

RENCANA PENELITIAN TIM PENELITI (RPTP)

KARAKTERISASI GEN KETAHANAN FUSARIUM DAN OPTIMALISASI PERBENIHAN UNTUK MENUNJANG KONSERVASI DAN PENGEMBANGAN PISANG



Dr. Ir. AGUS SUTANTO, M.Sc.

BALAI PENELITIAN TANAMAN BUAH TROPIKA

PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN HORTIKULTURA
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN
KEMENTERIAN PERTANIAN

2017

LEMBAR PENGESAHAN

1. Judul RPTP : **Karakterisasi Gen Ketahanan Fusarium dan Optimalisasi Perbenihan Untuk Menunjang Konservasi dan Pengembangan Pisang**
2. Unit Kerja : Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika
3. Alamat Unit Kerja : Jl. Raya Solok – Aripan Km 8, PO Box 5, Solok 27301, Sumatera Barat
4. Sumber Dana : DIPA Tahun 2017
5. Status Penelitian (L/B) : Baru dan Lanjutan
6. Penanggung Jawab :
- a. Nama : Dr. Ir. Agus Sutanto, M.Sc.
- b. Pangkat/golongan : Penata Tingkat I/IIIId
- c. Jabatan : Peneliti Muda
7. Lokasi : Sumatera Barat, Jawa Barat, Lampung dan DIY Yogyakarta
8. Agroekosistem : Dataran Rendah - Tinggi
9. Tahun Mulai : 2015
10. Tahun Selesai : 2019
11. Output Tahunan (2017) :
1. Sedikitnya empat *Resistance Gene Analogue* (RGA) dan satu set data karakter ketahanan empat pisang liar asal Indonesia terhadap penyakit layu fusarium.
 2. Kultivar pisang lokal yang ditanam dan dimanfaatkan oleh petani (lima kultivar di Payakumbuh dan satu kultivar di Selayo dan Patuk) di tiga lingkungan yang berbeda, serta informasi daya adaptasinya.
 3. Satu set data informasi keragaman morfologis dan genetik tiga kultivar pisang hasil beberapa frekuensi subkultur.
 4. Satu draf karya tulis ilmiah yang siap dipublikasi dalam bentuk jurnal atau prosiding
12. Output Akhir (2019) :
1. Sedikitnya satu aksesi pisang liar yang tahan terhadap penyakit layu *Foc* sebagai calon tetua persilangan dan satu set gen ketahanan *Foc* yang bisa digunakan sebagai marka seleksi ketahanan *Foc*
 2. Sedikitnya satu kultivar lokal yang diminati, dikonservasi dan dikembangkan oleh petani di beberapa lingkungan yang berbeda.
 3. Satu set marka molekuler untuk mendeteksi *off-type* pada benih pisang asal kultur jaringan dan rekomendasi jumlah subkultur yang diperbolehkan pada perbanyakan pisang secara kultur jaringan
 4. Satu karya tulis ilmiah terpublikasi
13. Biaya : **Rp. 167.500.000,-**

Koordinator Program,

Penanggung Jawab RPTP,

Dr. Ir. Ellina Mansyah, MP.
Nip.19630423 199103 2 001

Dr. Ir. Agus Sutanto, M.Sc.
Nip.19670803 199303 1 003

Mengetahui
Kepala Pusat Penelitian
Dan Pengembangan Pertanian,

Kepala Balai Penelitian
Tanaman Buah Tropika,

Dr. Ir. Harfiyanto, M.Sc.
Nip.19600503 198603 1 001

Dr. Ir. Mizu Istianto, MP.
Nip. 19661230 199303 1 003

RINGKASAN

1. Judul RPTP : **Karakterisasi Gen Ketahanan Fusarium dan Optimalisasi Perbenihan Untuk Menunjang Konservasi dan Pengembangan Pisang**
2. Unit Kerja : Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika
Jl. Raya Solok – Aripan Km 8, PO Box 5, Solok 27301, Sumatera Barat
3. Lokasi : Sumatera Barat, Lampung, Jawa Barat dan DIY Yogyakarta
4. Agroekosistem : Dataran Tinggi – Rendah
5. Status :
 - a. Baru : Baru (kegiatan 1)
 - b. Lanjutan : Lanjutan (kegiatan 2 dan 3)
6. Tujuan :
 - a. Jangka Pendek (2017)
 1. Memperoleh sedikitnya empat *Resistance Gene Analogue* (RGA) dan satu set data karakter ketahanan empat pisang liar asal Indonesia terhadap penyakit layu fusarium
 2. Mengimplementasikan *on-farm conservation* kultivar pisang lokal (lima kultivar di Payakumbuh dan satu kultivar di Selayo dan Patuk) pada lahan petani di tiga lingkungan yang berbeda.
 3. Memperoleh satu set data informasi keragaman morfologis dan genetis tiga kultivar pisang hasil beberapa frekuensi subkultur.
 4. Menghasilkan satu draf karya tulis ilmiah yang siap dipublikasi dalam bentuk jurnal atau prosiding
 - b. Jangka panjang (2019)
 1. Memperoleh sedikitnya satu aksesori pisang liar yang tahan terhadap penyakit layu *Foc* sebagai calon tetua persilangan dan satu set gen ketahanan *Foc* yang bisa digunakan sebagai marka seleksi ketahanan *Foc*
 2. Mendapatkan sedikitnya satu kultivar lokal yang diminati, dikonservasi dan dikembangkan oleh petani di tiga lingkungan yang berbeda.
 3. Menghasilkan satu set marka molekuler untuk mendeteksi *off-type* pada benih pisang asal kultur jaringan dan rekomendasi jumlah subkultur yang diperbolehkan pada perbanyakan pisang secara kultur jaringan
 4. Menghasilkan satu karya tulis ilmiah terpublikasi
7. Keluaran yang diharapkan
 - a. Jangka Pendek (2017)
 1. Sedikitnya empat *Resistance Gene Analogue* (RGA) dan satu set data karakter ketahanan empat pisang liar asal Indonesia terhadap penyakit layu fusarium.
 2. Implementasikan *on-farm conservation* kultivar pisang lokal (lima kultivar di Payakumbuh dan satu kultivar di Selayo dan Patuk) pada lahan petani di tiga lingkungan yang berbeda.

- | | |
|---------------------------------|--|
| b. Jangka Panjang
(2019) | <ol style="list-style-type: none"> 3. Satu set data informasi keragaman morfologis dan genetik tiga kultivar pisang hasil beberapa frekuensi subkultur. 4. Satu draf karya tulis ilmiah yang siap dipublikasi dalam bentuk jurnal atau prosiding <ol style="list-style-type: none"> 1. Sedikitnya satu aksesi pisang liar yang tahan terhadap penyakit layu <i>Foc</i> sebagai calon tetua persilangan dan satu set gen ketahanan <i>Foc</i> yang bisa digunakan sebagai marka seleksi ketahanan <i>Foc</i> 2. Satu kultivar lokal yang diminati, dikonservasi dan dikembangkan oleh petani di beberapa lingkungan yang berbeda. 3. Satu set marka molekuler untuk mendeteksi <i>off-type</i> pada benih pisang asal kultur jaringan dan rekomendasi jumlah subkultur yang diperbolehkan pada perbanyakan pisang secara kultur jaringan 4. Satu karya tulis ilmiah terpublikasi |
| 8. Prakiraan Hasil
(outcome) | <ol style="list-style-type: none"> 1. Keberadaan kultivar lokal yang baru mampu meningkatkan pendapatan masyarakat khususnya petani 2. Ketersediaan benih pisang bermutu meningkat |
| 9. Prakiraan Manfaat | <ol style="list-style-type: none"> 1. Tersedianya informasi gen ketahanan penyakit yang bisa digunakan dalam pemuliaan dan seleksi ketahanan penyakit tanaman pisang 2. Dikenal dan disebarkannya kultivar lokal yang mempunyai nilai ekonomis tinggi 3. Tersedianya teknologi untuk menguji kemurnian kultivar pisang asal kultur jaringan |
| 10. Prakiraan Dampak | <ol style="list-style-type: none"> 1. Perkembangan ilmu pemuliaan tanaman pisang meningkat 2. Pendapatan dan kesejahteraan petani pisang dapat meningkat, serta perekonomian masyarakat menjadi lebih baik 3. Kesenambungan agribisnis tanaman pisang |
| 11. Metodologi | <ol style="list-style-type: none"> 1. Isolasi dan Karakterisasi Gen Ketahanan Terhadap Penyakit Layu Fusarium Pada Beberapa Pisang Liar Indonesia.
Kegiatan ini terdiri atas 2 sub kegiatan, yaitu :
<i>Seleksi populasi semai asal biji empat pisang liar Indonesia yang tahan terhadap penyakit layu fusarium.</i> Kegiatan dimulai dengan pengumpulan biji dari empat pisang liar, yaitu <i>M. balbisiana</i> asal NTT, <i>M. acuminata</i> ssp. <i>sumatrana</i>, <i>M. acuminata</i> ssp. <i>halabanensis</i>, <i>M. acuminata</i> ssp. <i>microcarpa</i>. Biji disemai pada media pasir, setelah tumbuh dipindah ke pot kecil untuk selanjutnya diinokulasi dengan cendawan fusarium VCG 01213/16 (TR4) dan VCG 0124/5 (R1) setelah jumlah |

daunnya 4-5 helai. Tanaman yang masih bertahan dalam waktu satu bulan dievaluasi lebih lanjut pada kondisi lapang.

Isolasi Resistance Gene Analogue (RGA) beberapa pisang kultivar dan liar asal Indonesia.

Kegiatan dimulai dengan isolasi DNA yang berasal dari dua kultivar sebagai pembanding (satu rentan: Barangan, satu tahan: Raja Kinalun), dan empat liar (*M. balbisiana* asal NTT, *M. acuminata* ssp. *sumatrana*, *M. acuminata* ssp. *halabanensis*, *M. acuminata* ssp. *microcarpa*). Isolasi fragmen RGA menggunakan primer degenerate. Produk PCR dikloning, disequencing dan serta dilakukan analisis menggunakan BLASTN, BLASTP, *multiple alignment* dan filogenetik.

2. *On Farm Conservation* Kultivar Pisang Lokal Indonesia Di Lahan Petani

Kegiatan dilakukan dengan menanam lima kultivar pisang lokal (@. 50 tanaman) di lahan petani di Kecamatan Situjuh Kab. Payakumbuh (dataran tinggi) [lanjutan tahun 2016], masing-masing 500 tanaman satu kultivar Kepok Tanjung di Kec. Selayo Kab. Solok (dataran menengah) dan Kec. Patuk Kab. Gunung Kidul (dataran rendah) [Baru, 2017]. Sosialisasi program dilakukan agar petani dapat mengenal kultivar lokal dan merawatnya secara optimal, serta akan memanfaatkannya untuk menghasilkan produk olahan pisang tersebut sesuai dengan karakter unggul masing-masing. Pengamatan dilakukan terhadap respon masyarakat dan dampaknya (lokasi Payakumbuh) dan pertumbuhan vegetatif Kepok Tanjung di lapang (lokasi Solok dan Gunung Kidul).

3. *Evaluasi Keragaan Morfologi dan Molekuler Tiga Kultivar Pisang Hasil Perlakuan Subkultur Secara In Vitro.*

Kegiatan dibagi menjadi dua sub kegiatan, yaitu:
Evaluasi keragaan morfologis tiga kultivar pisang hasil perlakuan subkultur. Penelitian ini adalah melanjutkan kegiatan TA 2016 yang mengevaluasi tanaman hasil subkultur 4, 6, 8 dan 10 di lapang, dan juga menanam baru menggunakan planlet hasil perbanyakan *in vitro* asal subkultur 8 dan ≥ 10 kali dari kultivar pisang yaitu Ambon Hijau, Barangan, dan Kepok Tanjung. Setiap kultivar berisi 100 tanaman. Benih ditanam di lapang dengan jarak tanam 3 X 3 m dan ukuran lubang tanam adalah 50X50X50 cm. Perawatan tanaman berupa

pemupukan, penyiangan dan pengairan dilakukan secara optimal.

Evaluasi keragaan molekuler tiga kultivar pisang hasil perbanyakan secara in vitro menggunakan marka RAPD. Pengamatan penelitian dilakukan di Laboratorium Uji Mutu, Balitbu Tropika. Penelitian menggunakan DNA genom dari tiga kultivar hasil hasil 8 dan ≥ 10 kali subkultur benih kultur jaringan dari tiga kultivar; Ambon Hijau, Barangan dan Kepok Tanjung, menggunakan tiga primer RAPD. Pengamatan DNA pada tanaman induk dan anaknya.

12. Waktu :
Mulai : Januari 2017
Selesai : Desember 2017
13. Biaya : **Rp. 167.500.000,-**

SUMMARY

1. Title : **The Characterization of Resistance Genes Against Fusarium Wilt and the Optimalization of Seed Production to Support Banana Conservation and Development**
2. Institution : Indonesian Tropical Fruit Research Institute
Jl. Raya Solok-Aripan Km 8 PO BOX 5 Solok 27301,
West Sumatra, Indonesia.
3. Location : West Sumatra, West Java and DIY Yogyakarta
4. Agroecosystem : Lowland to highland
5. Status :
- c. New : New and Continued
- d. Continue (Year) : Continued (2017)
6. Objectives :
- b. Short term (2017)
1. To find out at least four RGAs and a data set of fusarium wilt resistance characters of four wild Indonesian *Musa*
 2. To implement an on-farm conservation of local banana cultivars on farmer fields with three different environmental sites.
 3. To obtain one data set of morphological and molecular genetic variabilities of three *in vitro* cultured banana cultivars resulted from several frequency of subcultures.
 4. To produce one draft of manuscript for scientific journal or proceeding.
- b. End of the project (2019)
1. To find out at least one *Foc* resistant wild *Musa* for the candidate of breeding parent and one set of *Foc* resistance genes that can be used as *Foc* resistance selection markers
 2. To find out one local banana cultivar that preferred, conserved and developed by farmers in three different environmental sites.
 3. To obtain set of molecular marker for off-type detection of tissue cultured banana seedlings and the recommendation of subculture number allowed in banana tissue culture.
 4. To generate one published scientific papers.
7. Expexted Output
- c. Short term (2017)
1. At least four RGAs and a data set of fusarium wilt resistance characters of four wild Indonesian *Musa*
 2. Implementation of *on-farm conservation* of local banana cultivars (five cultivars in Payakumbuh and one cultivar in Selayo and Patuk) on farmer fields with three different environmental sites.
 3. One data set of morphological and molecular genetic variabilities of three *in vitro* cultured

	banana cultivars resulted from several frequency of subcultures.
	4. One draft of manuscript for scientific journal or proceeding
d. End of the project (2019)	<ol style="list-style-type: none"> 1. At least one <i>Foc</i> resistant wild <i>Musa</i> for the candidate of breeding parent and one set of <i>Foc</i> resistance genes that can be used as <i>Foc</i> resistance selection markers 2. One local banana cultivar that preferred, conserved and developed by farmers in three different environmental sites. 3. One set of molecular marker for <i>off-type</i> detection of tissue cultured banana seedlings and the recommendation of subculture number allowed in banana tissue culture. 4. One published scientific papers.
8. Expected Outcome	<ol style="list-style-type: none"> 1. The existence of new commercial local cultivars will increase farmer income 2. The availability of qualified banana seedlings are increased
9. Expected benefit	<ol style="list-style-type: none"> 1. The availability of resistance genes that can be utilized for banana breeding programmes 2. Commercial local banana cultivars are well-known and distributed by farmers 3. The technology for identification of genetic fidelity of tissue cultured banana is available.
10. Expected Impact	<ol style="list-style-type: none"> 1. The banana breeding programmes are increased 2. Farmer income and prosperity are increased 3. Sustainability of banana agribisnis
11. Methodology	<ol style="list-style-type: none"> 1. The Isolation and Characterization of Resistance Gene to Fusarium Wilt on Indonesian Wild <i>Musa</i> Species. This activity consist of two sub activities : <i>The Selection of Seedling Population of Four Indonesian Wild Musa Against Fusarium Wilt Disease.</i> The experiment will be initiated by the preparation of seeds of four wild <i>Musa</i> namely <i>M. balbisiana</i> fom NTT, <i>M. acuminata</i> ssp. <i>sumatrana</i>, <i>M. acuminata</i> ssp. <i>halabanensis</i>, <i>M. acuminata</i> ssp. <i>microcarpa</i>. The seedlings will be transferred to small pots prior to fusarium inoculation (VCG 01213/16 [TR4] dan VCG 0124-5 [R1]). Resistant plantlets will be transferred to the soil for further evaluation. <i>The isolation of Resistance Gene Analogue (RGA) of Cultivars and Wild of Indonesian Banana.</i> The experiments will be initiated by the

isolation of genomic DNA of two banana cultivars (one susceptible cultivar: Barangan and one resistant cultivar: Rejang), and four wild species (*M. balbisiana* from NTT, *M. acuminata* ssp. *sumatrana*, *M. acuminata* ssp. *halabanensis*, *M. acuminata* ssp. *microcarpa*). Degenerate primers will be used to isolate of RGA fragments. PCR product will be cloned, sequenced and analyzed using BLASTN, BLASTP, multiple alignment and phylogenetic analysis.

2. **On Farm Conservation of Indonesian banana local cultivars on farmers fields.**

The research will be conducted by planting 5 banana local cultivars (50 plants per cultivar) on farmer field in Situjuh district, Payakumbuh regency (high land) [continue], and 500 Kepok Tanjung in Selayo district, Solok regency (midland) and Patuk district, Gunung Kidul regency (lowland) [new], respectively. The socialization of the programmes will be carried out to introduce new local cultivars, maintain the plants optimally, and utilized to produce banana products based of their superiority. The observation will be included the response and impact to the community in Payakumbuh. While in Solok and Gunung Kidul, the vegetative growth of Kepok Tanjung will be recorded.

3. **The Evaluation of Morphological and Molecular Performances of Three Banana Cultivars Resulted from *In Vitro* Subculture Frequency Treatments.**

The experiments are divided in two activities, there are:

The evaluation of morphological performance of three tissue cultured banana cultivars after subculture frequency treatments. Plantlets obtained from *in vitro* 4th, 6th, 8th and 10th subcultures (year 2016), new planting of 8th and 10th-subculture plantlets of three cultivars: Ambon Hijau, Barangan and Kepok Tanjung. The plantlets will be planted into the planted hole at 50X50X50 cm in size and at the distance 3X3 m. All the plants are optimally maintained such as fertilization, irrigation, weeding and desuckering.

The evaluation of molecular variation of three banana cultivars resulted from *in vitro* subculture using RAPD marker. The research will be carried out at Quality

Assessment laboratory of Indonesian Tropical Fruit Research Institute. This research will use genomic DNA of three banana cultivars obtained from *in vitro* 8th and $\geq 10^{\text{th}}$ subcultures, and PCR amplified using three RAPD primers. Genomic DNA will be extracted from young leaves of parents and the ratoons.

12. Duration
- a. Start : January 2017
 - b. Finish : December 2017
13. Budget : **Rp. 167,500,000,-**

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sektor pertanian adalah sektor yang sangat dipengaruhi oleh perubahan iklim. Pengaruh yang ditimbulkan biasa secara langsung terhadap tanaman atau hama dan penyakit (Nelson *et al.* 2009). Perubahan iklim yang dapat dirasakan adalah adanya perubahan suhu udara dan kekurangan atau kelebihan air hujan yang secara nyata akan mempengaruhi vigoritas tanaman. Salah satu contoh adanya perubahan iklim di daerah subtropis Australia menyebabkan menurunnya produksi pisang, karena menurunnya curah hujan pada musim semi. Sedangkan pengaruh pada hama adalah terjadinya migrasi besar-besaran dari satu daerah ke daerah lain yang terdapat inang dari hama yang bersangkutan. Perubahan iklim juga menyebabkan perkembangan patogen menjadi lebih cepat di beberapa daerah seperti Vietnam Utara. *Banana black leaf spot* berkembang dengan baik pada kondisi ekstrim panas dan ekstrim dingin (Vanessa 2011). Hal ini tidak menutup kemungkinan berkembangnya juga hama dan penyakit pisang lainnya seperti penggerek batang dan bonggol, layu fusarium, penyakit darah, BBTV, CMV dan lain-lain.

Sebagai daerah pusat dan asal keragaman pisang Indonesia juga sebagai tempat berkembangnya kompleks hama dan penyakit pisang, salah satunya adalah layu *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (*Foc*) yang menjadi kendala utama dalam pengembangan tanaman pisang di Indonesia. Layu fusarium menghancurkan pertanaman pisang Cavendish di Mojokerto dan Lampung, pisang Barangan di Sumatera Utara dan Aceh, pisang Ambon Hijau di Sumatera Barat, pisang Ambon Kuning di Jawa Timur, Jawa Tengah dan Jawa Barat (Hermanto 2008).

Salah satu strategi pengendalian penyakit tanaman pisang yang sangat efektif adalah dengan menggunakan kultivar pisang yang tahan terhadap penyakit (Rowe & Rosales 1996), karena tidak memerlukan bahan kimia sebagai bahan pestisida sehingga aman bagi lingkungan sekitarnya. Penggunaan kultivar tahan terhadap penyakit bisa berasal dari sumber daya genetik yang telah ada ataupun berasal dari program pemuliaan tanaman atau perbaikan kultivar, baik secara konvensional maupun non konvensional.

Program pengembangan kultivar tahan melalui teknik rekayasa genetika merupakan salah satu alternatif pemecahannya. Saat ini, informasi tentang aspek molekuler dari gen-gen yang berperan terhadap mekanisme ketahanan terhadap penyakit layu FOC terutama ras 4 tropika (TR4) masih sangat terbatas. Di lain pihak Indonesia sebagai negara dengan keragaman hayati yang sangat tinggi (*Mega diversity*) termasuk pisang dan kerabatnya berpotensi sebagai sumber gen-gen potensial yang berperan dalam mekanisme ketahanan dan pertahanan terhadap penyakit utama pisang. Oleh karena itu perlu dilakukan penggalian informasi keragaman gen-gen tersebut melalui kegiatan penelitian molekuler yang berbasis teknik PCR.

Pengembangan pisang secara monokultur pada suatu daerah akan mengancam keberadaan kultivar lokal di daerah tersebut, karena kurang diperhatikan dan ditanam sehingga akhirnya punah dengan sendirinya. Salah satu usaha untuk melestarikan kultivar lokal dengan memanfaatkan potensi yang dimilikinya sehingga masyarakat akan terus menerus menanamnya. Metode ini yang disebut dengan *on farm conservation*, yang selain bertujuan untuk konservasi juga untuk menggali potensi suatu kultivar lokal yang bisa dimanfaatkan untuk kesejahteraan masyarakat (Gauchan *et al.* 2005). Disamping itu juga menguji kemampuan adaptasi dari kultivar lokal apabila tumbuh di tempat yang bukan asalnya.

Untuk memenuhi kebutuhan benih pisang yang makin meningkat, diperlukan teknologi penyediaan benih secara massal dan dapat dilakukan menggunakan teknologi kultur jaringan (Lee, 2005; Shankar *et al.* 2014). Namun demikian, sistem perbanyakan ini menghadapi masalah yaitu munculnya variasi somaklonal pada tanaman hasil perbanyakan secara kultur jaringan (Sheida *et al.* 2008). Oleh karena itu diperlukan perbaikan teknologi kultur jaringan pisang dan sistem monitoring genetik secara ketat untuk mengurangi peluang terjadinya penyimpangan (*off type*) pada bahan tanam yang dihasilkan.

1.2 Dasar Pertimbangan

Selain sebagai sumber keragaman plasma nutfah pisang, Indonesia juga dapat dikatakan sebagai pusat dari gene pool pisang karena beragam karakter bisa ditemukan termasuk ketahanan terhadap penyakit yang diatur oleh

beberapa gen. Dengan mengetahui struktur gen-gen tersebut, maka akan dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan tanaman tahan cekaman melalui rekayasa genetika ataupun sebagai marka seleksi ketahanan terhadap cekaman.

Dengan makin berkembangnya kultivar pisang yang ditanaman secara monokultur seperti Cavendish, akan mendesak kultivar-kultivar lokal yang sebetulnya mempunyai keunggulan yang lebih tinggi dibanding Cavendish. Oleh karena itu perlu kegiatan pengenalan dan pengembangan kultivar lokal pada petani serta mengetahui daya terima petani dan pasar terhadap pisang lokal tersebut, sehingga diharapkan selain kegiatan konservasi yang dilakukan oleh petani juga akan meningkatkan kesejahteraan petani.

Selama ini untuk penyebaran benih pisang hasil kultur jaringan masih terkendala labelisasi dari BPSB yang mensyaratkan subkultur hanya sampai 5 kali untuk mengurangi peluang terjadinya off-type. Hasil penelitian menunjukkan kepekaan off-type dipengaruhi oleh kultivar. Kegiatan penelitian yang dilakukan di Balitbu Tropika telah menganalisis secara molekuler benih hasil beberapa frekuensi subkultur pada perbanyakan kultur jaringan, dan saat ini sedang dilakukan evaluasi di lapang. Hasil yang diperoleh akan bisa dijadikan rekomendasi jumlah subkultur untuk setiap kultivar yang diperbanyak secara kultur jaringan

1.3 Tujuan

a. Jangka Pendek (2017) :

1. Memperoleh sedikitnya empat *Resistance Gene Analogue* (RGA) dan satu set data karakter ketahanan empat pisang liar asal Indonesia terhadap penyakit layu fusarium
2. Mengimplementasikan *on-farm conservation* kultivar pisang lokal (lima kultivar di Payakumbuh dan satu kultivar di Selayo dan Patuk) pada lahan petani di tiga lingkungan yang berbeda.
3. Memperoleh satu set data informasi keragaman morfologis dan genetis 3 kultivar pisang hasil beberapa frekuensi subkultur.
4. Menghasilkan satu draf karya tulis ilmiah yang siap dipublikasi dalam bentuk jurnal atau prosiding

b. Jangka Panjang (2019):

1. Memperoleh sedikitnya satu aksesori pisang liar yang tahan terhadap penyakit layu *Foc* sebagai calon tetua persilangan dan satu set gen ketahanan *Foc*. yang bisa digunakan sebagai marka seleksi ketahanan *Foc*
2. Mendapatkan satu kultivar lokal yang diminati, dikonservasi dan dikembangkan oleh petani di tiga lingkungan yang berbeda.
3. Menghasilkan satu set marka molekuler untuk mendeteksi *off-type* pada benih pisang asal kultur jaringan dan rekomendasi jumlah subkultur yang diperbolehkan pada perbanyakan pisang secara kultur jaringan
4. Menghasilkan satu sampai dua karya tulis ilmiah terpublikasi

1.4 Keluaran yang Diharapkan

a. Jangka pendek (2017)

1. Sedikitnya empat *Resistance Gene Analogue* (RGA) dan satu set data karakter ketahanan empat pisang liar asal Indonesia terhadap penyakit layu fusarium.
2. Implementasikan *on-farm conservation* kultivar pisang lokal (lima kultivar di Payakumbuh dan satu kultivar di Selayo dan Patuk) pada lahan petani di tiga lingkungan yang berbeda.
3. Satu set data informasi keragaman morfologis dan genetis 3 kultivar pisang hasil beberapa frekuensi subkultur.
4. Satu draf karya tulis ilmiah yang siap dipublikasi dalam bentuk jurnal atau prosiding

c. Jangka panjang (2019)

1. Sedikitnya satu aksesori pisang liar yang tahan terhadap penyakit layu *Foc* sebagai calon tetua persilangan dan satu set gen ketahanan *Foc*. yang bisa digunakan sebagai marka seleksi ketahanan *Foc*.
2. Satu kultivar lokal yang diminati, dikonservasi dan dikembangkan oleh petani di beberapa lingkungan yang berbeda.
3. Satu set marka molekuler untuk mendeteksi *off-type* pada benih pisang asal kultur jaringan dan rekomendasi jumlah subkultur yang diperbolehkan pada perbanyakan pisang secara kultur jaringan

4. Satu sampai dua karya tulis ilmiah terpublikasi

1.5 Perkiraan Manfaat dan Dampak

a. Manfaat

1. Tersedianya informasi gen ketahanan yang bisa digunakan dalam pemuliaan tanaman pisang
2. Dikenal dan disembarkannya kultivar lokal yang mempunyai nilai ekonomis tinggi
3. Tersedianya teknologi untuk menguji kemurnian kultivar pisang asal kultur jaringan

b. Dampak

1. Perkembangan ilmu pemuliaan tanaman pisang meningkat
2. Pendapatan dan kesejahteraan petani pisang dapat meningkat, serta perekonomian masyarakat menjadi lebih baik
3. Kesinambungan agribisnis tanaman pisang

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kerangka Teoritis

Benih yang sehat merupakan salah satu faktor kunci keberhasilan usaha. Benih tersebut harus sehat, kemurnian tinggi, dan berasal dari kultivar unggul yang berpotensi produksi tinggi dan juga mudah diperoleh petani. Penyediaan benih pisang secara massal dapat dilakukan dengan teknologi kultur jaringan. Namun demikian beberapa publikasi menyebutkan bahwa keseragaman tanaman hasil perbanyakan pisang secara kultur jaringan sangat dipengaruhi oleh frekuensi subkultur. Semakin tinggi subkultur semakin tinggi variasi somaklonal yang terjadi (Tang, 2005). Menurut Reuveni and Israeli (1990) untuk menghindari variasi somaklonal yang terlalu tinggi, subkultur biakan pisang Grande Naine dalam perbanyakan secara kultur jaringan tidak boleh lebih dari enam kali. Namun demikian dari hasil penelitian Chavan-Patil (2010), sampai dengan subkultur ke 8, kultivar yang sama menghasilkan frekuensi variasi sebesar 2 % dan masih menghasilkan produksi yang normal bila dibandingkan dengan biakan yang disubkultur sebanyak 15 kali dengan variasi sebesar 2-10 %.

Variasi somaklonal pada tanaman hasil perbanyakan dibuktikan secara molekuler dengan menggunakan RAPD oleh Sheidai *et al.* (2008; 2010), beberapa lokus berkurang sejalan dengan meningkatnya frekuensi subkultur kultivar Valerie (subgroup Cavendish) dan Dwarf Cavendish. Tetapi Lakshmanan (2007) menyatakan hal yang berbeda, yaitu bahwa perbanyakan tanaman pisang kultivar Nanjanagudu Rajabale (NR) secara kultur jaringan dan disubkultur sebanyak 150 kali pada media dasar MS yang mengandung nitrat 75% dari media standar dan ditambah dengan 2 mg^l⁻¹BAP, 1 mg^l⁻¹kinetin dan 80 mg^l⁻¹ascorbic acid, menghasilkan bahan tanam yang seragam secara genetik berdasarkan hasil analisis RAPD dan ISSR. Sementara itu, Lu *et al.* (2011) menggunakan pendekatan analisis ISSR memperoleh hasil bahwa variasi somaklonal pada tanaman pisang hasil kultur jaringan juga dipengaruhi oleh kultivar. Beberapa kultivar yang diuji menunjukkan polimorfisme kecuali kultivar 'Brazil'.

Gen ketahanan (*R-gene*) berperan dalam mekanisme pengenalan adanya patogen, sedangkan gen pertahanan berperan dalam melawan dan mematikan patogen. Sebagian besar gen ketahanan (*R gene*) yang telah teridentifikasi menyandikan protein reseptor yang mengandung domain *nucleotide binding site* dan *leucine rich repeat* (NBS-LRR) yang menghasilkan ketahanan terhadap hama dan penyakit tanaman yaitu serangga hama, cendawan, bakteri, virus dan nematoda (Dangl & Jones 2001). Protein reseptor NBS-LRR mengenali protein efektor patogen dan menghasilkan sinyal transduksi yang akan menstimulir ekspresi pertahanan terhadap patogen (Caplan *et al.* 2008). Komposisi gen NBS-LRR terdiri dari beberapa domain yaitu *N-terminal*, *nucleotide binding site* (NBS), dan *C-terminal LRR*. Khusus domain NBS mengandung motif p-loop atau kinase-1, kinase-2, kinase-3a and *hydrophobic* (GLPL), yang sangat terkonservasi pada berbagai *ATP-/GTP-binding protein* dan berbagai organisme (Traut 1994).

2.2 Hasil-hasil Penelitian/Pengkajian Terkait

Berbagai kegiatan penelitian dan informasi untuk meningkatkan kualitas tanaman dan produksi buah pisang sudah cukup banyak dilaporkan. Teknologi perbanyakan pisang secara kultur jaringan sudah banyak dikembangkan. Teknik kultur jaringan pisang yang diterapkan memberikan respon yang berbeda untuk tiap-tiap kultivar. Beberapa kultivar seperti Ambon Kuning, Ambon Hijau dan Barangan menunjukkan respon pertumbuhan tunas yang cepat, sedangkan beberapa kultivar lainnya seperti Kepok, Ketan dan Tanduk memberikan respon yang kurang bagus. Perbanyakan kultur jaringan dengan induksi organogenesis dari potongan bonggol *in vitro* (Sutanto *et al.* 2003a) dan *floral axis* (Sutanto *et al.* 2003b) juga memberikan kemampuan multiplikasi yang berbeda untuk tiap kultivar yang dicoba. Pemanfaatan bahan kimia teknis seperti pupuk cair dan gula pasir untuk mengganti bahan kimia pro-analis dan sumber karbon pada perbanyakan pisang kultur jaringan juga dilakukan untuk menekan biaya produksi (Meldia *et al.* 1999). Usaha untuk meningkatkan kemampuan multiplikasi tunas beberapa kultivar yang sulit berkembang secara *in vitro* dilakukan dengan menambahkan thidiazuron pada media tanam pada subkultur ketiga (Lee 2005).

Sampai dengan tahun 2013 sudah terdaftar lebih dari 180 fragmen gen RGA dari kelas NBS-LRR yang diisolasi dari tanaman pisang dalam pangkalan data NCBI. Namun demikian setelah periksa kembali sekuen nukleotida dan asam aminonya, hanya 168 sekuen yang mempunyai ciri-ciri NBS-LRR yaitu yang mengandung motif p-loop/kinase-1a, kinase-2, kinase-3 dan GLPL (Pei *et al.* 2007; Peraza-Echeverria *et al.* 2008; Azhar & Heslop-Harrison 2008; Sun *et al.* 2009; Sutanto *et al.* 2014). Banyaknya RGA tipe NBS-LRR LRR dari tanaman pisang yang teridentifikasi, akan dapat memberikan gambaran besarnya famili NBS dalam tanaman pisang. Berdasarkan hal tersebut sebetulnya masih banyak RGA yang bisa dieksplorasi, terutama dari kultivar pisang lokal maupun spesies liar asal Indonesia.

Penerapan *on farm conservation* telah berhasil dengan baik pada pelestarian dan pemanfaatan kultivar pisang lokal India di Kerala dan yang tumbuh di dataran tinggi Nagaland India. Dengan program tersebut, selain melestarikan kultivar lokal, India juga berhasil meningkatkan produksi pisang secara nasional dan menempati urutan pertama dunia untuk negara penghasil pisang.

Kegiatan ini merupakan kegiatan lanjutan dari tahun sebelumnya. Pada saat ini tanaman hasil perbanyakan secara kultur jaringan dari subkultur ke 4, 6, 8 dan 10 telah ditanam di lapang dan berumur 2 bulan, masih belum menampakkan perbedaan/penyimpangan meskipun secara molekuler terdapat polimorfisme pada hasil PCR. Pengamatan akan dilanjutkan pada tahun 2017.

III. METODOLOGI

3.1. Pendekatan

Kegiatan yang menggunakan pendekatan semua unsur penelitian, yaitu eksperimental, observasi dan survey adalah isolasi gen dan pencarian materi genetik pisang liar yang ada di Sumatera Barat. Sedangkan untuk kegiatan *on-farm conservation/management* mengandung unsur observasi dan survey respon dari petani/kelompok tani. Untuk evaluasi hasil subkultur merupakan penelitian experimental dan observasi.

3.2. Ruang Lingkup

Ruang lingkup dari penelitian ini adalah 1) Isolasi dan karakterisasi gen ketahanan beberapa pisang liar, 2) Uji adaptasi dan preferensi 5 kultivar pisang lokal Indonesia di tiga agroekosistem yang berbeda 3) Evaluasi keragaan morfologis dan molekuler pisang hasil perlakuan subkultur di kultur jaringan.

3.3. Metode Pelaksanaan

3.3.1. Kegiatan 1. Isolasi dan Karakterisasi Gen Ketahanan Terhadap Penyakit Layu Fusarium Pada Beberapa Pisang Liar Indonesia.

3.3.1.1. Bahan

Untuk seleksi dan pengujian ketahanan semai pisang liar digunakan isolat *Foc* VCG 01213/16 dan 0124/5 yang terlebih dahulu dibiakkan pada media PDA, dengan kepadatan konidia 10^6 /ml. Bahan tanaman yang digunakan adalah semaian asal biji dari pisang liar yaitu *M. acuminata* ssp. *sumatrana*, *M. acuminata* ssp. *halabanensis* yang berasal dari Sungai Tarap, *M. balbisiana* asal NTT dan *M. acuminata* ssp. *microcarpa* yang berasal dari koleksi Balitbu Tropika serta planlet hasil *in vitro* pisang Barangan sebagai kontrol rentan. Setiap aksesori diperlukan 100 semaian. Bahan lain yang dibutuhkan adalah media pasir, pupuk kandang dan tanah untuk persemaian, pupuk cair dan bahan penunjang lainnya.

Untuk isolasi dan karakterisasi gen ketahanan, DNA genom berasal dari daun muda 2 kultivar pisang sebagai pembanding (rentan= Barangan, tahan= Raja Kinalun), dan 4 pisang liar (*M. balbisiana* asal NTT, *M. acuminata* ssp. *sumatrana*, *M. acuminata* ssp. *halabanensis*, *M. acuminata* ssp. *microcarpa*) yang

diisolasi berdasarkan metode CTAB (Doyle & Doyle 1987) dan dimodifikasi oleh Das *et al.* (2009). Bahan yang digunakan untuk analisa molekuler yaitu bahan kimia untuk buffer, kit PCR, primer, kit kloning, kit purifikasi produk PCR dan bahan penunjang lainnya. Peralatan yang digunakan untuk kegiatan molekuler antara lain adalah freezer -20° C, mesin PCR, elektroforesis, Gel Doc, *waterbath*, *shaker*.

3.3.1.2. Waktu dan Tempat

Kegiatan akan dilaksanakan mulai Januari sampai Desember 2017 di Laboratorium Proteksi dan Uji Mutu Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika di Aripan dan Sumani.

3.3.1.3. Prosedur

A. Seleksi populasi semai asal biji empat pisang liar Indonesia yang tahan terhadap penyakit layu fusarium

Persiapan bahan tanam:

Biji buah pisang liar yang sudah masak penuh dicuci bersih dan disemai pada tray plastik yang berisi media pasir. Semaian yang tumbuh (\pm 1 bulan setelah berkecambah) dipindah ke pot yang berisi campuran media tanah dan pupuk kandang. Setelah tingginya \pm 15 cm (5-6 helai daun), siap digunakan untuk pengujian.

Persiapan inokulum:

Isolat yang telah dikonservasi pada kertas saring diperbanyak pada media *potato dextrose agar* (PDA) selama 7–10 hari. Inokulum yang digunakan berupa suspensi konidia dengan kepadatan 10^6 konidia/ml. Kerapatan konidia dihitung menggunakan *haemositometer*.

Inokulasi cendawan FOC:

Inokulasi *Foc* dilakukan menggunakan teknik perendaman akar (*dipping root technique*). Akar tanaman yang telah dicuci bersih direndam selama 5 menit dalam larutan inokulum. Setelah itu benih pisang ditanam pada pot plastik volume 250 ml dengan teknik *double cup* (Mohamed *et al.*, 1999), dimana pot bagian luar berisi larutan nutrisi (*Hyponex*) dan pot dalam berisi 200 ml pasir

steril. Bagian bawah pot sebelah dalam (pot media pasir) dipelihara untuk selalu menyentuh permukaan nutrisi.

Peubah yang diamati

Peubah yang diamati dalam penelitian ini ialah sebagai berikut :

- Masa inkubasi, diamati mulai sehari setelah perlakuan sampai dengan munculnya gejala awal serangan *Foc* berupa penguningan pada pinggir helaian daun tua.
- Persentase tanaman terserang, dihitung pada akhir pengamatan (2 bulan setelah perlakuan) menggunakan rumus :

$$\text{Persen tanaman terserang} = \frac{T1}{T2} \times 100\%$$

T1 = Jumlah tanaman terserang tiap perlakuan,
T2 = Jumlah tanaman yang diamati.

- Indeks keparahan penyakit pada daun, dihitung jumlah daun bergejala menguning pada tanaman perlakuan. Kemudian dilakukan skoring kerusakan berdasarkan skala Mohamed *et al.* (1999) yang dimodifikasi, yaitu:
 - 1 = tidak ada gejala pada daun (tanaman sehat),
 - 2 = 1–10% daun menguning/bergejala,
 - 3 = 11–25% daun menguning/bergejala,
 - 4 = 26–50% daun menguning/bergejala,
 - 5 = >50% daun menguning/bergejala, dan
 - 6 = tanaman mati.

Pengamatan dilakukan setiap minggu sampai 2 bulan setelah perlakuan. Indeks keparahan penyakit pada bonggol dilakukan pada akhir pengamatan, yaitu 2 bulan setelah perlakuan. Bonggol dibersihkan dan seluruh akar dibuang, kemudian bonggol dipotong secara melintang pada bagian leher. Selanjutnya dilakukan skoring kerusakan bonggol berdasarkan skala Jones (1994), yaitu :

- 1= tidak ada bintik hitam pada jaringan bonggol, skala
- 2= ada bintik hitam yang menutupi < 1/3 dari jaringan bonggol, skala
- 3= ada bintik hitam yang menutupi 1/3 dari jaringan bonggol, skala
- 4= ada bintik hitam yang menutupi 1/3-2/3 dari jaringan bonggol, skala
- 5= ada bintik hitam yang menutupi > 2/3 dari jaringan bonggol, dan skala
- 6= seluruh jaringan bonggol hitam sampai bonggol busuk/tanaman mati.

Indeks keparahan penyakit pada daun dan bonggol dihitung dengan rumus:

$$DSI = \frac{\Sigma(\text{Skor} \times \text{Jumlah tanaman pada skor tersebut})}{\Sigma(\text{Jumlah tanaman yang diperlakukan})}$$

Kategori ketahanan tanaman dinilai berdasarkan data persentase tanaman terserang serta indeks keparahan penyakit pada daun (LDSI) dan bonggol (CDSI) dengan memodifikasi skala yang dibuat Mohammed *et al.* (1999) seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Kategori ketahanan pisang berdasarkan persentase tanaman terserang, serta indeks keparahan penyakit pada daun (LDSI) dan bonggol (CDSI)

Persentase serangan (%)	Indeks keparahan penyakit		Kategori ketahanan
	Daun (LDSI)	Bonggol (CDSI)	
0	1	1	Sangat Tahan
≤ 20	> 1 - 2	> 1 – 2	Tahan
> 20 - 50	> 2 - 3	> 2 – 3	Toleran
> 50 - 75	> 3 - 4	> 3 – 5	Rentan
> 75	> 4	> 5	Sangat Rentan

Data dianalisis secara sidik ragam, apabila hasil yang didapatkan berbeda nyata, dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (LSD) pada taraf 5%.

B. Isolasi *Resistance Gene Analogue (RGA)* beberapa pisang kultivar dan liar asal Indonesia

Perancangan Primer dan PCR

Empat pasang kombinasi *degenerate primer* yang digunakan berdasarkan NBS-LRR yang mengandung domain P-loop/kinase-1, kinase-2, kinase-3a dan *hydrophobic*. Kombinasi pasangan primer tersebut adalah F5(F)+F6(R), F9(F)+F6(R), F5(F)+F10(R), dan F9(F)+F10(R). Informasi sekuen dari *degenerate primer* tersebut ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. *Degenerate primer* yang digunakan untuk mengamplifikasi NBS-LRR asal DNA genom tanaman pisang

Kode	Sekuen	Domain terkonservasi	Pustaka
F5(F)	GGIGGIGTIGGIAAIACIAC	P-loop	Peraza-Echeverria <i>et al.</i> 2008
F6(R)	AAGIGCTAAGIGGIAAGICC	hydrophobic domain/GLPL	Peraza-Echeverria <i>et al.</i> 2008
F9(F)	GGNGGNRTIGGIAARACIAC	P-loop	Sun <i>et al.</i> 2009
F10(R)	GAGGGCNARNGGNAIACC	hydrophobic domain/GLPL	Sun <i>et al.</i> 2009

Keterangan : I= inosine; R= A/G; N=A/C/G/T

Reaksi PCR dilaksanakan dengan volume 25 μ l yang terdiri atas 12.5 μ l KAPA2G™ Fast ReadyMix (Kapa Biosystems Inc., USA), 1.0 μ l masing-masing primer 10 μ M (primer *forward* dan *reverse*), 30 ng DNA genom, 8,5 μ l ddH₂O. Proses PCR menggunakan mesin Eppendorf Mastercycler. Denaturasi cetakan DNA pada awal reaksi pada suhu 95 °C selama 3 menit, diikuti dengan 35 kali siklus 95 °C selama 15 detik, 55 °C selama 15 detik dan 72 °C selama 5 detik, dan diakhiri dengan satu siklus 72 °C selama 10 menit. Produk PCR dipisahkan berdasarkan ukuran dengan menggunakan elektroforesis gel agarose 1 % pada mesin elektroforesis dengan tegangan 80 V selama 25 menit.

Purifikasi dan kloning produk PCR

Sebelum dilakukan kloning, produk PCR terlebih dahulu dipurifikasi menggunakan Gel/PCR DNA Fragments Extraction Kit (Geneaid, Taiwan) dengan prosedur standar dari perusahaan tersebut. Sebelum dilakukan proses kloning, terlebih dahulu harus disiapkan sel kompeten dari *E. coli* strain DH5 α . Pembuatan sel kompeten mengadopsi metode modifikasi buffer CaCl₂ yang dikembangkan oleh Li *et al.* (2010). Produk PCR dikloning ke dalam vektor pGEM-T® EasyVector (Promega, Madison, WI, USA), dengan protokol standar sesuai dengan petunjuk perusahaan.

Seleksi dan konfirmasi insersi fragmen DNA target

Koloni bakteri transforman dipilih yang berwarna putih dan disubkultur ke tabung Falcon yang berisi media LB cair yang ditambah ampicilin (100 mg l⁻¹) sebanyak 4 sampai 5 ml, diinkubasi pada suhu kamar dan digoyang (*shaker*) selama satu malam. Sebelum dikirim ke perusahaan jasa layanan *sequencing*, plasmid dipurifikasi menggunakan High-Speed Plasmid Mini Kit (Geneaid, Taiwan). Untuk konfirmasi adanya insersi fragmen DNA target, dilakukan PCR menggunakan primer degenerate untuk masing-masing gen.

Analisis data sekuensing

Untuk mengetahui identitas fragmen DNA hasil sekuensing dianalisis menggunakan algoritma BLASTn dan BLASTp (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) pada NCBI. Translasi sekuen DNA menjadi asam amino menggunakan perangkat lunak DNAMAN ver. 4.03 (Lynnon Biosoft, Quebec, Canada). Analisis pensejajaran sekuen basa nukleotida dan

prediksi asam amino produk PCR menggunakan perangkat lunak GeneDoc ver. 2.7 (Nicholas *et al.* 1997). Pohon filogenetik didesain berdasarkan metode Neighbor-Joining menggunakan perangkat lunak MEGA5 (Tamura *et al.* 2011).

3.3.2. Kegiatan 2. *On Farm Conservation* Kultivar Pisang Lokal Indonesia Di Lahan Petani

3.3.2.1. Bahan

Bahan yang digunakan adalah 5 kultivar lokal tanaman pisang Indonesia (Ambon Hijau (AAA), Kepok Tanjung (ABB), Barangan (AAA), Bile (AB), Libod (AA) untuk lokasi Payakumbuh (lanjutan), Kepok Tanjung untuk lokasi Selayo (Sumatera Barat) dan Patuk (DIY Yogyakarta). Selain itu juga diperlukan sarana produksi pertanian berupa pupuk dan pestisida

3.3.2.2. Waktu dan Tempat

Kegiatan akan dilaksanakan mulai Januari sampai Desember 2017 di Lahan petani di lokasi 1 Kecamatan Situjuh Banda Gadang Kabupaten Payakumbuh (dataran tinggi 1050 m.dpl), lokasi 2 Kec. Selayo, Kabupaten Solok (dataran menengah 600-610 m.dpl) dan lokasi 3 Kec. Patuk, Kabupaten Gunung Kidul (dataran rendah 300-400 m.dpl), DI Yogyakarta.

3.3.2.3. Prosedur

Pelaksanaan :

Lokasi Payakumbuh

1. Pendampingan pengembangan perbenihan

- Dari hasil kegiatan, petani sudah bisa menghasilkan benih sendiri, namun demikian masih perlu pendampingan agar produksi benih bisa efisien
- Pembinaan kelembagaan perbenihan di tingkat petani

2. Pengembangan dan pemasaran produk olahan

- Berdasarkan karakter kultivar buah yang dihasilkan, dapat dikembangkan berbagai produk olahan
- Pengembangan pemasaran produk selain secara konvensional juga dilakukan secara on-line menggunakan media sosial

3. Pengembangan kultivar terpilih ke masyarakat lainnya

- Selain Nagari Situjuh, kultivar yang diminati masyarakat disebarakan ke petani di daerah lain, yang dilakukan oleh komunitas itu sendiri

4. Dampak (Impact assesment)

- Berdasarkan pengisian kuisioner post-implementasi dianalisis *Impact assesment*

Lokasi lokasi Kabupaten Solok dan Kabupaten Gunung Kidul

1. Persiapan materi tanaman

Materi tanaman yang digunakan adalah tanaman hasil perbanyakan dari kultur jaringan, yaitu kultivar Kepok Tanjung untuk Selayo dan Patuk. Masing lokasi ditanam sejumlah 500 batang. Ditanam Maret atau April 2017.

2. Sosialisasi program *on farm conservation*

- Koordinasi dengan pemerintah daerah yaitu wakil dari Dinas Pertanian, pemuka masyarakat, kelompok tani pria dan wanita, dan PPL dan instansi terkait lainnya dalam memberdayakan komunitas lokal partisipasi dalam kegiatan konservasi.
- Memberikan pemahaman kepada petani tentang konsep *on farm conservation* . Metode yang digunakan adalah dengan mengumpulkan kelompok tani dan pejabat pengambil keputusan untuk bersama-sama terlibat dalam kegiatan dengan tugas dan tanggung jawab masing-masing.
- Memperkenalkan kultivar lokal tanaman pisang yang akan dikonservasi kepada masyarakat beserta keunggulan dari masing-masing kultivar sehingga dapat memanfaatkan kultivar lokal tersebut. Menyediakan informasi nilai penggunaan saat ini dan masa datang dari varietas pisang tersebut. Metode yang digunakan adalah dengan menyediakan leaflet, display dan contoh produk olahan
- Mengidentifikasi kelompok tani yang akan terlibat dalam kegiatan

3. Implementasi program

Implementasi program mulai dari teknik budidaya yang baik sampai (2017) pada pasca panen dan pemasaran (2018). Budidaya tanaman dilakukan di kebun petani dan melibatkan petani secara aktif dalam merawat dan memanfaatkan kultivar lokal tersebut.

- a. Persiapan lahan: lahan diolah dan digemburkan. Dibuat lubang tanam berukuran 40x40x40 cm dengan jarak tanam 3x3 m. Pupuk kandang

diberikan 2 minggu sebelum penanaman dengan dosis 1 karung untuk 2 lubang. Penanaman dilaksanakan pada bulan Maret atau April.

- b. Perawatan rutin berupa pengairan apabila tidak ada hujan, penyiangan, pembumbunan, penjarangan anakan yang bisa dipakai sebagai benih, pembuangan daun kering, dan pemberantasan hama dan penyakit apabila diperlukan.
- c. Pemupukan dengan dosis 350-450 g urea, 350-450 g SP₃₆, dan 500-600 g KCl. Pemupukan dilakukan secara bertahap, yaitu:
 - Tahap I, 3 bst.: 50-50-50g (urea-SP-KCl)
 - Tahap II, 6 bst.: 100-100-150g (urea-SP-KCl)
 - Tahap III, 9 bst.: 100-150-150g (urea-SP-KCl)
 - Tahap IV, 12 bst.: 100-150-150g (urea-SP-KCl)
- d. Pemanenan dan penanganan segar (tahun 2018)

4. Temu lapang dan pelatihan

Pertemuan di lapangan dengan petani dan PPL dilakukan disesuaikan dengan saat kritis dari pertumbuhan tanaman, seperti saat penjarangan anakan dan memasuki fase generatif. Namun demikian pertemuan lapang yang sifatnya insidental juga dilakukan. Pada saat yang sama juga dilakukan pelatihan teknik budidaya yang baik dan perbenihan (produksi benih yang efisien).

5. Pengamatan

Pengamatan morfologis tanaman (tinggi tanaman, jumlah daun, diameter batang, jumlah anakan), dilakukan setiap dua bulan.

Pengamatan respon sosial dilakukan menggunakan kuisioner pre-implementasi (2017) dan post-implementasi (2018)

Analisis data

Data pertumbuhan vegetatif dan data hasil evaluasi dan data untuk pertanaman Selayo dan Yogyakarta *on farm conservation* ditampilkan secara diskriptif dengan menampilkan nilai rata-rata.

3.3.3. Kegiatan 3. Evaluasi Keragaan Morfologi dan Molekuler Tiga Kultivar Pisang Hasil Perlakuan Subkultur Secara *In Vitro*.

3.3.3.1. Bahan

Bahan yang digunakan adalah: tiga kultivar pisang komersial (Ambon Hijau, Barangan dan Kepok Tanjung), bahan kimia untuk pembuatan media, ZPT

(IAA, BAP). Bahan yang digunakan untuk analisa molekuler adalah: daun dari 3 kultivar pisang lokal/komersial tersebut di atas, bahan kimia untuk buffer, PCR kit, primer, bahan saprodi (pupuk, pestisida, dll) dan bahan penunjang lainnya.

Alat alat yang digunakan antara lain adalah autoclave, laminar air flow, oven, timbangan analitik, cangkul, sprayer, meteran, panci, pinset, alat gelas dan lain sebagainya, serta alat alat yang digunakan untuk analisa molekuler antara lain adalah freezer -20^o C, mesin PCR, elektroforesis, Gel Doc, UV illuminator.

3.3.3.2. Waktu dan Tempat

Kegiatan akan dilaksanakan mulai Januari sampai Desember 2017 di Laboratorium Kultur Jaringan, Uji Mutu dan Kebun Percobaan Sumani.

3.3.3.3. Prosedur

A. Evaluasi keragaan morfologis tiga kultivar pisang hasil perbanyakan secara *in vitro*

Penelitian ini adalah melanjutkan kegiatan TA 2016 yang mengevaluasi tanaman hasil subkultur 4, 6, 8 dan 10 di lapang, dan juga menanam baru menggunakan planlet hasil perbanyakan *in vitro* asal subkultur 8 dan ≥ 10 kali dari kultivar pisang yaitu Ambon Hijau, Barangan, dan Kepok Tanjung. Setiap kultivar berisi 100 tanaman.

Planlet hasil aklimatisasi, kemudian dipindah ke polibag yang lebih besar dan dirawat hingga siap ditanam di lapang (berumur 2 bulan setelah aklimatisasi).

Tanaman ditanam di lapang dengan jarak tanam 3 X 3 m dan ukuran lubang tanam adalah 50X50X50 cm. Perawatan tanaman berupa pemupukan, penyiangan dan pengairan dilakukan secara optimal.

Peubah yang diamati adalah: karakter morfologis vegetatif dan generatif yang merujuk pada buku diskriptor untuk pisang (IPGRI, 1996). Dari karakter morfologi yang muncul akan dibandingkan dengan karakter induknya apakah sama atau ada penyimpangan.

B. Evaluasi keragaan molekuler tiga kultivar pisang hasil perbanyakan secara *in vitro* menggunakan marka RAPD

Sampel daun dari 3 kultivar lokal diisolasi DNANYa pada saat sebelum ditanam dan anakannya pada saat tanaman memasuki fase generatif (sampel

daun anaknya), menggunakan metode CTAB (Doyle & Doyle, 1987) dan dimodifikasi oleh Das *et al.* (2009). Primer yang digunakan adalah 3 primer RAPD yaitu OPC-01, OPC-04 dan OPN-09. Reaksi PCR dilaksanakan dengan volume 25 μ l menggunakan 12,5 μ l GoTaq[®] Green Master Mix PCR Kit (Promega), yang telah mengandung 7,5 mM MgCl₂ dan dNTP mix, ditambah 1,25 μ l primer 10 μ M DNA genom dengan konsentrasi 30 ng dan 10,25 μ l ddH₂O. Proses PCR menggunakan mesin PCR Mastercycler Nexus (Eppendorf). Denaturasi cetakan DNA pada awal reaksi pada suhu 95°C selama 2 menit, diikuti dengan 45 kali siklus denaturasi pada suhu 95°C selama 1 menit, *annealing* pada suhu 35°C selama 1 menit dan pemanjangan pada suhu 72°C selama 1 menit, dan diakhiri dengan satu siklus pemanjangan tambahan pada suhu 72°C selama 5 menit. Produk PCR dipisahkan berdasarkan ukuran dengan menggunakan elektroforesis gel agarose 1 % pada mesin elektroforesis dengan tegangan 50 V selama 60 menit.

Pengamatan keragaman antar sampel yang berasal dari individu berbeda dengan cara membandingkan polimorfisme pita DNA dari elektroferogram.

IV. ANALISIS RESIKO

A. DAFTAR RESIKO

No	RESIKO	PENYEBAB	DAMPAK
1.	Ketidaktepatan waktu awal pelaksanaan kegiatan penelitian Mulai pelaksanaan penelitian terlambat	Terlambatnya pencairan dana penelitian Terlambatnya ketersediaan bahan/bibit dalam jumlah dan waktu yang tepat untuk digunakan Kesulitan mencari tenaga kerja untuk membantu persiapan pelaksanaan kegiatan	Munduranya waktu pelaksanaan Kelancaran persiapan penelitian terganggu
2.	Pelaksanaan kegiatan kurang lancar Adanya kendala dalam pelaksanaan kegiatan	K eterlambatan pengadaan bahan penelitian terutama bahan kimia K esulitan mencari tenaga kerja untuk membantu pelaksanaan kegiatan M usim kering yang panjang di lokasi penelitian Serangan OPT Peralatan yang dibutuhkan tidak memadai	Kelancaran pelaksanaan penelitian terganggu Tertundanya pelaksanaan pemupukan. Pertumbuhan tanaman terganggu, bisa berdampak juga terhadap penurunan produksi Pelaksanaan pekerjaan terganggu
3.	Laporan belum sempurna Keterlambatan perolehan data	Data masih dalam proses pengumpulan	Laporan belum menginformasikan hasil secara lengkap

B. DAFTAR PENANGGAPAN RESIKO

No	RESIKO	PENYEBAB	PENANGGAPAN RESIKO
	Ketidaktepatan waktu awal pelaksanaan kegiatan penelitian Mulai pelaksanaan penelitian terlambat	Terlambatnya pencairan dana penelitian Terlambatnya ketersediaan bahan/bibit dalam jumlah dan waktu yang tepat untuk digunakan Kesulitan mencari tenaga kerja untuk membantu persiapan pelaksanaan kegiatan	Koordinasi dengan pihak terkait Koordinasi dengan tenaga teknis di lapang, Pelaksanaan kegiatan kurang lancar
	Pelaksanaan kegiatan kurang lancar Adanya kendala dalam pelaksanaan kegiatan	K eterlambatan pengadaan bahan penelitian terutama bahan kimia K esulitan mencari tenaga kerja untuk membantu pelaksanaan kegiatan M usim kering yang panjang di lokasi penelitian Serangan OPT Peralatan yang dibutuhkan tidak memadai	Koordinasi dengan tim pengadaan barang Koordinasi dengan tenaga teknis di lapang dan mengoptimalkan tenaga yang ada Pemupukan hanya dapat dilaksanakan setelah hujan mulai turun di Lokasi penelitian dan koordinasi dengan tenaga teknis di Lapangan Pengendalian OPT segera dilakukan segera, apabila sudah ditemukan adanya gejala serangan Mencari alternatif lain
	Laporan belum sempurna Keterlambatan perolehan data	Data masih dalam proses pengumpulan	Berupaya untuk mengumpulkan data yang dibutuhkan

V. TENAGA DAN ORGANISASI PELAKSANAAN

5.1 Tenaga yang terlibat dalam kegiatan

Susunan tenaga berdasarkan disiplin, pendidikan, jabatan fungsional, alokasi waktu, disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Tenaga yang terlibat dalam kegiatan

No	Nama / NIP	Jabatan Fungsional/ Bid.Keahlian	Jabatan dalam Kegiatan	Uraian Tugas	Alokasi Waktu (jam/minggu)
1	Agus Sutanto, Dr.Ir. M.Sc/ 19670803 199303 1 003	PMD/ Pemuliaan	Penanggung Jawab RPTP dan ROPP 1	Mengkoordinir mulai dari perencanaan sampai pelaporan, pelaksana penelitian	15
2	Ellina Mansyah, Dr.Ir.MP/ 19630423 199103 2 001 Drs.	PMDY / Pemuliaan	Penanggungjawab ROPP 2	Perlakuan, pengamatan Karakter	15
3	Fitriana Nasution, Ssi.MSc./ 19790828 200501 2 002	Pen. Pertama/ Pemuliaan	Penanggungjawab ROPP 3	Perlakuan, pengamatan karakter	15
4	P. Jarot Santoso, Dr. MSc. SP./ 19700321199903 1 002	PMD/ Pemuliaan	Anggota Peneliti ROPP 2	Perlakuan, pengamatan Karakter	10
5	Dra. Jumjunidang, M.Si/ 19630601 199203 2 001	PMDY/ Proteksi	Anggota Peneliti ROPP 1	Perlakuan, pengamatan Insidensi Penyakit	10
6	Deni Emilda, Ssi.MSc./ 19780906 200710 2 001	Pen. Pertama / Proteksi	Anggota Peneliti ROPP 1	Perlakuan, pengamatan Insidensi Penyakit	10
7	Riska Amril, Ssi.MSc./ 19770814 200710 2 001	Pen. Pertama/ Proteksi	Anggota Peneliti ROPP 1	Perlakuan, pengamatan Insidensi Penyakit	10
8	Sukartini, Dr. MP. SP./ 19700420 200112 2 001	Pen. Pertama/ Pemuliaan	Anggota Peneliti ROPP 2	Perlakuan, pengamatan Karakter	10
9	Edison HS. 19561207 198603 1 001	Pen Madya/ Pemuliaan	Anggota ROPP 1 & 2	Melaksanakan kegiatan ROPP	10
10	Makful, SP. MSi./ 19730528 200003 1 001	PMD/ Pemuliaan	Anggota Peneliti ROPP 1	Perlakuan, pengamatan molekuler	10
11	Yulia Irawati, SP., MSi/ 19771231 200501 2 002	Pen. Pertama/ Pemuliaan	Anggota Peneliti ROPP 3	Perlakuan, pengamatan mutasi	10
12	Sunyoto, SP./ 19620615 199503 1 001	PMDY/ Proteksi	Anggota Peneiti ROPP 3	Persiapan sarana kebun	10
13	Harlion, Ir. MSc/ 19620410 199003 1 003	Proteksi tanaman	Anggota Peneliti ROPP 2	Perlakuan, pengamatan hama .	10
14	Irwan Muas, Ir. MS./ 19600107 198603 1 001	Tanah	Anggota Peneliti ROPP 2	Perlakuan, pengamatan	10

15	Bambang Haryanto/SP 19780910 201101 1 007	Calon Peneliti/ Ekofisiologi	Anggota Peneiti ROPP 3	Perlakuan, pengamatan	10
16	Dwi Wahyuni A., SP 19760225 200701 2 001	Teknisi Litkayasa	Teknisi Labor	Membantu perlakuan, pengamatan molekuler	10
17	Ida Fitrianiingsih/ 19680102 199503 2 001	Teknisi	Teknisi Labor	Membantu melaksanakan kegiatan kultur jaringan	30
18	Mihartati/ 19650727 200701 2 001	Teknisi	Teknisi Labor	Membantu melaksanakan kegiatan kultur jaringan	30
19	Subhana 19661113 199303 2 001	Teknisi	Teknisi Labor	Membantu perlakuan penyakit	15
20	Safriil AP/ 19701216 200701 1 001	Teknisi Litkayasa	Teknisi Lapang	Membantu perlakuan, pengamatan	10
21	Mujiman/ 19740810 200701 1 001	Teknisi Litkayasa	Teknisi Lapang	Membantu perlakuan, pengamatan	10
22	Mat Amin Amd./ 19820606 201101 1 012	Teknisi	Teknisi lapang	Membantu perlakuan, pengamatan.	10
23	Bambang Kuswara/ 19760313 200701 1 001	Teknisi	Teknisi lapang	Membantu perlakuan, pengamatan.	10
24	Kristamtini, Dr. (BPTP DIY Yogyakarta)	Agronomi	Anggota Peneliti ROPP 2	Perlakuan, pengamatan	10
25	PM	Sosek	Anggota Peneliti ROPP 2	Analisis data sosek on farm conserv.	10

5.2 Jangka Waktu Kegiatan

Tabel 5. Jadwal palang rencana kegiatan

No	Kegiatan	Bulan Kegiatan											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2	Isolasi dan Karakterisasi Gen Ketahanan Terhadap Penyakit Layu Fusarium Pada Beberapa Pisang Liar Indonesia												
A	Persiapan	x	x	x									
B	Pengadaan bahan		x	x	x	x							
C	Persemaian			x	x								
D	Perawatan/pemeliharaan			x	x	x	x						
E	Pengujian						x	x	x	x	x	x	x
F	Isolasi DNA, RNA dan PCR		x	x	x	x	x	x					
G	Kloning						x	x	x	x			
H	Sequencing							x	x	x	x	x	x
I	Analisis data										x	x	x
J	Laporan											x	x
	Persentase Fisik	15	5	5	5	5	10	15	10	20	10	5	5
	% Kumulatif	15	20	25	30	35	40	50	60	80	90	95	100
2	<i>On Farm Conservation</i> Kultivar Pisang Lokal Indonesia Di Lahan Petani												
A	Persiapan	x	x	x									
B	Pengadaan bahan		x		x	x							
C	Perawatan/pemeliharaan	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
D	Pengamatan Agronomi				x	x	x	x	x	x	x	x	x
E	Pengumpulan materi/data	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
F	Laporan											x	x
G	Persentase Fisik	15	5	5	5	5	10	15	10	20	10	5	5
	% Kumulatif	15	20	25	30	35	40	50	60	80	90	95	100
3	Evaluasi Keragaan Morfologi dan Molekuler Tiga Kultivar Pisang Hasil Perlakuan Subkultur Secara <i>In Vitro</i>.												
A	Persiapan	x	x	x									
B	Pengadaan bahan		x	x	x	x							
C	Perawatan/pemeliharaan			x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
D	Pengamatan off-type			x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
E	Pengamatan molekuler			x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
F	Analisis data										x	x	x
G	Laporan											x	x
	Persentase Fisik	15	5	5	5	5	10	15	10	20	10	5	5
	% Kumulatif	15	20	25	30	35	40	50	60	80	90	95	100

5.3 Pembiayaan

No Kode Proyek	Tolok ukur/Jenis pengeluaran/Uraian Pengeluaran	JUMLAH
521211	Belanja Bahan	16,059,000
521821	Belanja barang persediaan untuk proses produksi (bahan baku)	11,200,000
521811	Belanja Barang utk Persediaan Barang Konsumsi	35,741,000
521219	Belanja Barang Non Operasional Lainnya	59,500,000
524111	Belanja Perjalanan Lainnya	45,000,000
	TOTAL	167,500,000

RINCIAN PEMBIAYAAN

No	Rincian	Volume	Harga satuan	Jumlah
521211	Belanja Bahan			16,059,000
	Tanah humus	2	truk	650,000
	Pupuk kandang	14	truk	625,000
	bambu bulat (panjang 6-7m)	28	btg	20,000
	Papan nama kegiatan	3	bh	550,000
	Pasir	4	m2	184,000
	Gliricideae	2042	btg	1,500
521821	Belanja barang persediaan untuk proses produksi (bahan baku)			11,200,000
	Benih pisang hasil kuljar	1600	bh	7,000
521811	Belanja Barang utk Persediaan Barang Konsumsi			35,741,000
	1. Pengadaan Saprodi			9,406,000
	Pupuk KCL non subsidi	6	zak	451,000
	Pupuk Urea subsidi	6	zak	198,000
	Pupuk TSP subsidi	2	zak	205,000
	Pupuk TSP non-subsidi	4	zak	420,000
	Fungisida Dithane	7	kg	130,000
	Round up	20	liter	75,000
	Curacron 250 ml	8	btl	84,500
	Curater / 2 kg	8	bks	42,000
	2. Pengadaan Bahan Kimia			5,008,000
	Primer	180	Bs	10,000
	DNA ladder 100 bp (Geneaid) 0,5 ml/vial, DL004	1	vial	1,500,000
	Alkohol 96%	10	ltr	40,000
	Green Gotaq Master Mix (Promega)	1	kit	1,308,000
	2. Pengadaan bahan penunjang penelitian			17,777,000
	Micro volume tip 0.5-10 ul Gilson type (1000/pak)	7	pak	400,000
	1.5ml, Clear, RNase & DNase Free, 1000 Tubes/box	3	box	400,000
	2.0ml, Clear, RNase & DNase Free, 1000 Tubes/box	2	box	400,000
	PCR tube 0,2 ml, flat cap (1000/pak)	5	pak	1,200,000
	Sarung tangan karet ukuran M sensi glove	2	ktk	75,000
	Sunlight cair refill	5	bh	17,000
	Karet gelang	1	kg	70,000
	Plastik kaca	3	kg	38,000
	Plastik wrap Total	15	rol	30,000
	tray plastik 40X30X10cm	10	bh	15,000
	tray plastik 40X30X5cm	40	bh	10,000
	Kursi kecil plastik	4	bh	25,000
	Cangkir/cup Aqua plastik	51	pak	8,000
	Pasir	1	pick	250,000
	Arang Sekam	5	krng	30,000

	Pupuk Hyponex	5	ktk	50,000	250,000
	Polibag 30 x 40 cm	15	kg	28,000	420,000
	Polibag 20 x 30 cm	20	kg	28,000	560,000
	Hand sprayer pump 2 liter	3	bh	84,500	253,500
	Kawat tembaga 0,4 mm	0.25	kg	250,000	62,500
	Kawat jemuran	10	kg	23,500	235,000
	Paku uk.1,5, 2,0, 3,0 inche (@2kg)	3	kg	20,500	61,500
	Sepatu lapang merk AP No.40	2	Psg	110,000	220,000
	Tali rafia besar (1 kg)	4	glg	25,000	100,000
	Kawat duri 8 kg	10	rol	168,000	1,680,000
-	Minyak goreng kemasan	25	kg	19,000	475,000
-	Plastik transparan uk.4kg	5	kg	28,500	142,500
-	Plastik kantong jumbo warna	3	kodi	30,000	90,000
-	Pisau dapur	4	bh	25,000	100,000
	3. ATK , Komputer Suplies, Fotocopy, cetakan				3,550,000
	Kertas HVS kwarto A4 (70 gr)	4	rim	36,500	146,000
	kertas A4 (80 g)	5	rim	45,000	225,000
	Cartridge Canon 810 black	2	bh	275,000	550,000
	Cartridge Canon 811 colour	2	bh	300,000	600,000
	Refil data print Canon DP-40 (black)	3	ktk	27,500	82,500
	Refil data print Canon DP-41	4	bh	30,000	120,000
	kertas glossi foto	2	ktk	24,750	49,500
	Spidol permanen Snowman hitam	2	lsn	86,000	172,000
	Tissue refill jumbo	14	pak	22,000	308,000
	Flash disk Toshiba 16Gb	4	bh	155,000	620,000
	map plastik bertali	9	bh	3,000	27,000
	Kartu namaTOP (untuk label)	5	ktk	18,000	90,000
	Map ordner letter file besar	4	bh	25,000	100,000
	Pena My-gell 05 (hitam)	4	lsn	55,000	220,000
	Tissue gulung	24	glg	10,000	240,000
521219	Belanja Barang Non Operasional Lainnya				59,500,000
	Persiapan lahan, pemeliharaan tanaman pisang di KP Sumani	400	HOK	50,000	20,000,000
	Persiapan lahan, pemeliharaan tanaman pisang di lahan petani	400	HOK	50,000	20,000,000
	Membantu kegiatan lab (isolasi DNA, PCR, elektroforesis)	250	HOK	50,000	12,500,000
	Persemaian, perawatan semai, persiapan transplanting	40	HOK	50,000	2,000,000
	Persiapan inokulum, perlakuan inokulasi, perawatan	40	HOK	50,000	2,000,000
	Sequencing	0.5	plate	6,000,000	3,000,000
524111	Belanja Perjalanan Lainnya				45,000,000
	Solak-Lampung				5,980,000
	- Transportasi PP	1	paket	3,000,000	3,000,000
	- Lumpsum	4	HOK	430,000	1,720,000
	- Penginapan	3	malam	420,000	1,260,000
	Solak-Yogja				26,830,000
	- Transportasi PP	4	paket	3,600,000	14,400,000
	- Lumpsum	16	HOK	430,000	6,880,000
	- Penginapan	12	malam	462,500	5,550,000
	Sumbar				12,190,000
	Lunsum	23	hok	380,000	8,740,000
	Driver	10	kali	125,000	1,250,000
	BBM	11	kali	200,000	2,200,000
	TOTAL				167,500,000

DAFTARPUSTAKA

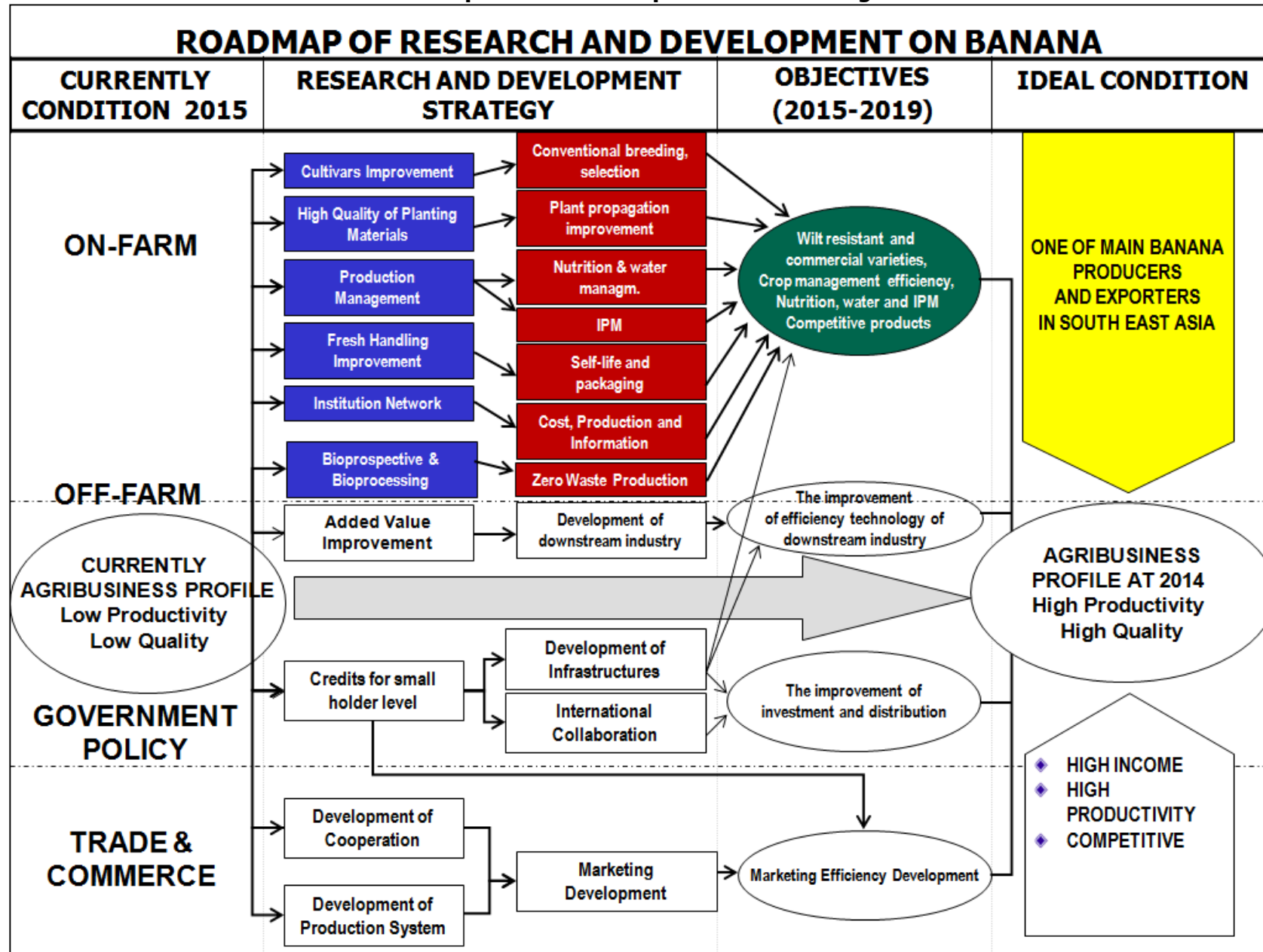
- Azhar M, Heslop-Harrison JS. 2008. Genomes, diversity and resistance gene analogues in *Musa* species. *Cytogenet Genom Res* 121(1):59-66. Baek & Choi 2013
- Caplan J, Padmanabhan M, Dinesh-Kumar SP. 2008. Plant NB-LRR immune receptors: From recognition to transcriptional reprogramming. *Cell Host Microbe* 3:126-135.
- Chavan-Patil V.B., Arekar C.D., Gaikwad D.K. 2010. Field performance of *in vitro* propagated bananaplants from 8th and 15th subculture. *Int J Adv Biotechnol Res.*1(2): 96-10
- Dangl L, Jones J. 2001. Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature* 411:826-833.
- Das BK, Jena RC, Samal KC. 2009. Optimization of DNA isolation and PCR protocol for RAPD analysis of banana/plantain (*Musa* spp.). *Int J Agricul Sci* 1(2):21-25.
- Doyle JJ, Doyle JL. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull* 19:11-15.
- Gauchan D, Smale M, Maxted N, Cole M, Sthapit BR, Jarvis DI, Upadhyay MP. 2005. On-farm conservation of crop genetic diversity: examining farmers' and breeders' choice of rice varieties in Nepal. *In*: Sthapit BR, Upadhyay MP, Shrestha PK, Jarvis DJ (eds). On-farm conservation of agricultural biodiversity in Nepal. Vol. II. Managing diversity and promoting its benefits. Proceedings of the Second National Workshop, 25-27 August 2004, Nagarkot, Nepal. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. pp 17-27.
- Hermanto C, Sutanto A, Jumjunidang, Edison HS. 2008. *Survey reports of the occurrence and severity of banana wilts and associated factors in Indonesia*. Indonesian Tropical Fruit Research Institute.
- IPGRI. 1996. Descriptor for banana (*Musa* spp.). International Plant Genetic Resources Institute. Rome. Montpleller. 55p
- Jones, DR 1994, 'Technical guidelines for IMTP Phase II: fusarium wilt sites', in the improvement and testing of musa: a global partnership, *Proceedings of The First Conference of The International Musa Testing Program*, held at FHIA, Honduras, INIBAP, pp. 279-86.
- Lakshmanan, V., SR. Venkataramareddy, B. Neelwarne. 2007. Molecular analysis of genetic stability in long-term micropropagated shoots of banana using RAPD and ISSR markers. *Electronic Journal of Biotechnology*. Vol.10 No.1. 8 pp.
- Lee SW. 2005. Thidiazuron in the Improvement of Banana Micropropagation. *Acta Hort* 692:67-74
- Li X, Sui X, Zhang Y, Sun Y, Zhao Y, Zhai Y, Wang Q. 2010. An improved calcium chloride method preparation and transformation of competent cells. *Afr J Biotechnol* 9(50):8549-8554.

- Lu, Y., X. Zhang, J. Pu, Y. Qi, Y. Xie, 2011. Molecular assessment of genetic identity and genetic stability in banana cultivars (*Musa* spp.) from China using ISSR markers. *AJCS* 5(1):25-31.
- Meldia, Y., Sunyoto, A. Sutanto. 1999. Pengaruh macam sumber karbon dan kandungan hara makro terhadap penyimpanan plasma nutfah pisang, *Jurnal Stigma*. 7(1):32-36.
- Mohammed, AA, Mak, C, Liew, KW & Ho, YW 1999, 'Early evaluation of banana plants at nursery stage of fusarium wilt tolerance'. in *Banana fusarium wilt management: towards sustainable cultivation, Proceedings of The International Workshop on Banana Fusarium Wilt Diseases, Malaysia, INIBAP*, pp. 174-85.
- Nelson GC, Rosegrant MW, Koo J, Robertson R, Sulser T, Zhu T, Ringler C, Msangi S, Palazzo A, Batka M, Magalhaes M, Valmonte-Santos R, Ewing M, and Lee D. 2009. Climate Change Impact on Agriculture and Costs of Adaptation. International Food Policy Research Institute Washington, D.C. 30 pp.
- Nicholas KB, Nicholas HB Jr., Deerfield DW II. 1997. GeneDoc: analysis and visualization of genetic variation. *Embnet News* 4:1-4. Nsabimana & Staden 2007
- Pei X, Li S, Jiang Y, Zhang Y, Wang Z, Jia S. 2007. Isolation, characterization and phylogenetic analysis of the resistance gene analogues (RGAs) in banana (*Musa* spp.). *Plant Sci* 172:1166–1174.
- Peraza-Echeverria S, Dale JL, Harding RM, Smith MK, Collet C. 2008. Characterization of disease resistance gene candidates of the nucleotide binding site (NBS) type from banana and correlation of a transcriptional polymorphism with resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race 4. *Mol Breed* 22(4):565-579.
- Reuveni O & Israeli Y. 1990. Measures to reduce somaclonal variation in *in vitro* propagated banana. *Acta Hort.* 275: 307-313.
- Rowe P, Rosales FE. 1996. Current approaches and future opportunities for improving Gros Michel (AAA desert) bananas. Di dalam: Frison EA, Horry J-P, Waele D de, editor. *New Frontiers in Resistance Breeding for Nematode, Fusarium and Sigatoka*. Montpellier: International Network for the Improvement of Banana and Plantain (INIBAP). hlm 142-148.
- Shankar CS, P. Balaji P, Sekar DS. 2014. Mass Propagation of Banana (*Musa* sp.) cv. Grand Naine through Direct Organogenesis by Benzyl Adenine Purine and Kinetin. *Journal of Academia and Industrial Research*. 3(2):92-97
- Sheidai M, Aminpoor H, Noormohammadi Z, Farahani F. 2008. RAPD analysis of somaclonal variation in banana (*Musa acuminata* L.) cultivar Valery. *Acta Biologica Szegediensis*. 52(2):307-311.
- Sheidai, M., H. Aminpoor, Z. Noormohammadi, F. Farahani. 2010. Genetic variation induced by tissue culture in Banana (*Musa acuminata* L.) cultivar Cavandish Dwarf. *Geneconserve* vol.9:1-10
- Sun D, Hu Y, Zhang L, Mo Y, Xie J. 2009. Cloning and analysis of Fusarium wilt resistance gene analogues in 'Goldfinger' banana. *Mol. Plant Breed*

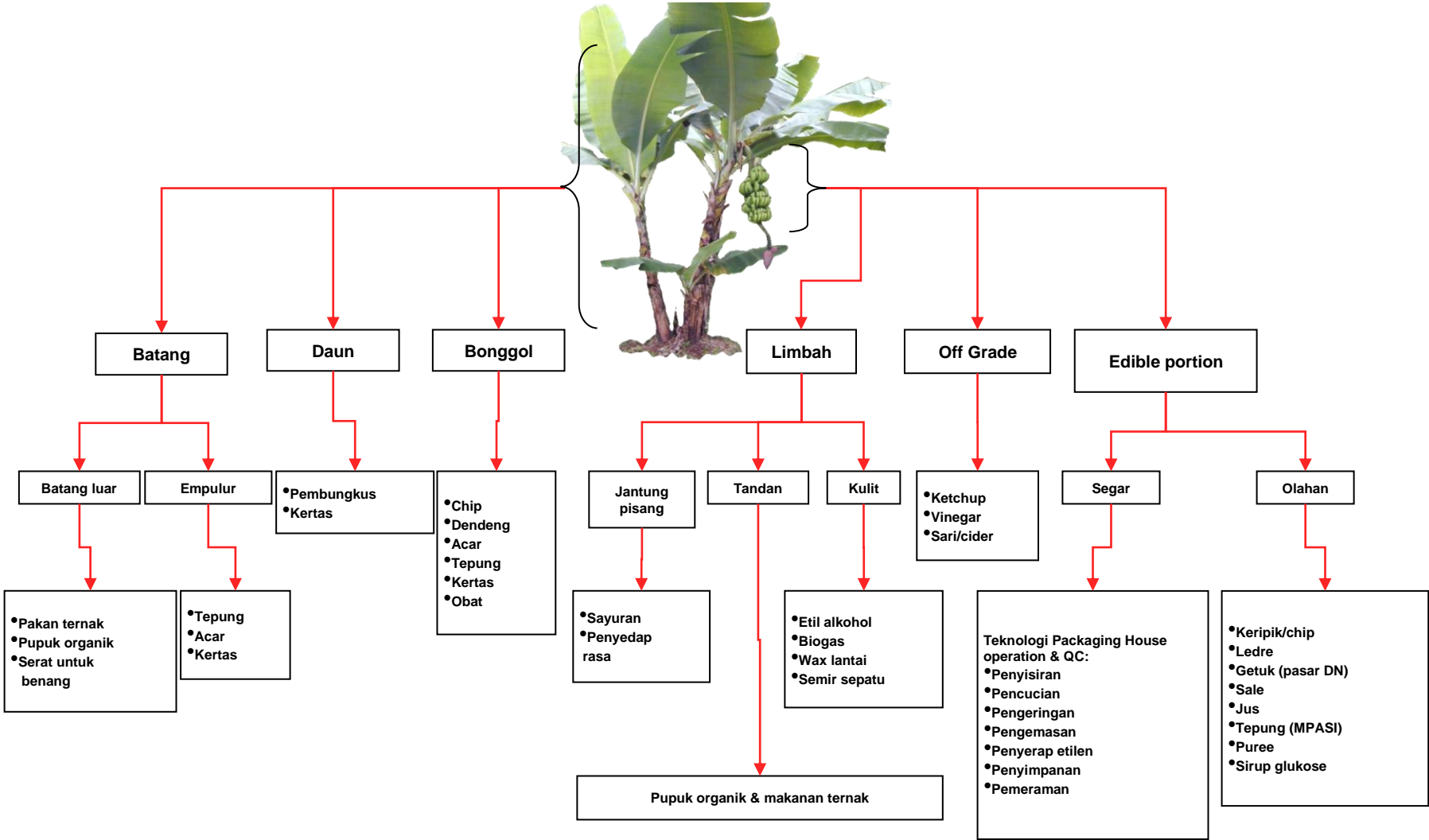
7(6):1215-1222.

- Sutanto A, Sukma D, Hermanto C, Sudarsono. 2014. Isolation and characterization of Resistance Gene Analogue (RGA) from Fusarium resistant banana cultivars. *Emir. J. Food Agric.* 26 (6): 508-518
- Sutanto, A., S. Purnomo, Sunyoto, I. Fitrianiingsih dan Safril, 2003b. Perbanyakan *In Vitro* Pisang Melalui Induksi Organogenesis *Floral Axis* Bunga Pisang. Laporan Penelitian Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika. Solok. 6 hal.
- Sutanto, A., S. Purnomo, Sunyoto, I. Fitrianiingsih dan Safril, 2003a. Perbanyakan Populasi Pemuliaan Tanaman Pisang Melalui Induksi Organogenesis Tunas Adventif Dari Potongan Bonggol *In Vitro*. Laporan Penelitian Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika. Solok. 7 hal.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol* 28:2731-2739.
- Tang C-Y, 2005. Somaclonal Variation: a Tool for the Improvement of Cavendish Banana Cultivars . *Acta Hort* 692: 67-74
- Traut TW. 1994. The functions and consensus motifs of nine types of peptide segments that form different types of nucleotide-binding sites. *Eur J Biochem* 222: 9-19.
- Vanessa 2011. Banana boom and bust as climate changes. CGIAR, Research Program on Climate Change, Agriculture and Food Security. <http://ccafs.cgiar.org/blog/bananas-will-face-climate-stress#.VTXIFvmUesk>. Download at 21042015.

Lampiran 1. Road Map Komoditas Pisang



Lampiran 3. Pohon Industri Pisang



Lampiran 4. Struktur Kerangka Kerja Logis (Logical Framework) RPTP Pisang TA 2017

Evaluasi Adaptasi Kultivar Pisang Mendukung Program Pengembangan Pisang Menggunakan Benih Hasil Kuljar yang *True-to-type*

Logika Intervensi	Tolok Ukur Kegiatan	Alat Verifikasi	Asumsi/Resiko
<p>Sasaran (Goal)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Diperolehnya gen ketahanan pisang terhadap layu <i>FOC</i> • Kultivar lokal yang terkonservasi dan termanfaatkan di masyarakat • Teknologi produksi benih pisang yg <i>true-to-type</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Meningkatnya ketahanan pisang thd layu <i>FOC</i> • Teknologi menghasilkan benih bermutu dan <i>true-to-type</i> • Berkembangnya kultivar lokal suatu daerah di daerah lain. 	<p>Adanya pendaftaran kultivar baru pisang Laporan penelitian Laporan dinas Pertanian, pengguna dan Balitbu Tropika</p>	
<p>Manfaat (Outcome)</p> <p>Produktivitas, kualitas produksi dan pendapatan petani pisang meningkat, kendala hama dan penyakit layu pisang dapat dikurangi, kesinambungan pengusahaan tanaman pisang, serta peningkatan nilai tambah. Sisa tanaman pisang sebagai limbah, dapat dimanfaatkan menjadi produk yang berdaya guna</p>	<p>Tersedianya buah pisang setiap saat bagi konsumen sebagai pelengkap gizi dan penunjang ketahanan pangan, serta produk dari sisa tanaman yang dipanen dapat digunakan sesuai dengan fungsinya</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Survei pasar domestik • Tanggapan masyarakat/konsumen dan pedagang Laporan Dinas terkait. 	<p>Diperolehnya teknologi budidaya dan produk pisang yang dapat memenuhi kebutuhan konsumen, maupun pihak pengrajin olahan makanan maupun produk dari pisang.</p>

<p>Keluaran (Output)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Sedikitnya 4 <i>Resistance Gene Analogue</i> (RGA) dan satu set data karakter ketahanan 4 pisang liar asal Indonesia terhadap penyakit layu fusarium. 2. Kultivar pisang lokal yang terkonservasi di dataran tinggi dan medium serta dimanfaatkan oleh petani 3. Satu set data informasi keragaman morfologis dan genetik 4 kultivar pisang hasil subkultur. 4. Satu draf karya tulis ilmiah yang siap dipublikasi dalam bentuk jurnal atau prosiding 	<ul style="list-style-type: none"> • Produktivitas tanaman pisang , serta pendapatan petanipisang dapat meningkat dibanding waktu sebelumnya 	<ul style="list-style-type: none"> • Laporan hasil Penelitian Balitbu Tropika • Laporan dinas terkait. 	<ul style="list-style-type: none"> • Usahatani pisang menguntungkan. • Kemampuan dan kemauan petanimemadai. • Ditunjang dengan ketersediaan dana, sarana/dan prasarana yangmemadai.
<p>Kegiatan (Activity) T.A. 2017</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Isolasi dan Karakterisasi Gen Ketahanan Terhadap Penyakit Layu Fusarium Pada Beberapa Pisang Liar Indonesia 2. <i>On Farm Conservation</i> Kultivar Pisang Lokal Indonesia di Lahan Petani 3. Evaluasi Keragaan Morfologi dan Molekuler Tiga Kultivar Pisang Hasil Perlakuan Subkultur Secara <i>In Vitro</i>. 	<p style="text-align: center;">Masukan</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sumber dana DIPA • Sumber daya manusia • Sarana dan prasaranapenelitian lapangan danlaboratorium 	<ul style="list-style-type: none"> • Laporan hasil Penelitian Balitbu Tropika • Laporan dinas terkait. 	<ul style="list-style-type: none"> • Pelaksanaan penelitian sesuai dengan rencana dan suasana kerja yang kondusif • Sarana dan prasarana penelitian tersedia • Kegiatan penelitian yang berkesinambungan • Didukung oleh kebijakan pemerintah pusat dan daerah. • Dana penelitian mencukupi