	80	26
3	Br.23-03	230	49	200	79	28
4	Br.23-04	206	47	192	76	26
5	Br.23-05	215	55	201	85	28
6	Br.23-06	210	46	191	80	27
7	Br.23-07	220	53	195	82	28
8	Br.23-08	210	50	202	84	30
9	Br.23-09	195	51	198	81	27
10	Br.23-10	220	47	205	84	29
11	Br.23-11	204	50	210	82	30
12	Br.23-12	210	49	203	83	28
13	Br.23-13	202	43	182	70	27
14	Br.23-14	200 cm	46	198	82	28
15	Br.23-15	182 cm	44	190	72	27
Rata-rata		206,5 cm	47,25 cm	197,7	79,8	8,7 cm

Catatan: P, Panjang; L, Lebar. Rata-rata lingkaran batang dirubah kebentuk diameter batang.

Analisis data molekular

Sekitar 15 DNA primer yang berhubungan dengan ketahanan penyakit layu Fusarium telah digunakan dalam penelitian ini. Grup 1, menggunakan DNA primer Tropical Race 4 (TR4), terlihat bahwa galur mutan Br.23 (lajur satu hanya muncul satu *band* dengan berat molekul sekitar 100 bp (base pair). Sedangkan tanaman kontrol toleran Fusarium terdapat empat fragmen DNA yaitu: 100 bp, 300 bp, 400 bp, dan 700 bp (lajur 4) dan dua fragmen DNA untuk tanaman sensitif dengan berat molekul 100 bp dan 300 bp (lajur 3) terdapat pada tanaman kontrol positif dan galur mutan Br.11. Berat molekul 100 dan 300 bp terdapat pada Br.11, kontrol peka, dan kontrol toleran Fusarium. Pada grup 3 terlihat pita DNA yang sama Br.23 dan Br.11, tetapi berbeda dengan BSF dan BRK (gambar A). Menurut Dita et al. (2010) bahwa primer foc TR4 menghasilkan pita DNA pada 463 bp pada tanaman toleran foc TR4, tetapi hasil PCR dengan pisang ambon menghasilkan pita 460 bp pada tanaman toleran foc dan galur mutan Br.11, dan

hanya menghasilkan satu pita pada Br.23 pada 100 bp. Grup 4, 5, 6, dan 7 tidak terlihat perbedaan pita DNA dan perlu dilakukan "DNA sequencing" untuk melihat lokus gen yang termutasi akibat iradiasi gamma.



Gambar 1. Hasil elektroforesis galur mutan pisang menggunakan DNA primer TR4, Scar 426, Scar 347 berturut untuk grup 1,2, dan 3 (A), sedangkan lajur 1-4 adalah Br.23, Br.11, BSF, dan BRK. (B) adalah menggunakan DNA primer NCBI.3 dan primer P4.

Daftar Pustaka

1. Asif, J.M, Chai, M., and Othman, R.Y., (2004) Study of resistance of *Musa acuminata* to *Fusariumoxysporum* using RAPD marker, *Biologia Plantarum*48:93
2. Asif,J.M., and Othman, R.Y. (2005)Characterization of *Fusarium* wilt-resistant and *Fusarium* susceptible somaclonal of banana cultivars Rastali (*Musa* AAB) by random amplified polymorphic DNA and retrotransposon markers, *Plant Molecular Biology Reporter* 23:241
3. Chen, Y.F., Chen, W., Huang, X., et al. (2013) *Fusarium* wilt resistant lines of Brazil banana (*Musa* spp., AAA) obtained by EMS-induced mutation in a microcross-section cultural system, *Plant Pathology* 62:112
4. HooksCRR., Wright, MG., Kabasawa, DS., Manandhar, R. And Almeida, RPP. (2008) Effect of banana bunchytop virus infection on Morphology and growth Characteristics of banana, *Annals of applied biology* 153:1-9
5. Hwang, S.C. and Ko, W.H. (2004) Cavendish banana cultivars resistant to *Fusarium* wilt acquired through somaclona variation in Taiwan, *Plant disease* 88:580
6. Jumjunidang, edison, Riska, dan Hermanto C. (2012) Penyakit layu *Fusarium* pada Tanaman Pisang di Provinsi NAD: sebaran dan identifikasi Isolat Berdasarkan Analisis Vegetativ Compatibility Group. *Hort.*22:164-171
7. Li, X-S., Bai, T., Li Y.F., Ruan, X., and Li, H.(2013) Proteomic analysisiof *Fusariumoxysporumf.sp. cubence* tropical race 4-inoculated to *Fusarium* wilts in banana root cells, *Proteome science* 11:41 (<http://www.proteomesci.com/content/11/1/41>)
8. Mahdi, J.M., Retno, A., and Ishak (2013) Determination of Phylogenetic and Molecular Characteristic of three Malaysian ginger (*Zingiber officinale* Roscoe), *Tropical Life Science Res.* 24:65
9. Murashige, T and Skoog, F. (1962) A revised medium for rapid growth and biassay with tobacco tissue culture, *Physiol. Plant*, 15:473
10. Ploetz, R.C. (2006) *Fusarium* wilt of banana is caused by several pathogens referred to as *Fusariumoxysporums.f.spcubence*, *Phytopathology* 96:653
11. Robinson, J.C., (1996) *Banana and Plantains*, Book: Cab International Wallingford, UK. pp:238