

**KERAGAMAN POLA PITA PROTEIN BERDASARKAN
SIFAT PMBUNGAAN TANAMAN DURIAN
(*Durio zibethinus* Murr.)**

Oleh
ANI MUSFIROH



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
MALANG**

2010

**KERAGAMAN POLA PITA PROTEIN BERDASARKAN
SIFAT PEMBUNGAAN TANAMAN DURIAN
(*Durio zibethinus* Murr.)**

Oleh:
ANI MUSFIROH
0710472001

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh Gelar
Sarjana Pertanian Strata (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
MALANG**

2010

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Skripsi : **KERAGAMAN POLA PITA PROTEIN BERDASARKAN
SIFAT PEMBUNGAAN TANAMAN DURIAN (*Durio
zibethinus* Murr.)**

Nama mahasiswa : **ANI MUSFIROH**

NIM : 0710472001-47

Jurusan : BUDIDAYA PERTANIAN

Menyetujui : Dosen Pembimbing

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Dr. Ir. Andy Soegianto, CESA
NIP. 19560219 198203 1 002

Prof. Ir. Sumeru Ashari, M.Agr.Sc., Ph.D
NIP. 19530328 198103 1 001

Mengetahui,
Ketua Jurusan Budidaya Pertanian

Dr. Ir. Agus Suryanto, MS
NIP. 19550818 198103 1 008

Tanggal Persetujuan:

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

PENGUJI I

Ir. Arifin Noor Soegiharto, M.Sc., Ph.D
NIP. 19620417 198701 1 002

PENGUJI III

Dr. Ir. Andy Soegianto, CESA
NIP. 19560219 198203 1 002

PENGUJI II

Prof. Ir. Sumeru Ashari, M.Agr.Sc., Ph.D
NIP. 19530328 198103 1 001

PENGUJI IV

Dr. Ir. Agus Suryanto, MS
NIP. 19550818 198103 1 008

Tanggal Lulus :

RINGKASAN

ANI MUSFIROH. 0710472001. KERAGAMAN POLA PITA PROTEIN BERDASARKAN SIFAT PEMBUNGAAN DURIAN (*Durio zibethinus* Murr.). Di bawah bimbingan Dr. Ir. Andy Soegianto, CESA., dan Prof. Ir. Sumeru Ashari, M.Agr.Sc., Ph.D.

Durian ialah tanaman buah tropis yang berasal dari kawasan Asia tenggara. Tanaman yang termasuk kedalam famili Bombaceae ini merupakan salah satu tanaman buah penting di Asia Tenggara, bahkan durian lebih dikenal sebagai raja buah-buahan tropika. Terdapat lebih dari 100 kultivar durian yang tersebar di Thailand, varietas utama yang paling komersial yaitu Monthong, Chaneen dan Kradumthong (Salakpetch, 2005). Persebaran tanaman durian dalam iklim tropis yaitu di Srilangka, India selatan, Burma selatan, Thailand, Kamboja, Vietnam, Malaysia, Indonesia, Filipina, dan Papua Nugini (Brown, 1997).

Produksi durian lokal di Indonesia semakin meningkat setiap tahun. Produksi durian di Indonesia tahun 2003 dilaporkan sebanyak 741,831 ton dan meningkat menjadi 747,848 ton pada tahun 2006 (Anonymous, 2008). Areal penanaman durian di Indonesia pada tahun 2007 seluas 47.674 ha, dan rata-rata hasil tanaman buah ialah 12,48 ton/ha (Anonymous, 2008).

Kecamatan Kasembon merupakan salah satu sentra dari penghasil durian di kab. Malang. Pada umumnya durian di Kec.Kasembon berusia puluhan hingga ratusan tahun dan diperbanyak dengan menggunakan biji sehingga tanaman yang dihasilkan bervariasi. Untuk membedakan perbedaan variasi durian tersebut maka penelitian seara morfologi dan genetik (molekuler) perlu dilakukan. Pada penelitian ini dilakukan pengamatan secara molekuler yaitu pengamatan protein total tanaman.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ekspresi gen berupa protein total pada durian non musim dengan durian semusim berdasarkan pola pita protein dengan teknik elektroforesis menggunakan SDS-PAGE. Hipotesis yang diajukan ialah terdapat kandungan protein total yang lebih banyak pada durian Non Musim berdasarkan kehadiran, ketebalan dan kuantitas protein total yang berpengaruh pada inisiasi pembungaan.

Penelitian ini telah dilaksanakan di laboratorium Biologi Molekular jurusan Biologi, FMIPA Universitas Brawijaya, Malang. Waktu penelitian mulai Oktober 2009 sampai April 2010. Alat yang digunakan ialah mortar dan pestle, vortex, polipropilen, eppendorf, refrigerator, alat sentrifugasi, mikropipet dan pipet tip, gunting, satu set alat elektroforesis gel poliakrilamid *vertical slab*, kotak plastik tempat gel, plastik klep, botol, *shaker*, oven, *freezer*, spektrofotometer, dan gelas ukur.

Bahan-bahan yang digunakan antara lain sampel protein total 7 kultivar tanaman durian yang dibedakan menjadi durian semusim dan non musim. Durian

semusim meliputi Jingga, Kunir, manalagi, Monthong dan Ori, dan durian non musim meliputi Cikrak dan Arab. Bahan kimia yang digunakan ialah protein marker *Fermentans Prestained Ladder* SM0671, Ekstrak buffer (KCl, $MgCl_2$, PVP, BSA, Tris-Cl pH 7,4, 2-mercaptoethanol, EDTA) TCA, Ditrilotitol (DTT), aseton absolute, gel (akuabides, stok akrilamid bis, Tris pH 8,8, Tris pH 6,8, SDS, APS 10%, dan TEMED (N,N N' N' tetramethylethylene diamine), NaOH 0,9%, *running buffer*, *loading buffer*, larutan *silver staining* (ethanol, asam asetat glacial, glutaraldehyde, $AgNO_3$, formal dehid, NaOH, akuades), reagen biuret ($CuSO_4$, NaK tetrat, NaOH, KI, Akuades steril).

Metode yang dilakukan yaitu dengan cara isolasi protein total tanaman, pengukuran kuantitas protein menggunakan uji biuret dengan absorbansi 540 nm menggunakan spektrofotometer. Uji kualitas protein dengan elektroforesis gel poliakrilamid 12,5 %, setelah itu pewarnaan dengan pewarna perak nitrat dan terakhir perhitungan berat molekul. Analisa data dilakukan dengan menghitung berat molekul (BM) sampel, yaitu menghitung laju mobilitas relatif tau Rf kemudian BM tersebut dibandingkan tiap-tiap sampel.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa ketujuh sampel tersebut memiliki ketebalan pita dan berat molekul yang sama pada BM 60 KDa. Pada sampel durian Cikrak (Non Musim) yang berbuah terus menerus, terdapat pita protein pada BM 42 KDa, sehingga pada protein dengan BM tersebut diduga sebagai pengendali untuk sifat berbuah sepanjang musim. Banyaknya pita allele bervariasi antara 3 sampai 5 pita, dan BM bervariasi antara 29 sampai 77 KDa.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala berkah dan rahmat-Nya telah menuntun penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Keragaman Pola Pita Protein Berdasarkan Sifat Pembungaan Tanaman Durian (*Durio zibethinus* Murr.)**”.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya, kepada: Dr. Ir. Andy Soegianto, CESA dan Prof. Ir. Sumeru Ashari, M.Agr.Sc.,Ph.D. selaku pembimbing atas segala kesabaran, nasihat, arahan dan bimbingannya kepada penulis. Ucapan terimakasih juga penulis sampaikan kepada Ir. Arifin Noor Sugiharto, M.Sc. Ph.D selaku penguji atas nasihat, arahan dan bimbingan kepada penulis. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Ketua Jurusan Dr.Ir Agus Suryanto, MS. atas nasihat dan bimbingannya kepada penulis, beserta seluruh dosen atas bimbingan dan arahan yang selama ini diberikan serta kepada karyawan Jurusan budidaya pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya atas fasilitas dan bantuan yang diberikan.

Penghargaan yang tulus penulis berikan kepada kedua orangtua, keluarga atas doa, kasih sayang, pengertian dan dukungan yang diberikan kepada penulis. Juga kepada rekan-rekan PT angkatan 2006 dan 2007 atas bantuan, dukungan dan kebersamaan selama ini.

Penulis berharap semoga hasil dari penelitian ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak, dan memberikan sumbangan pemikiran dalam kemajuan ilmu pengetahuan.

Malang, Agustus 2010

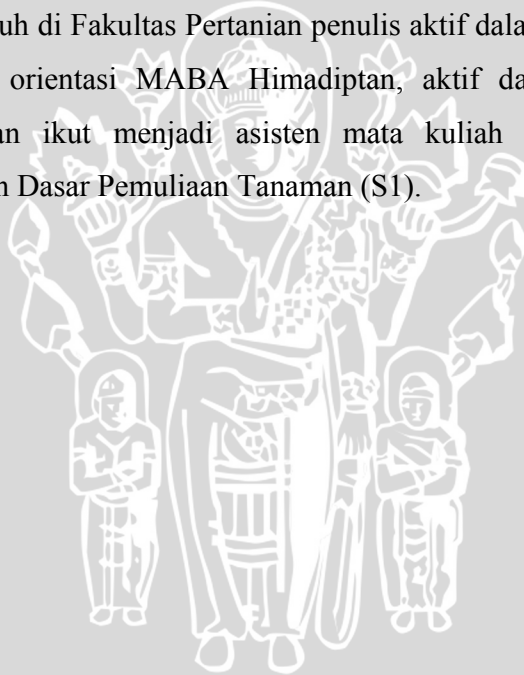
Penulis



RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Malang tanggal 4 Juni 1986 dari ayah bernama Mukari dan Ibu bernama Chusnul Kotimah. Penulis melanjutkan sekolah menengah atas di MAN 1 Malang lulus tahun 2004. Pada tahun 2004 penulis melanjutkan ke jenjang Diploma III program studi Agribisnis Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya lulus tahun 2007, dan melanjutkan pada fakultas yang sama pada program studi Pemuliaan Tanaman jurusan Budidaya Pertanian dan lulus tahun 2010.

Selama menempuh di Fakultas Pertanian penulis aktif dalam kegiatan kampus diantaranya kepanitian orientasi MABA Himadiptan, aktif dalam lembaga pers mahasiswa Canopy dan ikut menjadi asisten mata kuliah Teori dan Teknik kepemimpinan (DIII) dan Dasar Pemuliaan Tanaman (S1).



DAFTAR ISI

RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	3
1.3 Hipotesis	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Botani Tanaman Durian	4
2.2 Konsep pembungaan Durian	5
2.3 Faktor Berpengaruh Dalam Inisiasi Pembungaan Durian	6
2.3.1 Fotoperiodisme	6
2.3.2 Temperatur	7
2.3.3 Hormon	7
2.4 Kecamatan Kasembon Sebagai Sentra Durian	9
2.5 Ekspresi Gen	9
2.6 Protein	11
2.6.1 Struktur Protein	11
2.6.2 Kurva Standar Protein	13
2.6.3 Pengukuran Kadar Protein	14
2.6.4 Isolasi Protein Total	16
2.6.5 Elektroforesis SDS-PAGE	16
2.6.6 Pewarnaan Gel	19
3. BAHAN DAN METODE	21
3.1 Tempat dan Waktu	21
3.2 Alat dan Bahan	21
3.3 Pelaksanaan Penelitian	21
3.3.1 Persiapan Bahan	21
3.3.2 Isolasi Protein Total Tanaman	22
3.3.3 Pembuatan Kurva Standar	23

3.3.4 Pengukuran Kuantitatif Kadar Protein.....	23
3.3.5 Analisa Protein.....	23
3.3.5.1.Persiapan Gel.....	24
3.3.5.2 Persiapan Sampel.....	24
3.3.5.3 Running.....	25
3.3.5.4 Pewarnaan Gel.....	25
3.3.6.5 Pengamatan.....	26
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
4.1 Hasil.....	27 27
4.2 Pengukuran Kadar Protein Berdasarkan Metode Biuret.....	29
4.3 Pembahasan.....	30
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	34
5.1 Kesimpulan.....	34
5.2 Saran.....	34
DAFTAR PUSTAKA.....	35
LAMPIRAN.....	39



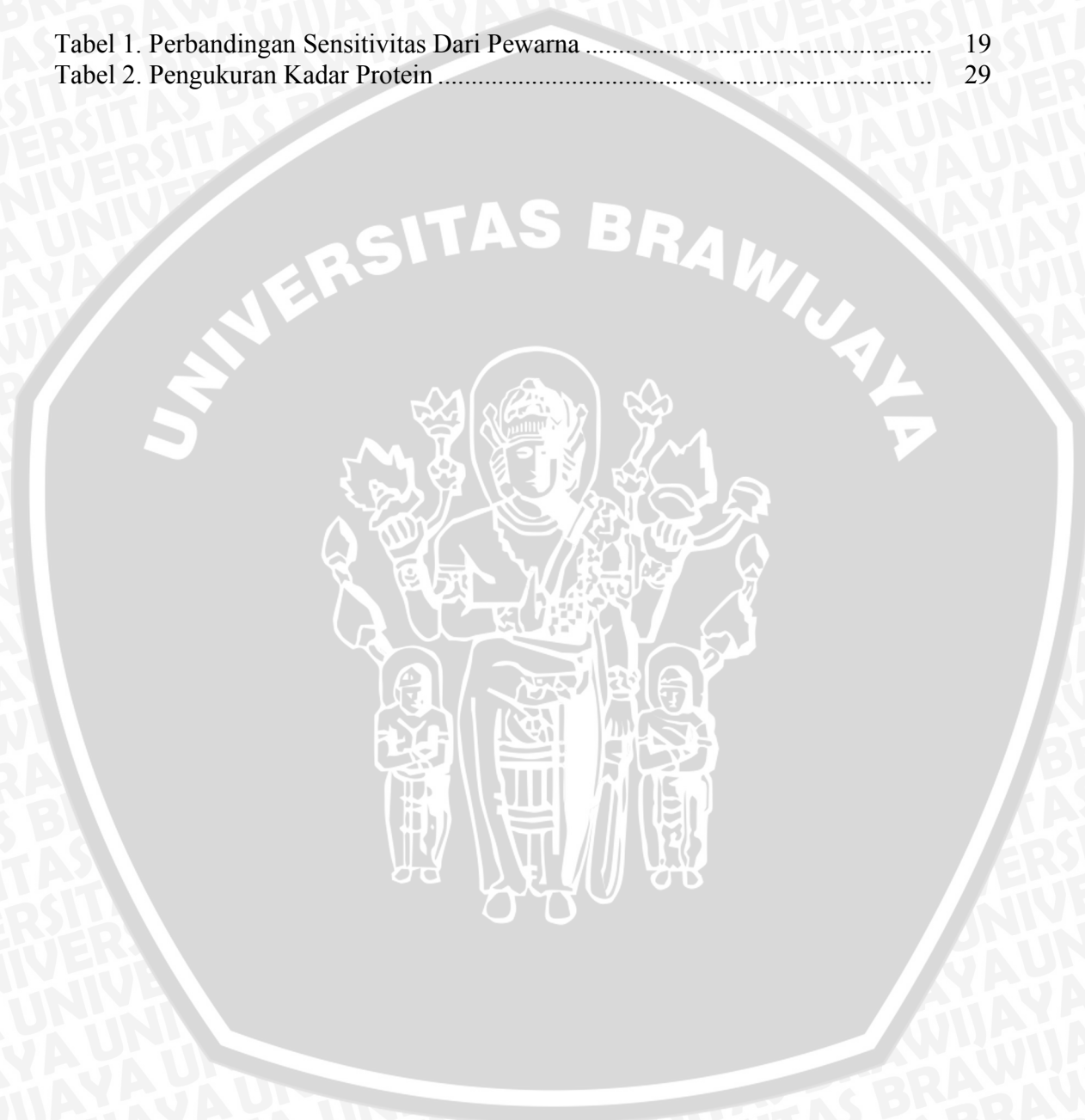
DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Fase inisiasi pembungaan pada durian	5
Gambar 2. Model ABC pada bunga <i>Arabidopsis</i>	9
Gambar 3. Struktur protein	13
Gambar 4. Contoh kurva standar protein dengan menggunakan uji biuret.....	14
Gambar 5. Elektroforesis, perpindahan ion pada medan listrik.....	17
Gambar 6. Protein yang diinkubasi dalam SDS.....	18
Gambar 7. Separasi pola pita protein	27
Gambar 8. Zimogram protein durian	28



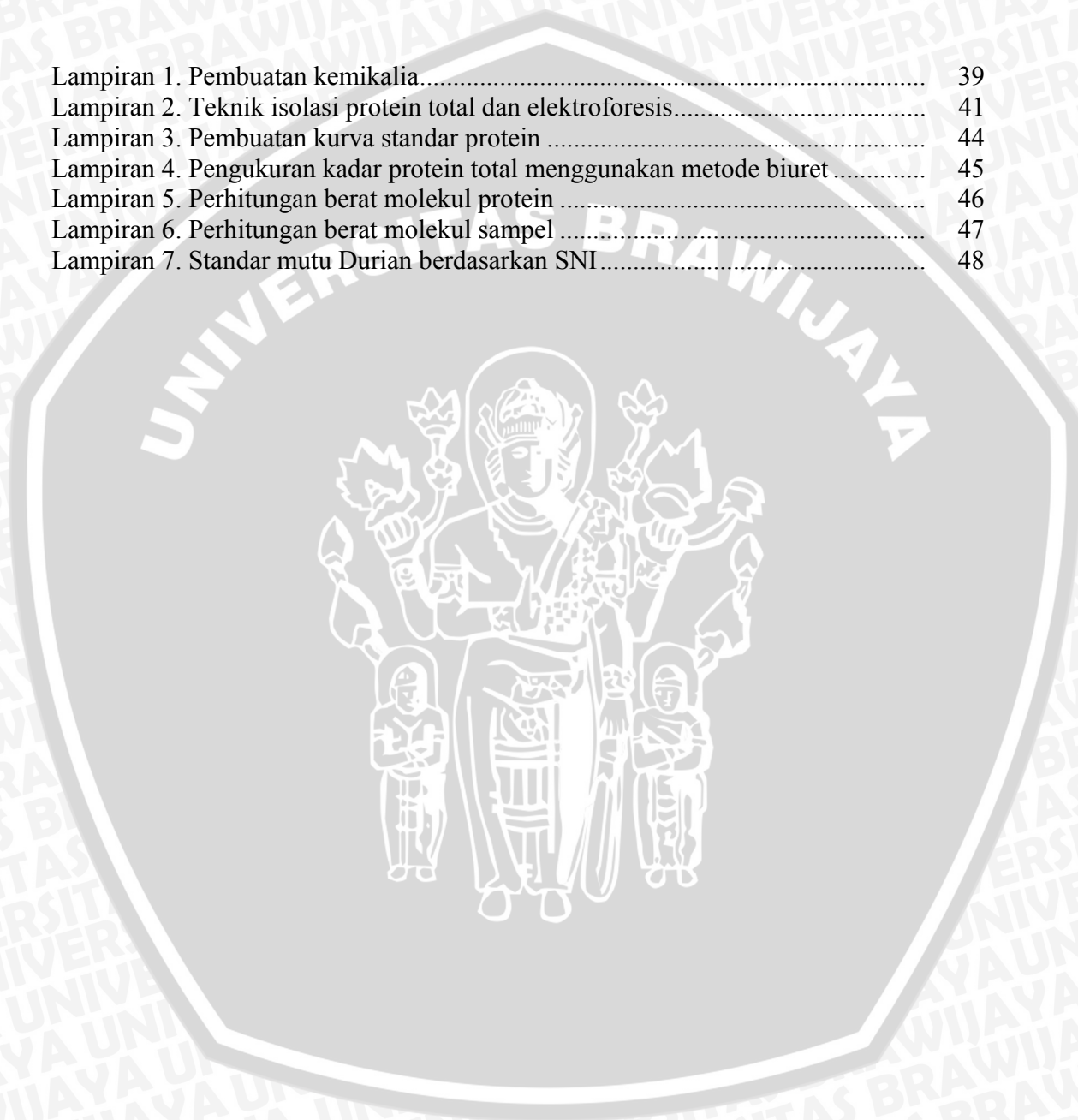
DAFTAR TABEL

Tabel 1. Perbandingan Sensitivitas Dari Pewarna	19
Tabel 2. Pengukuran Kadar Protein	29



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Pembuatan kemikalia.....	39
Lampiran 2. Teknik isolasi protein total dan elektroforesis.....	41
Lampiran 3. Pembuatan kurva standar protein	44
Lampiran 4. Pengukuran kadar protein total menggunakan metode biuret	45
Lampiran 5. Perhitungan berat molekul protein	46
Lampiran 6. Perhitungan berat molekul sampel	47
Lampiran 7. Standar mutu Durian berdasarkan SNI.....	48



1. Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Durian ialah tanaman buah tropis yang berasal dari kawasan Asia Tenggara. Tanaman yang termasuk ke dalam famili Bombaceae ini merupakan salah satu tanaman buah penting di Asia Tenggara, bahkan durian lebih dikenal sebagai raja buah-buahan tropika. Di Thailand terdapat lebih dari 100 kultivar durian yang tersebar, varietas utama yang paling komersial yaitu Monthong, Chanee dan Kradumthong (Salakpetch, 2005). Persebaran tanaman durian dalam iklim tropis yaitu di Srilangka, India Selatan, Burma selatan, Thailand, Kamboja, Vietnam, Malaysia, Indonesia, Filipina dan Papua Nugini (Brown, 1997).

Indonesia memiliki berbagai jenis varietas durian yang sangat beragam penampilannya, yang tersebar luas dari Sumatera hingga Papua. Sebanyak 38 kultivar durian di Indonesia yang sudah dinyatakan unggul nasional berdasarkan standar mutu (lampiran 7) yang berasal dari Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Bali, Sumatra, Bengkulu, Kalimantan dan Manado (Anonymous, 2005). Beberapa yang sudah dikenal masyarakat ialah, Sunan, Hepe, Petruk, Sukun, Sitokong, Simas, Matahari, Bokor dan Perwira (Anonymous, 2008_d).

Produksi durian lokal di Indonesia semakin meningkat setiap tahun. Produksi durian di Indonesia tahun 2003 dilaporkan sebanyak 741,831 ton dan meningkat menjadi 747,848 ton pada tahun 2006 (Anonymous, 2008_e). Areal penanaman durian di Indonesia pada tahun 2007 seluas 47.674 ha dan rata-rata hasil tanaman buah ialah 12,48 ton/ha (Anonymous, 2008_f).

Durian termasuk tanaman lengkap *monoecious* yang *incompatible*, durian merupakan tanaman menyerbuk silang, oleh karena itu banyak keragaman terhadap plasma nutfah durian. Variasi tersebut penting artinya untuk program pemuliaan tanaman yang digunakan untuk tujuan persilangan maupun sumber plasma nutfah

(Anonymous, 2005). Durian lokal pada umumnya mempunyai tingkat adaptasi yang luas terhadap iklim mulai dari daerah beriklim basah, sedang hingga kering. Kelebihan ini merupakan keunggulan karena masa berbuah durian menjadi panjang sehingga durian dapat dipanen hampir sepanjang tahun (Umar *et al.*, -).

Pada umumnya durian yang banyak dikembangkan berasal dari spesies *zibethinus*. Kecamatan Kasembon yang terletak di wilayah barat kabupaten Malang merupakan daerah yang memiliki keanekaragaman durian. Berbagai kultivar langka diduga terdapat pada daerah tersebut. Keragaman ini disebabkan karena durian di kecamatan Kasembon berusia puluhan hingga ratusan tahun dan diperbanyak menggunakan biji (Utomo, 2010).

Kemampuan membedakan genotip individu di dalam spesies maupun beberapa genotip secara tepat sangat diperlukan dalam program pemuliaan (Maftuchah dan Zainudin, 2007). Terdapat dua macam klasifikasi tanaman, yaitu klasifikasi fenetik, adalah klasifikasi berdasarkan kesamaan morfologi dan klasifikasi filogenetik adalah klasifikasi berdasarkan kerabatan genetik (dasar filogeni) (Nandariyah, 2007). Klasifikasi tanaman berdasarkan sifat morfologi menggunakan sifat-sifat yang dapat diamati (fenotipa) yang merupakan gabungan dan interaksi antara genotipa dan faktor lingkungan. Sedangkan klasifikasi filogenetik adalah klasifikasi yang berdasarkan pada sifat genotipa tanpa pengaruh lingkungan. Salah satu teknik yang digunakan untuk mengamati berdasarkan variasi filogeni ialah dengan teknik molekuler protein total.

Mekanisme inisiasi pembungaan pada tanaman durian dikendalikan oleh faktor lingkungan dan faktor dalam. Faktor dalam yaitu adanya peran ekspresi gen berupa protein total. Untuk mengetahui protein total tersebut maka dalam penelitian ini dilakukan pengamatan isolasi protein total tanaman sehingga dari isolasi protein total akan diketahui berat molekul protein yang menyandi pembungaan. Pada penelitian ini, terdapat tanaman durian yang dibedakan kedalam jenis durian semusim

dan durian non musim. Pada durian non musim dapat berbuah lebih dari satu kali dalam setahun. Protein bersama dengan hormon akan menginduksi pembungaan sehingga perlu diamati protein yang mempengaruhi pada pembungaan durian tersebut.

Protein merupakan produk akhir dari gen. Pengamatan protein total berdasarkan pada berat molekul yang ditampilkan dengan metode elektroforesis. Prinsip dasar dari metode elektroforesis ialah pemisahan protein berdasarkan berat molekul yang berbeda sehingga kecepatan Bergeraknya pun berbeda (Dennison, 2002). Untuk mengetahui gerak dan pemisahan protein maka digunakan pewarnaan, sehingga akan terlihat gradien pita proteinnya.

Pada elektroforesis digunakan gel poliakrilamid (PAGE) yang umum dipakai untuk menentukan bobot molekul protein. Selain matriks penyangga dalam elektroforesis, juga digunakan detergen. Detergen berfungsi untuk membantu pelarutan dan melekatkan gugus ion pada tempat dengan interval seragam sepanjang rantai polipeptida. Detergen juga diperlukan untuk melepaskan protein dari kompleks lipoprotein dan membran sel, karena bagian dalam yang hidrofob (lipida) terlarut oleh bagian nonpolar dari deterjen. Deterjen yang dimaksud ialah Sodium Dodecyl Sulphate (SDS) (Sudarmadji, 1996).

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ekspresi gen berupa protein total pada durian non musim dengan durian semusim berdasarkan pola pita protein dengan teknik elektroforesis menggunakan SDS-PAGE.

1.2 Hipotesis

Terdapat kandungan protein total yang lebih banyak pada durian non musim berdasarkan kehadiran, ketebalan dan kuantitas protein total yang berpengaruh pada inisiasi pembungaan.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Botani Tanaman Durian

Durian ialah tanaman pohon tahunan yang memiliki batang tegak bercabang. Durian termasuk ke dalam tanaman tropis hari panjang. Pohon durian dapat mencapai ketinggian hingga 40 m. Daun berbentuk ellips sampai lonjong dengan ukuran antara 10-15 cm dan lebar 3-4,5 cm (Ashari, 1995). Montoso (2007) menambahkan bahwa warna daun hijau, mengkilap pada permukaan atas dan berwarna perak atau perunggu pada permukaan samping. Bunga durian merupakan bunga sempurna, aroma kuat dan bunga bergerombol dihasilkan langsung pada cabang besar antara 3-30 kuntum, berbunga pada malam hari dan diserbuki umumnya oleh kelelawar. Ukuran buah durian besar, panjangnya 15-30 cm, dengan kulit keras, hijau dan berduri. Kulit terbagi menjadi 5 bagian ruangan saat dibelah.

Warna daging buahnya pun bervariasi, yaitu putih, krem, kuning muda, kuning kehijauan dan ada pula yang berwarna kuning tembaga. Di dalam buah terdapat pongge, yaitu biji yang diselimuti oleh daging buah. Dalam setiap musim, jumlah buah yang dihasilkan bisa sekitar 80-100 buah per pohon, tergantung besarnya pohon (Astawan, 2005).

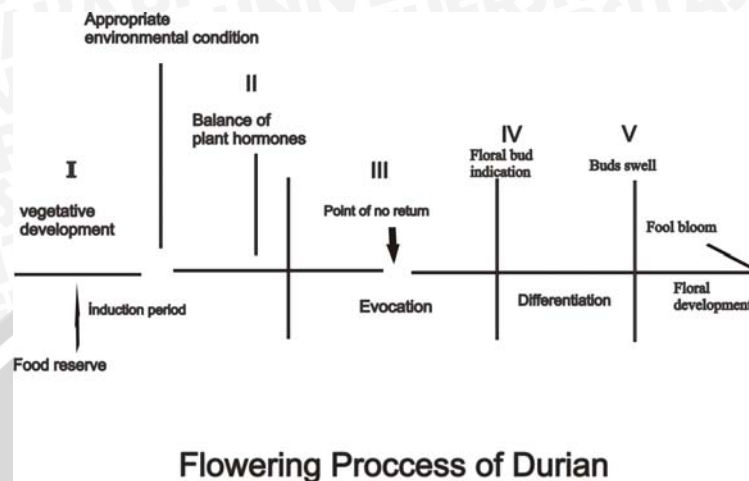
Musim bunga durian jatuh pada musim panas yang sejuk. Di Indonesia durian dapat berbunga 1-2 kali setahun, sehingga variasi pembuahan pada tahun berikutnya dapat terjadi. Terjadinya pembungan tampaknya berkaitan dengan kadar hormon dalam tanaman itu. Periode pembungaan pohon durian berlangsung hingga 2-3 minggu (Ashari, 1995).

Durian memerlukan suhu antara 27-32⁰C dan kelembapan seperti pada hutan tropis untuk membantu pertumbuhan vegetatifnya. Durian memerlukan kelembapan tanah yang rendah dan memerlukan waktu satu hingga tiga bulan masa kering untuk proses pembungaan dan pembuahan. Tanaman durian dapat tumbuh dengan baik pada tanah subur, gembur dan dalam, jenis tanah liat hingga berpasir (Anonymous, 2005).

Durian termasuk kedalam genus *Zibethinus*. Telah dilaporkan oleh Uji (2003), terdapat 20 jenis/spesies durian di Indonesia yang tersebar di Kalimantan, Sumatera, Bali dan Jawa. Namun hanya 9 jenis yang dapat dikonsumsi dan 4 jenis yang dikonsumsi dan dibudidayakan karena memiliki rasa yang enak dan lezat. Keempat jenis durian tersebut ialah *D. dulcis*, *D. kutejensis*, *D. oxleyanus* dan *D. zibethinus* (Anonymus, 2005).

2.2 Konsep Pembungaan Durian

Salakpetch (2005) membagi periode induksi pembungaan durian dalam dua faktor yaitu faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal meliputi hormon pemacu sedangkan faktor eksternal ialah kondisi lingkungan diantaranya periode kering yang berlangsung selama 7-14 hari secara berturut-turut. Suhu rendah sekitar 20-22⁰C, dan kelembapan relatif 50-60% merupakan faktor yang diperlukan untuk perkembangan bunga. Kedua faktor tersebut akan memicu proses pembungaan. Dibawah ini merupakan skema dari tahap inisiasi pembungaan.



Gambar 1: Fase inisiasi pembungaan pada bunga durian (Salakpetch, 2005)

Pada tahap pertama merupakan periode pertumbuhan vegetatif tanaman. Selama periode ini pohon durian akan tumbuh dan dimanipulasi untuk menghasilkan jumlah maksimal dari hasil asimilasi dan fotosintat. Teknik budidaya seperti pemangkasan, penyerbukan, pengairan dan perlindungan tanaman pada waktu yang tepat akan merangsang dan membantu daun untuk tumbuh sehat. Daun yang sehat akan berfotosintesis secara efisien, fotosintat akan dikirimkan untuk proses pembungaan.

Pada tahap dua ini terjadi periode kering seperti yang disebutkan sebelumnya untuk mempersiapkan hormon yang menginduksi pembungaan. Pada tahap tiga setelah periode induksi, akan dilanjutkan pada proses yang disebut periode evokasi, selama periode ini jumlah fisiologi dan biokimia akan terjadi pada tingkat molekuler ke tingkat morfologi. Hal ini akan merangsang jaringan untuk tumbuh ke titik dimana terjadi inisiasi kuncup bunga kemudian menginisiasi dibawah kulit kayu pada cabang durian. Selanjutnya pada tahap empat terjadi proses differensiasi sel, ahir dari periode ini akan muncul tunas bunga yang dikenali pada cabang. Tahap akhir yaitu tunas mulai membengkak hingga berkembang sampai berbunga sempurna. Energi yang

disimpan pada tahap satu akan digunakan secara terus menerus selama perkembangan dari tunas bunga (Salakpetch, 2005).

2.3 Faktor Berpengaruh Dalam Inisiasi Pembungaan Durian

Perkembangan suatu tanaman pada fase berbunga berbeda-beda tergantung spesiesnya. Faktor yang mempengaruhi inisiasi induksi pembungaan ditentukan oleh dua faktor yaitu eksternal dan internal. Tremblay and Colasanti (2006); Salisbury and Ross (1995) menambahkan bahwa perubahan tanaman dari fase vegetatif ke fase reproduksi ditampilkan dengan perkembangan gerak maju dari apikal meristem pucuk yang disertai dengan ekspresi gen. Pada beberapa spesies, rangsangan pembungaan menyebabkan peningkatan aktifitas mitosis dengan segera, serta ukuran inti dan nucleolus meningkat. Sering terjadi pertambahan jumlah ribosom dan mitokondria serta banyaknya RNA di sel apikal (Salisbury and Ross, 1995).

2.3.1 Fotoperiodisme

Beberapa spesies tanaman tidak terpengaruh atau tidak peka terhadap panjang hari. Walaupun demikian, tanaman yang peka terhadap fotoperiodik pun tidak memerlukan panjang hari tertentu untuk pembungaan, tetapi tanaman-tanaman tersebut akan berbunga secara optimal pada kisaran panjang hari yang cukup luas, umumnya menjadi kurang peka dengan bertambahnya umur tanaman. Panjang hari yang lebih dari optimum menyebabkan tertundanya pembungaan tanaman hari pendek sampai tercapai panjang hari kritis tertentu, diatas panjang hari kritis ini tanaman tetap vegetatif. Begitu pula, panjang hari dibawah panjang kritis menyebabkan tanaman hari panjang tetap vegetatif. Kedua tipe spesies tanaman budidaya ini menjadi peka pada kondisi fotoinduktif setelah memenuhi tahap vegetatif dasar (*basic vegetative phase*, BVP) Major (1980) dalam Gardner *et al.* (1991).

2.3.2 Temperatur

Suhu mempengaruhi pertumbuhan vegetatif, induksi bunga, pertumbuhan dan differensiasi perbungaan (*inflorescence*), mekar bunga, munculnya serbuk sari, pembentukan benih dan pemasakan benih. Tanaman tropis tidak memerlukan keperluan vernalisasi sebelum rangsangan fotoperiode terhadap pembungaan menjadi efektif. Tetapi, pengaruh suhu terhadap induksi bunga cukup kompleks dan bervariasi tergantung pada tanggap tanaman terhadap fotoperiode yang berbeda. Suhu malam yang tinggi mencegah atau memperlambat pembungaan dalam beberapa tanaman.

Suhu juga faktor utama yang menentukan inisiasi pembungaan pada tanaman yang responsif pada panjang hari. Bentuk dari tunas bunga di mulai dengan sebuah fase reproduktif. Untuk menentukan spesies dan kultivar, inisiasi daun baru berhenti ketika pembungaan di mulai. Pada tanaman tahunan menghendaki temperatur rendah untuk menginduksi pembungaan (Major, 1980). Untuk menginisiasi pembungaan durian, suhu dibawah 18⁰C diperlukan setiap hari sampai muncul tunas bunga yang dapat diamati pada cabang (Salakpetch, 2005).

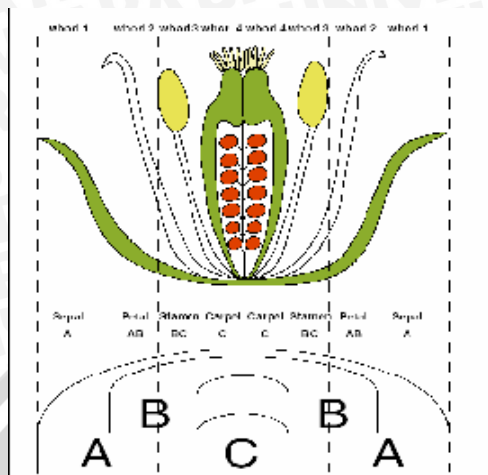
2.3.3 Hormon

Hormon tumbuhan adalah senyawa organik yang disintesis disalah satu bagian tumbuhan dan dipindahkan kebagian lain dan pada konsentrasi yang sangat rendah mampu menimbulkan suatu respon fisiologis (Salisbury and Ross, 1995). Prinsip kerja hormon bukan nutrisi tapi bahan kimia dalam jumlah yang sedikit berpengaruh dalam pertumbuhan. Tanaman membutuhkan hormon pada waktu dan tempat yang khusus selama tanaman tumbuh. Hormon yang berperan dalam pembungaan ialah auxin, giberelin dan sitokinin. Fungsi giberelin ialah mendorong kearah pembungaan (Anonymous. 2008_b). Heddy, Wahono dan Metty (1994) menambahkan bahwa giberelin merangsang ke arah pembentukan kelamin jantan.

Kandungan giberelin dalam batang dan daun pada spesies *Long Day Plant* (LDP) meningkat saat hari panjang. Giberelin berperan dalam mendukung perpanjangan sel, aktivitas kambium dan mendukung pembentukan RNA baru serta sintesa protein. maka dari itu giberelin sangat penting untuk pembungaan (Salisbury and Ross, 1995; Major, 1980).

Hormon tanaman mempengaruhi ekspresi gen, transkripsi, pembelahan sel dan pertumbuhan (Anonymous, 2008_b). Heddy *et al.* (1994) menambahkan bahwa pembungaan tanaman diatur oleh perangsang-perangsang dan penghambat-penghambat yang bekerja secara bersama-sama di dalam tubuh tanaman. Ilmu pengetahuan terbaru menyebutkan bahwa terdapat campuran keseimbangan antara hormon giberelin, sitokinin dan kontrol pembungaan lain yang mengubah dari fase juvenil ke fase dewasa dan juga jumlah pembungaan pada fase dewasa.

Gen-gen yang terlibat dalam proses pembungaan tergolong pada kelompok gen MADS-BOX yang mempunyai peran kunci dalam spesifikasi identitas organ bunga (Soltis *et al.*, 2002 dalam Lestari, 2008). Gen pembungaan berfungsi dari fase awal pembentukan identitas pembungaan hingga terbentuknya bunga. Pada tanaman tingkat tinggi, organ pembungaan diatur dalam empat kelopak yang terdiri atas sepal, petal, stamen dan carpel. Spesifikasi identitas organ bunga dapat dijelaskan dengan model ABC (Ferrari *et al.*, 2004 dalam Lestari, 2008). Ekspresi gen kelas A spesifik membentuk sepal pada *whorl* (lingkaran) pertama, kombinasi gen kelas A dan B spesifik untuk pembentukan petal pada lingkaran kedua, kombinasi gen-gen B dan C spesifik dalam pembentukan stamen pada lingkaran ketiga. Sedangkan ekspresi gen kelas C akan spesifik dalam pembentukan karpel pada lingkaran keempat.



Gambar2 Model ABC pada bunga *Arabidopsis* (Ferrari *et al.*, 2004 dalam Lestari, 2008)

2.4 Kecamatan Kasembon Sebagai Sentra Durian

Kecamatan Kasembon terletak di sebelah barat Kabupaten Malang, luasnya sekitar 55,62 km² dan terbagi ke dalam 6 desa. Ketinggian tempat di kec. Kasembon antara 500-600 mdpl dengan curah hujan rata-rata 1328-1448 mm/th. Kecamatan Kasembon memiliki potensi yang bagus sebagai sentra penghasil durian di Jawa Timur (Anonymous, 2008c), hal ini dikarenakan jumlah populasi tanaman durian sebanyak 15.100 tanaman produktif. Jenis durian dan kualitas buah di Kasembon beragam, hal ini dikarenakan kebanyakan petani menanam dengan biji sebagai bahan tanam. Durian merupakan tanaman menyerbuk silang sehingga kemungkinan variasi hasil penyerbukan adalah banyak (Utomo, 2010).

2.5 Ekspresi Gen

Terdapat dua jenis asam nukleat yaitu asam Deoksiribonucleat (DNA) dan asam ribonukleat (RNA). DNA merupakan suatu makromolekul yang mempunyai peranan sangat penting pada jasad hidup. DNA ialah polimer asam nukleat yang tersusun secara sistematis dan merupakan pembawa informasi genetik yang

diturunkan kepada jasad keturunannya. DNA berfungsi untuk mengarahkan sintesis RNA dan mengontrol sintesis protein melalui RNA. Protein diperlukan untuk mengimplementasikan program genetik. Protein adalah perangkat keras suatu molekuler sel, suatu alat yang sangat bermanfaat bagi sebagian fungsi-fungsi biologis. Urutan sampai terbentuknya protein yaitu setiap gen di sepanjang rentang molekul DNA mengarahkan sintesis suatu jenis RNA yang disebut RNA duta atau *messenger* RNA (mRNA). Molekul mRNA kemudian berinteraksi dengan peralatan pensintesis protein dalam sel untuk mengarahkan produksi polipeptida. Tempat terjadinya sintesis protein yaitu pada ribosom, ribosom berada di dalam sitoplasma, namun sintesis DNA berada dalam nukleus. mRNA akan mengirimkan instruksi genetik untuk pembangunan protein dari nukleus sampai sitoplasma (Chambell *et al.*, 2001). Dengan kata lain aliran informasi genetik untuk sampai kepada protein ialah dari DNA melalui proses transkripsi ke RNA untuk dilakukan translasi dan sampai pada produk akhir yaitu protein (Crowder, 1997).

Transkripsi ialah suatu proses dimana penyalinan informasi genetik yang terdapat pada DNA untuk menjadi RNA (Chambel *et al.*, 2001; Suryo, 2004). Transkripsi ini merupakan proses yang mengawali ekspresi sifat-sifat genetik dan dalam proses lanjut akan muncul sebagai fenotip. Selanjutnya proses transkripsi akan menghasilkan mRNA, tRNA dan rRNA. Pembentukan RNA dilakukan oleh enzim RNA polymerase. Hasil transkripsi merupakan hasil yang memiliki intron (segmen DNA yang tidak menyandikan informasi biologi) dan harus dilakukan *splicing* yaitu pemotongan bagian hasil transkripsi (Anonymous, 2008_a).

Translasi ialah proses penerjemahan kode genetik pada mRNA menjadi polipeptida (Anonymous. 2008_a). Stenesh (1989) menambahkan translasi ialah penterjemahan kode genetik pada molekul mRNA menjadi asam amino yang akan menjadi susunan rantai polipeptida yang berlangsung di sitoplasma (ribosom).

Translasi berlangsung di dalam ribosom. Ribosom disusun oleh molekul-molekul rRNA dan beberapa macam protein. Ribosom tersusun atas dua subunit, yaitu subunit kecil dan subunit besar. Pada organisme eukaryot, subunit kecil berukuran 40S sedangkan subunit besar berukuran 60S, tetapi sebagai suatu kesatuan, ribosom eukaryot mempunyai koefisien sedimentasi sebesar 80S. Pada organisme eukaryot proses translasi dapat dilakukan jika proses transkripsi sudah selesai dilakukan (Yuwono, 2005).

Proses translasi berlangsung melalui tiga tahapan, yaitu inisiasi, elongasi dan terminasi. Pada inisiasi translasi organisme eukaryot kode genetiknya ialah metionin. Molekul tRNA inisiator (pembawa) disebut $tRNA_i^{Met}$. Inisiator ini akan menuntun ribosom menyisiri sekuen mRNA untuk menemukan kodon awal dari arah 5' ke 3' sampai menemukan kodon awal (AUG). Elongasi disebut juga sebagai proses pemanjangan polipeptida. Proses pemanjangan terjadi dalam tiga tahap yaitu, pengikatan aminoasil-tRNA pada sisi A yang ada di ribosom, pemindahan rantai polipeptida yang tumbuh dari tRNA yang ada pada sisi P ke arah sisi A dengan membentuk ikatan polipeptida dan translokasi ribosom sepanjang mRNA ke posisi kodon selanjutnya yang ada di sisi A. Translasi akan berakhir pada waktu satu dari ketiga kodon terminasi (UAA, UGA, UAG) pada mRNA mencapai posisi A pada ribosom (Yuwono, 2005).

2.6 Protein

2.6.1 Struktur Protein

Protein dalam pengertian kimia ialah suatu polimer asam amino atau asam 2-amino karboksilat (McGildvery and Goldstein, 1996). Asam amino adalah molekul organik yang memiliki gugus karboksil dan gugus amino. Asam amino akan berikatan satu dengan yang lain oleh ikatan peptida sehingga merupakan rantai panjang (Champbell *et al.*, 2001). Protein disusun dari 20 asam amino, bila suatu

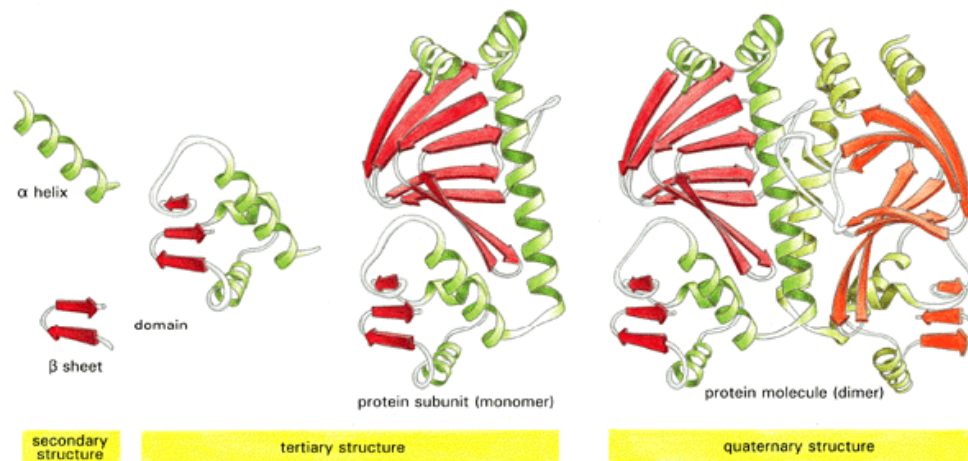
protein akan disintesis haruslah tersedia sejumlah asam amino bebas. Protein terbentuk dari polipeptida yang terdiri atas rangkaian 100 atau lebih asam amino. Protein merupakan biomolekul yang sangat penting, sifat kimia protein ditentukan oleh rantai (gugus) samping asam amino. Rantai samping merupakan gugusan yang peranannya sangat penting dalam menentukan sifat-sifat suatu protein (McGildvery and Goldstein, 1996).

Rantai samping memiliki sifat kimiawi dan sifat fisik yang akan menentukan karakterisasi yang unik dari suatu asam amino tertentu. Asam amino dikelompokkan sesuai dengan sifat rantai sampingnya. Berdasarkan kekutubannya asam amino dikelompokkan menjadi tiga kelompok, satu; kelompok yang terdiri atas asam amino dengan rantai samping non polar yang bersifat hidrofobik contohnya: Glisin, Alanin, Valin, Leusin, Isoleusin, Metionin, Fenilalanin, Triptofan dan Prolin. Dua; asam amino dengan rantai samping polar yang bersifat hidrofilik contohnya Serin, Treonin, Sistein, Tirosin, Asparagin, Glutamin. Tiga, asam amino bermuatan listrik yang bersifat asam (asidik) adalah asam amino dengan rantai samping yang umumnya bermuatan negatif akibat kehadiran suatu gugus karboksil, yang umumnya terurai (terionisasi) pada tingkat pH seluler.

Menurut Campbell *et al.* (2000), struktur protein dibedakan berdasarkan tiga tingkatan yang saling berimpitan, yaitu yang dikenal sebagai struktur primer, sekunder dan tersier. Tingkatan keempat, struktur kuartener, terjadi ketika suatu protein terdiri atas dua atau lebih rantai polipeptida. Struktur primer suatu protein adalah urutan unik yang terdiri dari asam amino. Poedjiati dan Supriyanti (2007) menambahkan bahwa struktur primer menunjukkan jumlah, jenis dan urutan asam amino dalam molekul protein. Oleh karena ikatan antar asam amino ialah ikatan peptida maka struktur primer protein juga menunjukkan ikatan peptida yang urutannya diketahui. Struktur sekunder, menggambarkan pola pelipatan bagian-bagian polipeptida ke dalam struktur yang teratur. Pada struktur ini protein sudah

mengalami interaksi intermolekul, melalui rantai samping asam amino. Ikatan yang membentuk struktur ini, didominasi oleh ikatan hidrogen antar rantai samping yang membentuk pola tertentu bergantung pada orientasi ikatan hidrogennya. Ada dua jenis struktur sekunder, yaitu: α -heliks dan β -sheet (Yuwono, 2005). Struktur tersier menunjukkan kecenderungan polipeptida membentuk lipatan atau gulungan, dan dengan demikian membentuk struktur yang lebih kompleks. Struktur ini dimantapkan oleh adanya beberapa ikatan antara gugus R pada molekul asam amino yang membentuk protein. Struktur kuaterner adalah keseluruhan struktur protein yang dihasilkan dari penggabungan semua subunit polipeptida (Poedjiati dan Supriyanti, 2007).

Berdasarkan penggolongannya protein dibedakan menjadi protein sederhana dan protein gabungan. Protein sederhana ialah protein yang terdiri atas molekul-molekul asam amino, sedangkan protein gabungan ialah protein yang terdiri atas protein dan gugus bukan protein. Berdasarkan bentuk molekulnya protein sederhana dibedakan menjadi protein fiber dan protein globular. Protein fiber ialah molekul yang terdiri atas beberapa rantai polipeptida yang memanjang dan dihubungkan satu dengan yang lain oleh beberapa ikatan silang hingga merupakan bentuk serat yang stabil. Protein fiber ini tidak larut dalam air dan sukar diuraikan oleh enzim, contohnya ialah kolagen, serabut sutera. Protein globular pada umumnya berbentuk bulat atau ellips dan terdiri atas rantai polipeptida yang berlipat. Pada umumnya gugus R polar terletak di sebelah luar rantai polipeptida, sedangkan gugus R yang hidrofob terletak disebelah dalam molekul protein. Protein globular pada umumnya dapat larut dalam air, larutan asam, atau basa dan dalam etanol, contohnya albumin, globulin dan protamin (Poedjiati dan Supriyanti, 2007).



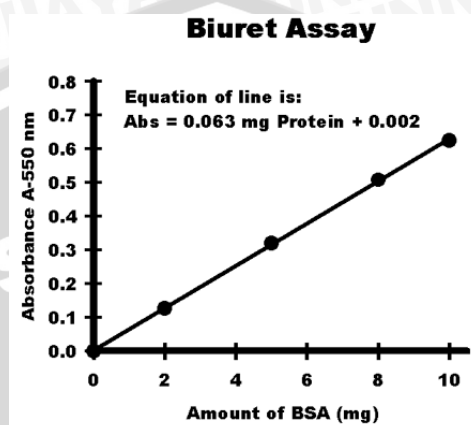
Gambar 3: Struktur Protein (Dennison, 2002)

2.6.2 Kurva Standar Protein

Kurva standar digunakan untuk analisis kuantitatif dari suatu substansi yang belum diketahui melalui perbandingan terhadap suatu standar. Misalnya, untuk memperkirakan konsentrasi suatu sampel protein dapat ditentukan dengan cara membandingkan dengan jumlah pada kurva standar protein menggunakan pewarna yang bereaksi baik pada kurva standar maupun sampel protein. Pengukuran absorbansi untuk mengukur konsentrasi protein dengan metode biuret dilakukan pada panjang gelombang λ 540-550 nm (Champbell *et al.*, 2001). Pada panjang gelombang tersebut merupakan frekuensi absorbansi maksimum ($A_{\max}$) dengan menggunakan spektrofotometer. Frekuensi tersebut merupakan absorbansi terbaik yang menunjukkan konsentrasi protein tertinggi (Capprete, 2008).

Kurva standar protein diperlukan sebagai perbandingan untuk menentukan jumlah protein yang terdapat dalam sampel. Protein yang biasa digunakan untuk kurva standar adalah *bovine serum albumin* (BSA). Penentuan jumlah protein dalam suatu sampel dapat dilakukan dengan menggunakan persamaan garis dalam suatu kurva standar (Yazi, 2007). Data yang diperoleh dari hasil spektrofotometer digunakan untuk membuat kurva standar dengan memplot konsentrasi sebagai sumbu

x dan absorbansi sebagai sumbu Y. Dari data tersebut akan diperoleh persamaan garis $y = ax + b$.



Gambar 4. Contoh kurva standar protein dengan menggunakan uji biuret (Champbell, 2001)

2.6.3 Pengukuran Kadar Protein

1. Metode Biuret

Dalam larutan alkalin, protein mengurangi ion tembaga (Cu^{2+}) menjadi ion (Cu^{1+}) yang bereaksi dengan ikatan peptida untuk memberikan warna biru. Reaksi ini disebut reaksi biuret dan dinamakan setelah susunan biuret, yang memberi hasil susunan ciri khas warna. Karena berikatan dengan ikatan peptida, maka sedikit variasi pada intensitas warna yang diberikan oleh protein yang berbeda. Metode biuret dapat digunakan untuk mengukur konsentrasi protein pada kehadiran dari polyethylene glycol, pemurni protein yang umum. Kerugian metode biuret yaitu relatif tidak sensitif, maka jumlah besar protein diperlukan untuk uji ini. Varian yang lebih sensitif dari cara uji mikro biuret telah ditemukan (Dennison, 2002). Polypeptida dan protein dengan dua atau lebih ikatan peptida memberikan ciri warna ungu jika diperlakukan dengan tembaga sulfat pada nilai pH alkali. Warna disebabkan oleh terbentuknya kompleks ion tembaga dengan empat atom nitrogen, dua dari tiap-tiap untai dua peptida. Reaksi ini sama dengan reaksi dari empat molekul ammonia dengan tembaga. Ion ammonia akan mencampur pada ketentuan dengan mengikat

komplek biru dengan tembaga dari reagen biuret. Reaksi biuret membutuhkan protein dalam jumlah yang besar (1-20 mg) (Robyt dan Whyte, 1987).

2 Metode Folin-Lowry

Metode Lowry merupakan modifikasi dari metode biuret, untuk memberikan reaksi yang lebih sensitif pada penentuan protein. Dua warna reaksi yang digunakan, reaksi biuret dengan tembaga alkali dan reaksi complex dari garam phosphomolybdotungstate, disebut reagen phenol Folin-Crocalteu yang memberikan warna hijau-biru dengan biuret complex dari tyrosin dan tryptophan (Dennison, 2002; Robyt and Whyte, 1987). Metode Folin-Lowry beberapa kali lebih sensitif daripada reaksi ninhydrin, 10 kali lebih sensitif dari pengukuran penyerapan UV pada absorbansi 280 nm dan 100 kali lebih sensitif dari metode biuret. Bahan-bahan dari metode ini seperti K^+ , Mg^{2+} , NH_4^+ , EDTA, Tris, karbohidrat dan agen perusak (2-mercaptoethanol, DTT, dll) (Robyt and Whyte, 1987).

3 Metode Bradford

Metode ini menggunakan celupan, Coomassie brilliant blue G-250, yang bermuatan negatif dan mengikat pada protein dengan muatan positif. Celupan berada pada bentuk warna merah ($A_{\max} = 465 \text{ nm}$) dan bentuk warna biru ($A_{\max} = 595 \text{ nm}$). Warna merah yang menguasai dari larutan ini dan saat muatan negatif mengikat muatan positif pada protein, maka akan diubah pada warna biru. Uji Bradford merupakan metode pengukuran protein yang cepat, karena diperlukan sedikit pencampuran bahan, tidak diperlukan pemanasan dan cenderung menghasilkan respon kolorimetri yang lebih stabil (Caprette, 1997).

2.6.4 Isolasi Protein Total

Isolasi protein total ialah usaha untuk memurnikan bagian-bagian protein total dari beberapa bahan biologi (sel) atau dari produk biologi. Isolasi protein total bertujuan untuk memisahkan bagian protein dari seluruh bagian yang bukan protein

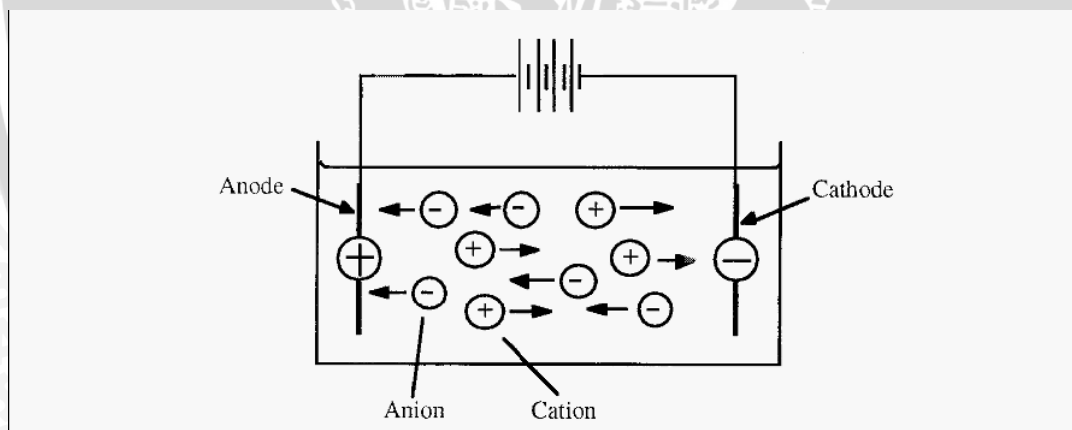
dan protein lain yang berada dalam bahan yang sama (Denison, 2002). Langkah yang dilakukan dalam pemisahan protein total yaitu dengan sentrifugasi. Pemisahan secara sentrifugasi dilakukan berdasar sifat partikel dalam medan gaya sentrifugal. Partikel protein total yang akan dipisah disuspensikan dalam medium cair yang dimasukkan dalam tabung sentrifus yang ditempatkan dalam rotor pemutar (Sudarmadji, 1996). Prinsip dasar dalam sentrifugasi ialah dua partikel dalam suspensi (sel, organel, atau molekul) dengan massa dan kerapatan yang berbeda akan berada dalam *tube* paling bawah pada laju yang berbeda. Adapun tujuan dari sentrifugasi yaitu sebagai teknik persiapan untuk memisahkan satu jenis materi dari materi lain yang berbeda dan digunakan sebagai teknik analisis untuk mengukur *physical properties* contohnya bobot molekul, kepadatan dan bentuk dari makromolekul. Sudarmadji (1996) menambahkan tujuan sentrifugasi yaitu pada partikel yang berbeda dalam berat jenis, ukuran dan bentuk akan mengendap searah dengan gaya sentrifugal dengan kecepatan yang berbeda. Hal ini akan terbentuk endapan konstan dari protein total diukur dari laju endapannya.

2.6.5 Elektroforesis SDS-PAGE

Elektroforesis ialah suatu teknik untuk memisahkan molekul dalam suatu campuran di bawah pengaruh muatan listrik. Molekul terlarut dalam muatan listrik akan bergerak pada kecepatan yang ditetapkan oleh rasio massanya. Contohnya jika dua molekul memiliki massa dan bentuk yang sama, maka salah satu yang terbesar muatannya akan bergerak lebih cepat mendahului elektroda. Elektroforesis diartikan sebagai perpindahan muatan ion dalam medan listrik (Dennison, 2002). Pada penghantar logam, arus listrik dibawa dengan perpindahan elektron menuju ke seluruh permukaan logam. Dalam prinsipnya, protein dan asam-asam nukleat lain memiliki gugus yang dapat mengion sehingga diatur dalam larutan sebagai senyawa bermuatan listrik, baik sebagai kation (+) atau anion (-). Kation (+) akan bergerak

menuju katoda (-) dan sebaliknya anion (-) bergerak menuju anoda (+) dengan kecepatan yang berbeda tergantung dari kekuatan medan listrik dan muatan ionnya. Adanya larutan buffer penting untuk mencegah terjadinya difusi karena timbulnya panas dari arus listrik yang digunakan. Gel poliakrilamid dan agarosa merupakan matriks penyangga yang umum dipakai dalam separasi protein dan asam nukleat.

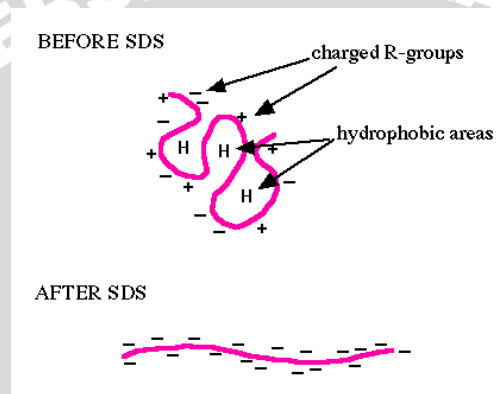
Elektroforesis dengan menggunakan gel poliakrilamid (PAGE) umum dipakai dalam isolasi protein total. *Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE) ialah suatu teknik yang luas digunakan dalam biokimia, forensik, genetik dan biologi molekuler. SDS-PAGE digunakan untuk meneliti kualitas campuran protein total dan juga bermanfaat untuk mengontrol pemurnian protein total (Walker, 2002). SDS-PAGE digunakan untuk memisahkan protein total berdasarkan bobot molekul dan migrasinya dalam sebuah medan listrik (Pasilla, 2007). Elektroforesis untuk makromolekul memerlukan matriks penyangga untuk mencegah terjadinya difusi karena timbulnya panas dari arus listrik yang digunakan.



Gambar 5: Elektroforesis, perpindahan ion pada medan listrik (Dennison, 2002)

SDS ialah detergen anionik yang dapat melarutkan molekul larutan tapi juga bermuatan negatif (sulfate). Oleh karena itu, jika sel diinkubasi dengan SDS, maka membran akan menjadi terlarut dan protein akan dilarutkan oleh deterjen. SDS ini akan menahan protein dengan rapat sekali dan secara keseluruhan melapisiya dan

seluruh protein akan ditutup dengan muatan negatif. Fungsi dari detergen (SDS) ini ialah untuk melepaskan protein dari kompleks lipoprotein dan membran sel karena bagian dalam yang hidrofob (lipida) terlarut oleh bagian nonpolar dari detergen (Sudarmadji, 1996). SDS akan mengikat pada bagian hidrofobik dan residu asam amino sehingga menyebabkan perubahan struktur tiga dimensi protein (menjadi *unfolding*), selain itu SDS juga menyebabkan seluruh rantai polipeptida bermuatan negatif. Dalam kondisi ini, ukuran protein hanya tergantung pada berat molekulnya.



Gambar 6: Protein yang diinkubasi dalam SDS (Davidson, 2001)

Pengikatan protein dengan SDS akan menyebabkan dua hal. Yang pertama yaitu terputusnya ikatan disulfida yang menentukan ikatan protein dengan kata lain struktur sekunder protein rusak. Kedua, akan menyebabkan bagian luar molekul protein terselubungi oleh muatan negatif dari SDS sehingga molekul protein akan terseparasi semata-mata berdasarkan berat molekulnya saja bukan berdasarkan besar dan jenis muatannya karena semua molekul protein sekarang bermuatan negatif. Isosiasi ini terjadi dengan bantuan pemanasan dan penambahan agen pemutus seperti β -merkaptotanol atau 1,4-ditriotitoll (DTT).

2.6.6 Pewarnaan Gel

Terdapat dua metoda dalam mendeteksi gel, antara lain menggunakan pewarna perak (*silver stain*) dan pewarna biru *Coomassi Brilliant Blue* (CBB) (Ausubel *et al.*, 1992). Pada system elektroforesis, setelah dilakukan *running* maka tahap berikutnya adalah pendeteksian pita dengan pewarnaan. Pewarnaan perlu dilakukan karena gel berwarna jernih sehingga pita-pita tidak terlihat. Pewarnaan perlu dilakukan untuk mengubah data kedalam data kualitatif untuk analisa lanjutan (Sudarmono, 2008). Pita-pita pada lajur akan tampak setelah pewarnaan, pita-pita yang sama jaraknya pada gel menunjukkan ukuran yang sama. *Coomassi Blue* mendeteksi sedikitnya 38 ng protein, akan tetapi beberapa protein berpendar. Pewarna ini pertama kali dikenalkan oleh Talbot and Yphantis pada tahun 1971. *Coomassi Blue* merupakan pewarna organik dimana intensitas pewarnaan relatif tinggi, adapun pewarna organik lain seperti Amido Black dan PCF fast Green. Beberapa pewarna dan sensitifitasnya disajikan dalam tabel dibawah ini:

Tabel 1: Perbandingan sensitivitas dari pewarna

Metode Pewarnaan	Protein (ng)
Amido black	30000
Coomassie blue R-250	38
Fast green FCF	15000
Silver stain	0.02
Negative stains	5-1500
MTA negative stain	0.5
Pre-electrophoretic fluorescent stains	10-Jun
Post-electrophoretic fluorescent stains	100
SYPRO red and orange fluorescent stains	0.5-1.0

Pewarna lain ialah perak nitrat yang pertama ditemukan oleh Merrill *et al.*, pada tahun 1979. Teknik pewarnaan ini berdasarkan pada reduksi selektif ion perak menjadi perak metalik pada pita protein total dalam gel. Gel yang terdapat pita

protein total memiliki perbedaan potensial oksidasi-reduksi dibandingkan dengan bagian gel yang berdekatan dalam gel yang tidak mengandung protein total. Perbedaan potensial relatif oksidasi-reduksi tersebut kemungkinan disebabkan oleh adanya perubahan untuk mencapai sisi negatif atau positif gel yang terwarnai oleh perubahan prosedur pewarnaan. Pewarnaan silver ini dapat digunakan baik secara kualitatif maupun kuantitatif (Hames, 1998).

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



3. Bahan dan Metode

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Biologi Molekular jurusan Biologi, FMIPA Universitas Brawijaya, Malang. Waktu penelitian mulai Oktober 2009 sampai dengan April 2010.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan ialah mortar dan pestle, vortex, polipropilen, eppendorf, refrigerator, alat sentrifugasi, mikropipet dan pipet tip, gunting, satu set alat elektroforesis gel poliakrilamid *vertical slab*, kotak plastik tempat gel, plastik klep, botol, *shaker*, oven, *freezer*, spektrofotometer dan gelas ukur.

Bahan-bahan yang digunakan antara lain sampel protein total, protein marker *Fermentans Prestained Protein Ladder* SM0671, Ekstrak buffer (KCl, MgCl₂, PVP, BSA, Tris-Cl pH 7,4, 2-mercaptoethanol, EDTA) TCA, Ditrilotitol (DTT), aseton absolute, gel (akuabides, stok akrilamid bis, Tris pH 8,8, Tris pH 6,8, SDS, APS 10%, dan TEMED (N,N N' N' tetramethylethylene diamine), NaOH 0,9%, *running buffer*, *loading buffer*, larutan *silver staining* (ethanol, asam asetat glacial, glutaraldehyde, AgNO₃, formal dehid, NaOH, akuades), reagen biuret (CuSO₄, NaK tetrat, NaOH, KI, Akuades steril).

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Persiapan Bahan

Sampel tanaman durian diperoleh dari tanaman milik warga Kecamatan Kasembon Kabupaten Malang. Bahan yang digunakan yaitu daun ke dua dari pucuk yang telah membuka sempurna karena daun yang sudah dewasa sudah membentuk protein dengan lengkap, sehingga protein terekspresi secara maksimal (Hastuti *et al.*). Daun diambil pada pagi hari sebelum matahari terbit. Sampel daun yang telah diambil

dibungkus dengan tissu basah dan dimasukkan dalam plastik dan disimpan dalam box es. Sampel daun durian yang digunakan ialah durian semusim dan durian non musim. Durian non musim terdiri dari Arab, Cikrak dan durian semusim terdiri dari Jingga, Kunir, Manalagi, Monthong, dan Orri.

3.3.2 Isolasi Protein Total Tanaman

Isolasi protein total tanaman mengikuti metode Laemmli (1970) yang telah dimodifikasi. Pada isolasi protein total daun durian terdapat tiga tahap pemurnian protein total dari campurannya. Yaitu pertama memisahkan sel dari jaringannya, kedua menghancurkan membran sel untuk mengambil kandungan sitoplasma dan organelnya. Pada tahap satu dan dua ini disebut homogenasi dan proses ketiga yaitu tahap memisahkan organel-organel lain yang bukan protein. Adapun cara kerjanya ialah daun durian sebanyak 0,3 g diberi nitrogen cair lalu digerus dalam mortar dingin, hal ini bertujuan untuk mencegah denaturasi protein kemudian ditambah dengan buffer ekstrak sebanyak 800 μL sehingga akan diperoleh hasil homogenasi yang selanjutnya disebut homogenat. Homogenat yang dihasilkan dipindah ke tabung ependorf lalu di simpan dalam refrigerator pada suhu -4°C selama 30 menit. Tahap selanjutnya ialah homogenat disentrifuse dengan kecepatan 12.000 rpm pada suhu 2°C selama tiga menit. Homogenat masih berupa debris sel (bagian sel yang tidak hancur) dan organel-organel sel serta makromolekul penyusun sel diantaranya protein. Makromolekul (diantaranya protein) yang ukurannya lebih kecil dari debris dan organel sel tidak akan mengendap melainkan terlarut dalam buffer yang disebut supernatant. Dengan sentrifugasi, debris dan organel sel akan mengendap didasar tabung sentrifus yang disebut pellet. Dari sentrifuse akan diperoleh pellet dan supernatan. Pellet dibuang sedangkan supernatan diambil sebanyak 200 μL kemudian divorteks dan disimpan dalam *refrigerator*. Supernatant ini yang dipakai sebagai sampel untuk analisa protein. Protein yang telah diperoleh dari isolasi protein total

merupakan protein yang akan diuji secara kualitatif dan kuantitatif. Uji kuantitatif yaitu pembacaan kadar protein dengan spektrofotometer (Tabel 2) dan uji kualitatif dengan elektroforesis.

3.3.3 Pembuatan Kurva Standar

Pembuatan kurva standar dilakukan dengan mencatat nilai absorbansi yang telah diatur pada alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm. Panjang gelombang ini merupakan frekuensi absorbansi maksimum yang menunjukkan konsentrasi protein tertinggi. Dengan ini akan diperoleh data. Data yang diperoleh dari hasil spektrofotometer digunakan untuk membuat kurva standar dengan memplot konsentrasi sebagai sumbu x dan absorbansi sebagai sumbu Y. Dari data tersebut akan diperoleh persamaan garis $y = ax + b$. Dari kurva ini akan membentuk persamaan garis linier dan kurva ini dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi protein yang diisolasi. Kurva standar protein diperlukan sebagai perbandingan untuk menentukan jumlah protein yang terdapat dalam sampel. Protein yang biasa digunakan untuk kurva standar adalah *bovine serum albumin* (BSA).

3.3.4 Pengukuran Kuantitatif Kadar Protein Total

Tabung reaksi sebanyak sampel disiapkan, ditambah dengan satu tabung sebagai *blanko* dibungkus dengan aluminium foil. Masing-masing tabung diisi dengan 90 μ l NaCl 0,9%. Sampel protein total sebanyak 10 μ l dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Masing-masing tabung reaksi ditambahkan 2,9 ml reagen Biuret kemudian divorteks lalu ditutup dengan plastik dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit. Kemudian tiap-tiap sampel dilakukan spektrofotometri untuk mengetahui serapan pada panjang gelombang 540 nm. Untuk mendapatkan kadar protein total, maka nilai serapan dari kurva standar dimasukkan dalam rumus

persamaan garis linier $y = ax + b$. Y merupakan nilai spektrofotometer hasil serapan dari sampel, dan X merupakan kadar protein yang akan dicari. Dari perhitungan tersebut diperoleh nilai kadar protein total masing-masing sampel.

3.3.5 Analisa Protein Total

Analisa protein total menggunakan metode elektroforesis SDS-PAGE mengikuti prosedur Laemmli (1970).

3.3.5.1 Persiapan Gel

Sebelum elektroforesis, maka harus melakukan persiapan gel, yaitu mempersiapkan plate tempat running. Plate dibuat dengan merangkai dua kaca, plate berbentuk segiempat. Gel dibuat dua lapis yaitu sebagai tempat pengumpul sampel (*stacking gel*) dan gel sebagai media untuk pemisah protein (*separating gel*). *Separating gel* dibuat dengan cara memasukkan 3,125 ml stok akrilamid ke dalam tabung polipropilen 50 ml dan ditambahkan dengan 2,75 ml 1M Tris pH 8,8. Tabung ditutup kemudian digoyang secara perlahan. Kemudian ditambahkan aquabides sebanyak 1,505 ml dalam tabung lalu tabung ditutup dan digoyang secara perlahan. Setelah itu dimasukkan SDS 10% sebanyak 75 μ L dan APS 10% 75 μ L sambil digoyang secara perlahan. Kemudian ditambahkan TEMED sebanyak 5 μ L ke dalam tabung dan digoyang secara perlahan. Setelah campuran tersebut diperoleh segera dituang ke dalam cetakan (plate) dengan menggunakan pipet 1 ml sampai batas yang terdapat pada cetakan. Kemudian ditambahkan aquades di atas larutan gel supaya permukaan rata, lalu gel dibiarkan memadat selama 30 menit.

Selama menunggu *separating gel* memadat, maka disiapkan pembuatan *stacking gel*. Bahan yang digunakan yaitu stok akrilamid 0,45 ml ditambahkan dengan 1M Tris pH 6,8 sebanyak 0,38 ml, aquades 2,11 ml, SDS 10% sebanyak 30 μ L, APS 10% sebanyak 30 μ L, dan TEMED 5 μ L. Cara pembuatan *stacking gel* sama

dengan metode pembuatan *separating gel*. Sebelum larutan *stacking gel* dituang ke dalam plate, maka aquades yang menutupi *separating gel* dibuang terlebih dahulu, dan dipasang sisiran untuk membentuk sumur gel. Setelah itu larutan *stacking gel* dituang dan ditunggu selama 30 menit sampai gel memadat.

3.3.5.2 Persiapan Sampel

Sampel protein total yang diperoleh ditambahkan dengan *reducing sampel buffer* (RSB) dengan perbandingan 1:1 (15 μL : 15 μL) di dalam tabung eppendorf. Perbandingan ini bertujuan agar hasil reaksi pemisahan protein sampel yang optimal tidak merusak protein. Setelah itu sampel dipanaskan pada suhu 100°C selama 5 menit dan disimpan pada suhu ruang. Hal ini bertujuan untuk mendenaturasikan protein supaya protein terpisah secara optimal. Setelah sampel dingin, lalu dimasukkan ke dalam sumuran gel dengan volume 30 μL setiap sumuran. Penambahan disulfida *reducing agen* seperti β -merkaptotanol, glycerol digunakan untuk menambah berat jenis sampel sehingga sampel bisa termigrasi turun mengendap pada dasar sumur. Keseimbangan pH dikontrol dengan Tris pH 6,8, sedangkan Bromophenol blue digunakan sebagai penanda *tracking dye* pada pergerakan laju saat elektroforesis.

3.3.5.3 Running

Gel dibuat melalui elektroforesis menggunakan Sodium Dodecil Sulfate Poliacrilamide Gel Elektroforesis (SDS-PAGE). Pada elektroforesis dengan SDS-PAGE ini digunakan perangkat elektroforesis *vertical slab* dengan ruang tempat larutan (*running buffer*). Sampel protein total dimasukkan kedalam sumuran dengan menggunakan mikropipet.

Untuk memulai running, perlengkapan elektroforesis dihubungkan dengan power suply dan dijalankan pada arus konstan 20 mA selama 3-4 jam atau sampai

pada jarak 0,5 cm dari dasar sumuran gel. Setelah selesai maka running buffer dituang dan gel diambil dari cetakan. Saat arus listrik dinyalakan, protein akan berpindah pada kolom/lajur, pergerakannya berdasarkan pada berat molekulnya. Protein dengan BM tinggi akan bergerak perlahan sedangkan protein dengan BM rendah akan bergerak cepat, pergerakannya juga ditentukan oleh pori-pori gel. Pori gel ditentukan dengan persentase dari poliakrilamid.

3.3.5.4 Pewarnaan Gel

Untuk pewarnaan menggunakan larutan pewarna silver nitrat (*silver stain*). Terdapat 4 tahap dalam pewarnaan menggunakan perak nitrat, yaitu langkah pertama dengan membuat larutan fiksasi, yaitu sebanyak 5 ml ethanol ditambah dengan asam asetat 250 μ L dan akuades hingga mencapai 50 ml. Setelah itu dimasukkan dalam mesin blower, kemudian digoyang perlahan selama 30 menit. Selanjutnya larutan fiksasi dibuang kemudian dicuci dengan akuades tiga kali. Langkah kedua yaitu proses *sensitizing*, 5% glutaraldehyde stok 25% sebanyak 1 ml ditambah dengan akuades 4 ml. Gel digoyang dalam blower selama 30 menit setelah itu dicuci dengan akuades 3 kali. Langkah ke tiga yaitu proses pewarnaan dengan perak nitrat, bahannya ialah AgNO₃ sebanyak 0,0375 g ditambah dengan formaldehid 37,5 μ L dan akuades sebanyak 25 ml. Kemudian dimasukkan dalam blower lalu digoyang selama 35 menit, setelah 35 menit kemudian larutan perak nitrat diibuang dan dicuci dengan akuades sebanyak 3 kali. Tahap keempat yaitu proses *developing*, yaitu membuat larutan NaOH sebanyak 0,32 g ditambah formaldehid 50 μ L dan akuades sebanyak 25 ml, reaksi yang ditimbulkan pada saat *developing* sangat cepat maka dari itu perlu hati-hati dan saat gel sudah terlihat membentuk pola pita yang jelas maka segera hentikan proses ini, setelah itu larutan *developing* dibuang dan segera dihentikan dengan larutan fiksasi.

3.3.6.5 Pengamatan

Setelah pewarnaan selesai dilakukan, selanjutnya dilakukan analisis berat molekul protein total dengan membandingkan pada berat molekul protein standart. Penentuan berat molekul ini dilakukan dengan menghitung hasil pengukuran R_f (*relatif mobility/Mr*) dari masing-masing pita protein total, dengan menggunakan rumus: R_f merupakan perbandingan antara jarak pergerakan pita protein dari tempat awal (a) dengan jarak pergerakan warna pelacak pada *tracking dye* (b) (Shy and Jackowski, 1998).

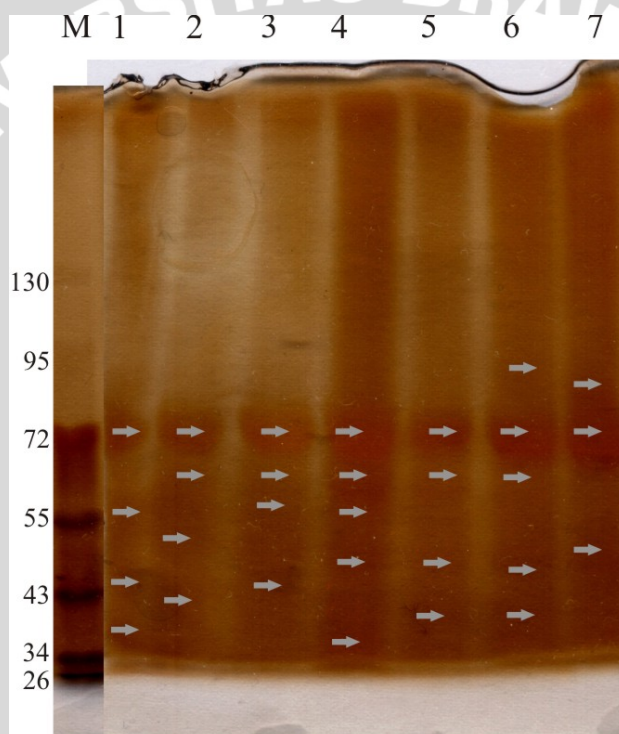
$$R_f = \frac{a}{b}$$



4. Hasil dan Pembahasan

4.1 Hasil

Berdasarkan hasil penelitian pada sampel protein durian dengan menggunakan SDS-PAGE, memperlihatkan adanya perbedaan pola pita pada beberapa sampel. Perbedaan ini dapat dilihat dari tebal atau tipisnya pita, dan adanya perbedaan pola separasi beberapa pita protein. Hasil elektroforesis pada ke-7 sampel protein tanaman durian terlihat pada gambar dibawah ini

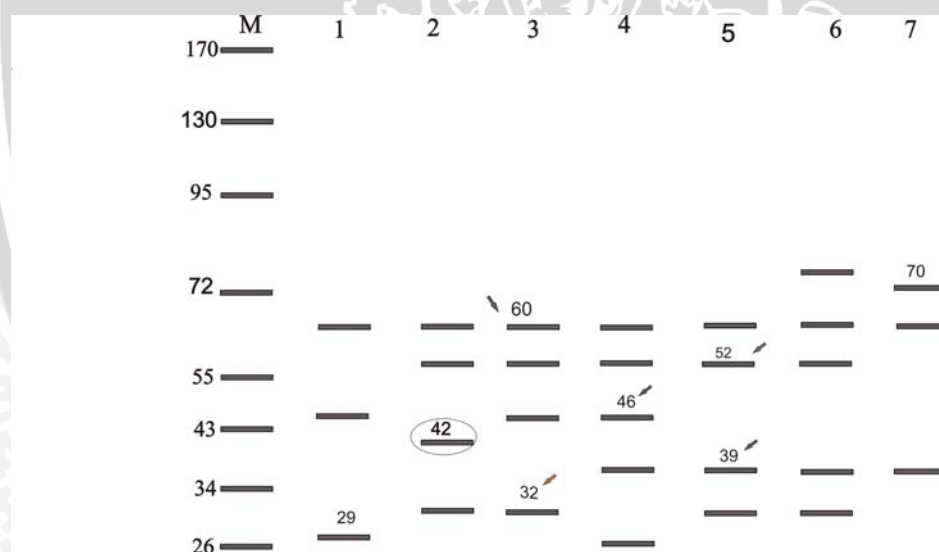


Gambar 7: Separasi pola pita protein total, keterangan kolom: 1. Arab, 2. Cikrak, (merupakan durian non musim), 3. Jingga, 4. Kunir, 5. Manalagi 6. Monthong, 7. Orri (merupakan durian semusim). Panah menunjukkan pita allel

Pada gel yang terlihat seperti di gambar memperlihatkan adanya separasi pita-pita protein. Protein dengan berat molekul tertentu mempunyai nilai R_f tertentu pula. Pergerakan pita sampel protein total dihitung dengan menggunakan rumus R_f (*relative mobility/ Mr*) kemudian dibandingkan dengan protein standart. Perhitungan berat molekul protein total dihitung dengan membuat kurva dari berat molekul

standart dengan persamaan garis linier $y = ax + b$. Nilai R_f ditempatkan sebagai sumbu X dan berat molekul (dinyatakan sebagai fungsi dari log berat molekul) sebagai sumbu Y. Pergerakan dari suatu protein yang belum diketahui berat molekulnya dapat diukur dengan persamaan tersebut dan berat molekulnya dapat dicari dengan mengplotkan langsung pada kurva standar berat molekul (lampiran 6).

Dari gambar elektroforesis gel sampel keempat dan keenam memperlihatkan pita-pita protein yang lebih banyak dibandingkan pita-pita lainnya, sedangkan sampel pertama dan sampel ketujuh memperlihatkan sedikit pita. Pada sampel durian non musim yaitu durian Arab (lajur 1) hanya terdapat tiga pita, sedangkan pada sampel durian Cikrak (lajur 2) terdapat empat pita. Pada sampel durian semusim memiliki jumlah pita yang bervariasi antara empat sampai lima pita. Untuk memperjelas profil pita protein total maka dibawah ini akan disajikan zimogram dari hasil elektroforesis.



Gambar 8: Zimogram protein total durian, 1. Arab, 2. Cikrak, (merupakan durian non musim), 3. Jingga, 4. Kunir, 5. Manalagi 6. Monthong, 7. Orri (merupakan durian semusim).

Pada visualisasi data secara kualitatif hasil elektroforesis yang ditampilkan dalam bentuk zimogram, memperlihatkan adanya beberapa pita protein yang berbeda pada semua sampel, ada yang muncul pada beberapa sampel tertentu dan ada yang tidak muncul pada beberapa sampel tertentu. Terdapat antara 3 hingga lima pita

protein pada durian dengan BM antara 29 hingga 77 kDa. Protein pada BM 60 kDa terdapat pada semua sampel. Protein dengan BM 52 kDa tidak terdapat pada sampel pertama dan ke tujuh, namun hanya pada BM 70 kDa terdapat pada sampel ke tujuh. Protein dengan BM 77 kDa terdapat pada sampel ke enam, dan protein dengan BM 46 kDa hanya terdapat pada sampel satu, tiga dan empat. Protein dengan BM 39 kDa terdapat pada sampel empat, lima, enam dan tujuh. Pada protein dengan BM 32 KDa terdapat pada sampel dua, tiga, lima dan enam, dan pada pita terakhir dengan BM 29 kDa hanya terdapat pada sampel satu dan empat. Pada protein dengan BM 42 kDa hanya terdapat pada sampel dua, hal ini diduga yang menyebabkan durian tersebut dapat berbuah terus (lebih dari satu kali dalam semusim). Pada sampel dengan BM 60 kDa terlihat paling tebal dan terdapat pada semua sampel. Hal ini menunjukkan terdapat kandungan protein yang lebih banyak di banding pita lain yang lebih tipis. Pita protein yang tipis menunjukkan adanya sedikit protein. Hal ini seperti penelitian yang dilakukan oleh Liu (2007) pada endosperm biji kedelai dan Hastuti *et al.*, pada studi variasi kamboja jepang. Beragamnya jumlah pita dan ketebalan pita tergantung pada kultivar durian.

4.2 Pengukuran Kadar Protein Total Berdasarkan Metode Biuret

Hasil isolasi protein total tanaman durian dilakukan uji konsentrasi protein dengan spektrofotometer menggunakan reagen biuret. Uji secara kuantitatif ini digunakan untuk mengetahui banyaknya kadar protein yang terdapat pada sampel. Hasil spektrofotometer dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Pengukuran kadar protein total

sampel	absorbansi	konsentrasi
	$\lambda 540$	mg/ml
0	0	-0.037
1	0.003	0.189
2	0.006	0.46

3	0.004	0.265
4	0.002	0.114
5	0.003	0.189
6	0.002	0.114
7	0.001	0.038

Keterangan: Konsentrasi protein total dari berbagai kultivar durian Ket. Sampel: 1. Arab, 2. Cikrak, (merupakan durian non musim), 3. Jingga, 4. Kunir, 5. Manalagi 6. Monthong, 7. Orri (merupakan durian semusim).

Hasil perhitungan konsentrasi protein total tanaman durian dengan menggunakan larutan biuret dan diuji serapannya dengan spektrofotometer pada absorbansi 540 nm. Untuk memperoleh konsentrasi maka terlebih dulu membuat kurva standar. Kurva standar digunakan untuk menentukan konsentrasi protein yang belum diketahui, dengan menggunakan rumus $y = ax + b$. Dengan y sebagai nilai absorbansi dan x sebagai nilai konsentrasi (mg/ml), sehingga dari perhitungan tersebut diperoleh data seperti pada tabel diatas. Dari hasil tersebut menunjukkan sampel ke dua (durian cikrak) merupakan sampel dengan konsentrasi tertinggi yaitu 0,46 mg/ml dan sampel terendah ditunjukkan pada sampel ketujuh (durian Orri) yaitu 0,038 mg/ml.

4.3 Pembahasan

Berdasarkan penelitian Utomo (2010) terdapat 10 kultivar lokal yang dianggap berpotensi unggul. Namun pada penelitian ini hanya enam kultivar yang digunakan karena dianggap sudah mewakili, keenam kultivar tersebut ialah Arab, Cikrak, Jingga, Kunir, Manalagi, Orri dan Monthong. Durian Monthong digunakan sebagai varietas pembanding (gen sudah stabil), karena durian Monthong berasal dari introduksi dari Thailand, meskipun ditanam diluar tempat asal tidak mempengaruhi pada kualitas dan kuantitas. Penelitian protein total tanaman ini untuk mengetahui protein penyandi yang mempengaruhi induksi pembungaan, karena pada sampel

tersebut terdapat durian yang mampu berbuah lebih dari satu kali dalam setiap musim yaitu durian Arab dan Cikrak.

Faktor pembungaan pada durian dikelompokkan kedalam dua faktor, yaitu faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal meliputi faktor gen dan persaingan pada tanaman durian itu sendiri, sedangkan faktor eksternal meliputi lingkungan tumbuh tanaman durian. Kondisi lingkungan di kecamatan Kasembon seperti ketinggian tempat berkisar antara 500-600 meter diatas permukaan laut dengan curah hujan 1328-1448 mm/tahun dan suhu rata-rata 27⁰C (Utomo, 2010). Suhu optimal yang diperlukan tanaman durian untuk tumbuh secara optimal berkisar antara 28-32⁰C, sedangkan suhu yang diperlukan untuk inisiasi pembungaan adalah dibawah 18⁰C. Selain itu panjang hari yang dalam hal ini berupa periode kering yang berlangsung selama 7-14 hari (Salakpetch, 2005). Bonner (1984) menambahkan bahwa adanya interaksi antara faktor lingkungan dan faktor fisiologi untuk menginisiasi pembungaan, namun faktor fisiologi belum diketahui secara pasti karena berinteraksi dengan lingkungan. Faktor lingkungan lain yang mempengaruhi terhadap pembungaan yaitu *relative humidity* (RH) atau kelembapan, pengairan dan pemangkasan. Adanya pengaruh pembungaan ini yang akan memacu pada terbentuknya tunas bunga durian. Pada beberapa spesies tropis, waktu antara inisiasi dari kuncup bunga dan anthesis bunga jantan relatif pendek, pembungaan terjadi sekali, dua kali atau secara terus menerus dalam setahun (Kramer dan Kowslowski, 1979, Sedgley dan Griffin, (1989) dalam Bonner, 1984). Hal ini terjadi pada durian non musim, Cikrak dan Arab yang mampu berbuah lebih dari satu kali dalam setahun. Ditambahkan oleh Bernier *et al.* (1993) intensitas cahaya matahari tinggi diperlukan untuk merangsang pembungaan.

Faktor gen yang berpengaruh pada pembungaan terekspresi pada paparan gel elektroforeis, terdapat perbedaan pola pita pada tanaman yang berbuah musiman dengan yang berbuah secara terus menerus. Pada sampel durian Cikrak yang berbuah

terus menerus, terdapat pita protein pada BM 42 kDa, sehingga protein dengan BM tersebut diduga sebagai pengendali untuk pembungaan pada durian untuk sifat berbuah sepanjang musim. Karena pada sampel durian Arab yang dapat berbuah lebih dari satu kali tidak menunjukkan pola pita yang sama dengan durian Cikrak. Hal ini dikuatkan pada waktu pengambilan sampel, dimana pada durian Cikrak terdapat bunga sedangkan pada durian Arab tidak terdapat bunga. Liu *et al.* (2007) menyatakan bahwa pada isolasi 640 kultivar kedelai, terdapat protein dengan BM 42 kDa. Dimana pada BM 42 kDa pada kedelai ini dikelompokkan kedalam kelas subunit 11S dan 7S yang merupakan komponen paling penting pada protein kedelai. Pengelompokan sub unit kelas ini ditemukan berbeda secara signifikan baik secara fisik maupun kimia dan fungsinya pada pengolahan industri makanan. Reddy and Munirajappa (2005) menemukan protein dengan berat molekul 42 kDa pada tanaman mullberi varietas S₁₃ yang diinduksi dengan sinar gamma, namun berat molekul tersebut hanya dijumpai pada kontrol.

Munculnya pita yang hampir seragam pada semua sampel diduga karena pengambilan sampel daun dilakukan pada waktu setelah panen, hal ini menunjukkan fase inisiasi pembungaan belum terjadi. Dalam hal ini metabolisme tanaman masih terpacu pada perubahan dari fase generatif ke fase vegetatif, pada fase ini tanaman membutuhkan banyak nutrisi untuk menuju tahap selanjutnya (Salakpetch, 2005). Masa berkembangnya bunga durian umumnya terjadi pada bulan Mei sampai September dan masa panen durian berakhir pada bulan Februari (Anonymous, 2009c). Sedangkan pengambilan sampel daun dilakukan pada bulan Maret. Pada pola pita durian semusim menunjukkan pita protein yang beragam, hal ini menunjukkan karena adanya keragaman genetik pada kultivar durian tersebut.

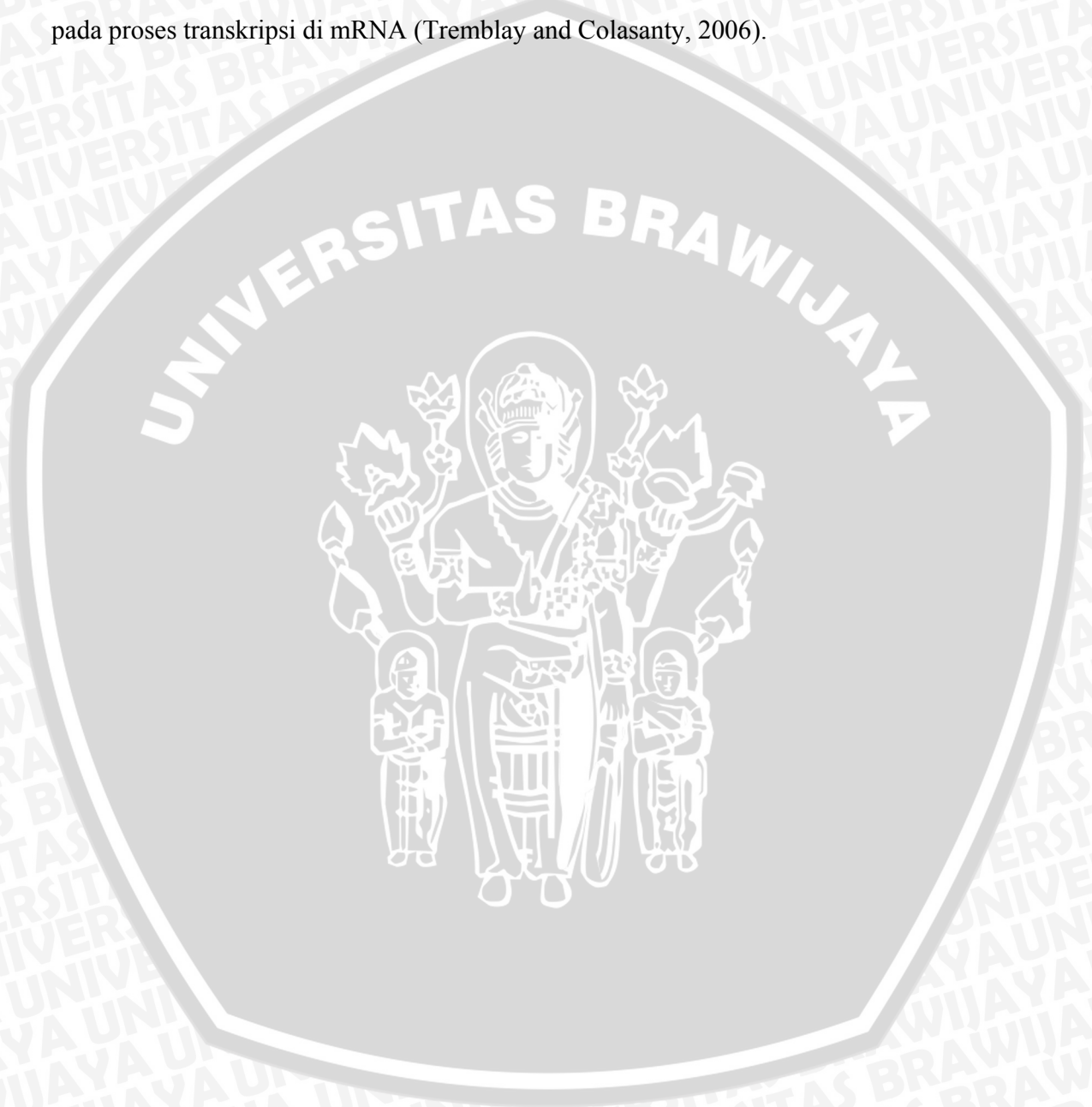
Adanya gen pemicu pembungaan pada tanaman berkayu masih belum banyak diketahui. Informasi tentang gen pembungaan tersebut oleh Gardner (1953) disebut florigen. Sifat dari florigen yaitu tidak dapat diisolasi ataupun diketahui sifat-sifat

kimianya sehingga keberadaanya hanya dapat diduga, gen-gen tersebut tergolong kedalam gen-gen homeotik MADS-BOX. Pembungaan tanaman secara genetik dikendalikan oleh ekspresi gen *LEAFY* (*LFY*), *APETALA1* (*AP1*) dan *AGAMOUS* (*AG*) (Levy and Dean, 1988 dalam Santoso *et al.*, 2007). Gen *LFY* merupakan pengendali utama pembungaan, sedangkan *AP1* adalah gen penyandi faktor transkripsi yang dengan atau tanpa gen pembungaan lainnya, berperan dalam transisi perkembangan vegetatif ke pembungaan dan *AG* untuk identitas pembungaan. *LFY* merupakan faktor transkripsi khusus pada tanaman tingkat tinggi yang secara langsung mengidentifikasi gen target bunga pada meristem seperti *AP1* (Tremblay and Colasanty, 2006). Gen-gen pembungaan ini telah berhasil diisolasi pada tanaman kakao, apel, dan *citrus* (Chaidamsari *et al.*, 2009).

Penelitian mengenai proses dan gen-gen yang terlibat dalam pembungaan telah banyak dilakukan pada tanaman seperti *Arabidopsis thaliana*. Gen pengendali pembungaan pada *citrus* yaitu *APETALA1* maupun *LFY* homolog pada *Arabidopsis*. Secara fungsi molekuler gen-gen MADS-BOX yaitu menyandi protein-protein yang dapat mengaktifkan proses transkripsi dari gen target (faktor transkripsi). Selain gen, sinyal pembungaan juga dikontrol oleh hormon GA (*Giberelic Acid*), rendahnya konsentrasi GA pada level tertentu dapat menghambat pertumbuhan vegetatif sehingga sukrosa produk fotosintesis terlokasi lebih banyak ke jaringan meristem dimana gen-gen homeotik dapat berubah ekspresinya (Santoso *et al.*, 2009).

Terdapat dua gambaran penting pada inisiasi pembungaan pada tanaman tingkat tinggi yaitu, inisiasi bunga pada daun yang akan di transport ke meristem tunas (shoot apical meristem/SAM), kedua yaitu pada SAM sebagai target dari rangsangan pembungaan harus siap untuk menerima rangsangan bunga. Pertama kali isolasi gen pembungaan *LUMINIDEPENDENS* (*LD*), ditemukan berfungsi pada pembungaan, dimana hasil mutasi tanaman hari panjang (*ld plants*) terlambat pada transisi pembungaan tanpa memperhatikan pencahayaan. *LD* menyandi protein yang

mengikat DNA atau mungkin juga RNA. Namun fungsi secara molekular dr *LD* tidak diketahui. Gen yang menyadi pada inisiasi pembungaan tersebut akan berinteraksi pada proses transkripsi di mRNA (Tremblay and Colasanty, 2006).



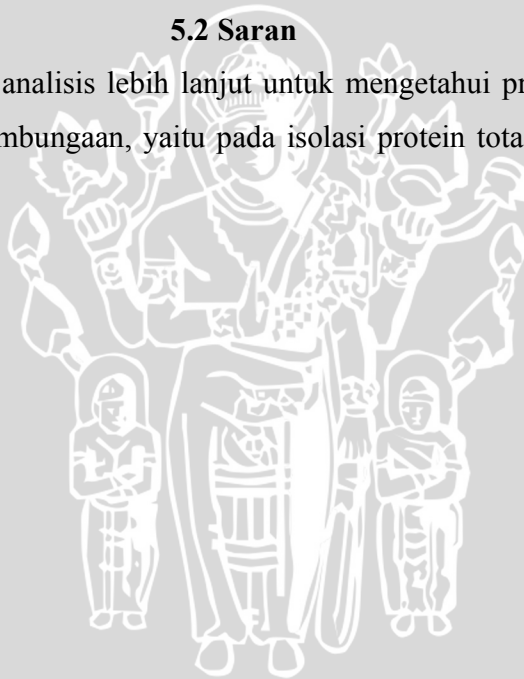
5. Kesimpulan dan Saran

5.1 Kesimpulan

Teknik isolasi protein total dengan SDS-PAGE dapat diaplikasikan pada tanaman durian. Pada hasil elektroforesis gel dengan SDS-PAGE diketahui bahwa terdapat perbedaan separasi pita pada durian non musim dengan durian semusim. Hal ini ditunjukkan dengan ketebalan pita, berat molekul dan jumlah pita yang berbeda pada beberapa sampel. Pada sampel durian Cikrak (non musim) diketahui terdapat protein yang mengendalikan pada ekspresi pembungaan yaitu pada BM 42 kDa.

5.2 Saran

Perlu dilakukan analisis lebih lanjut untuk mengetahui protein spesifik yang mempengaruhi pada pembungaan, yaitu pada isolasi protein total spesifik pada BM 42 kDa.



DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2005. Keanekaragaman Jenis dan Sumber Plasma Nutfah *Durio* (*Durio* spp.) di Indonesia. Bulletin Plasma Nutfah 11 (1):28-29.
- Anonymous. 2007. Asal Mula Kehidupan. Bhaktivendata Publication.
<http://www.bvinstitute.org>
- Anonymous. 2008a. Materi Genetik.
<http://www.divincom.udayana.ac.id>
- Anonymous, 2008b. Plant Hormon.
<http://www.wikipedia.ac.id.html>
- Anonymous. 2008c. Desa Jantung Kita
<http://www.fp-brawijaya.ac.id>
- Anonymous. 2008d. Pedoman Bertanam Durian. CV.Yrama Widya. Bandung. P.23-30
- Anonymous. 2008e. Produksi Tanaman Buah-Buahan Di Indonesia Periode 2003-2007.
<http://www.hortikultura.deptan.go.id>
- Anonymous. 2008f. Luas Panen Buah-Buahan Di Indonesia Periode 2003-2007.
<http://www.hortikultura.deptan.go.id>
- Anonymous, 2009a. Ekspresi genetik. Available at
http://www.wikipedia.ac.id/ekspresi_genetik.html
- Anonymous. 2009b. Ekspor Produk Hortikultura Ditargetkan naik Tahun 2009.
<http://www.depkominfo.go.id>
- Anonymous. 2009c. Boosting Durian Productivity. Rural Industries Research Development Corporation (RIRDC) Publication No. 97/001W. Australia.pp. 51
- Ashari, S.1995. Hortikultura Aspek Budidaya. UI press. Jakarta. p. 299-300
- Astawan, M. 2005. Gisi Dan Kesehatan-Durian Bukan Buah Terlarang
<http://www.web.ipb.ac.id>

- Ausubel, F.M., R. Brent, R.E. Kingston, D.D. Moore, J.G. Seidman, J.A. Smith, and K. Struhl. 1992. Short Protocols In Molecular Biology: A Compendium Of Methods From Current Protocols In Molecular Biology. John Wiley & Sons. New York. p.10.1-10.17
- Balkwill and Leber TM.1997. Zymography: a single step staining method for quantitation of proteolytic activity on Substrate gel. Anal Biochemistry 249 (1): 8-24. Available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.
- Bernier, G., A Havelange, C. Houssa, A. Petitjean, P. Lejeune. 1993. Physiological Signals That Induce Flower. Jurnal The Plant Cell 5: 1147-115
- Brown, M.J. 1997. Durio - A Bibliographic Review. Department of Plant Science MacDonald College, McGill University, Quebec, Canada. pp.196.
- Caprete, D. R. 1997. Colorometric Assays. Available at <http://www.ruf.rice.edu> (verified 28 April 2009).
- Chaidamsari, T., R. Hayati, A. Syarif. 2009. Kloning Gen *LEAFY* Kakao Dari Jaringan Bantalan Bunga Aktif. Jurnal Menara Perkebunan 77 (2):79-88
- Champbell, A.N., J.B. Reece, and L.G. Mitchel. 2001. Biologi jilid 1. Erlangga. Jakarta. p.73-380
- Crowder, L.V. Genetika Tumbuhan. 1997. Gadjah Mada University Press. Jogjakarta. p. 91-109
- Davidson. 2001. SDS PAGE. Available at <http://www.bio.davidson.edu/COURSES/GENOMICS/method/SDSPAGE/SDSPAGE.html>.
- Dennison, C. 2002. A Guide to Protein Isolation. Kluwer Academic publishers. New York. Boston. Dordrecht.London. Moscow. pp.199
- Fatchiyah, E. L., Arumingtyas, S. Widyarti, dan S. Rahayu. 2008. Analisis Biologi Molekuler. Lab. Biologi Molekuler Universitas Brawijaya. Malang:70-82
- Gardner, F.P, R.B.R. Pearce, dan R.I. Mitchel. 1991. Fisiologi Tanaman Budidaya. UI Press. Jakarta. p. 389-407
- Hames, B.D. 1998. Gel Electrophoresis of Protein A Practical Approach third edition. Oxford University Press. p. 74-83

- Hastuti, D, Suranto, dan P. Setyono. - . Studi Variasi Morfologi Dan Pola Pita Protein Pada Varietas Kamboja Jepang (*Adenium obesum*). Program Studi Biosains Pascasarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta: 1-9
- Heddy, S, Wahono HS., dan Metty K. 1994. Pengantar Produksi Tanaman dan Penanganan Pasca Panen. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta. pp.246
- Janick, J dan J.N. Moore. 1996. Fruit Breeding. John Willey & Sons, Inc. USA.p.1-52
- Laemmli, U. K 1970. Cleavage Of Structural Proteins During The Assembly Of The Head Of Bacteriophage T4 *dalam* Walker, J.M. 2005. The Proteomics Protocols Handbook. Humana Press. New Jersey. p. 57-67
- Lestari, Y.D. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Gen Pembungaan Penyandi Sepal dan Petal pada Tanaman Apomiksis. Skripsi. Biokomia. FMIPA. IPB. Bogor. <http://www.iirc.ipb.ac.id>
- Liu, S., R. Zhou, S. Tian, and J. Gai. 2007. A Study On Subunit Group Of Soybean Protein Extracts Unders SDS-PAGE. J Am Oil Chem Soc.(84):793–801.
- Maftuchah dan A. Zainuddin. 2007. Variasi Genetik beberapa Kultivar Mangga Dengan Menggunakan Penanda Molekuler RAPD. Prosiding Seminar Nasional Hortikultura Unggulan Lokal Melalui Pemberdayaan Petani. Surakarta.
- Major. 1980. Hybridization of Crops Science. Agriculture Canada, Lethbridge, Alberta. p. 1-10
- McGildvery, RW. dan G. W. Goldstein.1996. Biokimia Suatu Pendekatan. Airlangga University Press. Surabaya. p. 3-5
- Montoso. 2007. *Durio zibethinus* (Bombacaceae) www.montosogarden.com
- Moore, T.C. 1979. Biochemistry and Physiology of Plant Hormones. Springer-Verlag. New York. pp. 274
- Nandariyah. 2007. Klasifikasi Kultivar Salak jawa Berdasarkan Sifat Morfologi dan Molekuler RAPD:78-85
- Pasilla, A.R. 2007. Identification of Excretion – Secretion Protein Profile of the Adult *Haemonchus contortus* With SDS-PAGE. <http://www.journal.unair.ac.id>
- Poedjiati,A.,dan T. Supriyanti. 2007. Dasar-Dasar Biokimia. Uipress. Jakarta. p. 109-124

- Reddy, P. M. M., and Munirajappa. 2005. Electrophoretic Studies In Induced Mutants Of Diploid Mulberry Genotype S₁₃. Indian Journal of Biotechnology (4): 422-423.
- Rizki. 2009. Keanekaragaman tanaman *Begonia cucullata* Wild Yang Diinduksi Dengan *Ethylmethane Sulphonate* (EMS) Berdasarkan Variasi Pola Pita Protein. Thesis. Univ. Brawijaya.
- Robyt, J.F, and B.J. White. 1987. Biochemical Techniques-Theory & Practice. Iowa State University. Brooks/Cole Publishing Company. California.pp.407
- Ryugo, K. 1988. Fruit Culture its Science and Art. John Willey & Sons. Canada. pp. 344
- Salakpetch, S. 2005. Proc. Tenth Annual International Tropical Fruit Conf. Hawai'i. October 20-22 2000. Durian (*Durio zibethinus* M.) Flowering, Fruit & Set Pruning:17-25
- Salisbury, F.B and C.W. Ross. 1995. Fisiologi Tumbuhan Jilid 3. ITB Press. Bandung. pp. 343
- Santoso, J. Samanhudi, dan Tetty Chaidamsari. 2009. Kemungkinan Peningkatan Produktivitas Kelapa Sawit Melalui Induksi Perkembangan Reproduksi: Homologi Molekuler Dari Tanaman Kakao. Jurnal Menara perkebunan 77(2): 125-137
- Shy, Q and G. Jackowski. 1998. Gel Electroforesisi of Protein-A Practical Approach third Edition. Oxford University Press. New York.p. 1-33
- Sudarmono. 2006. Pendekatan Konservasi Tumbuhan Dengan Teknik Elektroforesis. Inovasi Online (7):17.
- Sudarmadji, S. 1996. Teknik Analisa Biokomiawi. Liberti. Jogjakarta. pp. 184
- Stenesh, J. 1989. Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology. John Wiley and Sons. New York. pp.525
- Suryo. 2004. Genetika. Gadjah Mada Univ. Press. Jogjakarta. pp. 344
- Tremblay, R. and J. Colasanti. 2006. flowering and its manipulation. Blackwell publishing. p. 28-45.
- Uji, T. 2003. Keanekaragaman Jenis, Plasma Nutfah, Dan Potensi Buah-Buahan Asli Kalimantan. Jurnal BioSMART 6(2):117-125.

Utomo, G.S.A. 2010. Karakterisasi Klon Durian Lokal Berpotensi Unggul Di Kecamatan Kasembon. Skripsi. Fakultas Pertanian Univ.Brawijaya.

Walker, J.M. 2002. The Proteoin Protocols Handbook. Humana Press. New Jersey.p. 57-67

Yazi, S. 2007. [Protein Standard Curve and Assay. Available on-line with updates at http://www.onlinegenetics.com](http://www.onlinegenetics.com)

Yuwono, T. 2005. Biologi Molekular. Erlangga. Jakarta.pp. 258



Lampiran 1. Pembuatan Kemikalia

L1.1 pembuatan Buffer ekstrak untuk 10 ml

Komposisi:

EDTA	200 µl
KCl	1 ml
MgCl ₂ .6H ₂ O 1M	1 ml
PVP 4000	0.4 g
BSA	0.02 g
Tris-Cl pH 7.4	1 ml
2-Mercaptoethanol	10 µl
aquadest	6 ml

Perhitungan

1. EDTA stock 0.5 M

$$V1.M1 = V2.M2$$

$$V2 = \frac{10 \text{ ml} \times 0.01}{0.5}$$

$$= 0.2 \text{ ml}$$

$$= 200 \text{ µl}$$

2. KCl 0.1 M

$$g = Mr \times V \times M$$

$$g = 74.55 \times 0.01 \times 0.1$$

$$g = 0.007 \text{ g}$$

L1.2 Pembuatan Reducing Sample Buffer untuk 1 ml

1M Tris-Cl pH 6.8	60 µl
Glicerol 50%	500 µl
Bromophenol Blue 1 %	100 µl
SDS 10%	200 µl
2-Mercaptoethanol	50 µl
aquadest	90 µl

Perhitungan

1. 1M Tris-Cl pH 6.8 untuk 50 ml

$$g = Mr \times V \times M$$

$$g = 121.14 \times 0.05 \times 1$$

$$g = 0.057 \text{ g}$$

2. SDS 10%

$$10 \text{ g} / 100 \text{ ml} = 1 \text{ g} / 10 \text{ ml}$$

L1.3 Pembuatan Running Buffer pH 8.3

Tris base	1.52 g
Glisin	7.2 g
SDS	0.5 g
aquabidest	500 ml

L1.4 Pembuatan Larutan Staining dan Proses Pewarnaan

1. Fiksasi

10 % ethanol	2.5 ml
0.5 asam asetat	125 µl
aquabidest	22.625 ml
total	25 ml

Rendam gel selama 30 menit

2. Sensitizing

5 % Glutaraldehyde stok 25 %

$V1.M1 = V2.M2$

$V2 = \frac{5 \text{ ml} \times 5\%}{25\%}$

= 1 ml

1 ml glutaral dehide 25% ditambah dengan aquabidest 4 ml

Rendam gel selama 30 menit

3. Perak Nitrat

AgNO ₃	0.0375 g
Formaldehide 37 %	0.0375 ml
aquabidest	25 ml
total	25 ml

Rendam gel selama 35 menit

4. Developing

NaOH	0.30 g
Formaldehide 37 %	0.05 ml

aquabidest	25 ml
total	25 ml

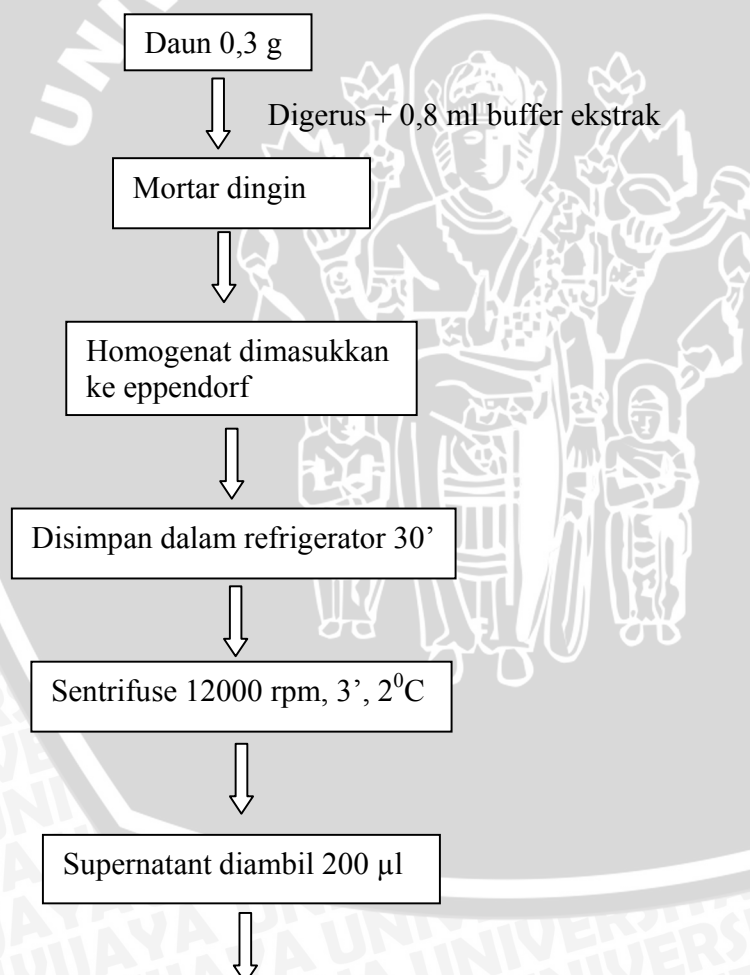
Proses reaksi warna sangat cepat

5. Stopping

Komposisi sama dengan fiksasi

Lampiran 2. Teknik Isolasi protein total dan elektroforosis

L2.1 Teknik Isolasi protein total



Simpan pada freezer

L2.2 Membuat *separating gel* 12,5%

Tabung falcon 50 ml

Dimasukkan 2,75 ml
1M Tris pH 8,8

Dimasukkan 3,125 ml stok
acrilamid 30%

Dimasukkan aquabidest 1,505 ml, tabung
ditutup kemudian digoyang perlahan

Dimasukkan 75 µl SDS dan APS10%

Temed 5 μ l, digoyang perlahan



Di tuang dalam plate dengan menggunakan mikropipet



Ditambah aquades untuk meratakan gel

L2.3 Pembuatan *Stacking gel* 5%

Tabung falcon 50 ml



Dimasukkan 0,38 ml
1M Tris pH 6,8



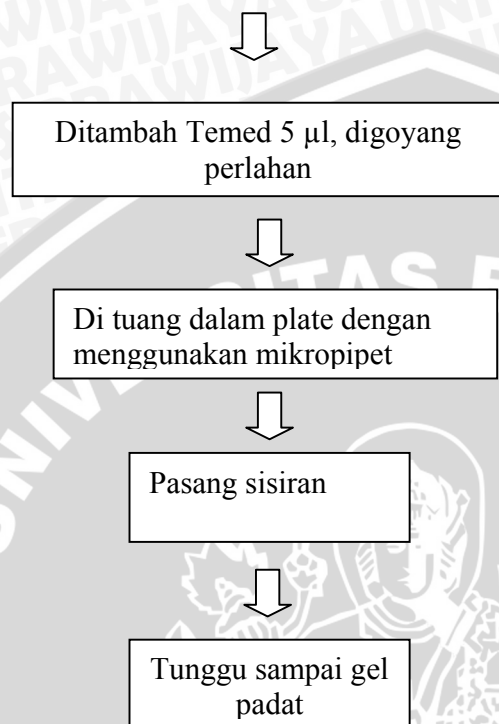
Dimasukkan 0,45 ml stok
acrilamid 30%



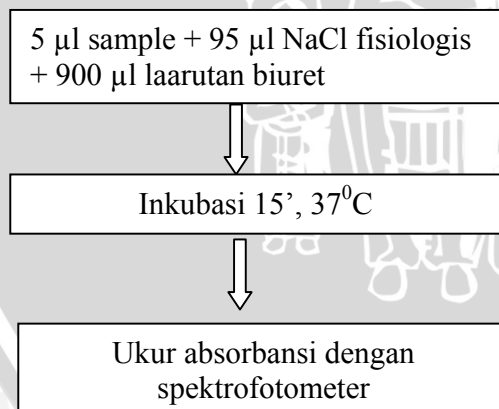
Dimasukkan aquabidest 2,11ml, tabung
ditutup kemudian digoyang perlahan



Dimasukkan 30 μ l SDS dan APS10%

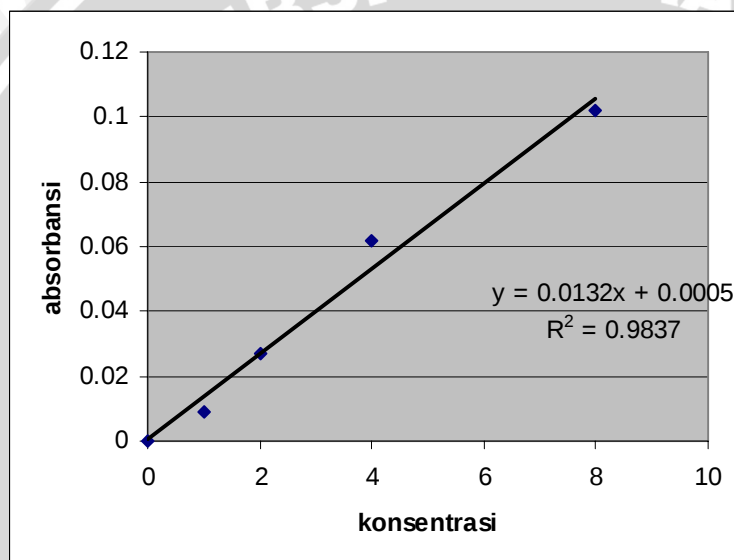


L2.4. Pengukuran kandungan protein sampel



Lampiran 3. Pembuatan kurva standar protein

standart	x (mg/ml)	absorbansi (A550) y
1	0	0
2	1	0.009
3	2	0.027
4	4	0.062
5	8	0.102



Lampiran 4. Pengukuran kadar protein total metode Biuret

Sampel	λ 540	Nilai mg/ml
0	000	-0.037
Arab	0.003	0.189
Cikrak	0.006	0.416
Jingga	0.004	0.265
Kunir	0.002	0.114
Manalagi	0.003	0.189
Montong	0.002	0.114

Ori	0.001	0.038
-----	-------	-------

Kurva standar dengan mengatur pada mesin spektrofotometer

standar	λ 550	Nilai mg/ml
1	0.000	0.000
2	0.009	1,000
3	0.027	2,000
4	0.062	4,000
5	0.102	8,000

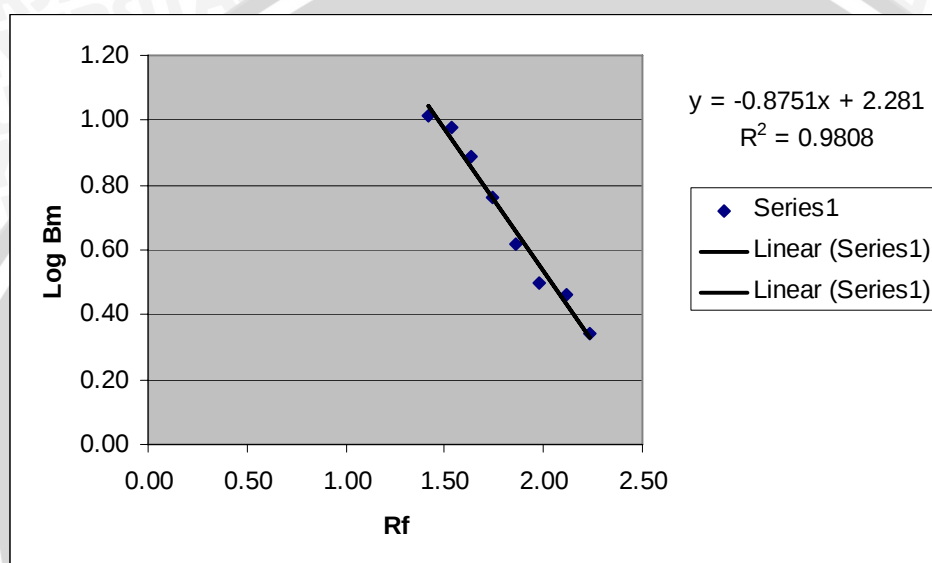
Dari data tersebut dimasukkan ke dalam program excel untuk mencari nilai persamaan garis $y = ax + b$. Sehingga diperoleh persamaan $y = 0.0132x + 0.0005$
 Nilai konsentrasi mg/ml diperoleh dari perhitungan persamaan tersebut

Lampiran 5. Perhitungan berat molekul protein

Perhitungan Standart Protein Marker

Pita ke-	BM Marker (kDa)	log BM	a (cm)	b (cm)	Rf
1	170	2.23	2.85	8.4	0.34
2	130	2.11	3.9	8.4	0.46
3	95	1.98	4.2	8.4	0.50
4	72	1.86	5.2	8.4	0.62
5	55	1.74	6.4	8.4	0.76

6	43	1.63	7.45	8.4	0.89
7	34	1.53	8.2	8.4	0.98
8	26	1.41	8.5	8.4	1.01
9	17	1.23		8.4	
10	10	1.00		8.4	



Lampiran 6. Perhitungan berat molekul sampel

pita ke	sampel a							b	Rf						
	a1	a2	a3	a4	a5	a6	a7		1	2	3	4	5	6	7
1								8.4	0	0	0	0	0	0	0
2								8.4		0	0	0	0	0	0
3								8.4	0	0	0	0	0	0	0
4						3.8		8.4	0	0	0	0	0	0.45	0
5							4.2	8.4	0	0	0	0	0	0	0.5
6	4.8	4.8	4.8	4.8	4.8	4.8	4.8	8.4	0.571	0.571	0.57	0.6	0.57	0.57	0.57
7		5.4	5.4	5.4	5.4	5.4		8.4	0	0.643	0.64	0.6	0.64	0.64	0
8	5.9		5.9	5.9				8.4	0.702	0	0.7	0.7	0	0	0
9		6.3						8.4	0	0.75	0	0	0	0	0
10				6.6	6.6	6.6	6.6	8.4	0	0	0	0.8	0.79	0.79	0.79
11		7.4	7.4		7.4	7.4		8.4	0	0.881	0.88	0	0.88	0.88	0
12	7.8			7.8				8.4	0.929		0	0.9	0	0	0

Lanjutan

log Bm (y)							BM (Kda)						
1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
2.28	2.28	2.28	2.28	2.28	2.28	2.28	191	191	191	191	191	191	191
2.28	2.28	2.28	2.28	2.28	2.28	2.28	191	191	191	191	191	191	191
2.28	2.28	2.28	2.28	2.28	2.28	2.28	191	191	191	191	191	191	191
2.28	2.28	2.28	2.28	2.28	1.89	2.28	191	191	191	191	191	76.8	191
2.28	2.28	2.28	2.28	2.28	2.28	1.84	191	191	191	191	191	191	69.7
1.78	1.78	1.78	1.78	1.78	1.78	1.78	60.4	60	60	60	60.4	60.4	60.4
2.28	1.72	1.72	1.72	1.72	1.72	2.28	191	52	52	52	52.3	52.3	191
1.67	2.28	1.67	1.67	2.28	2.28	2.28	46.4	191	46	46	191	191	191
2.28	1.62	2.28	2.28	2.28	2.28	2.28	191	42	191	191	191	191	191
2.28	2.28	2.28	1.59	1.59	1.59	1.59	191	191	191	39	39.2	39.2	39.2
2.28	1.51	1.51	2.28	1.51	1.51	2.28	191	32	32	191	32.4	32.4	191
1.47	2.28	2.28	1.47	2.28	2.28	2.28	29.4	191	191	29	191	191	191

Lampiran 7. Standar mutu Durian berdasarkan SNI

Sifat	I	II	III
1. Bentuk buah	a. sangat bagus, b. bagus, c. kurang bagus, d. Tidak bagus. a.b. 2.0-3,5 c.d.2.0-4,5	c.d 4,5-6.0, e.f.2.0-3.0	a.b:>1-<2 >3,5-<4,5
2. Berat buah	e. 3,0-4,5 i.j. 2,0-4,5	g.h 2,5-4,5	f>3
3. kerusakan	Tidak ada (Bebas penyakit dan serangga)	Tidak ada (Bebas penyakit dan serangga)	Tidak ada (Bebas penyakit dan serangga)
4. Cacat	Tidak ada	ada	ada
5. Rasa dan aroma	Baik sesuai kultivar	Baik sesuai kultivar	Baik sesuai kultivar
6. Kekerasan daging	Keras atau sedang	Keras atau sedang	Keras atau sedang
7. Kesegaran buah	segar	segar	segar
8. Warna daging buah	Sesuai kultivar atau kuning	Sesuai kultivar atau kuning	Sesuai kultivar atau kuning
9. Keseragaman kultivar	Seragam	Seragam	Boleh kurang
10. Perbandingan berat daging/biji	>2	>1	Boleh<1

