

LAPORAN TEKNIS 2018

507/AIR 3/OT 02 02/01/2019

DATA RISET GALUR MUTAN PISANG

Ishak dan Anisiyah



**PUSAT APLIKASI ISOTOP DAN RADIASI
BADAN TENAGA NUKLIR NASIONAL
2019**

LAPORAN TEKNIS 2018

507/AIR 3/OT 02 02/01/2019

DATA RISET GALUR MUTAN PISANG

Ishak dan Anisiyah

Mengetahui/Menyetujui

Kepala Bidang Pertanian



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

Kepala Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi



Totti Tjiptosumirat
NIP. 19630830 198803 1 002

Daftar isi

Lembar pengesahan	ii
1. Abstrak	1
2. Pendahuluan	2
3. Bahan dan Metode	4
4. Hasil Penelitian	7
5. Daftar Pustaka	14

Data Riset Galur Mutan Pisang

Pemulia : Ishak
Teknisi : Anisiyah

Abstrak

Hasil penelitian pada tahun 2018 sudah menghasilkan data riset galur mutan pisang. Data riset hasil penelitian meliputi Observasi karakter agronomis galur mutan Br23, analisis kandungan kimia buah pisang dan identifikasi molekuler galur mutan pisang Br23. Finalisasi data riset galur mutan Br23 untuk pengajuan varietas galur mutan harapan Br23. Pada bulan Oktober 2018 sudah diajukan pelepasan varietas baru pisang dengan nama PIRAMA 1, dan bulan Desember 2018 diberitahukan bahwa usulan pelepasan varietas pisang disetujui oleh tim pelepasan varietas tanaman hortikultura dengan nama sesuai dengan usulan yaitu PIRAMA 1.

Pendahuluan

Pemuliaan tanaman pisang sangat sulit dilakukan dengan dengan persilangan (generative) karena sebagian besar tanaman pisang adalah triploid dan Parthenocarp yaitu tidak menghasilkan biji (Robinson, 1996). Pada umumnya perbanyakan tanaman pisang dilakukan melalui perbanyakan vegetative yaitu melalui anakan(*sucker*) atau dengan kultur jaringan.

Kendala utama dalam perkebunan tanaman pisang secara luas adalah gangguan biotik yaitu penyakit yang disebabkan oleh jamur (*Fusarium oxysprum f.sp cubence* (FOC) (Robinson, 1996) dan bunchy top virus (). Menurut laporan Ploetz 2006 bahwa penyakit layu tanaman yang disebabkan oleh *Fusarium* telah menghancurkan perkebunan pisang di berbagai belahan dunia dan pertama kali penyakit ini menyerang perkebunan pisang di Panama yang telah menghancurkan ribuan hektar tanaman pisang sejenis yaitu kultivar pisang Gros Michel yaitu sejenis pisang ambon yang mempunyai konstitusi genom AAA mirip dengan barangan dan Cavendish.. Jenis *Fusarium* yang menyerang tanaman pisang tersebut adalah sejenis Ras 1 (Ploetz, 2006) ,termasuk Indonesia (xx). *Fusarium oxysporum cubence* disebut juga soil born disease karena jamur ini hidup pada tanah. Diketahui ada empat jenis ras *Fusarium* yang sudah diketahui menyerang tanaman pisang. Ras 4 terutama menyerang tanaman pisang *Cavendish* yang mempunyai konstitusi genom AAA seperti :pisang Ambon, pisang barangan, pisang Cavendish. Ketiga jenis pisang tersebut disebut juga *desert* banana yaitu pisang enak untuk dimakan angung tanpa diolah terlebih dahulu. Pisang dengan genom AAA mempunyai nilai ekonomi tinggi, oleh karena itu harus dicari varietas baru yang toleran terhadap penyakit layu yang disebabkan oleh *Fusarium*, sehingga kalau diperoleh varietas baru toleran *Fusarium* bisa dikembangkan untuk perkebunan besar atau oleh para petani tradisional untuk meningkatkan pendapatan mereka. Dua pendekatan yang dapat dilakukan dalam pemuliaan tanaman pisang saat ini adalah melalui *genetic engineering* dan pemuliaan mutasi.Pemuliaan dengan *genetic engineering* atau disebut juga dengan rekayasa *genetic* memerlukan kualitas

sumber daya manusia yang tinggi dan peralatan yang canggih serta biaya yang mahal untuk Negara yang sedang berkembang seperti Indonesia. Pilihan lain adalah menggunakan pendekatan pemuliaan mutasi dengan menggunakan iradiasi gamma. Fungsi iradiasi gamma dalam pemuliaan tanaman adalah menciptakan keragaman genetik melalui proses mutasi yang terjadi pada genom tanaman. Iradiasi gamma pada dosis tertentu (20-30 Gy) dapat terjadinya mutasi pada sel tanaman. Mutasi akibat perlakuan iradiasi gamma biasanya adalah poin mutasi yaitu terjadinya perubahan basa DNA bisa dalam bentuk delesi, transversi, atau insersi (Suzuki et al., 1989).

Identifikasi dan karakterisasi molekular tentang ketahanan penyakit layu Fusarium pada tanaman pisang belum begitu mapan, oleh karena rumitnya mekanisme ketahanan penyakit yang disebabkan oleh jamur Fusarium. Beberapa jenis primer sudah dikembangkan oleh peneliti (Chen, et al. 2013; Javed et al. 2004; Dita et al. 2010). Tetapi hasil PCR dari penggunaan primer ini belum bisa menjelaskan secara tuntas hubungan hasil transkripsi dan peranannya dalam ketahanan penyakit layu Fusarium. Penggunaan mutan yang toleran Fusarium dalam identifikasi dan karakterisasi molekular mungkin akan bisa memberikan pengertian yang mendalam tentang hubungan mutasi dengan ketahanan terhadap penyakit layu Fusarium. Karena mutasi akan meubah struktur genetik dari sifat asalnya yang disebabkan oleh perlakuan zat mutagen fisika maupun kimia.

Bahan dan Metode

Pemeliharaan Plasma nutfah galur mutan pisang di lapang

Dua puluh enam galur mutan tanaman pisang ambon kuning di tanam di kebun percobaan tanaman pisang di kebun percobaan Pasar Jumat, Jakarta Selatan, koleksi plasma nutfah galur mutan tanaman pisang ini dipelihara secara terus menerus agar ketersediaan plasma nutfah untuk penelitian dan memperbanyak tanaman tidak terganggu. Pemupukan dan memperbanyak dari *sucker* dilakukan secara berkelanjutan

Perbanyak tanaman

Perbanyak 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

Dua galur mutan pisang Br.23 dan Cavendish. Media perbanyak tanaman menggunakan media Murashige and Skoog's (MS) (1962) terdiri dari: unsur makro: dan unsur mikro dari MS (Murashige and Skoog, 1962) dengan modifikasi vitamin yaitu: pyridoxin.HCl 0,5 mg/l, thiamin HCL 0,5 mg/l, hormone BAP 5 mg/l dan IAA 0.5 mg/l

Shoot-tip tanaman sebagai sumber eksplan di induksi 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 final 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 disekitar bongkol tanaman tersebut

Evaluasi karakter agronomis galur mutan pisang

Penelitian untuk karakter agronomis focus pada galur mutan Br23 karena dipersiapkan untuk dilepas sebagai varietas baru tanaman pisang. Karakter tanaman yang di amati adalah karakter kualitatif dan karakter kuantitatif seperti yang tercantum pada Tabel 1 dan 2

Tabel 1. Pengamatan karakter kualitatif galur mutan Br23

No.	Plant characters	No.	Plant characters
1.	Plant height	12	Fruit weight
2.	Leaf length (LL)	13	Fruits density/comb
3	Leaf width (LW)	14	Fruits stalk
4.	Rasio (LL/LW)	15	Fruits skin colour
	Cross section of leaf stem	16	Fruit skin
5	Ages of plant begin to hang	17	Fruit skin texture
6	Long hanging plant	18	Fruits water content
7	The shape of banana heart	19	Aroma
8	Bract colour male flower	20	Percentage of edible fruits
9	Fruits performance	21	Fruits reistance during transportation
10	Cross section of fruits	22	Storage time period
11	Fruits length	23	Fruit diameter

Analisis Molekular galur mutan dan tanaman Kontrol

Polymerase Chain Reaction (PCR) dilakukan dengan menggunakan berbagai jenis primer seperti tercantum dalam Tabel 1. 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. Kedalam tabung ditambahkan bufer CTAB sebanyak 4 ml kemudian digoyang secara perlahan-lahan sehingga tercampur sempurna antara bufer dengan sampel, setelah itu ditambah *equal volume* larutan campuran Chloroform dan Isoamylalcohol dengan perbandingan (24:1) kedalam tabung dan goyang secara perlahan-lahan, setelah tercampur sempurna kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm dengan suhu 15 °C selama 10 menit. Supernatant 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 ul, Kedalam setiap tabung PCR dimasukan : Taq DNA mix. 25 µl, template DNA 20µl, dan primer 0.5 µm dengan total volume 50 µl. Suhu pemanasan dilakukan 94oC selama 4 menit, kemudian masuk siklus reaksi PCR dengan suhu denaturasi 94oC selama 40 detik, annealing pada suhu 45oC 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

Perbanyak tanaman galur mutan Br23 bekerjasama dengan Biologi Tropika (Biotrop) karena keterbatasan tenaga untuk penamyakan galur mutan dalam skala besar yaitu sampai 2000 tanaman sebagai persiapan untuk pelepasan varietas baru tanaman pisang. Disamping itu dilakukan pengamatan kualitatif dan kuantitatif karakter tanaman pisang seperti ditampilkan pada Tabel 2 dan 3 di bawah ini:

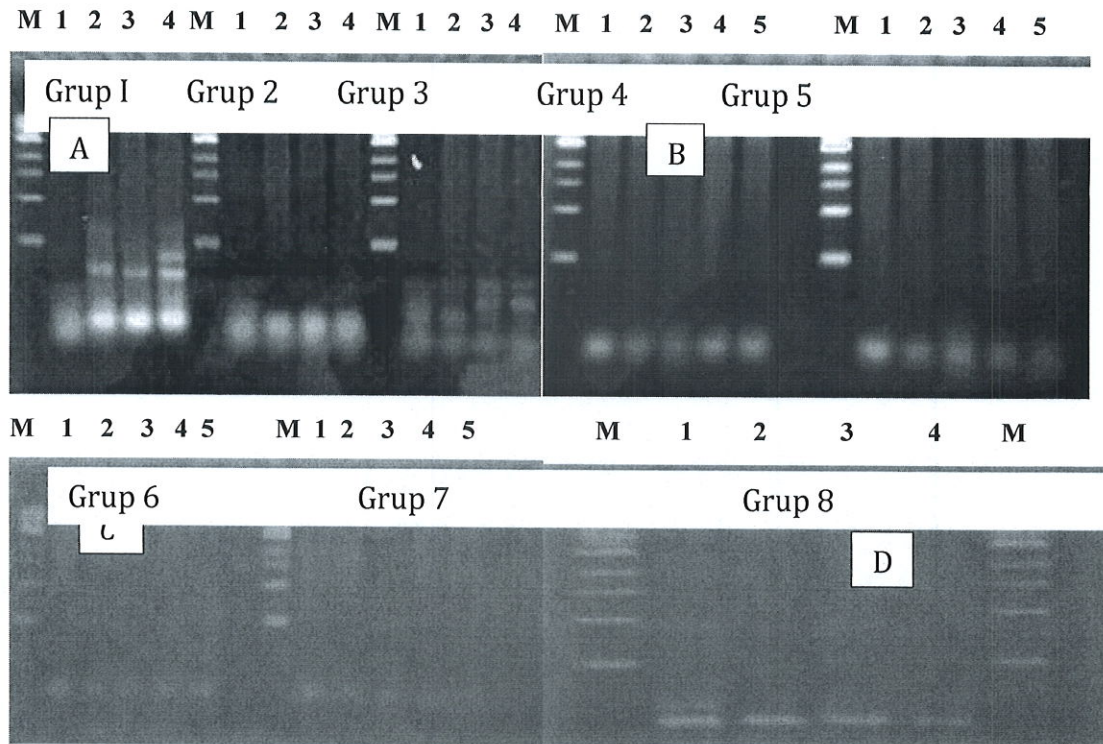
Table 2. Observation of qualitative characters derived from Br23 mutant line

No.	Characters	Observation of Br23 variety candidate		Description	cv. pisang ambon kuning
		year1	year2		
1	Variety groups	Clone	Clone	Clone	Clone
2	Cross section of pseudostem	Round	Round	Round	Round
3	Pseudostem color	Strong yellowish green ((RHS141C) dark greyish purple (RHS92A)	Strong yellowish green (RHS141C) dark greyish purple (RHS92A)	Strong yellowish green with dark greyish purple	Green with blackish purple spot
4	Leaf shape	Lanset	Lanset	Lanset	Lanset
5	Upper leaf color Lower leaf color	Greyish olive green (RHS 137,B) Whitish green (RHS139,C)	Greyish olive green (RHS137,B) Whitish green (RHS 139,C)	Greyish olive green whitish green	Green Whitish green
6	Cross section of leaf stalk No.3	Open canal, edge extend to the side	Open canal, edge extend to the side	Open canal, edge extend to the side	Open canal, edge extend to the side
7	Heart shape	Like a spear	Like a spear	Like a spear	Like a spear
8	Color of heart	Greyish reddish (RHSN77,C)	Greyish reddish (RHSN77,C)	Greyish reddish	Reddish purple
9	Fruit shape	Straight slightly curved	Straight slightly curved	Straight slightly curved	curved
10	Fruit Color - Young - Mature	Green (RHS141,C) yellow (RHS11,B)	Green (RHS141,C) yellow (RHS11,B)	green yellow	green yellow
11	The Color of fruits flesh	Pale yellow (RHS11,C)	Pale yellow (RHS11,C)	Pale yellow	Pale yellow
12	Cross section shape of fruits	Round	Round	round	Round
13	Fruits taste	Sweet acidity	Sweet acidity	Sweet acidity	Sweet
14	Aroma	Fragrance	Fragrance	Fragrance	Fragrance

Table 3. Observation of quantitative characters of Br23 mutant line at field trial ,
Pasar Jumat-South Jakarta

No.	Characters	Observation of agronomic characters from Br23 mutant line			Pisang ambon kuning (control)
		on the first year	on the second year	Range of numbers from the first to the second year	
1.	Plant height (cm)	182-220	198-225	182-225	350-400
2.	Diameter of pseudostem (cm)	14-16	14-17	14-17	22,3-27,1
3.	Leaf length (cm)	175-199	175-196	175-199	283-330
4.	Leaf width(cm)	68-80	68-79	68-80	70-98
	Rasio leaf length/Leaf width	2,48-2,57	2,48-2,57	2,48-2,57	3,36-4,04
5.	Male flower length (cm)	23-27	23-27	23-27	55-60
6.	Male flower width (cm)	8,5-9,5	8,5-9,0	8,5-9,5	43,96-56,52
7.	The age of male flower after planting (months)	9-11	9-11	9-11	9-11
8.	Harvested (months)	13-15	13-15	13-15	14-16
9.	Fruit length (cm)	16,0-20	15-20	15-20	18,5-26,3
11.	Thickness of fruit skin (mm)	3-4	3-4	3-4	2,6-4,5
12.	Soluble Carbohydrate (°Brix)	25,05	19,80	19,80-25,05	15,5
13.	Vitamin C content (mg/100 g)	29,66	38,89	29,66-38,89	11,23
14.	Water content (%)	69,5-74,0	67-74	67-74	66,29
15.	Protein content (%))	1,33	1,64	1,33-164	1,09
16.	Sucrosa (%)	25,04	23,5	23,5-25,04	
17.	Number of fruits/comb	14-18	14-17	14-18	13-26
18.	Fruit weight/comb (Kg)	1,5-2,3	1,1-2,3	1,1-2,3	3,8-8,6
19.	Individual fruit weight (g)	110-150,8	94,0 – 157,6	94,0-157,6	185,3-300,1
20.	Number of combs per bunch	8-11	8-11	8-11	6-9
21.	Fruit weight per bunch (kg)	15,3-18,3	11-21,8	11-21,8	23-26

Pola pita DNA



Gambar 10 A-D. Hasil elektroforesis galur mutan pisang menggunakan DNA primer TR4, Scar 426, Scar 347 berturut untuk grup 1,2, dan 3 (Gambar 6A), sedangkan lajur 1-4 adalah Br23, Br.11, BSF, dan BRK. Gambar 5 B adalah menggunakanDNA primer NCBI.3 dan primer P4

Kesimpulan

Data riset sifat agronomis dan data molekular sudah difinalisasi untuk pengajuan pelepasan varietas baru pisang yang berasal dari galur mutan B23. Hasil dari riset mulai tahun 2014 -2018 berhasil melepaskan satu varietas pisang yang diberi nama PIRAMA 1 (pisang iradiasi gamma). Sedangkan riset pada 2019 akan mempersiapkan pelepasan varietas baru dari galur mutan Br13 dan Br11

Daftar Pustaka

1. Asif, J.M, Chai, M., and Othman, R.Y., (2004) Study of resistance of *Musa acuminata* to *Fusarium oxysporum* 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 micro-section cultural system, *Plant Pathology* 62:112
4. Hwang, S.C. and Ko, W.H. (2004) Cavendish banana cultivars resistant to *Fusarium* wilt acquired through somaclonal variation in Taiwan, *Plant disease* 88:580
5. Li, X-S., Bai, T., Li Y.F., Ruan, X., and Li, H. (2013) Proteomic analysis of *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense tropical race 4-inoculated to *Fusarium* wilts in banana root cells, *Proteome science* 11:41 (<http://www.proteomesci.com/content/11/1/41>)
6. 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
7. Murashige, T and Skoog, F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture, *Physiol. Plant*, 15:473
8. Ploetz, R.C. (2006) *Fusarium* wilt of banana is caused by several pathogens referred to as *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense, *Phytopathology* 96:653

9. Suzuki, D.T., Griffith, A.j.F., Miller, J.H., and Lewontin, R.C. (1989) An Introduction to genetic analysis, Fourth ed., WH Freeman and company/New york pp:768

10. Robinson, J.C., (1996) Banana and Plantains, Book: Cab International Wallingford, UK. pp:238