

Makara

SERI SAINS

Ionic Liquids: Preparations and Limitations

Enkapsulasi Ketoprofen dengan Kitosan-Alginat berdasarkan Jenis dan Ragam Konsentrasi Tween 80 dan Span 80

Peningkatan Unjuk Kerja Hidrolisis Enzimatik Jerami Padi Menggunakan Campuran Selulase Kasar dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*

Synthesis of PbSe Thin Film by Chemical Bath Deposition and its Characterization Using XRD, SEM and UV-Vis Spectrophotometer

Downsized Chelating Resin-Packed Minicolumn Preconcentration for Multielement Determination of Trace Metals By ICP-MS

Toksisitas Akut Daun *Justicia gendarussa* Burm.

First Record of *Cantherhines multilineatus* (Tanaka, 1918) (Tetraodontiformes: Monacanthidae) in Indonesia

Troubleshooting in Expression and Purification of Recombinant Severe Acute Respiratory Syndrome-Associated Coronavirus Nucleocapsid Protein in *Escherichia coli* BL21

Purifikasi dan Pencirian Enzim Protease Fibrinolitik dari Ekstrak Jamur Merang (*Volvariella Volvaceae*)

Deteksi Integritas Genomik Pisang Hasil Iradiasi *In Vitro* berdasarkan Penanda Mikrosatelit

Keragaman Genetik Pandan Asal Jawa Barat berdasarkan Penanda *Inter Simple Sequence Repeat*

Isolasi Fragmen cDNA dari Gen Penyandi Aktin dari *Melastoma malabathricum*

Evaluasi Skema *Watermarking* Citra Berbasis *Singular Value Decomposition*, Kuantisasi Dither, dan Deteksi Sisi

Properties of High-Order Harmonic Generation Signals from Switched-off Aligned Molecules

Penurunan *Noise Figure Performance* (F_N) pada *Heterojunction Bipolar Transistor* $SI/SI_{1-x}GE_x$ berdasarkan Pengaturan *Stripe Emitter Area* (A_E) dan *Fraction Mole* (X)

Ideal Maksimal dan Prima dari Gelanggang Polinom Miring atas Daerah Bilangan Bulat Gauss

Computation of Natural Convection in a Porous Parallelogrammic Enclosure with a Magnetic Field

Personalization Sistem E-Learning Berbasis *Ontology*

DEWAN REDAKSI
Jurnal Makara Seri Sains
SK Dirjen Dikti Akreditasi Jurnal No. 64a/DIKTI/Kep/2010

Pengarah:
Bachtiar Alam
Budiarso

Pemimpin Umum:
Agustino Zulys

Ketua Editor:
Jarnuzi Gunlazuardi

Dewan Editor:

Wellyzar Sjamsuridzal (Universitas Indonesia)	Teruna Jaya Siahaan (University of Kansas, USA)
Arief Budi Witarto (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia)	Makoto Kakishima (University of Tsukuba)
Terry Mart (Universitas Indonesia)	H. Freddy Permana Zen (Institut Teknologi Bandung)
Anja Meryandini (Institut Pertanian Bogor)	Brandon Izak Samuel van der Ventel (Stellenbosch University, Stellenbosch, South Africa)
Evy Kartini (Badan Tenaga Atom Nasional)	Hans Werner Hammer (University Bonn Nussallee, Germany)
Gunawan Indrayanto (Universitas Airlangga)	

Editor Pelaksana:
Citra Wardhani
Mukhlis Sutami

Administrasi dan Sirkulasi:
Vindy Renaningtias, Puji Astuti, Cucu Sukaesih

Disain Grafis:
Ahmad Nizhami

Penerbit:
Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat
Universitas Indonesia
Kampus Universitas Indonesia
Depok 16424
Indonesia

Kantor:
Gedung DRPM-UI, Kampus Universitas Indonesia,
Depok 16424, Indonesia
Telp.+62 21 7270152; 78849118 Fax.+62 21 78849119
Homepage: <http://journal.ui.ac.id>
E-mail: editor_mss@ui.ac.id

MAKARA Seri SAINS merupakan jurnal ilmiah yang menyajikan artikel orisinal tentang pengetahuan dan informasi riset atau aplikasi riset dan pengembangan terkini dalam bidang sains. Jurnal MAKARA Seri SAINS terakreditasi B berdasarkan SK Dirjen Dikti No. 64a/DIKTI/KEP/2010 (2010-2013). Jurnal ini merupakan sarana publikasi dan ajang berbagi karya riset dan pengembangannya di bidang sains. Pemuatan artikel di jurnal ini dialamatkan ke kantor editor. Informasi lengkap untuk pemuatan artikel dan petunjuk penulisan artikel tersedia di dalam setiap terbitan dan secara online. Artikel yang masuk akan melalui proses seleksi mitra bestari dan dewan editor. Jurnal ini terbit secara berkala sebanyak dua kali dalam setahun (April dan November). Pemuatan naskah tidak dipungut biaya. MAKARA Seri SAINS adalah peningkatan dari MAKARA Seri B: Bidang Sains dan Teknologi sebagai penyempurnaan dari Jurnal Penelitian Universitas Indonesia MAKARA yang terbit sejak Januari 1997.

MAKARA Seri Sains (MAKARA of Science Series) is a scientific journal publishing original articles on new knowledge and research or research application with current issues in basic science. The journal is published by the Directorate of Research and Community Services, Universitas Indonesia and provides a broad-based forum for the publication and sharing of ongoing research and development in science. The paper to be presented in this journal is addressed to the editorial office or e-mail. The complete information regarding the procedures to send an article is available in each volume and on its website. All articles will be subjected to double-blind peer review process following a review by the editors. MAKARA Seri Sains is a further model of MAKARA Series B: Area of Sciences and Technology as the improvement version of Universitas Indonesia Scientific Journal, MAKARA, which has been published since 1997.

Mengutip ringkasan dan pernyataan atau mencetak ulang gambar atau tabel dari jurnal ini harus mendapat izin langsung dari penulis. Produksi ulang dalam bentuk kumpulan cetakan ulang atau untuk kepentingan periklanan atau promosi atau publikasi ulang dalam bentuk apapun harus seizin salah satu penulis dan mendapat lisensi dari penerbit. Jurnal ini diedarkan sebagai tukaran untuk perguruan tinggi, lembaga penelitian, dan perpustakaan di dalam dan luar negeri. Hanya iklan menyangkut sains dan produk yang berhubungan dengannya yang dapat dimuat pada jurnal ini.

Permission to quote excerpts and statements or reprint any figures or tables in this journal should be obtained directly from the authors. Reproduction in a reprint collection or for advertising or promotional purposes or republication in any form requires permission of one of the authors and a licence from the publisher. This journal is distributed for national and regional higher institution, institutional research and libraries. Only advertisements of scientific or related products will be allowed space in this journal.

Ionic Liquids: Preparations and Limitations <i>Ahmad Adlie Shamsuri and Dzulkefly Kuang Abdullah</i>	101
Enkapsulasi Ketoprofen dengan Kitosan-Alginat berdasarkan Jenis dan Ragam Konsentrasi Tween 80 dan Span 80 <i>Purwantiningsih Sugita, Naphaleni, Mersi Kurniati, dan Tuti Wukirsari</i>	107
Peningkatan Unjuk Kerja Hidrolisis Enzimatik Jerami Padi Menggunakan Campuran Selulase Kasar dari <i>Trichoderma reesei</i> dan <i>Aspergillus niger</i> <i>Nadiem Anwar, Arief Widjaja, dan Sugeng Winardi</i>	113
Synthesis of PbSe Thin Film by Chemical Bath Deposition and its Characterization Using XRD, SEM, and UV-Vis Spectrophotometer <i>Anuar Kassim, Ho Soon Min, Shanthi Monohorn, and Saravanan Nagalingam</i>	117
Downsized Chelating Resin-Packed Minicolumn Preconcentration for Multielement Determination of Trace Metals By ICP-MS <i>Dwinna Rahmi</i>	121
Toksistas Akut Daun <i>Justicia gendarussa</i> Burm <i>Berna Elya, Juheini Amin, dan Emiyanah</i>	129
First Record of <i>Cantherhines multilineatus</i> (Tanaka, 1918) (Tetraodontiformes: Monacanthidae) in Indonesia <i>Teguh Peristiwady, Petrus Makatipu, K. Takaendengan, and Fasmi Ahmad</i>	135
Troubleshooting in Expression and Purification of Recombinant Severe Acute Respiratory Syndrome-Associated Coronavirus Nucleocapsid Protein in <i>Escherichia coli</i> B121 <i>Andi Yasmon, Fera Ibrahim, and Budiman Bela</i>	140
Purifikasi dan Pencirian Enzim Protease Fibrinolitik dari Ekstrak Jamur Merang (<i>Volvariella Volvaceae</i>) <i>Dondin Sajuthi, Irma Suparto, Yanti, dan Willy Praira</i>	145
Deteksi Integritas Genomik Pisang Hasil Iradiasi <i>In Vitro</i> berdasarkan Penanda Mikrosatelit <i>Rita Megia dan Nina Ratna Djuita</i>	151
Keragaman Genetik Pandan Asal Jawa Barat berdasarkan Penanda <i>Inter Simple Sequence Repeat</i> <i>Sri Endarti Rahayu dan Sri Handayani</i>	158

Isolasi Fragmen cDNA dari Gen Penyandi Aktin dari <i>Melastoma malabathricum</i>	163
<i>Saleha Hannum, Kinya Akashi, Utut Widyastuti Suharsono, Alex Hartana, Akiho Yokota, dan Suharsono</i>	
Evaluasi Skema <i>Watermarking</i> Citra Berbasis <i>Singular Value Decomposition</i>, Kuantisasi Dither, dan Deteksi Sisi	168
<i>Rahmatri Mardiko dan T. Basaruddin</i>	
Properties of High-Order Harmonic Generation Signals from Switched-off Aligned Molecules	173
<i>Abdurrouf</i>	
Penurunan <i>Noise Figure Performance</i> (F_N) pada <i>Heterojunction Bipolar Transistor</i> $SI/SI_{1-x}GE_x$ berdasarkan Pengaturan <i>Stripe Emitter Area</i> (A_p) dan <i>Fraction Mole</i> (X)	179
<i>Tossin Alamsyah, Djoko Hartanto, dan N.R. Puspawati</i>	
Ideal Maksimal dan Prima dari Gelanggang Polinom Miring atas Daerah Bilangan Bulat Gauss	184
<i>Amir Kamal Amir</i>	
Computation of Natural Convection in a Porous Parallelogrammic Enclosure with a Magnetic Field	188
<i>Habibis Saleh, Sri Basriati, and Ishak Hashim</i>	
<i>Personalization</i> Sistem <i>E-Learning</i> Berbasis <i>Ontology</i>	192
<i>Bernard Renaldy Suteja, Suryo Guritno, Retantyo Wardoyo, dan Ahmad Ashari</i>	
INDEKS PENULIS	
INDEKS SUBYEK	
UCAPAN TERIMA KASIH	

DETEKSI INTEGRITAS GENOMIK PISANG HASIL IRADIASI *IN VITRO* BERDASARKAN PENANDA MIKROSATELIT

Rita Megia^{*}) dan Nina Ratna Djuita

Departemen Biologi, FMIPA, Institut Pertanian Bogor, Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

^{*}E-mail: ritamegia@cbn.net.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan mendeteksi integritas genomik pisang hasil iradiasi *in vitro* berdasarkan penanda mikrosatelit. Kajian integritas genomik ini dilakukan pada pisang Mas yang telah diiradiasi dengan sinar gamma 15 Gy. DNA inti diisolasi dari setiap aksesori mengikuti metode Dixie, diamplifikasi dengan Perkin Elmer Gene Ampli PCR 2400 menggunakan sepuluh primer, kemudian dielektroforesis pada gel agarose 1%. Terakhir dilakukan elektroforesis pada gel poliakrilamid secara vertikal, dan pewarnaan silver untuk visualisasi alel yang muncul. Hasilnya menunjukkan bahwa diantara sepuluh primer yang dipakai, delapan diantaranya menghasilkan pita-pita yang jelas, konstan, dan dapat diulang. Jumlah pita bervariasi, dari satu sampai dua, mengikuti tingkatan ploidi pisang Mas berupa diploid AA. Jumlah satu pita menunjukkan alel homozigot, sedangkan jika jumlah pita dua, menunjukkan alel heterozigot. Diantara delapan primer yang menunjukkan hasil yang jelas tersebut, enam diantaranya menghasilkan pita-pita yang berbeda diantara tanaman hasil iradiasi, kultur *in vitro*, dan kontrol, sedangkan pada dua primer lainnya menunjukkan alel yang sama untuk semua aksesori yang diuji. Perubahan genomik terlihat pada semua tanaman hasil iradiasi yang nampak mempunyai pita yang berbeda jumlah dan ukurannya dibandingkan dengan tanaman kontrol. Perubahan dapat terjadi pada zigositas alel tertentu, misalnya dari heterozigot ke homozigot atau sebaliknya. Perubahan alel menunjukkan adanya ketidakstabilan genomik yang dapat timbul akibat berbagai peristiwa seperti delesi, insersi, dan amplifikasi nukleotida.

Abstract

Genomic Integrity Detection of *In Vitro* Irradiated Banana Using Microsatellite Marker. The research aims to detect genomic integrity of *in vitro* irradiated banana using microsatellite marker. These studies were done on banana cv. Pisang Mas irradiated by 15 Gy of gamma ray. The DNA was isolated from each accession following Dixie. Amplification of DNA products were done by Perkin Elmer Gene Amp PCR 2400 using ten primers, and then electroforesis in agarose 1%. Finally a vertical polyacrylamide gel electroforesis was run and the products were visualized by silver staining. The result shown that among the primers tested, eight primers produced clear, discrete, and reproducible bands. Number of DNA band exhibited ranging from one to two, following the ploidy level of pisang Mas which is a diploid banana cultivar (AA). One band suggest homozygote allele while two bands showed heterozygote allele. Out of eight primers, six primers produced different allele among irradiated, *in vitro*, and *in vivo* control plant. Meanwhile, for the other two primers the allele were monomorph for all the accessions examined. Genomic modification was observed at all irradiated plants. The modification can happened at zygosity of certain allele that may change from heterozygote to homozygote or *vice versa*. While modification in allele size that underlying genomic instability could be caused by several genetic events such as deletion, insertion, and amplification of nucleotides.

Keywords: banana, genomic integrity, irradiation, microsatellite, primer

1. Pendahuluan

Mutasi memegang peranan yang sangat penting dalam pemuliaan tanaman pisang. Hal ini disebabkan karena pada umumnya pisang budidaya bersifat partenokarpi, tidak berbiji serta mempunyai sterilitas bunga yang

tinggi. Oleh sebab itu, pemuliaan secara konvensional melalui persilangan seksual sangat sulit dilakukan. Tidak mengherankan jika ahli pemulia pisang seperti De Langhe sangat menganjurkan pemakaian iradiasi sebagai alternatif dalam perbaikan genetik tanaman ini.

Induksi mutasi telah menghasilkan mutan-mutan pisang dengan sifat-sifat yang menarik [1]. Meskipun demikian, informasi mendasar yang melandasi perubahan sifat tersebut belum banyak diketahui. Identifikasi genetika mutan pisang umumnya dikerjakan melalui pendekatan sitogenetika, *fluorescence in situ hybridisation* (FISH) atau *flow cytometri* [2]. Pendekatan yang lebih komprehensif melalui pemakaian penanda molekular diharapkan mengungkap lebih mendalam perubahan genom yang terjadi.

Di antara berbagai penanda genetik, mikrosatelit yang berdasarkan *polymerase chain reaction* (PCR) merupakan teknik yang terbukti paling bermanfaat pada analisis genom dengan berbagai problem pada tanaman pisang [3]. Selain itu, mikrosatelit juga mempunyai polimorfisme yang tinggi dan dapat diandalkan [4].

Penggunaan penanda mikrosatelit telah banyak dilakukan oleh beberapa peneliti, misalnya Creste *et al.* [5] yang meneliti tentang karakterisasi genetik kultivar pisang dari Brazil. Oriero *et al.* [6] dapat mendeteksi 100% polimorfisme dari 23 aksesori pisang dan 66,7% polimorfisme dari 17 aksesori plantain di Nigeria. Kaemmer *et al.* [7] berhasil mendeteksi polimorfisme dalam 15 jenis dan kultivar genus *Musa*. Analisis mikrosatelit juga dapat digunakan untuk menyeleksi klon-klon pisang yang memiliki ketahanan terhadap penyakit sigatoka hitam [8], sedangkan oligonukleotida DNA dan amplifikasi sidik jari DNA dapat membedakan klon Lakatan dan Latundan (keduanya asli dari Philipina) yang diiradiasi dan tidak diiradiasi [9].

Di Indonesia, teknik mikrosatelit telah berhasil mendeteksi rata-rata 9,3 alel per lokus pada pisang diploid AA dan triploid AAA [10] mengungkap keanekaragaman dan hubungan kekerabatan berbagai aksesori pisang Indonesia mempergunakan tiga primer khusus [11] serta dapat dipakai untuk klasifikasi dan analisis filogeni kultivar pisang [12].

Penelitian ini bertujuan mendeteksi stabilitas genomik pisang hasil iradiasi dan kultur *in vitro* dengan penanda mikrosatelit. Hasilnya diharapkan dapat memberikan gambaran bagian lokus tertentu yang rentan terhadap iradiasi atau perlakuan kultur jaringan dan melengkapi informasi genetika tanaman pisang hasil iradiasi yang melandasi perubahan sifat mutan.

2. Metode Penelitian

Penelitian meliputi empat tahap utama, yaitu isolasi dan purifikasi DNA inti dari pisang Mas (AA) yang telah diiradiasi dan tidak diiradiasi, amplifikasi mikrosatelit dengan mesin PCR, deteksi kualitas hasil PCR melalui elektroforesis agarose 1% dan deteksi alel dengan poliakrilamid 6%, dan analisis stabilitas genomik pisang yang diiradiasi dan tidak diiradiasi berdasarkan pita yang muncul.

Bahan tanaman yang digunakan adalah pisang Mas (AA) yang terdiri atas aksesori 1-8, berupa tanaman hasil iradiasi dengan sinar gamma 15 Gy, nomor 1-6 masih di polibag, sedangkan nomor 7 dan 8 telah dipindah ke lapang; Va = aksesori hasil kultur *in vitro*, yang telah

Tabel 1. Primer Mikrosatelit Pisang Yang Digunakan

Lokus/ Primer	Primer (5'3')	Ukuran relatif alel (pb)	Tm (°C)	Jumlah siklus
MaCIR108	F: TAAAGGTGGGGTAGCATTAGG R: TTTGATGTCACAATGGTGTTC	220-295	55	35
MaCIR332a	F: TCCCAACCCCTGCAACCACT R: ATGACCTGTCGAACATCCTTT	255-295	53	35
MaCIR327a	F: TCCATAAGTGTAATCCTCAGTT R: CTCCATCCCCAAGTCATAAAG	330-378	53	35
MaCIR327b	F: AAGTTAGTCAAGATAGTGGCATT R: CTTTTGCACCAGTTGTTAGGG	388-436	50	40
Ma-1-132	F: GGAAAACGCGAATGTGTG R: AGCCATATACCGAGCACTTG	200-300	55	35
Ma-1-17	F: AGGCGGGGAATCGGTAGA R: GGCGGGAGACAGATGGAGT	110-154	55	35
Ma-1-27	F: TGAATCCCAAGTTTGGTCAAG R: CAAAACACTGTCCCCATCTC	122-142	55	35
Ma-3-90	F: GCACGAAGAGGCATCAC R: GGCCAAATTTGATGGACT	132-178	55	35
Ma-3-104	F: AGAACGTTTGCTGTTGGAG R: GCTTCTGTCATCGTTTTGTC	100-200	55	35
Ma-3-139	F: ACTGCTGCTCTCCACCTCAAC R: GTCCCCAAGAACCATATGATT	30-180	55	35

F = forward primer sequence R = reverse primer sequence

dikonservasi selama 3 tahun; Vb = aksesi hasil kultur *in vitro* yang baru dikultur selama 3 bulan dan K = tanaman kontrol yang berasal dari lapang (*in vivo*). Primer mikrosatelit dan panjang basa sekuens pengapitnya dapat dilihat pada Tabel 1. Tag polymerase yang digunakan berasal dari Roche untuk semua primer yang diuji, kecuali primer MaCIR327b dari Fermentas.

DNA diisolasi dari daun pisang yang masih menggulung mengikuti modifikasi metode Dixit [13] sedangkan PCR mengikuti prosedur Kaemmer *et al.* [7] menggunakan mesin Perkin Elmer Gene Amp PCR System 2400. Kondisi PCR diprogram dengan denaturasi awal pada suhu 95 °C selama 4 menit, denaturasi pada suhu 95 °C selama 30 detik, *annealing* selama 30 detik (suhu bergantung pada primer), *extention* pada suhu 72 °C selama 45 detik diakhiri dengan *final extention* 7 menit. Amplifikasi dilakukan untuk 35 siklus kecuali primer MaCIR327b sebanyak 40 siklus. Elektroforesis vertikal hasil PCR dikerjakan pada gel poliakrilamide 6%. Hasilnya kemudian diwarnai dengan *silver staining* mengikuti metode Creste *et al.* [14].

Pita yang muncul pada gel poliakrilamid pada setiap lokus diasumsikan sebagai alel mikrosatelit. Marka DNA merupakan data alel yang teramati dengan ketentuan ada tidaknya pita DNA berdasarkan ukuran produk PCR pada satu posisi yang sama dari beberapa aksesi yang dibandingkan untuk mendapatkan pola pita yang dapat menunjukkan perbedaan yang khas antara tanaman pisang Mas yang diiradiasi dan tanaman kontrol.

3. Hasil dan Pembahasan

Profil pita mikrosatelit. Hasil elektroforesis pada gel poliakrilamid menunjukkan adanya jumlah pita yang bervariasi antara satu atau dua pita (Gambar 1). Hal ini sesuai dengan ploidi tanaman pisang Mas yang bersifat

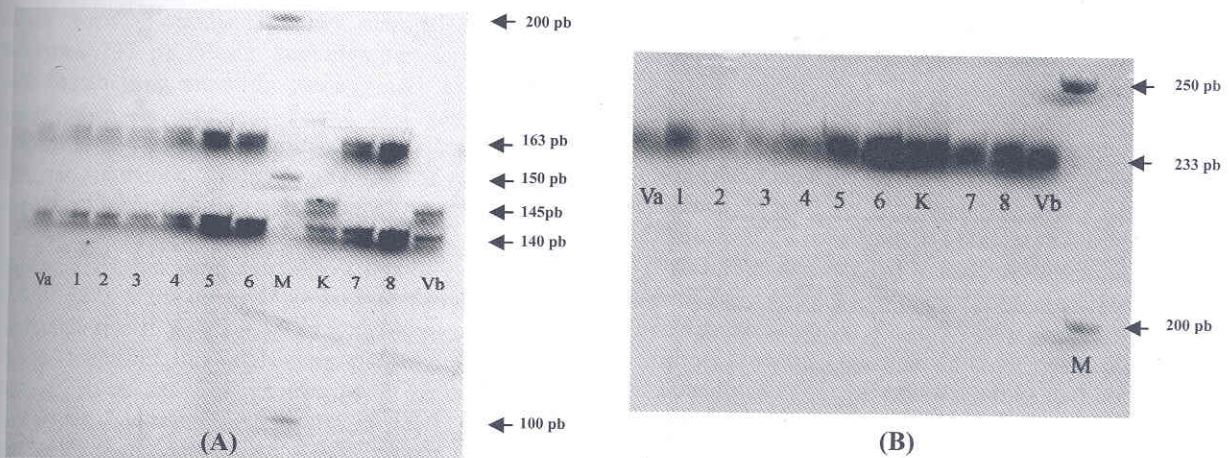
diploid. Jika masing-masing pita dianggap sebagai alel untuk lokus/primer tersebut, maka masing-masing aksesi tanaman yang diperiksa ada yang bersifat homozigot (dengan satu pita) atau heterozigot (mempunyai dua pita) untuk lokus yang diuji.

Dari sepuluh primer spesifik *Musa* yang diuji, delapan diantaranya memberikan hasil berupa pita-pita yang jelas, konstan dan dapat diukur. Dari kedelapan gel poliakrilamid yang menunjukkan hasil yang jelas tersebut, dua diantaranya memberikan gambaran pita yang monomorph (Gambar 2). Pada primer Ma-1-132 semua aksesi tanaman yang diuji memberikan masing-masing satu alel berukuran relatif 233 pb, sedangkan untuk lokus Ma3-104 nampak dua alel pada semua tanaman yang diuji berukuran sekitar 156 pb dan 163 pb.

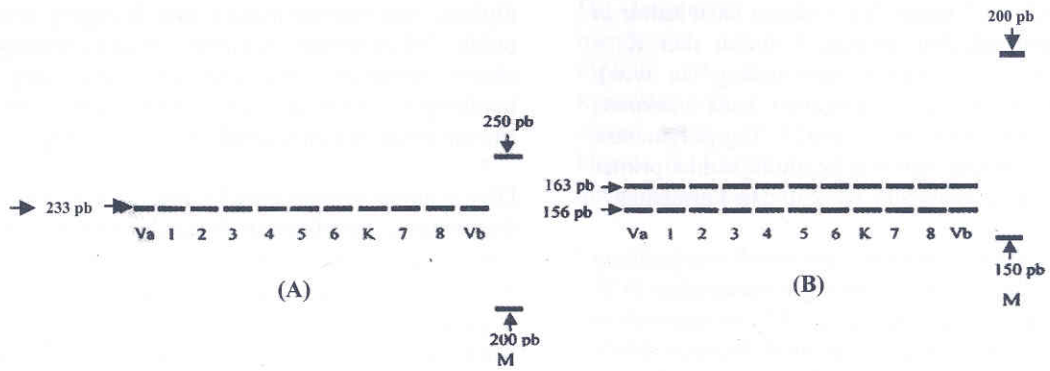
Pada enam elektroforesis akrilamid lainnya (lokus MaCIR108, MaCIR327a, MaCIR332a, Ma-1-27, Ma-3-139 dan Ma-1-17) tampak memberikan hasil berupa pita-pita yang berbeda (Gambar 3) di antara tanaman hasil iradiasi (aksesi 1-8), tanaman kultur *in vitro* lama dan baru (berturut-turut Va dan Vb) dan tanaman kontrol (K).

Perbedaan ukuran pita menunjukkan adanya perubahan genomik. Hal ini terlihat pada semua tanaman hasil iradiasi (aksesi 1-8) dan tanaman hasil kultur *in vitro* yang lama yang berbeda dibandingkan dengan tanaman kontrol dan hasil kultur *in vitro* baru. Perubahan dapat terjadi dari alel yang bersifat homozigot (satu pita) menjadi heterozigot (dua pita) atau sebaliknya dari heterozigot menjadi homozigot untuk lokus tertentu.

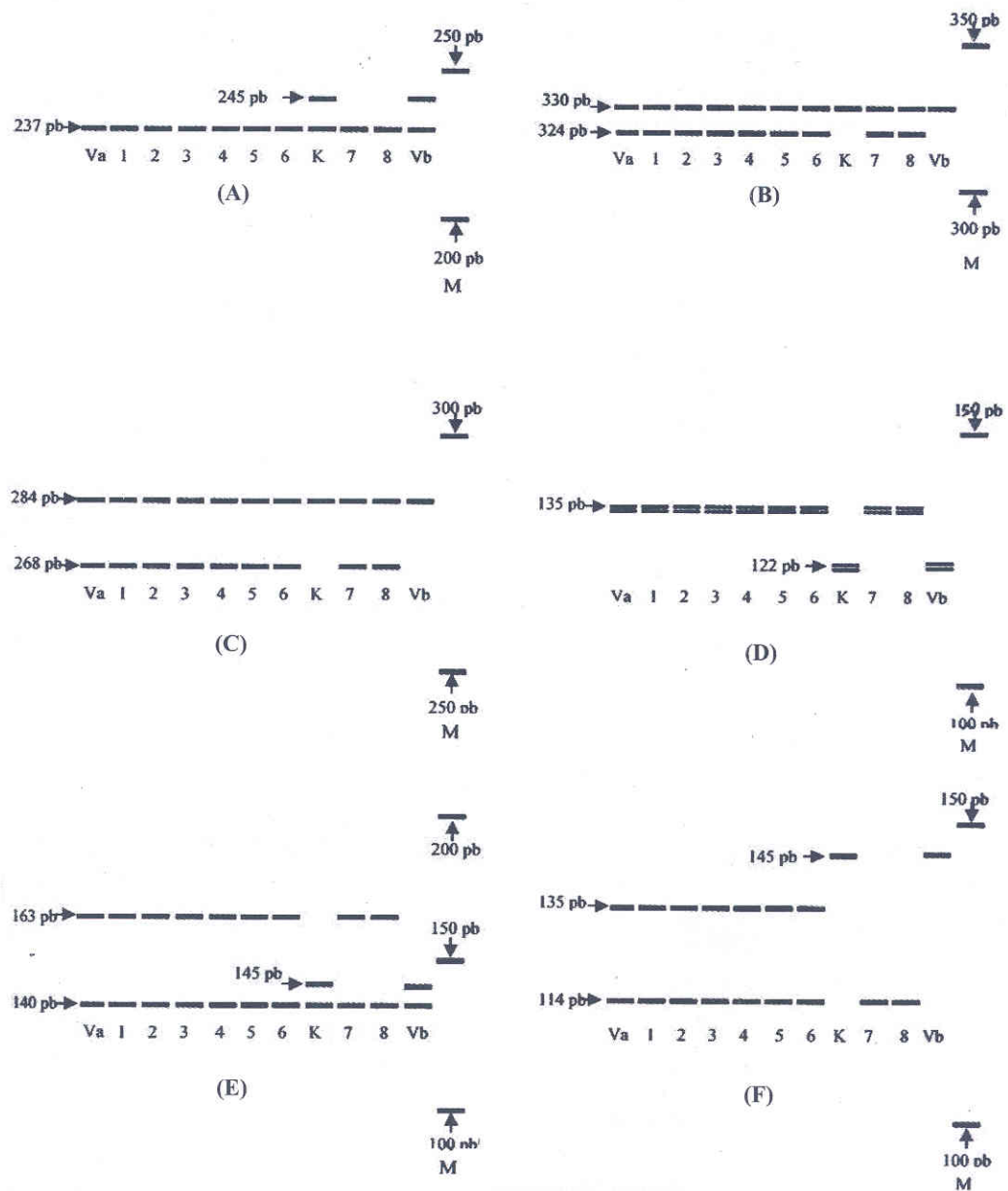
Tanaman Vb mempunyai alel-alel yang selalu identik dengan K. Tidak terdeteksinya perbedaan ukuran pita pada Vb dibandingkan dengan K mungkin disebabkan karena memang tidak ada perubahan genomik mengingat



Gambar 1. Hasil Elektroforesis DNA Pisang dengan Menggunakan Primer (A) Ma-3-139 (B) Ma-1-132 Va = Aksesi Kultur *In vitro* yang telah Dikonservasi Selama Tiga Tahun, 1-6 = Aksesi Hasil Iradiasi Sinar Gamma 15 Gy masih dalam Polybag, K = Aksesi Kontrol, 7-8 = Aksesi Hasil Iradiasi Sinar Gamma 15 Gy di Lapang, Vb = Aksesi Kultur *In vitro* yang Baru Dikonservasi Selama 3 Bulan, M = Marker



Gambar 2. Sketsa Hasil Elektroforesis DNA Pisang pada Gel Poliakrilamid dari Primer (A) Ma-1-132, (B) Ma-3-104



Gambar 3. Sketsa Hasil Elektroforesis DNA Pisang pada Gel Poliakrilamid dari Primer (A) MaCIR 108, (B) MaCIR327a, (C) MaCIR 332a, (D) Ma-1-27, (E) Ma-3-139, (F) Ma-1-17

tanaman tersebut belum terlalu lama dikultur, atau perubahan DNA yang terjadi tidak merubah panjang alel. Sebaliknya profil pita Va selalu sama dengan alel-alel pada tanaman hasil iradiasi. Hal ini mungkin disebabkan karena tanaman tersebut telah terekspos untuk waktu yang sangat lama terhadap kondisi *in vitro* yang mengandung zat pengatur tumbuh sehingga terjadi perubahan genetik.

Kedua aksesi tersebut (Va dan Vb) menunjukkan bahwa mikrosatelit merupakan penanda yang baik untuk mengetahui adanya variasi somaklonal pada pisang Mas. Hingga saat ini belum ada informasi sejauh mana perubahan genetik akibat kultur jaringan dapat terdeteksi pada tingkat molekular pada spesies ini. Leroy *et al.* [15] berhasil mendeteksi perubahan pada stadium yang sangat dini dari kultur *in vitro* *Brassica oleracea* var. *botrytis* menggunakan modifikasi dari *simple sequence repeat* (SSR) atau *inter-simple sequence repeat* (ISSR).

Ukuran alel yang teramati pada Va selalu identik dengan tanaman hasil iradiasi yang semuanya ini berbeda dibandingkan dengan panjang pita K. Hal ini mengindikasikan terjadinya perubahan genomik pada tanaman hasil iradiasi dan Va, tetapi tidak diketahui apakah perubahan genom tersebut terjadi pada area yang sama. Karp [16] berpendapat bahwa mutasi yang terjadi akibat iradiasi mempunyai daerah yang berbeda dengan yang ditemukan pada variasi somaklonal.

Identifikasi stabilitas genomik Pisang Mas hasil iradiasi. Adapun perbedaan karakteristik genomik tanaman hasil iradiasi dibandingkan dengan tanaman K sebagaimana yang terlihat pada gel akrilamid (Gambar 3) adalah sebagai berikut:

Gambar 3(A), pada lokus MaCIR108, tanaman K bersifat heterozigot dengan dua alel berukuran relatif masing-masing 237 pb dan 245 pb. Sebaliknya pada semua tanaman iradiasi, hanya nampak satu pita berukuran 237 pb. Besar kemungkinan terjadi delesi pada daerah yang memiliki panjang alel 245 pb pada mutan-mutan ini sehingga ukuran alel yang pertama menjadi sama dengan ukuran alel yang kedua. Dengan demikian tanaman yang pada mulanya bersifat heterozigot menjadi homozigot untuk lokus tersebut.

Gambar 3(B), hal yang sebaliknya terjadi pada primer MaCIR 327a. Pada tanaman K terlihat hanya satu pita berukuran relatif 330 pb, sedangkan semua tanaman iradiasi memiliki dua alel yang panjangnya masing-masing 330 pb dan 324 pb. Pita yang berukuran lebih pendek ini diduga merupakan akibat delesi nukleotida dari salah satu pita yang lebih panjang sehingga menghasilkan suatu alel baru yang lebih pendek. Dengan demikian tanaman induk yang tadinya bersifat homozigot untuk lokus MaCIR 327a berubah menjadi heterozigot akibat iradiasi.

Gambar 3(C), hal yang teramati pada hasil elektroforesis menggunakan primer MaCIR 327a terlihat juga pada lokus MaCIR332a. Pada pita akrilamid nampak hanya satu pita dengan panjang relatif 284 pb untuk tanaman K. Perubahan yang terjadi akibat iradiasi, menyebabkan terbentuknya alel baru berukuran 268 pb. Terlihat adanya dua alel dengan ukuran 284 pb dan 268 pb pada aksesi tanaman 1-8.

Gambar 3(D), perubahan genomik yang terdeteksi berupa ukuran alel yang bertambah panjang. Ini dijumpai pada pemakaian primer Ma-1-27. Tanaman K yang merupakan asal/induk tanaman lain bersifat homozigot dan mempunyai alel berukuran relatif 122 pb. Sedang tanaman hasil iradiasi juga memiliki satu alel dengan panjang 135 pb. Pemanjangan ukuran alel ini dapat terjadi disebabkan adanya insersi nukleotida pada daerah tersebut. Perubahan zigosisitas tidak terjadi pada lokus ini karena jumlah alel tetap satu.

Gambar 3(E), pada hasil dengan penggunaan primer Ma-3-139 terjadi perubahan ukuran dari salah satu alel sehingga menjadi lebih panjang pada tanaman iradiasi dibandingkan K. Ukuran relatif pita pada K masing-masing 140 pb dan 145 pb, sedangkan pada tanaman iradiasi 140 pb dan 163 pb. Dengan demikian, tanaman tetap bersifat heterozigot tetapi secara genetik terjadi perubahan dari salah satu alel atau bahkan kedua alel.

Gambar 3(F), perubahan genomik yang terjadi dapat dilihat dari munculnya dua alel baru pada tanaman hasil iradiasi yang ukurannya sama sekali berbeda dengan pita tanaman K. Hal ini terlihat pada penggunaan primer Ma-1-17. Tanaman K memiliki satu pita berukuran relatif 145 pb, sedangkan pada tanaman hasil iradiasi terlihat adanya dua alel yang memiliki ukuran yang lebih pendek dibandingkan dengan K, yakni masing-masing 135 pb dan 114 pb. Dengan demikian, delesi yang terjadi melibatkan jumlah nukleotida yang berbeda pada alel yang tidak sama. Tanaman yang sebelumnya bersifat homozigot menjadi heterozigot untuk lokus tersebut.

Secara umum dapat dikatakan bahwa untuk lokus tertentu (Ma-1-132 dan Ma-3-104) tidak terlihat adanya perbedaan antara tanaman hasil iradiasi dengan tanaman kontrol. Sebaliknya, perbedaan terlihat pada lokus lain, yaitu MaCIR108, MaCIR327a, MaCIR332a, Ma-1-27, Ma-3-139, dan Ma-1-17. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan bagian genom tertentu yang rentan terhadap perlakuan iradiasi. Daerah yang diapit oleh keenam primer terakhir merupakan area yang kurang stabil dibandingkan dengan dua daerah yang diapit dua primer pertama.

Dari delapan lokus yang diuji, Ma-1-17 menyebabkan perubahan genomik terbesar. Perubahan yang terjadi tidak hanya melibatkan kedua ukuran alel tetapi juga merubah zigosisitas dari homozigot menjadi heterozigot.

Tampaknya daerah yang diapit oleh primer ini merupakan daerah yang paling tidak stabil sehingga menyebabkan timbulnya banyak perubahan.

Hasil elektroforesis pita-pita yang polimorf pada tanaman hasil iradiasi dibandingkan dengan kontrol menunjukkan bahwa metode mikrosatelit juga dapat dipakai untuk identifikasi tanaman hasil iradiasi pisang Mas seperti terlihat pada pemakaian lokus MaCIR108, MaCIR327a, MaCIR332a, Ma-1-27, Ma-3-139, dan Ma-1-17. Hautea [9] dapat membedakan dua klon Philipina (Lakatan dan Latundan) yang diiradiasi dari yang tidak diiradiasi.

Perbedaan alel hasil iradiasi dibandingkan dengan alel tanaman kontrol terletak pada ukuran pita. Dalam hal ini, perubahan ukuran dapat disebabkan oleh delesi atau insersi nukleotida. Perbedaan ukuran tersebut yang mungkin terjadi di daerah *flanking region* atau *repetitive sequense* dapat diketahui dengan sekuensing. Delesi yang terjadi pada satu alel terlihat pada lokus MaCIR108, MaCIR332a dan MaCIR327a, sedangkan yang melibatkan dua alel ditemukan pada lokus Ma-1-17. Sebaliknya, insersi nukleotida ditemukan pada pemakaian primer Ma-1-27 dan Ma-3-139.

4. Simpulan

Hasil analisis gel poliakrilamid pisang Mas menggunakan teknik mikrosatelit menunjukkan bahwa dibandingkan dengan tanaman kontrol, tanaman hasil iradiasi 15 Gy mengalami perubahan genomik berupa perubahan untuk alel tertentu dari yang bersifat homozigot menjadi heterozigot, atau sebaliknya. Perubahan ini selalu berupa ukuran alel yang lebih pendek pada tanaman iradiasi dibandingkan dengan tanaman kontrol, yang mungkin diakibatkan oleh delesi yang dapat terjadi pada satu atau kedua alel lokus tertentu. Perubahan dari homozigot ke heterozigot yang melibatkan satu alel ditemukan pada lokus MaCIR332a dan MaCIR327a, sedangkan pada lokus Ma-1-17, pemendekan ukuran ini terlihat pada kedua alel. Perubahan dari heterozigot ke homozigot ditemukan pada penggunaan primer MaCIR108. Sebaliknya perubahan yang tidak merubah zigositas selalu berupa panjang alel yang lebih besar pada tanaman iradiasi dibanding pada tanaman kontrol, yang mungkin disebabkan oleh adanya insersi nukleotida. Hal ini terlihat pada penggunaan primer Ma-1-27 (tanaman iradiasi dan K tetap bersifat homozigot untuk alel tersebut) dan primer Ma-3-139 (tanaman iradiasi dan K tetap bersifat heterozigot untuk alel tersebut).

Ucapan Terima Kasih

Data dalam naskah ini merupakan hasil penelitian fundamental yang dibiayai oleh Direktorat Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan Nasional dengan surat

perjanjian No.: 012/SP2H/PP/DP2M/III/2007. Ucapan terima kasih disampaikan kepada Dr. Amin Retnoningsih atas bantuan teknisnya.

Daftar Acuan

- [1] N.S. Roux, In: S.M. Jain, R. Swennen (Eds.), *Mutations Induction in Musa – Review*, Banana Improvement: Cellular, Molecular Biology, and Induced Mutations, Science Publishers Inc., Enfield, 2004, p.23.
- [2] J. Dolezel, M. Valarik, J. Vrana, M.A. Lysak, E. Hribova, J. Bartos, N. Gasmanova, M. Dolezelova, J. Safar, H. Simkova, In: S.M. Jain, R. Swennen (Eds.), *Molecular Cytogenetic and Cytometri of Banana (Musa spp.)*, Banana Improvement: Cellular, Molecular Biology, and Induced Mutations, Science Publishers Inc., Enfield, 2004, p.229.
- [3] G. Kahl, In: S.M. Jain, R. Swennen (Eds.), *The Banana Genome in Focus: A Technical Perspective*, Banana Improvement: Cellular, Molecular Biology, and Induced Mutations, Science Publishers Inc., Enfield, 2004, p.263.
- [4] C. Wong, R. Kiew, J.P. Loh, L.H. Gan, O. Set, S.K. Lee, S. Lum, Y.Y. Gan, *Ann. Bot.* 88 (2001) 1017.
- [5] S. Creste, A.T. Neto, S.O. Silva, A. Figueira, *Euphytica*, 132 (2003) 259.
- [6] C.E. Oriero, O.A. Odunola, Y. Lokko, I. Ingelbrecht, *Afr. J. Biotechnol.* 5/2 (2006) 126.
- [7] D. Kaemmer, R. Afza, K. Weising, G. Kahl, *F.J. Novak, Euphytica* 96 (1997) 49.
- [8] G. Palacios, *Analysis of Genotype of Banana Clones, Resistant ('FHIA-01', 'FHIA-02', 'FHIA-03' and 'Cien Bta-03') and Susceptible ('Williams') to Black Sigatoka, Using Microsatellites Markers*, Abstract 3rd International Symposium on Molecular and Cellular Biology of Bananas, Leuven, Belgium, 2002.
- [9] D.M. Hautea, G.C. Molina, C.H. Balatero, N.B. Coronado, E.B. Perez, M.T.H. Alvarez, A.O. Canama, R.H. Akuba, R.B. Quilloy, R.B. Frankie, C. S. Caspillo, In: S.M. Jain, R. Swennen (Eds.), *Analysis of Induced Mutant of Philippine Bananas with Molecular Markers*, Banana Improvement: Cellular, Molecular Biology, and Induced Mutations, Science Publishers Inc., Enfield, 2004, p.45.
- [10] E.S. Rahayu, A. Retnoningsih, *Keanekaragaman Genetika Aksesori Pisang Diploid AA dan Triploid AAA Berdasarkan Penanda Mikrosatelit*, Laporan Penelitian, Universitas Negeri Semarang, Semarang, 2005.
- [11] A. Retnoningsih, R. Megia, M.A. Rifai, A. Hartana, *Keanekaragaman Genetika Pisang Berdasarkan SSR ('Simple Sequence Repeat')*, Seminar Nasional PTTI, Bogor, Indonesia, 2005.

- [12] A. Retnoningsih, Disertasi, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 2009.
- [13] A. Dixit, *Plant Mol. Bio. Rep.* 16 (1998) 1.
- [14] S. Creste, N.A Tullman, A. Figueria, *Plant Mol. Bio. Rep.* 19 (2001) 299.
- [15] X.J. Leroy, K. Leon, M. Branchard, *EJB Electron. J. Biotechnol.* 3/2 (2000) 1.
- [16] A. Karp, *Euphytica* 85 (1995) 295.