

**IDENTIFIKASI TANAMAN DURIAN (*Durio zibethinus*
Murray) MIRIP DURIAN VARIETAS BIDO DI
KECAMATAN WONOSALAM KABUPATEN
JOMBANG DENGAN METODE ISOZIM DAN
MORFOLOGI**

Oleh :
KENANGA ARUM NOVI SALASA



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

2013

**IDENTIFIKASI TANAMAN DURIAN (*Durio zibethinus*
Murray) MIRIP DURIAN VARIETAS BIDO DI
KECAMATAN WONOSALAM KABUPATEN
JOMBANG DENGAN METODE ISOZIM DAN
MORFOLOGI**

Oleh :

KENANGA ARUM NOVI SALASA

0710420013 – 42

SKRIPSI

Disampaikan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Pertanian Strata satu (S1)

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

2013

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul : IDENTIFIKASI TANAMAN DURIAN (*Durio zibethinus* Murray) MIRIP DURIAN VARIETAS BIDO DI KECAMATAN WONOSALAM KABUPATEN JOMBANG DENGAN METODE ISOZIM DAN MORFOLOGI

Nama Mahasiswa : KENANGA ARUM NOVI SALASA

NIM : 0710420013-42

Program Studi : HORTIKULTURA

Jurusan : BUDIDAYA PERTANIAN

Menyetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Ir. Ninuk Herlina, MS
NIP 19630416 198701 2 001

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

RINGKASAN

KENANGA ARUM NOVI SALASA. 0710420013-42. Identifikasi Tanaman Durian (*Durio zibethinus* Murray) Mirip Durian Varietas Bido Di Kecamatan Wonosalam Kabupaten Jombang Dengan Metode Isozim Dan Morfologi. Di bawah bimbingan Ir. Ninuk Herlina, MS sebagai Pembimbing Utama dan Prof. Ir. Sumeru Ashari, M.Agr.Sc. Ph.D sebagai Pembimbing Pendamping

Durian Bido ialah satu dari varietas durian unggul lokal yang telah dilepas oleh Menteri Pertanian pada tahun 2006. Durian ini berasal dari desa Jarak, kecamatan Wonosalam kabupaten Jombang. Durian Bido memiliki keunggulan seperti daging buah cukup tebal dan berwarna kuning dengan rasa manis pulen dan agak pahit jika matang dengan bentuk buah bulat kerucut agak lonjong, memiliki waktu panen tiga kali dalam satu tahun. Namun pohon induk tunggal durian Bido yang telah dilepas oleh Menteri Pertanian pada tahun 2006 sebagai varietas unggul telah ditebang serta belum dikembangkan. Oleh karena hal tersebut maka BPP Wonosalam melakukan seleksi dan menemukan 27 pohon durian yang memiliki rasa dan bentuk buah yang mirip dengan pohon induk tunggal durian Bido di Wonosalam. Penyeleksian berdasarkan rasa dan bentuk buah dianggap kurang valid oleh karena itu perlu dilakukan pengidentifikasian secara genetik melalui analisis isozim. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat kemiripan 27 jenis durian mirip varietas Bido dengan pohon induk tunggal durian Bido. Hipotesis yang diajukan ialah dari 27 jenis durian yang mirip dengan durian varietas Bido terdapat satu atau lebih yang memiliki tingkat kemiripan tertinggi dengan pohon induk tunggal durian Bido.

Penelitian ini telah dilaksanakan di kecamatan Wonosalam kabupaten Jombang serta analisis isozim dilakukan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya Malang pada bulan Oktober 2012 – Maret 2013. Alat yang digunakan ialah alat elektroforesis, termos, kertas pembungkus, gunting, alat sentrifugasi, vortex, mikropipet, tube, blue tip, yellow tip, white tip, mortar, timbangan analitik, penggaris, kamera dan color chart Royal Horticultural Society. Sedangkan bahan yang digunakan ialah daun durian, pewarna enzim esterase dan peroksidase, larutan buffer ekstrak, larutan running buffer, larutan Reducing Sampel Buffer (RSB), separating gel, stacking gel, nitrogen cair, aquades dan larutan destaining. Metode penelitian ini ialah mendata 27 pohon durian hasil seleksi yang dilakukan oleh BPP kecamatan Wonosalam. Pohon durian tersebut dan pohon induk tunggal durian Bido kemudian diambil daunnya untuk selanjutnya dilakukan analisis isozim namun hanya 21 jenis durian yang dapat dianalisis karena 6 yang lain (sampel nomor 7, 9, 12, 16, 17 dan 22) tidak dapat diambil sampel daunnya dikarenakan pohonnya meranggas dan mati. Kemudian tiap-tiap pita isozim yang nampak dihitung nilai R_f yang merupakan nilai perbandingan antara jarak pita dengan jarak batas akhir running kemudian analisis kekerabatan dilakukan dengan membentuk pengelompokan dengan menggunakan Cluster Simple Matching Coefisient analysis dengan metode Unweighted Pair Group Methode with Arithmetic Average (UPGMA) pada

program komputer Multi Variate Statistical Package (MVSP) yang ditampilkan dalam bentuk dendogram. Pengamatan morfologi daun durian dilakukan dengan mengukur panjang dan lebar daun, rasio panjang lebar daun serta mengamati warna daun.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa berdasarkan analisis isozim dengan pewarnaan isozim esterase, durian dengan nomor sampel 5, 21 dan 25 memiliki hubungan kekerabatan terdekat dengan durian Bido dengan tingkat kemiripan 92%. Berdasarkan pewarnaan isozim peroksidase, hanya durian dengan nomor sampel 27 yang memiliki tingkat kekerabatan terdekat dengan durian Bido dengan tingkat kemiripan 66%. Sedangkan berdasarkan pengamatan morfologi yaitu rasio panjang lebar daun dan warna daun tidak dapat membedakan antara durian yang dianalisis dengan durian Bido karena memiliki warna daun dan ratio panjang lebar daun yang sama. Berdasarkan hasil analisis isozim dengan pawarnaan dua sistem enzim tidak menunjukkan adanya keidentikan antara 21 jenis durian yang diuji dengan durian Bido. Sehingga tidak terdapat durian varietas Bido pada 21 jenis durian yang diuji.



SUMMARY

KENANGA ARUM NOVI SALASA. 0710420013-42. Identification of Plant Durian (*Durio zibethinus* Murray) Likes Bido Variety in Wonosalam Jombang Distric Using Isozyme and Morphological Method. Under the guidance of Ir. Ninuk Herlina, MS and Prof. Ir. Sumeru Ashari, M.Agr.Sc. Ph.D

Durian Bido is one of the local superior varieties of durian was released by the Minister of Agriculture in 2006. Durian Bido is originated from Wonosalam, Jombang dictric. Durian Bido has advantages like the flesh of the fruit is quite thick and yellow with sweet sticky with rounded conical fruit shape, and have a time of harvest three times in one year. But a single stem tree of durian Bido which have released by Agriculture Minister in 2006 as superior varieties has been in pieces and has not been developed. Because of this the BPP Wonosalam do selection and found 27 durian trees with fruit flavor and shape similar to a single stem tree of durian Bido. Selection was based on flavor and fruit shape is considered less valid because it needs to be done identifying genetically through the isozyme analysis. The purpose of this research is to know the genetic similarities from 27 types durian similar Bido with the single stem tree of durian Bido. The hypothesis of this research is from 27 types durian similar Bido, there are one or more that have the highest similarities value with the single stem tree of durian Bido.

This research was conducted in Wonosalam Jombang district and isozyme analysis done in Central Laboratory Of Life Science Brawijaya University in October 2012 - March 2013. Instruments used are electrophoresis set, ice box, wrapping paper, scissors, sentifugan, vortex, micropipet, tube, blue tipped, yellow tipped, white tipped, mortar, analytical scales, ruler, camera and color chart of Royal Horticultural Society. While the materials used are leaves of durian, dye enzyme esterase and peroxidase, bufer solution extract, runing bufer solution, redusing sample bufer solution (RSB), separating gel, stacking gel, liquid nitrogen, aquades and destaining solution. The leaves of 27 durian likes Bido and a single stem tree of durian Bido were analysed using isozyme method. But just 21 plants durian likes Bido that analysed because the leaves samples for 6 other (sample number 7, 9, 12, 16, 17 and 22) can be used. Then every isozim banding pattern that appear were calculated to get the R_f value which is a comparison between the distance of the bands with the end distance of running. The bands were also analysed using the Simple Matching Cluster Coefisient analysis by Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average (UPGMA) on Multi Variate Statistical Package (MVSP) computer program and perform by dendogram to see the similarities value between the samples. Leaf morphology observation of durian is done by measuring the length leaves, width leaves and length- width leaf ratio.

The results showed that the esterase enzyme, detected sample number 5, 21 and 25 have closest relationship with the single stem tree of durian Bido (92 % of

similarities). Mean while the peroxidase enzyme showed sample number 27 gave 66% similarities with the single stem tree of durian Bido. Length-width leaf ratio could not distinguish between the 21 durian that analysed. Based on the two enzyme used among 21 durian types were not detected as the single stem tree of durian Bido.



KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan YME atas berkat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul **Identifikasi Tanaman Durian (*Durio zibethinus* Murray) Mirip Durian Varietas Bido Di Kecamatan Wonosalam Kabupaten Jombang Dengan Metode Isozim Dan Morfologi**

Penelitian ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi di Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang. Pokok bahasan yang dicakup dalam penelitian ini meliputi pengenalan tanaman durian, keragaman pada tanaman durian, serta cara mengidentifikasi secara genetik pada tanaman durian melalui analisis isozim.

Durian mempunyai potensi yang cukup besar untuk dikembangkan sebagai produk unggulan hortikultura buah-buahan Indonesia, mengingat durian merupakan salah satu buah asli Indonesia yang memiliki nilai ekonomis. Hal utama yang perlu diperhatikan ialah melestarikan plasma nutfahnya dan mengembangkannya dengan keseragaman genetik.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa pada penelitian ini banyak kekurangan. Oleh karena itu sumbangan pemikiran, kritik serta saran sangat penulis harapkan.

Malang, Mei 2013

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan YME atas berkat dan kasih karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul **Identifikasi Tanaman Durian (*Durio zibethinus* Murray) Mirip Durian Varietas Bido Di Kecamatan Wonosalam Kabupaten Jombang Dengan Metode Isozim Dan Morfologi**

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada :

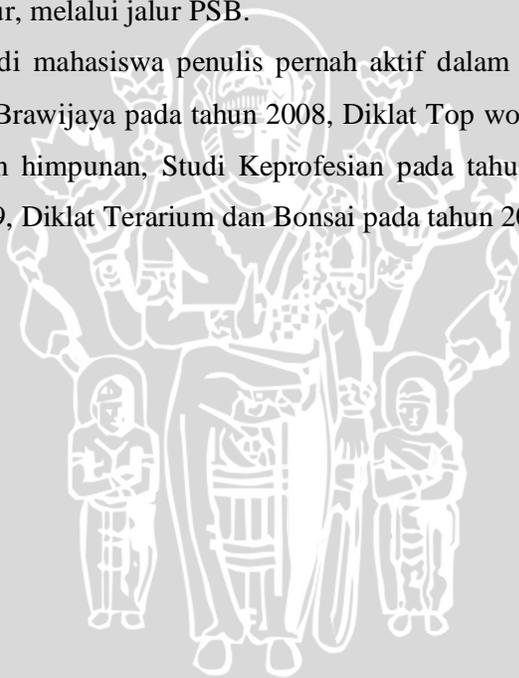
1. Papaku, Mamaku, Kakakku, Keluarga Besar “Soekarso Lucas” serta Raimundus Ridho Ginting atas doa dan dukungan semangat baik moral maupun materiil.
2. Ir. Ninuk Herlina, MS selaku dosen pembimbing Utama
3. Prof. Ir. Sumeru Ashari, M.Agr.Sc.PhD selaku dosen pembimbing pendamping.
4. Ir. YB. Suwasono Heddy, MS selaku dosen pembahas
5. Pemerintah Kabupaten Jombang, Balai Penyuluhan Pertanian (BPP) Kec. Wonosalam dan Petani durian Wonosalam.
6. Analis Lab. Biomol Laboratorium Sentral Ilmu Hayati UB
7. Teman-teman Hortikultura 2007 atas doa, dukungan, bantuan dan kerjasamanya. “H07 SOLIDARITY IS THE BEST”
8. Semua teman – teman di Fakultas Pertanian serta segenap pihak yang terkait dalam penyusunan skripsi ini atas segala dukungan dan kerjasamanya. Thanks forever.

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Jombang pada tanggal 21 November 1989 sebagai anak kedua dari dua bersaudara dari pasangan bapak Lukas Mardya Sutanto dan ibu Widya Puspa Emy Solla

Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN 1 Bareng Jombang pada tahun 1995 sampai tahun 2001. Kemudian penulis melanjutkan ke SMPN 1 Bareng Jombang pada tahun 2001 sampai dan selesai pada tahun 2004. Pada tahun 2004 sampai tahun 2007 penulis menyelesaikan studi di SMAN Ngoro Jombang. Pada tahun 2007 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata 1 Program Studi Hortikultura Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian di Universitas Brawijaya, Jawa Timur, melalui jalur PSB.

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah aktif dalam kepanitian Natal Bersama Universitas Brawijaya pada tahun 2008, Diklat Top working pada tahun 2009. Dalam kegiatan himpunan, Studi Keprofesional pada tahun 2008, Magang Kerja pada tahun 2009, Diklat Terarium dan Bonsai pada tahun 2009.



DAFTAR ISI

RINGKASAN.....	i
SUMMARY	iii
KATA PENGANTAR	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
RIWAYAT HIDUP	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	3
1.3 Hipotesis	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Sejarah Durian Varietas Bido	4
2.2 Deskripsi Durian Varietas Bido.....	4
2.3 Keragaman Pada Tanaman Durian	5
2.4 Isozim	6
2.5 Analisis Isozim	7
2.6 Keunggulan Analisis Isozim	10
III. METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu	11
3.2 Alat dan Bahan	11
3.3 Rancangan Penelitian.....	11
3.4 Cara Kerja	12
3.4.1 Analisis isozim	12
3.4.2 Warna daun, bentuk daun dan ratio panjang lebar daun	14
3.5 Analisis Data	15
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil	17
4.1.1 Hasil analisis isozim dengan pewarna enzim peroksidase	17
4.1.2 Hasil analisis isozim dengan pewarna enzim esterase	20
4.1.3 Morfologi	25
4.1.4 Analisa dendogram dari analisis isozim peroksidase	26
4.1.5 Analisa dendogram dari analisis isozim esterase	28
4.2 Pembahasan	30
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Ekstrak enzim (supernatan) dalam tube.....	12
2.	Elektroforesis set	13
3.	Urutan proses elektroforesis	14
4.	Bentuk daun	15
5.	Diagram alir analisis isozim.....	16
6.	Hasil analisis isozim dengan pewarna enzim peroksidase.....	17
7.	Zimogram dari analisis isozim peroksidase	19
8.	Hasil analisis isozim dengan pewarna enzim esterase	22
9.	Zimogram dari analisis isozim esterase sampel 1-18	23
10.	Zimogram dari analisis isozim esterase sampel 19-B	24
11.	Dendogram dari analisis isozim peroksidase	27
12.	Dendogram dari analisis isozim esterase	29



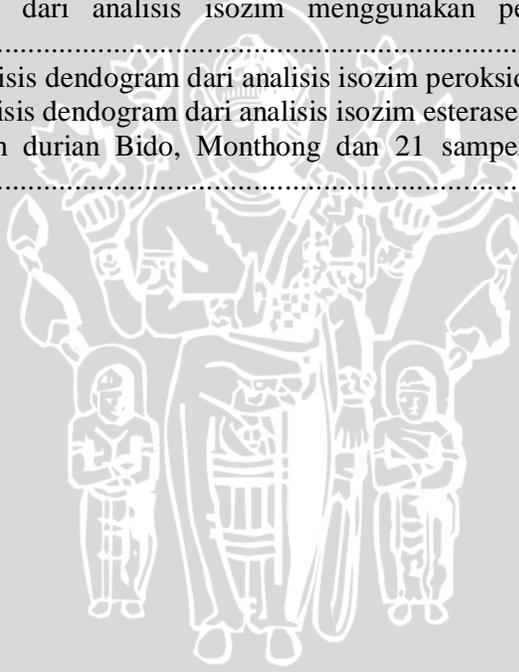
DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Pola pita berdasarkan pewarna enzim peroksidase	18
2.	Pola pita berdasarkan pewarna enzim esterase	21
3.	Karakter morfologi kualitatif dan kuantitatif daun durian.....	25



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1.	Surat Keputusan Menteri Pertanian tentang durian Bido	39
2.	Nama petani pemilik durian mirip Bido	44
3.	Pohon induk tunggal durian Bido.....	45
4.	Bahan-bahan pembuatan buffer ekstrak dan larutan redusing sample buffer (RSB)	46
5.	Bahan-bahan pembuatan separating gel, stacking gel dan buffer elektrolit	47
6.	Bahan-bahan pembuatan larutan pewarna enzim esterase dan peroksidase serta larutan destaining.....	48
7.	Data biner dari analisis isozim menggunakan pewarna peroksidase	49
8.	Data biner dari analisis isozim menggunakan pewarna esterase	50
9.	Cluster analisis dendogram dari analisis isozim peroksidase ...	52
10.	Cluster analisis dendogram dari analisis isozim esterase	53
11.	Warna daun durian Bido, Monthong dan 21 sampel yang dianalisis.....	54



I. PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Durian (*Durio zibethinus* Murray) merupakan tanaman asli Asia Tenggara yang beriklim tropis basah seperti Indonesia, Thailand dan Malaysia (Ashari, 2004). Indonesia memiliki berbagai jenis durian yang tersebar luas mulai dari Sumatera hingga Papua. Hal ini menunjukkan bahwa durian mempunyai daya adaptasi yang luas. Daya adaptasi yang luas menyebabkan masa pembuahan yang berbeda sehingga ketersediaan buah durian di pasar semakin panjang. Terdapat beberapa daerah di Jawa Timur yang menjadi sentra produksi buah durian yaitu di Jombang (Wonosalam) dan Malang (Ngantang) serta di daerah lainnya seperti Pasuruan dan Banyuwangi (Anonymous, 2012a).

Durian unggul lokal yang sudah dirilis oleh Menteri Pertanian cukup banyak yaitu 71 varietas (Anonymous, 2012a). Walaupun demikian belum tampak hasil dari pengembangan durian unggul lokal tersebut sehingga belum dapat bersaing dengan durian impor yang saat ini mendominasi pasar buah nasional. Tidak banyak masyarakat yang mengenal durian unggul lokal, bahkan masyarakat lebih mengenal durian Monthong yang merupakan varietas introduksi dari Thailand. Durian Bido ialah satu dari varietas durian unggul lokal yang telah dilepas oleh Menteri Pertanian pada tahun 2006. Durian ini berasal dari desa Jarak, kecamatan Wonosalam Kabupaten Jombang.

Durian Bido Wonosalam memiliki keunggulan seperti daging buah cukup tebal dan berwarna kuning dengan rasa manis pulen dan agak pahit jika terlalu tua dengan bentuk buah bulat kerucut agak lonjong. Selain itu Durian Bido Wonosalam memiliki waktu panen tiga kali dalam satu tahun, serta dapat beradaptasi dengan baik di dataran rendah sampai tinggi, hasil buah per pohon sekitar 115,47 kg (Anonymous, 2012b). Namun demikian, durian Bido yang telah dirilis (pohon induk tunggal durian Bido) telah ditebang oleh pemiliknya dengan alasan: letak pohon yang dekat dengan jalan raya, letak pohon juga dekat dengan tiang listrik dan terjadi sengketa mengenai kepemilikan durian tersebut.

Durian Bido yang pada tahun 2006 telah dilepas oleh Menteri Pertanian sebagai varietas unggul (SK Menteri Pertanian Nomor: 340/kpts/SR.120/5/2006), seharusnya dikembangkan sebagai usaha pelestarian plasma nutfah. Namun karena pohon induk tunggal durian Bido yang sudah dirilis telah ditebang dan kini batangnya hanya tersisa setinggi satu meter, durian Bido tersebut belum dikembangkan. Maka untuk menunjang upaya pengembangannya, BPP kecamatan Wonosalam melakukan penelusuran terhadap tanaman-tanaman durian di kecamatan Wonosalam yang berdasarkan umur pohon serta bentuk dan rasa buahnya. Dari hasil penelusuran tersebut, terpilihlah 27 tanaman durian yang memiliki bentuk buah dan rasa buah mirip dengan durian Bido yang telah dirilis. Namun hasil penelusuran yang hanya berdasar pada kenampakan secara morfologi (bentuk buah dan rasa buah) belum dapat memastikan bahwa 27 tanaman durian yang terpilih tersebut adalah durian varietas Bido. Maka untuk mengetahui dan memastikannya bahwa adanya durian varietas Bido pada 27 tanaman durian terpilih atau adanya tingkat kemiripan yang tinggi dengan durian varietas Bido perlu dilakukan pembuktian ataupun analisis lebih lanjut.

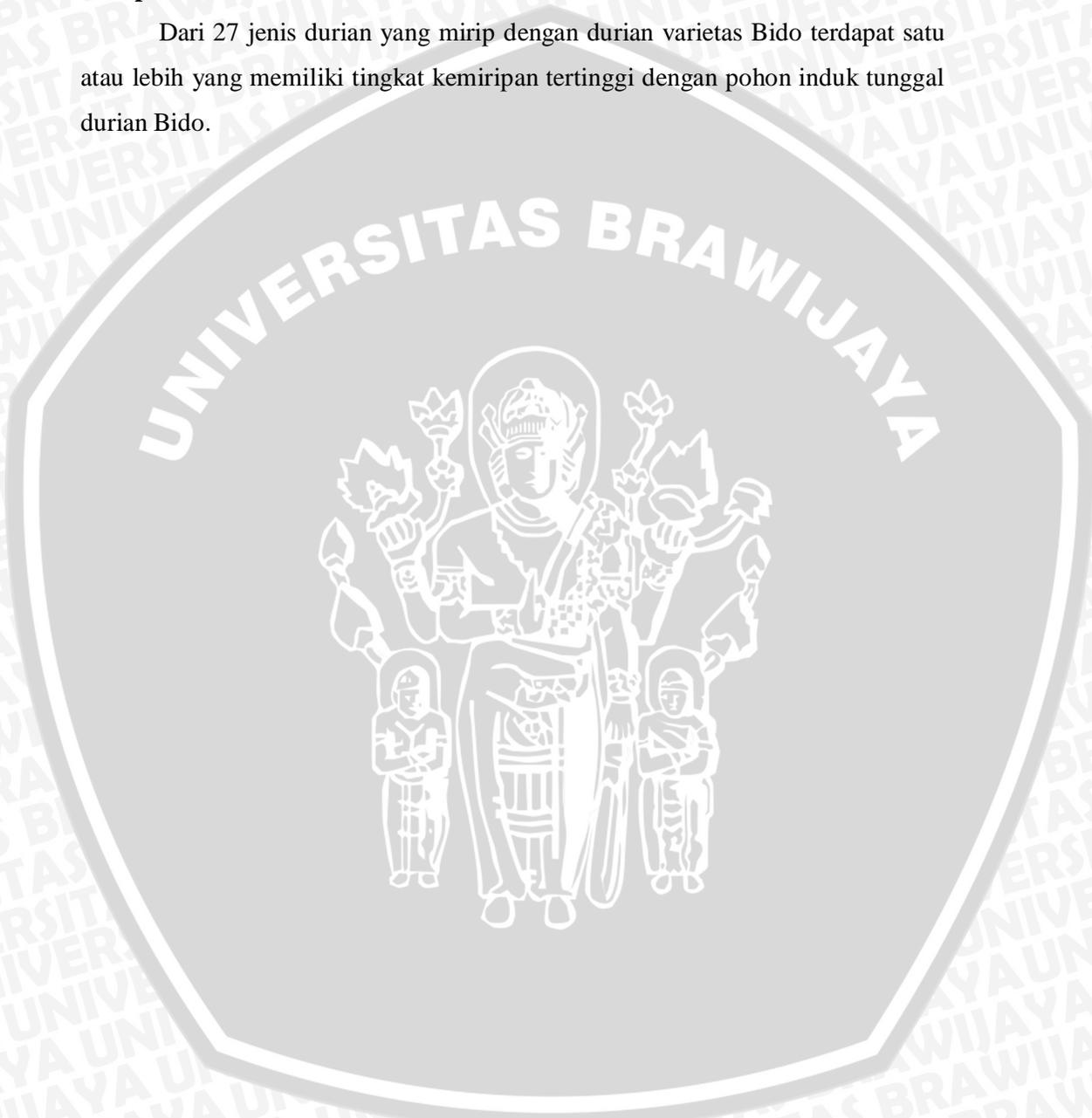
Pembuktian yang dapat dilakukan ialah dengan melakukan identifikasi secara morfologi ataupun genetik seperti melalui analisis isozim. Analisis isozim ini dipilih karena hasil dari analisis berupa pola pita isozim yang merupakan ekspresi dari enzim (protein). Enzim ini terdiri dari ikatan rantai polipeptida yang membawa informasi genetik dan tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Dari hasil analisis isozim tersebut, akan dapat diketahui kemiripan genetik antara 27 tanaman durian terpilih dengan pohon induk tunggal durian Bido Wonosalam. Hal ini memungkinkan untuk dilakukan upaya pengembangan guna membantu penyediaan bibit tanaman durian Bido dengan karakteristik genetik yang sama atau memiliki tingkat kemiripan yang tertinggi dengan pohon induk tunggal durian Bido. Selain identifikasi secara genetik, identifikasi secara morfologi juga tetap diperlukan guna mendukung hasil dari identifikasi secara genetik.

2. Tujuan

Mengetahui tingkat kemiripan 27 jenis durian mirip varietas Bido dengan pohon induk tunggal durian Bido.

3. Hipotesis

Dari 27 jenis durian yang mirip dengan durian varietas Bido terdapat satu atau lebih yang memiliki tingkat kemiripan tertinggi dengan pohon induk tunggal durian Bido.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sejarah Durian Varietas Bido

Durian bido ialah satu dari varietas durian unggul lokal dari kecamatan Wonosalam kabupaten Jombang. Durian Bido ini awal mulanya ditemukan di desa Jarak kecamatan Wonosalam. Durian ini mempunyai daging tebal dan lembut, kulit tipis dan rasanya yang khas sedikit pahit. Konon rasa pahit inilah yang membuat “kecanduan” siapapun untuk terus menikmati durian Bido. Kualitas rasa inilah yang membedakannya dengan durian-durian dari daerah lain. Selain memiliki daging yang tebal dan rasa yang khas durian ini dapat beradaptasi dengan baik pada dataran rendah sampai tinggi serta memiliki waktu panen tiga kali dalam setahun. Karena kekhasannya maka durian Bido ini diusulkan oleh Dinas Pertanian Jawa Timur beserta Pemerintah Kabupaten Jombang dan Dinas Pertanian dan Ketahanan Pangan Kabupaten Jombang untuk dilepas sebagai durian varietas unggul. Dari pengusulan ini maka pada tanggal 4 Mei 2006 durian ini resmi dilepas oleh Bapak Anton Apriyantono (Menteri Pertanian) sebagai durian varietas unggul yang berasal dari Kecamatan Wonosalam Kabupaten Jombang (SK Menteri Pertanian Nomor: 340/kpts/SR.120/5/2006).

2.2. Deskripsi Durian Varietas Bido

Berdasarkan pada Surat Keputusan Menteri Pertanian nomor: 340/kpts/SR.120/5/2006 (Lampiran 1), durian Bido memiliki warna daun hijau pada bagian atas dan coklat agak ungu muda pada bagian bawah serta bertekstur halus. Bentuk daun eliptik agak panjang dengan ukuran panjang 10.8 -12.5 cm, lebar 3.5 -5.0 cm, bertepi daun rata dan ujung daun lancip serta memiliki panjang tangkai daun antara 3.2 -3.7 cm. Bentuk bunga bulat dengan mahkota bunga bewarna putih, benangsari putih kekuningan dan kelopak bunga bewarna hijau muda serta berjumlah 1 – 10 bunga per tandan (Surat Keputusan Menteri Pertanian, 2006).

Kulit buah durian Bido yang telah masak bewarna hijau kekuningan, mempunyai bentuk buah bulat kerucut agak lonjong dengan ukuran tinggi 18.1 – 19,7 cm dan berdiameter 15.4 – 17.8 cm. Panjang tangkai durian bido antara 4.3 - 4.8 cm, ketebalan kulit buah 0.9 -1.0 cm. Daging buah bewarna putih

kekuningan, tebal buah 0.9 -1.3 cm dengan rasa buah manis pulen dan agak pahit apabila matang dengan kandungan gula 15,3%. Biji berbentuk lonjong berwarna coklat muda kekuningan. Dalam satu buah mempunyai 4 – 6 juring dan terdapat biji normal sebanyak 7-17 biji yang berukuran panjang 4.2-4.7 cm dengan diameter 1.9-2.3 cm serta biji tidak normal (kempes) sebanyak 2-3 biji yang berukuran panjang 1.1-1.2 cm dan berdiameter 0.3-0.4 cm. Jumlah buah setiap tandannya hanya 1-2 buah, berat buah berkisar 1.8-2.8 kg dengan kekerasan buah sedang dan duri berbentuk kerucut tajam (Surat Keputusan Menteri Pertanian, 2006).

Durian Bido mempunyai tiga masa berbunga yaitu pada bulan Juli, September, Desember dan waktu panen antara bulan Nopember-Desember, Januari-Februari, April-Mei. Dalam satu pohon dapat menghasilkan sebanyak 80-190 buah per tahun (Surat Keputusan Menteri Pertanian, 2006).

2.3. Keragaman Pada Tanaman Buah Durian

Keragaman yang terjadi pada tanaman disebabkan oleh dua faktor yaitu lingkungan dan genetik. Keragaman yang timbul karena faktor lingkungan terjadi karena adanya pengaruh dari lingkungan tempat tumbuh tanaman tersebut seperti jenis tanah, suhu, iklim, ketersediaan air, dan ketinggian tempat. Keragaman yang timbul karena faktor genetik diwariskan kepada keturunannya. Hal ini terjadi karena adanya percampuran material pemuliaan, rekombinasi genetik sebagai akibat dari adanya persilangan-persilangan ataupun poliploidisasi (Mangoendidjojo, 2003).

Faktor lingkungan mempengaruhi terjadinya keragaman pada tanaman durian. Keragaman yang timbul ini hanya sebatas pada pertumbuhan dan perkembangannya. Tanaman durian merupakan tanaman yang menunjukkan karakter spesifik lokasi, oleh karenanya pengembangannya harus bersifat kedaerahan atau tepatnya dimana jenis durian tersebut tumbuh dan berproduksi (Anonymous, 2012a). Sebagai contoh durian Bido yang dapat tumbuh dan berproduksi dengan baik di kecamatan Wonosalam kabupaten Jombang yang merupakan daerah asalnya belum tentu dapat tumbuh dan berproduksi dengan baik apabila ditanam di luar habitat tersebut. Hal ini dapat terjadi karena adanya

perbedaan kondisi tempat tumbuh pada daerah asalnya dengan tempat tumbuh di daerah yang baru.

Keragaman pada tanaman durian yang disebabkan oleh faktor genetik ini muncul sebagai akibat dari sifat penyerbukan tanaman durian yaitu menyerbuk silang. Menyerbuk silang memiliki arti bahwa proses bertemunya serbuk sari dengan putik tidak dapat terjadi dengan sendirinya, sehingga membutuhkan bantuan polinator seperti angin, serangga, air dan burung (Mangoendidjojo, 2003). Layaknya penyerbukan silang terjadi karena organ kelamin jantan (benang sari) dan organ kelamin betina (putik) terletak pada bunga yang berbeda dalam satu tanaman atau lain tanaman. Namun berbeda dengan bunga tanaman durian yang merupakan bunga sempurna. Bunga sempurna yaitu dalam satu bunga terdapat sepal (kelopak), petal (mahkota), stamen (benang sari) dan pistil (putik) (Tjitrosomo, 1983). Meskipun memiliki bunga sempurna, pembuahan tidak dapat terjadi atau dengan kata lain pada bunga terjadi penyerbukan tetapi tidak berlanjut dengan pembuahan yang disebabkan oleh faktor fisiologis (incompatibilitas). Hal inilah yang menyebabkan penyerbukan pada tanaman durian bersifat menyerbuk silang dan membutuhkan bantuan polinator seperti kelelawar, burung, serangga (lebah dan semut) (Ashari dan Wahyuni, 2012).

Terdapat dua teori yang mengemukakan tentang incompatibilitas pada durian. Teori pertama menyatakan bahwa peristiwa tersebut terjadi disebabkan tabung sari berhenti berkembang dan lokasi perhentian perkembangan tabung sari terjadi pada dasar stigma (kepala putik). Teori kedua menyatakan bahwa perkecambahan tergantung pada kualitas sukrosa yang berbeda (Ashari, 2004).

Dalam memperbanyak atau mengembangbiakkan tanaman durian tidak dianjurkan menggunakan biji yang disebabkan oleh sifat penyerbukannya tersebut, karena secara genetik akan menghasilkan turunan yang mempunyai karakteristik bervariasi atau beragam (tidak sama dengan induknya) seperti berbeda bentuk, ukuran, warna kulit, tebal aril atau daging buah dan rasa aril (Anonymous, 2012a).

2.4. Isozim

Dalam tubuh tanaman, proses metabolisme terjadi dengan adanya perantara suatu zat yang bernama enzim. Enzim ialah protein globular yang umumnya

berfungsi sebagai biokatalis pada semua proses kimia dalam makhluk hidup. Enzim mampu meningkatkan reaksi kimia tetapi tidak diubah oleh reaksi yang dikatalisnya serta tidak mengubah kedudukan normal dari kesetimbangan kimia (Toha, 2001). Proses metabolisme tersebut berlangsung karena terjadinya reaksi kimia yang berurutan. Untuk tiap reaksi kimia ini diperlukan enzim tertentu sebagai katalisator sedangkan terbentuknya enzim dikontrol oleh satu atau beberapa gen. Jika gen yang dibutuhkan tidak ada maka enzim tersebut tidak dapat terbentuk sehingga reaksi metabolisme tidak dapat berlanjut. Enzim terbentuk dari molekul protein sebagai komponen utama penyusunnya, sedangkan protein dapat terbentuk dari satu atau lebih rantai polipeptida dan tiap polipeptida adalah hasil dari gen tertentu (Suryo, 2005). Dalam teknik elektroforesis, yang merupakan teknik pemisahan protein dengan molekul lain yang bermuatan pada bidang listrik menghasilkan lebih dari satu zona-zona berwarna yang menunjukkan bahwa terkandung lebih dari satu jenis enzim yang berperan pada suatu substrat untuk memberikan reaksi yang sama. Enzim-enzim inilah dikenal dengan istilah isoenzim atau isozim. Jadi dapat dikatakan bahwa isoenzim atau isozim ialah enzim yang merupakan produk langsung dari gen yang memiliki molekul aktif polipeptida dan struktur kimia yang berbeda tetapi mengkatalis reaksi yang sama (Fachiyah *et al.*, 2011). Perbedaan antar isozim dapat terjadi karena adanya gen-gen yang berbeda dalam melakukan kodifikasi untuk masing-masing isozim dan zona-zona yang berbeda dapat mewakili rantai polipeptida yang terkandung dalam enzim tersebut (Lakitan, 2007).

2.5. Analisis Isozim

Isozim ialah enzim yang merupakan produk langsung dari gen yang memiliki molekul aktif dan struktur kimia yang berbeda tetapi mengkatalis reaksi kimia yang sama. Enzim ialah protein biokatalisator untuk proses-proses fisiologis yang pengadaannya dan pengaturannya dikontrol secara genetik (Yunus, 2007). Analisis isozim dapat digunakan untuk menganalisis keragaman genetik tanaman dengan teknik elektroforesis. Teknik elektroforesis isozim merupakan cara yang efisien sebagai teknik deteksi suatu jenis tanaman dengan memanfaatkan material bagian tanaman yang berupa daun yang masih muda, bunga ataupun biji (Lisdiyanti dan Hartati, 1997). Analisis isozim banyak digunakan untuk meneliti

struktur genetik atau sebagai penanda genetik dikarenakan dapat mendeteksi enzim yang diekspresikan oleh gen pada alel resesif yang sering tertutup oleh kenampakan visual dan bebas dari pengaruh langsung lingkungan (Sulistiyowati *et al.*, 2009)

Langkah pertama sebelum analisis isozim ialah pengambilan sampel tanaman yang akan diuji. Sampel tanaman yang digunakan sebagai sampel berasal dari daun yang muda. Hal yang perlu diperhatikan dalam pengambilan sampel ialah waktu pengambilan dan penyimpanan sampel. Pengambilan sampel harus dilakukan pada pagi hari sebelum matahari terbit dan disimpan pada suhu di bawah 4°C agar tidak terjadi perubahan fisik protein karena suhu tinggi yang dapat menyebabkan hilangnya sifat kelarutan dan sifat-sifat fisik lainnya atau biasa disebut denaturasi (Sigh dan Sigh 1995). Dalam analisis isozim terdapat beberapa tahap yaitu :

1. Ekstraksi enzim

Ekstraksi enzim merupakan suatu kegiatan pengambilan enzim pada sampel tanaman yang diuji dengan penambahan buffer ekstrak. Pengekstraksian juga harus dilakukan dalam keadaan dingin agar aktifitas enzim dalam sampel yang diuji tetap terjaga. Larutan buffer pengestrak enzim ini komposisinya terdiri dari berbagai senyawa, pada umumnya yang dipakai adalah basa Tris, Asam Etilen DiaminTetraasetat (EDTA), sukrosa, gliserol, basa Tris, mercaptoetanol, polivinil polipirolidon serta bovin serum albumin (Lisdiyanti dan Hartati, 1997). Berdasarkan hasil penelitiannya, Indrioko (2000) menyatakan bahwa komposisi larutan buffer ekstrak yang paling sesuai untuk analisis isozim jaringan kuncup daun pada *G. Arborea* (Jati putih) dan memberikan kenampakan pola berkas isozim yang paling jelas adalah buffer ekstrak yang terdiri atas 1M Tris-HCL pH 7.5(1mL), 60% Glycerol (33,3 mL), 15% Tween 80 (0,5 mL), 200 mM Dithiothreitol (0,5 mL), Polyvinilpyrollidone (0,6 g), aquades 4,67 mL.

2. Elektroforesis

Elektroforesis ialah di mana suatu molekul yang mempunyai muatan listrik (biasanya protein atau asam nukleat) bermigrasi pada bidang listrik. Tingkat migrasi dalam bidang elektrik dipengaruhi oleh ukuran dan bentuk molekul, viskositas dan temperatur dari media tempat molekul bergerak (Fachiyah *et al.*,

2011). Media pemisah atau gel elektroforesis yang banyak digunakan pada analisis isozim ialah gel poliakrilamida dan gel pati. Gel poliakrilamida memberikan pemisahan yang lebih baik dan kenampakan pita enzim atau protein yang lebih jelas karena penampilan gel yang transparan. Namun dalam penggunaan gel poliakrilamida harus hati-hati karena bersifat toksik dan harganya pun relatif mahal apabila dibandingkan dengan gel pati (Lisdiyanti dan Hartati, 1997).

3. Pewarnaan

Tahap selanjutnya dalam analisis isozim ialah pewarnaan menggunakan pewarna enzim. Pewarnaan ini bertujuan untuk membangkitkan aktifitas enzim dengan cara merendam lempengan gel yang mengandung enzim yang telah dielektroforesis di dalam larutan pewarna agar mendapatkan kenampakan pola pita isozim yang jelas. Pita isozim terjadi karena adanya perubahan substrat yang dikatalis oleh enzim dan pengikat produk perubahan substrat dengan pewarna spesifik (Lisdiyanti dan Hartati, 1997). Jelas atau tidaknya kenampakan pola pita isozim ini sangat berpengaruh dalam pengidentifikasian genetik.

Terdapat berbagai jenis enzim yang dapat digunakan pada analisis isozim antara lain peroksidase, esterase, alkohol dehidrogenase, asam pospatase alkalin pospatase, aspartat amino transferase, phosphoglucomutase dll. Menurut hasil penelitian Indroko (2000) pada tanaman jati putih (*Gmelina arborea* Roxb.) pewarna enzim esterase dapat menghasilkan pola berkas pita isozim yang paling baik dibanding dengan pewarna enzim lainnya serta dari hasil penelitian Cahyarini *et al.*, (2004) pada tanaman kedelai menyatakan bahwa enzim esterase serta peroksidase memberikan kenampakan pola berkas isozim yang jelas. Enzim enzim seperti esterase, peroksidase serta asam amino tranferase telah dimanfaatkan untuk penelitian durian antara lain untuk karakterisasi bibit durian pada penelitian Suketi (1994) dan pada penelitian Bansir (2011) tentang Pengembangan Potensi Durian (*Durio zibethinus* Murray) Lokal: Eksplorasi, Identifikasi Persilangan dan Perbanyakkan Vegetatif. Selain itu enzim yang lain seperti AAT juga telah digunakan untuk menentukan keragaman pada tanaman pamelon (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) (Rakhman, 2006) dan menentukan keragaman bawang putih (*Allium sativum*, L) (Trisnaningrum, 2005)

Esterase pada tanaman merupakan enzim hidrolitik yang berfungsi melakukan pemotongan ester sederhana pada asam organik, asam anorganik alkohol, dan fenol serta mempunyai berat molekul yang rendah dan mudah larut. Enzim esterase memiliki struktur monomer dan dimer (Tanskley dan Rick,1980, *dalam* Acquuah,1992). Peroksidase merupakan anggota enzim reduktase yang dianggap mempunyai hubungan nyata dengan penyebab perubahan pada rasa, warna, tekstur, dan kandungan gizi buah-buahan dan sayuran yang belum diolah. Peroksidase pada tanaman merupakan isozim yang berperan dalam pertumbuhan, differensiasi dan pertahanan. Aktifitas isozim peroksidase mudah dideteksi karena aktivitasnya pada jaringan dan enzim ini merupakan oksido reduktase (Cahyarini *et al.*, 2004).

2.6. Keunggulan Analisis Isozim

Penggunaan isozim sebagai penanda genetik dalam pengidentifikasian genetik tanaman memiliki banyak kelebihan karena isozim memiliki karakter diatur oleh gen tunggal, produk langsung dari gen, dan bersifat kodominan dalam pewarisan sifat yang berarti gen-gen sealel yang sifatnya sama-sama tidak dominan atau tidak resesif, sehingga jika berada bersama-sama akan memunculkan fenotip dari sifat keduanya. Isozim merupakan produk dari alel yang berbeda bergerak pada posisi yang berbeda dalam gel, seringkali posisi pita merupakan produk dari suatu lokus sehingga memungkinkan untuk mendeteksi jumlah gen yang mengkode suatu enzim dengan menganalisis pola pita dari enzim tersebut. Pada analisis isozim peralatan dan bahan yang diperlukan relatif murah dan percobaan dapat dilakukan dengan mudah di laboratorium serta dapat menganalisis sampel dalam jumlah yang banyak dengan waktu singkat dan dapat dilakukan pada fase bibit sehingga menghemat waktu, tempat dan biaya. Selain itu isozim ini bersifat stabil karena tidak terpengaruh oleh faktor lingkungan (Cahyarini *et al.*, 2004; Hadiati dan Sukmadjaja, 2002)

III. METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan waktu

Penelitian dilakukan di kecamatan Wonosalam kabupaten Jombang yang terletak di sebelah Tenggara kota Jombang dengan ketinggian tempat 351-2150 m dpl. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2012 - Maret 2013. Analisis isozim dilakukan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya Malang.

3.2. Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah daun durian yang masih muda, namun telah membuka sempurna (*fully develop*) dari 27 pohon durian mirip durian varietas Bido (hasil seleksi yang dilakukan oleh BPP Kec. Wonosalam) dan pohon induk tunggal durian Bido Wonosalam (Lampiran 3), daun durian Monthong, es batu, gel poliakrilamida, running buffer, buffer ekstrak, pewarna enzim esterase dan peroksidase, tisu basah, aquades, kertas alumunium foil dan nitrogen cair. Alat-alat yang digunakan antara lain satu set alat elektroforesis (Gambar 2), mikropipet, tube, blue tip, yellow tip, white tip, timbangan analitik, gunting, label, spidol, termos es, gelas ukur, power supply, nampan tempat pewarnaan, color chart Royal Horticultural Society (RHS), penggaris dan kamera.

3.3. Rancangan penelitian

Data diperoleh dari metode analisis isozim dan pengamatan morfologi. Analisis isozim dilakukan dengan mendata 27 jenis durian mirip durian varietas Bido (Lampiran 2), pohon induk tunggal durian Bido Wonosalam, dan pohon durian Monthong. Dari masing-masing pohon durian kemudian diambil daunnya yang masih muda, tidak cacat dan telah berkembang sempurna untuk selanjutnya dilakukan analisis isozim. Analisis isozim menggunakan metode dari Wendel dan Weeden (1989)

Data pengamatan morfologi diperoleh dengan mengamati sampel daun dari masing-masing pohon durian yang meliputi warna daun, bentuk daun dan rasio panjang lebar daun.

3.4. Cara Kerja

3.4.1. Analisis isozim

- Pengambilan sampel

Sampel daun, diambil dari 27 jenis durian mirip durian varietas Bido, pohon induk tunggal durian Bido (Lampiran 3) dan pohon durian Monthong. Namun hanya 21 jenis durian mirip varietas Bido yang dapat dianalisis karena 6 yang lain (sampel nomor 7, 9, 12, 16, 17 dan 22) tidak dapat diambil sampel daunnya karena pohonnya meranggas dan mati. Daun yang diambil adalah yang masih muda, sudah berkembang sempurna, berwarna hijau muda dan daun tidak cacat. Pengambilan daun dilakukan pada pagi hari sebelum matahari terbit. Hal ini dilakukan agar tidak terjadi kerusakan enzim (denaturasi) pada daun. Kemudian daun dicuci dengan air bersih, dibungkus dengan tisu basah dan kertas aluminium foil lalu dimasukkan kedalam plastik lalu diberi label sampel dan disimpan dalam termos (*ice box*) dengan suhu $2-4^{\circ}\text{C}$.

- Ekstraksi enzim

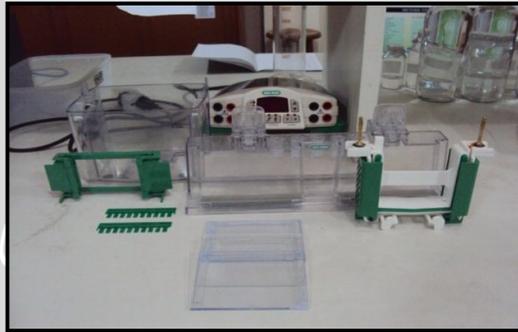
Pengekstrasian enzim dilakukan dengan menghaluskan masing-masing $\pm 0,15$ gram sampel daun pada mortar dingin dengan penambahan nitrogen cair, setelah daun halus atau menjadi serbuk kemudian ditambahkan dengan larutan buffer ekstrak (Lampiran 4) sebanyak 1 ml lalu diaduk rata hingga menyerupai pasta. Sampel lalu dimasukkan ke dalam tube ukuran 1,5 ml (Gambar 1) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 4°C , setelah itu sampel disentrifugasi dalam suhu 4°C dengan kecepatan putaran 12.000 rpm selama 3 menit untuk memperoleh supernatan yang merupakan ekstrak enzim. Apabila supernatan belum dielektroforesis, supernatan harus disimpan pada suhu -20°C untuk menghindari kerusakan supernatan.



Gambar 1. Ekstrak enzim (supernatan) dalam tube

- Elektroforesis

Elektroforesis dilakukan dengan menggunakan dua gel poliakrilamida (Gel PAGE) (Lampiran 5) dan runing buffer (Lampiran 5). Gel poliakrilamida dicetak pada *glass plate* yang terdiri dari separating gel pada bagian bawah dan stacking gel pada bagian atas yang kemudian disisipkan sisir elektroforesis untuk membentuk sumuran sebelum gel memadat. Gel diletakkan secara vertikal di dalam kotak elektroforesis yang telah berisi larutan running buffer. Supernatan terlebih dahulu ditambah dengan Reducing Sample Buffer (RSB) sebelum dimasukkan ke dalam sumuran pada gel yang tercetak lalu dielektroforesis dengan tegangan listrik 200 volt selama 1,5-2,5 jam. Urutan Proses elektroforesis dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 2. Elektroforesis set (searah jarum jam: power suplay, penjepit cetakan gel, penjepit gel, *glass plate*, sisir elektroforesis / pencetak sumuran pada gel, penjepit *glass plate*, kotak elektroforesis)

- Pewarnaan (staining)

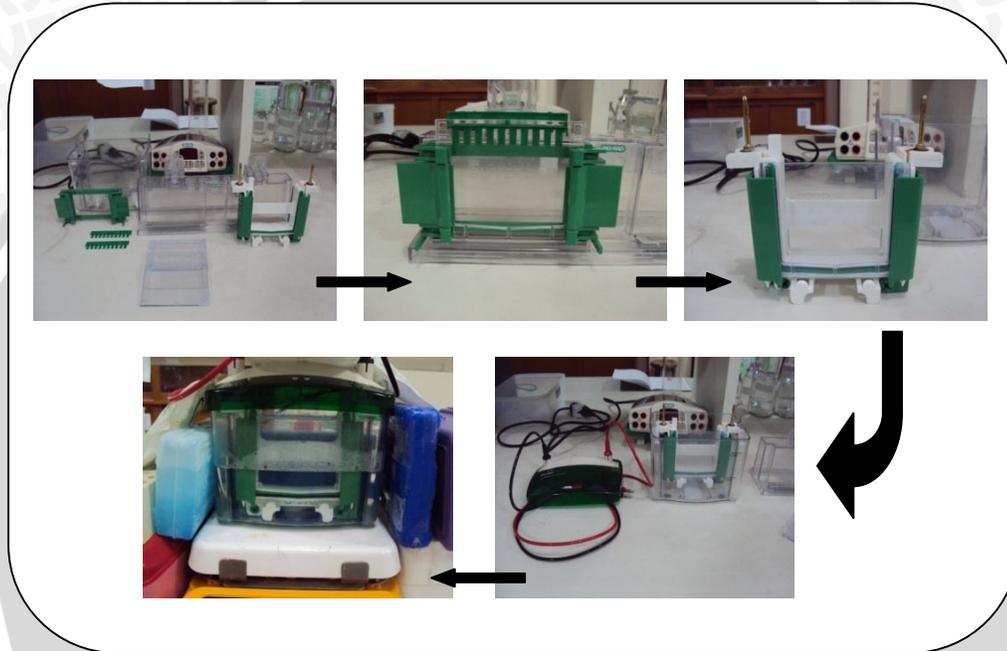
Setelah proses runing selesai, gel dipindahkan ke dalam nampan dan diberi larutan pewarna. Larutan pewarna enzim yang digunakan ialah pewarna enzim esterase dan pewarna enzim peroksidase.

a. Pewarnaan esterase

Larutan pewarna enzim esterase (Lampiran 6) dimasukkan ke dalam wadah yang berisi gel yang sudah dielektroforesis. Lalu gel di masukkan ke dalam *waterbath* pada suhu 40°C selama 1-2,5 jam sampai pita isozim nampak. Setelah pita nampak gel dicuci dengan aquades, kemudian difiksasi dengan larutan destaining (Lampiran 6) dan diletakkan pada shaker.

b. Pewarnaan peroksidase

Larutan pewarna enzim peroksidase (Lampiran 6) dimasukkan ke dalam wadah yang berisi gel yang sudah dielektroforesis. Kemudian dimasukkan ke dalam *waterbath* pada suhu 40°C selama 1-2,5 jam. Setelah pita nampak gel dicuci dengan aquades, setelah bersih gel difiksasi dengan larutan destaining (Lampiran 6) dan diletakkan pada shaker.



Gambar 3. Urutan Proses elektroforesis. (Sesuai arah panah: persiapan alat, pencetakan gel dan pemasangan sisir elektroforesis, loading sampel pada sumuran gel, loading gel pada kotak elektroforesis, running)

3.4.2. Warna daun, bentuk daun dan rasio panjang lebar daun

- Warna daun

Pengamatan warna daun meliputi warna daun bagian atas dan warna daun bagian bawah. Pengamatan dilakukan secara langsung berdasarkan panduan color chart Royal Horticultural Society untuk selanjutnya didokumentasikan.

- **Bentuk daun**

Bentuk daun dapat dilihat berdasarkan bentuk tepian daunnya, memiliki bentuk lonjong atau lanset.



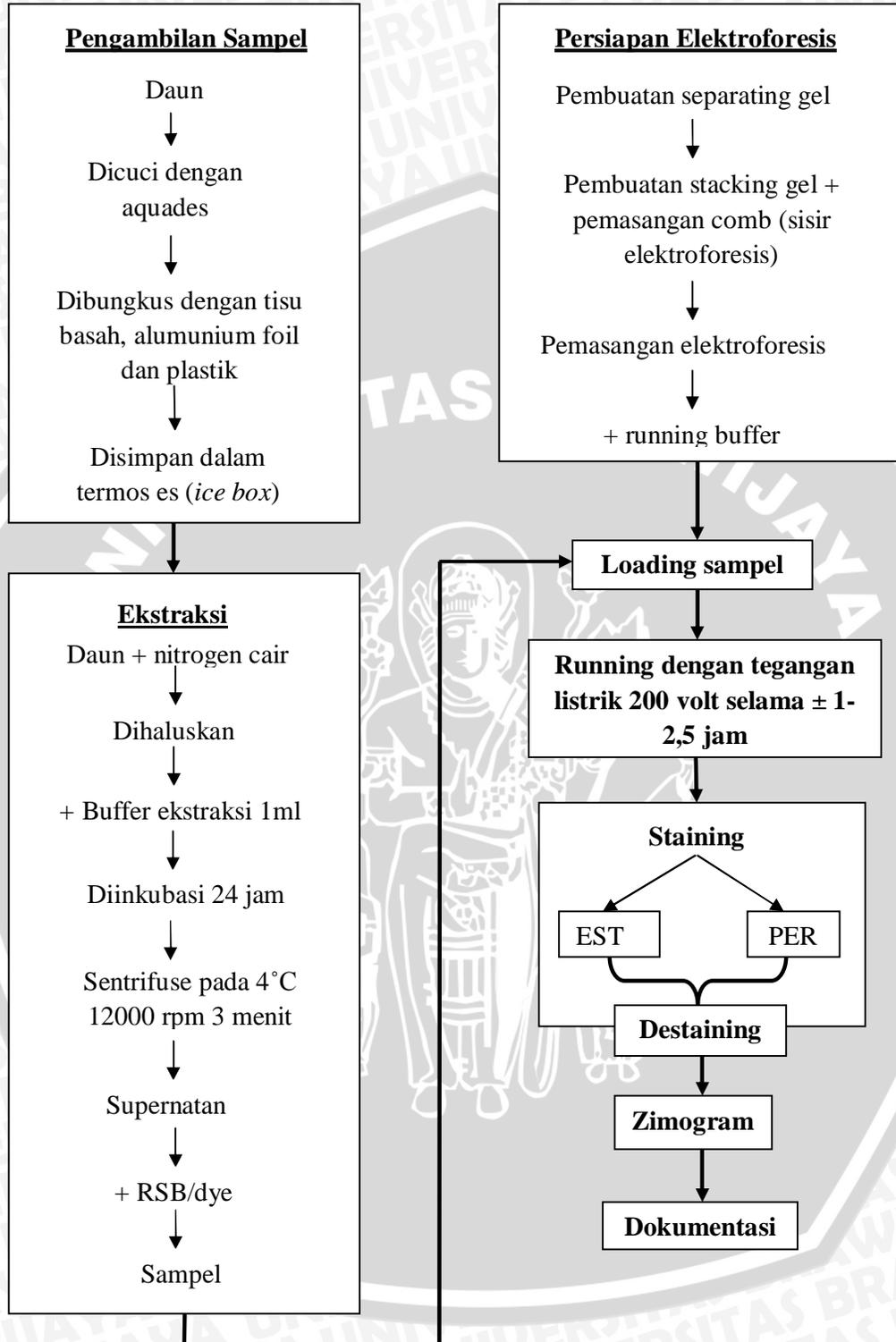
Gambar 4. Bentuk Daun. (A): Bentuk Daun lanset, (B) : Bentuk daun lonjong

- **Ratio panjang lebar daun**

Ratio panjang lebar daun dapat diketahui dengan membagi nilai panjang dengan lebar daun pada daun dari masing-masing pohon durian

3.5. Analisis Data

Data dari hasil analisis isozim yang berupa pola pita kemudian dihitung nilai R_f (mobilitas relatif) dari tiap-tiap pita yang nampak. Nilai R_f merupakan nilai perbandingan antara jarak perpindahan pita dengan jarak batas akhir running. Setelah mendapatkan nilai R_f kemudian digambar zimogramnya (pola pita isozim) untuk memperjelas visualisasi pola pita pada gel hasil elektroforesis. Data pola pita isozim selanjutnya diubah menjadi data biner (Lampiran 7 dan 8) dengan cara diberi nilai 0 untuk genotip (pita) yang tidak hadir / muncul dan nilai 1 untuk genotip yang hadir. Berdasarkan pada data biner, analisis kekerabatan dilakukan dengan menggunakan Cluster Simple Matching Coefisient Analysis dengan metode Unweighted Pair Group Methode with Arithmetic Average (UPGMA) pada program komputer Multi Variate Statistical Package (MVSP) yang ditampilkan dalam bentuk dendogram. Dendogram yang dihasilkan menunjukkan tingkat kemiripan atau nilai similaritas antara sampel-sampel yang diuji. Untuk lebih jelasnya proses analisis isozim dapat dilihat pada Gambar 5.



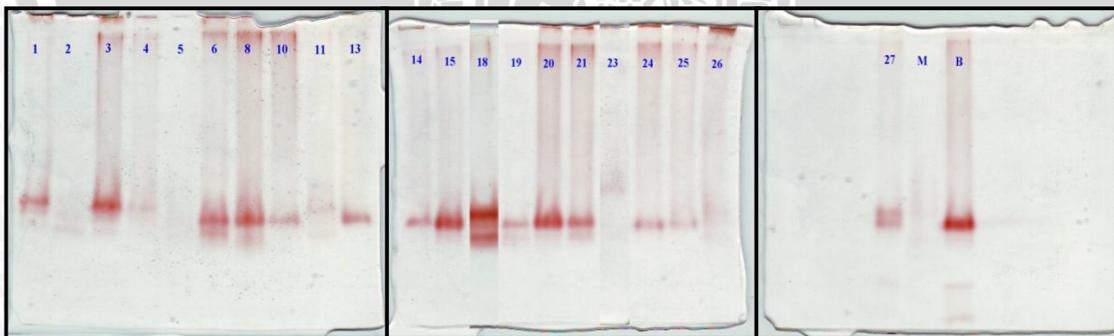
Gambar 5. Diagram alir analisis isozim

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil

4.1.1. Hasil Analisis Isozim Menggunakan Pewarna Enzim Peroksidase

Dari hasil analisis isozim menggunakan pewarna enzim peroksidase menunjukkan bahwa pita isozim dapat termigrasi dengan baik sehingga menghasilkan kenampakan pita yang jelas (Gambar 6). Pada zimogram (Gambar 7) yang dibuat berdasarkan hasil analisis isozim dapat diketahui terdapat 9 daerah aktif (titik migrasi tempat munculnya pita isozim) yang muncul. Daerah aktif tersebut tersebar dari bagian tengah dan bawah gel yang terletak pada jarak migrasi (R_f) 0.52 hingga 0.95. Banyaknya jumlah pita yang muncul pada tiap sampel menandakan jumlah gen yang terekpresi oleh enzim pada tanaman tersebut. Berdasarkan pada jumlah pita yang muncul pada masing-masing sampel dapat dibedakan menjadi 4 kelompok. Jumlah 1 pita muncul pada sampel nomor 4, 8, 10, 13, 14, 15, 20, 23, 24 dan 25. Jumlah 2 pita muncul pada sampel nomor 1, 5, 6, 11, 18, 19 dan 21. Jumlah 3 pita dimiliki oleh sampel dengan nomor 2, 3, 26, sampel M (varietas Monthong) dan sampel B (varietas Bido), sedangkan jumlah 4 pita hanya muncul pada sampel nomor 27.



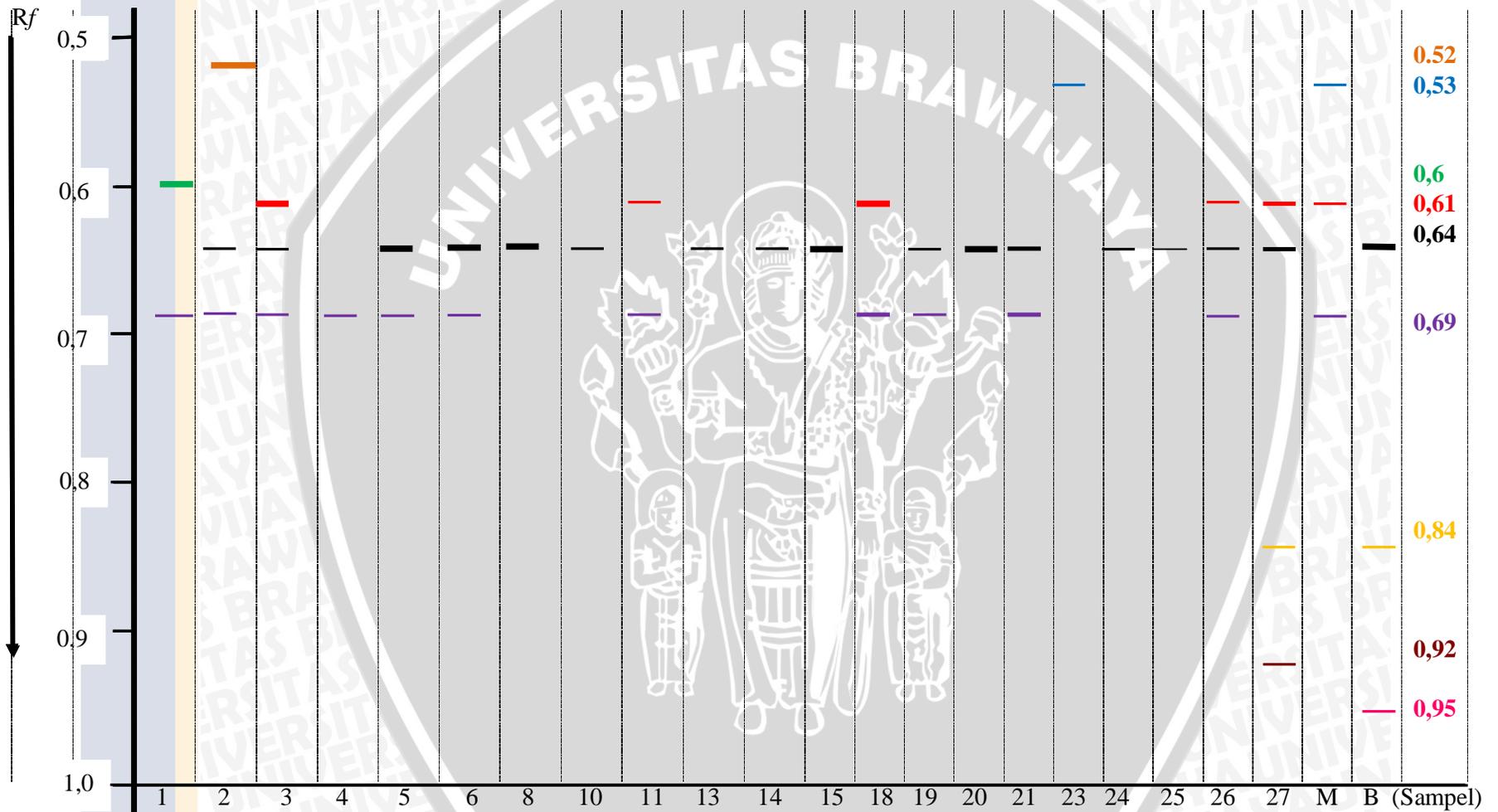
Gambar 6. Hasil analisis isozim menggunakan pewarna enzim peroksidase

Dari zimogram yang telah dibuat dapat diketahui pola-pola pita yang terbentuk pada sampel yang diuji. Pola pita yang teridentifikasi ada 11 dengan jumlah pita antara 1-4 pita dan nilai R_f antara 0.52-0.95. Pola-pola pita tersebut yaitu pada sampel nomor 4 memiliki 1 pita pada nilai mobilitas relatif (R_f) 0.69;

pada sampel nomor 8, 10, 13, 14, 15, 20, 24 dan 25 memiliki 1 pita pada nilai R_f 0.64; sampel nomor 23 memiliki 1 pita dengan nilai R_f 0.53; sampel nomor 1 memiliki 2 pita pada nilai R_f 0.6 dan 0.69; sampel nomor 5, 6, 19, dan 21 memiliki 2 pita pada nilai R_f 0.64 dan 0.69; sampel nomor 11 dan 18 memiliki 2 pita dengan nilai R_f 0.61 dan 0.69; sampel nomor 3 dan 26 memiliki 3 pita dengan nilai R_f 0.61, 0.64 dan 0.69; sampel nomor 2 memiliki 3 pita dengan nilai R_f 0.52, 0.64 dan 0.69; sampel M (varietas Monthong) memiliki 3 pita dengan nilai R_f 0.53, 0.61 dan 0.69; sampel B (varietas Bido) memiliki 3 pita dengan nilai R_f 0.64, 0.84 dan 0.95; sampel nomor 27 memiliki 4 pita dengan nilai R_f 0.61, 0.64, 0.84 dan 0.92. (Tabel 1).

Tabel 1. Pola pita berdasarkan pewarna enzim peroksidase

No Pola Pita	Jumlah Pita	Nilai R_f	Nomor Sampel
1	1	0.69	4
2	1	0.64	8, 10, 13, 14, 15, 20, 24, 25
3	1	0.53	23
4	2	0.60, 0.69	1
5	2	0.64, 0.69	5, 6, 19, 21
6	2	0.61, 0.69	11, 18
7	3	0.61, 0.64, 0.69	3, 26
8	3	0.52, 0.64, 0.69	2
9	3	0.53, 0.61, 0.69	M (Varietas Monthong)
10	3	0.64, 0.84, 0.95	B (Varietas Bido)
11	4	0.61, 0.64, 0.84, 0.92	27



Gambar 7. Zimogram hasil analisis isozim menggunakan pewarna enzim peroksidase

4.1.2. Hasil Analisis Isozim Menggunakan Pewarna Enzim Esterase

Hasil analisis isozim dengan menggunakan pewarna enzim esterase menunjukkan bahwa pita isozim termigrasi pada bagian atas, tengah dan bawah gel, namun kenampakan pita yang dihasilkan sangat tipis (Gambar 8). Pada zimogram (Gambar 9 dan 10) yang dibuat berdasarkan hasil analisis isozim terdapat 32 daerah aktif yang muncul pada bagian atas, tengah dan bawah gel, yakni terletak pada nilai mobilitas relatif (R_f) 0.23 sampai 0.96. Jumlah pita yang muncul dari hasil elektroforesis sangat beragam. Berdasarkan jumlah pita yang muncul pada masing-masing sampel dapat dibedakan menjadi 5 kelompok. Jumlah 1 pita hanya muncul pada sampel nomor 13 sedangkan jumlah 2 pita muncul pada sampel nomor 4, 8, 10, 14, 15, 24 dan 27. Jumlah 3 pita muncul pada sampel nomor 5, 6, 18, 19, 21, 25, 26, sampel M (varietas Monthong) dan sampel B (varietas Bido). Jumlah 4 pita muncul pada sampel nomor 1, 3, 11, 20 dan 23, sedangkan jumlah 5 pita hanya terdapat pada sampel nomor 2.

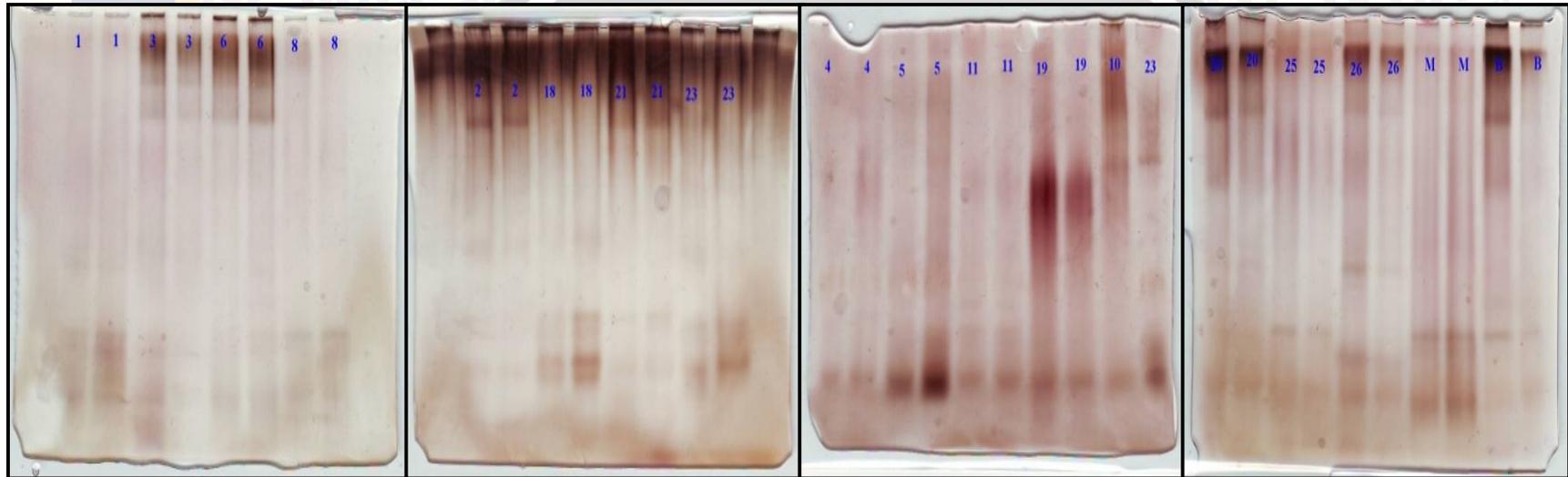
Dari zimogram yang telah dibuat juga dapat diketahui pola pita yang terbentuk pada sampel yang diuji. Dua sampel yang diuji atau lebih dikatakan mempunyai pola pita yang sama apabila mempunyai jumlah pita yang sama dengan nilai mobilitas relatif (R_f) yang sama pula. Dari jumlah 21 sampel yang dianalisis, terdapat 20 pola pita yang terbentuk karena hampir pada setiap nomor sampel memiliki pola pita yang berbeda antara satu dengan yang lainnya. Pola-pola pita tersebut yaitu pada sampel nomor 13 mempunyai 1 pita pada nilai R_f 0.84; sampel nomor 4 mempunyai 2 pita dengan nilai R_f 0.36 dan 0.84; sampel nomor 8, 14 dan 15 juga mempunyai 2 pita pada nilai R_f 0.72 dan 0.86. Sampel nomor 10 mempunyai 2 pita yang terletak pada nilai R_f 0.32 dan 0.84; sampel nomor 24 dan 27 juga mempunyai 2 pita dengan nilai R_f 0.72 dan 0.84 (Tabel 2).

Pola pita dengan jumlah 3 pita terbagi atas 9 pola pita yaitu sampel nomor 5 dengan nilai R_f 0.50, 0.73 dan 0.84; sampel nomor 6 dengan nilai R_f 0.26, 0.72 dan 0.86; sampel nomor 18 pada nilai R_f 0.49, 0.66 dan 0.80; sampel nomor 19 pada nilai R_f 0.38, 0.61 dan 0.84; sampel nomor 21 dengan nilai R_f 0.67, 0.81, 0.84; sampel nomor 25 dengan nilai R_f 0.70, 0.76, 0.83; sampel nomor 26 dengan nilai R_f 0.56, 0.75, 0.83; sampel M (varietas Monthong) dan sampel B (varietas Bido) juga memiliki nilai R_f masing-masing 0.52, 0.69, 0.84 dan 0.69, 0.84, 0.96.

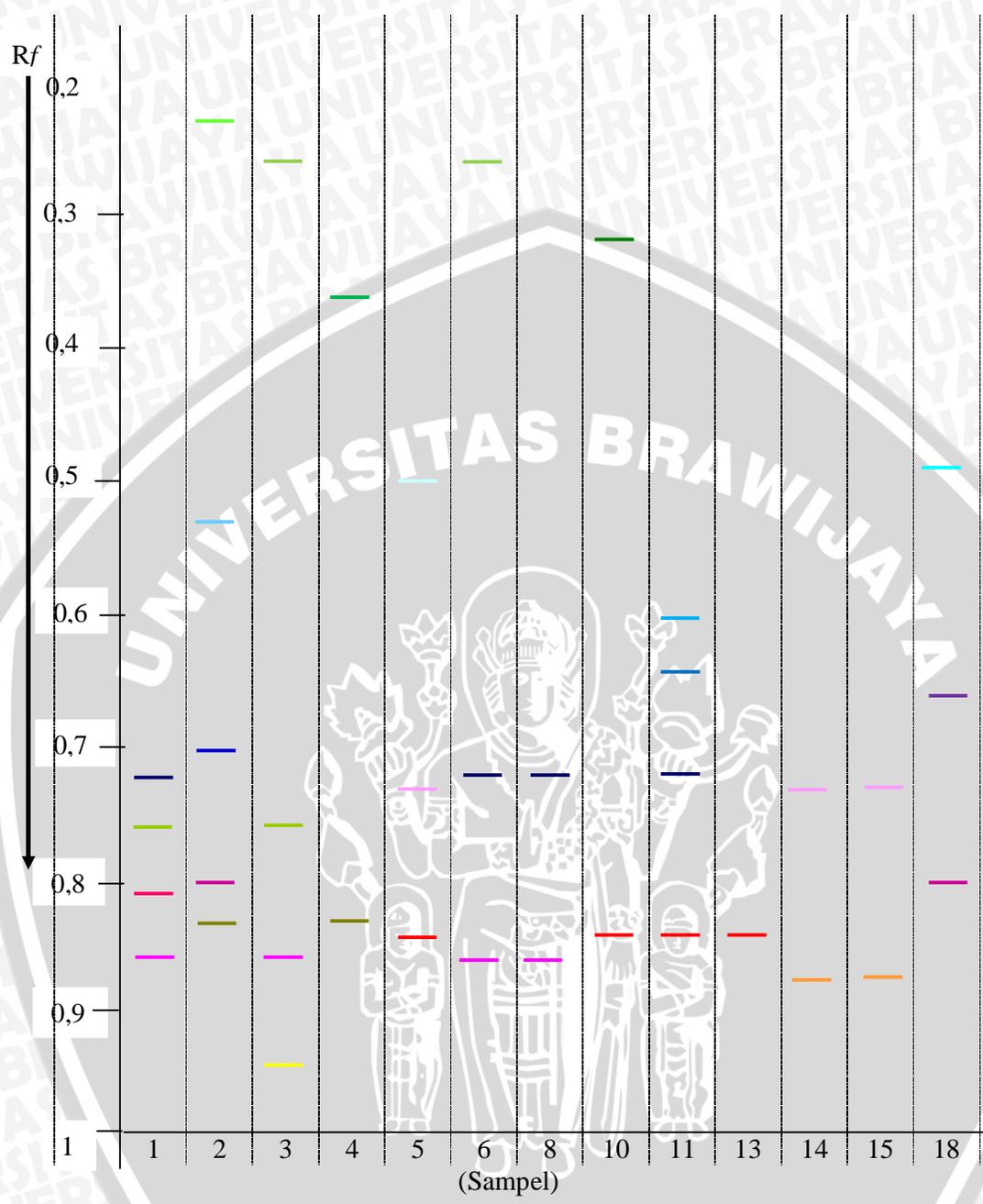
Sampel dengan jumlah 4 pita terbagi atas 5 pola pita yang berbeda yaitu sampel dengan nomor 1 mempunyai nilai R_f 0.72, 0.76, 0.81 dan 0.86; sampel nomor 3 dengan nilai R_f 0.26, 0.76, 0.86 dan 0.95; sampel nomor 11 dengan nilai R_f 0.60, 0.64, 0.72 dan 0.84; sampel nomor 20 mempunyai nilai R_f 0.24, 0.47, 0.73, 0.83; dan sampel nomor 23 yang mempunyai nilai R_f 0.3, 0.61, 0.76, 0.84. Sampel dengan jumlah 5 pita hanya ada 1 pola yakni terdapat pada sampel nomor 2 dengan nilai R_f 0.23, 0.53, 0.70, 0.80 dan 0.83 (Tabel 2).

Tabel 2. Pola pita berdasarkan pewarna enzim esterase

No Pola Pita	Jumlah Pita	Nilai R_f	Nomor Sampel
1	1	0.84	13
2	2	0.36, 0.84	4
3	2	0.72, 0.86	8, 14, 15
4	2	0.32, 0.84	10
5	2	0.76, 0.84	24, 27
6	3	0.50, 0.73, 0.84	5
7	3	0.26, 0.72, 0.86	6
8	3	0.49, 0.66, 0.80	18
9	3	0.38, 0.61, 0.84	19
10	3	0.67, 0.81, 0.84	21
11	3	0.70, 0.76, 0.83	25
12	3	0.56, 0.75, 0.83	26
13	3	0.52, 0.69, 0.84	M
14	3	0.69, 0.84, 0.96	B
15	4	0.72, 0.76, 0.81, 0.86	1
16	4	0.26, 0.76, 0.86, 0.95	3
17	4	0.60, 0.64, 0.72, 0.84	11
18	4	0.24, 0.47, 0.73, 0.83	20
19	4	0.30, 0.61, 0.76, 0.84	23
20	5	0.23, 0.53, 0.70, 0.80, 0.83	2



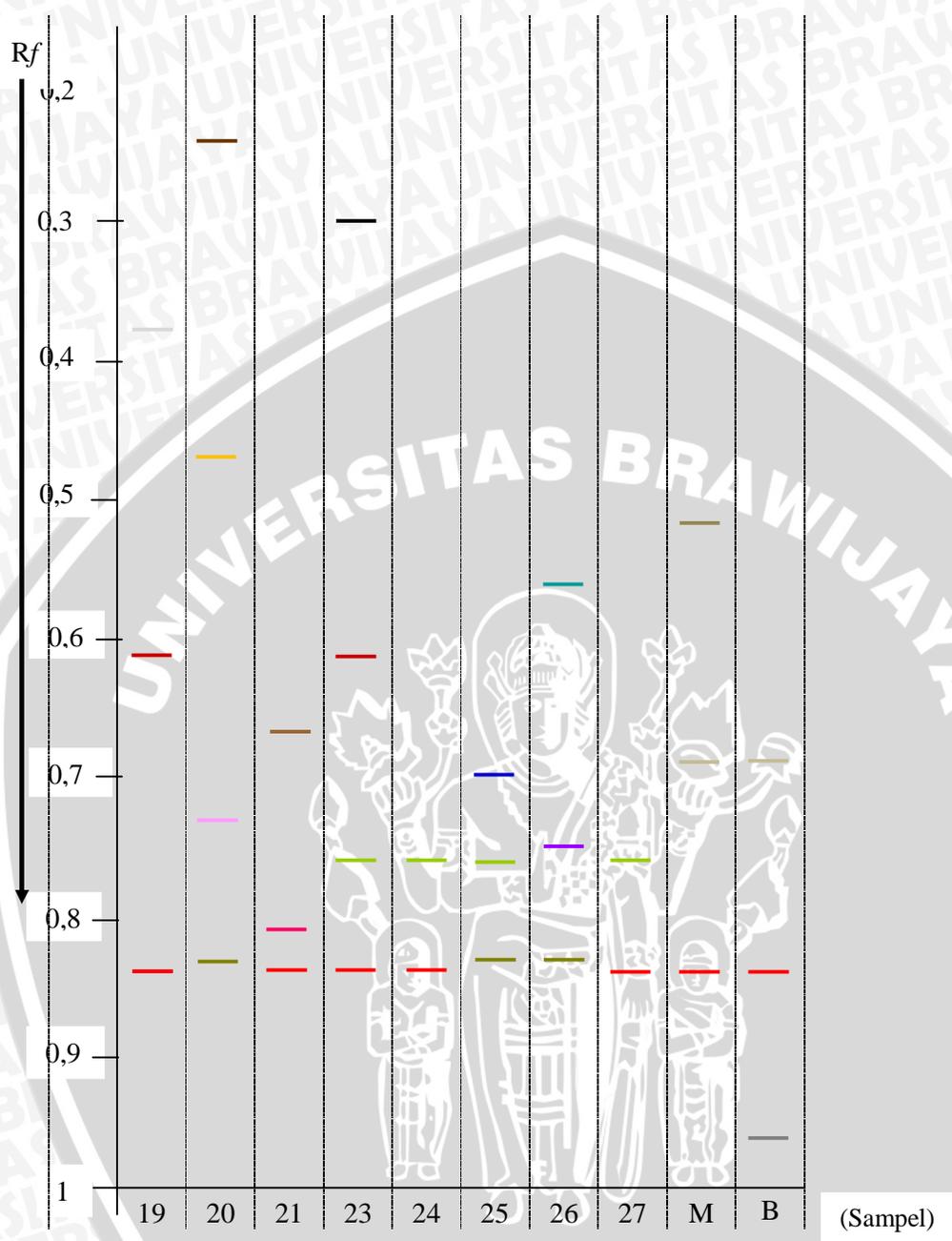
Gambar 8. Hasil analisis isozim menggunakan pewarna enzim esterase



Keterangan:

- /E1= 0,23
- /E8= 0,47
- /E15= 0,61
- /E21= 0,72
- /E27= 0,83
- /E2= 0,24
- /E9= 0,49
- /E16= 0,64
- /E22= 0,73
- /E28= 0,84
- /E3= 0,26
- /E10= 0,5
- /E17= 0,66
- /E23= 0,75
- /E29= 0,86
- /E4= 0,3
- /E11= 0,52
- /E18= 0,67
- /E24= 0,76
- /E30= 0,87
- /E5= 0,32
- /E12= 0,53
- /E19= 0,69
- /E25= 0,8
- /E31= 0,95
- /E6= 0,36
- /E13= 0,56
- /E20= 0,7
- /E26= 0,81
- /E32= 0,96
- /E7= 0,38
- /E14= 0,6

Gambar 9. Zimogram hasil analisis isozim menggunakan pewarna enzim esterase sampel nomor 1-18



- Keterangan:
- /E1= 0,23
 - /E8= 0,47
 - /E15= 0,61
 - /E21= 0,72
 - /E27= 0,83
 - /E2= 0,24
 - /E9= 0,49
 - /E16= 0,64
 - /E22= 0,73
 - /E28= 0,84
 - /E3= 0,26
 - /E10= 0,5
 - /E17= 0,66
 - /E23= 0,75
 - /E29= 0,86
 - /E4= 0,3
 - /E11= 0,52
 - /E18= 0,67
 - /E24= 0,76
 - /E30= 0,87
 - /E5= 0,32
 - /E12= 0,53
 - /E19= 0,69
 - /E25= 0,8
 - /E31= 0,95
 - /E6= 0,36
 - /E13= 0,56
 - /E20= 0,7
 - /E26= 0,81
 - /E32= 0,96
 - /E7= 0,38
 - /E14= 0,6

Gambar 10. Zimogram hasil analisis isozim menggunakan pewarna enzim esterase sampel nomor 19- 27 serta M (Monthong) dan B (Bido)

4.1.3. Karakter Morfologi Daun

Tabel 3. Karakter Morfologi Kualitatif dan Kuantitatif Daun Durian

No. Sampel	Warna Daun		Bentuk Daun	Panjang Daun (cm)	Lebar Daun (cm)	Rasio P/L Daun
	Atas	Bawah				
1	Hijau 141B*	Coklat 148C*	Lonjong	18.78	6.14	3.00
2	Hijau 141B*	Coklat 148C*	Lanset	14.78	4.50	3.00
3	Hijau 141B*	Coklat 148C*	Lonjong	12.12	4.34	3.00
4	Hijau 141B*	Coklat 148C*	Lonjong	14.02	5.14	3.00
5	Hijau 144A*	Coklat 148D*	Lonjong	16.94	5.22	3.00
6	Hijau 141B*	Coklat 148C*	Lonjong	14.98	4.88	3.00
8	Hijau 141B*	Coklat 148C*	Lanset	18.22	5.34	3.00
10	Hijau 141B*	Coklat 148C*	Lonjong	12.88	4.66	3.00
11	Hijau 141B*	Coklat 148C*	Lonjong	17.14	5.32	3.00
13	Hijau 144A*	Coklat 148C*	Lanset	13.60	4.12	3.00
14	Hijau 139B*	Coklat 148D*	Lonjong	14.82	4.90	3.00
15	Hijau 141B*	Coklat 148C*	Lonjong	16.82	5.80	3.00
18	Hijau 141C*	Coklat 148C*	Lonjong	13.00	4.20	3.00
19	Hijau 141B*	Coklat 148C*	Lanset	21.70	6.70	3.00
20	Hijau 141A*	Coklat 148D*	Lonjong	19.50	7.24	3.00
21	Hijau 141B*	Coklat 148D*	Lonjong	15.68	4.86	3.00
23	Hijau 141B*	Coklat 148C*	Lonjong	18.42	5.32	3.00
24	Hijau 141B*	Coklat 148C*	Lanset	18.92	6.44	3.00
25	Hijau 141B*	Coklat 148C*	Lonjong	17.50	5.20	3.00
26	Hijau 141B*	Coklat 148C*	Lonjong	15.48	5.04	3.00
27	Hijau 141A*	Coklat 148D*	Lonjong	17.44	5.88	3.00
Monthong	Hijau 141A*	Coklat 148C*	Loanset	20.40	5.38	3.00
Bido	Hijau 141A*	Coklat 148C*	Lonjong	13.07	4.20	3.00
Rata-rata	Hijau 141B*	Coklat 148C*	Lonjong	16.36	5.25	3.00

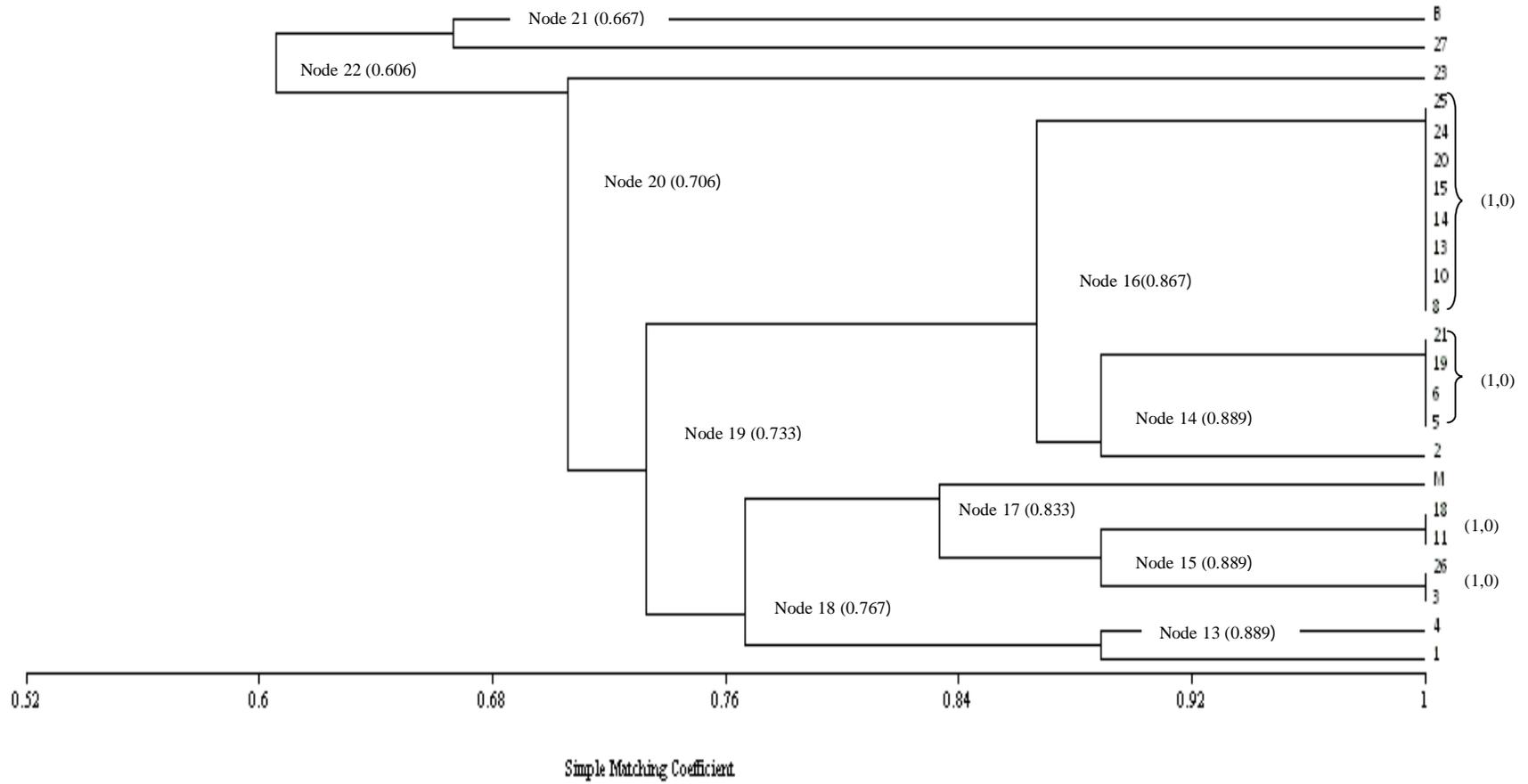
*) Warna daun berdasarkan colour chart dari RHS

Berdasarkan hasil pengamatan pada daun durian menunjukkan bahwa terdapat dua macam bentuk daun yaitu bentuk daun lanset dan bentuk lonjong. Sampel yang memiliki bentuk daun lanset antara lain sampel nomor 2, 8, 13, 19, 24 dan Monthong, selebihnya memiliki bentuk daun lonjong. Pada pengamatan warna daun didapatkan bahwa semua warna permukaan daun bagian atas berwarna hijau, sedangkan pada bagian bawah daun semua berwarna coklat (Lampiran 11).

Setiap daun pada masing-masing sampel memiliki panjang yang berbeda-beda. Daun yang terpanjang terdapat pada daun dari nomor sampel 19 yang memiliki panjang 21.70 cm sedangkan daun terpendek dimiliki oleh daun pada sampel nomor 3 dengan panjang 12.12 cm. Tidak berbeda dengan panjang daun, lebar daun pada masing-masing sampel juga beragam. Lebar daun terbesar terdapat pada daun dari nomor sampel 20 yang memiliki lebar 7.24 cm sedangkan lebar daun terkecil dimiliki oleh daun pada nomor sampel 13 dengan lebar hanya 4.13 cm. Dari pengukuran panjang dan lebar daun, maka dapat diketahui rasio panjang lebar daun. Ratio panjang lebar daun merupakan hasil dari pembagian antara nilai panjang dengan nilai lebar daun. Dari hasil perhitungan ratio panjang lebar daun didapatkan bahwa dari semua sampel yang diamati 100% memiliki nilai rasio panjang lebar daun 3

4.1.4. Analisa Dendogram Dari Analisis Isozim Peroksidase

Dendogram dari analisis isozim peroksidase (Gambar 11) dan analisis pengelompokannya (Lampiran 9) menunjukkan bahwa terdapat 4 kelompok yang identik dengan nilai kesamaan 1 yaitu sampel nomor 3 identik dengan sampel nomor 26, sampel nomor 5 identik dengan sampel nomor 6, 19 dan 21, sampel nomor 8 identik dengan sampel nomor 10, 13, 14, 15, 20, 24 dan 25 serta sampel nomor 11 identik dengan sampel nomor 18. Sampel nomor 3 dan 26 bertemu pada nilai kesamaan 0.889 dengan sampel nomor 11 dan 18 (node 15). Nilai kesamaan 0.889 juga terjadi antara sampel nomor 1 dengan nomor sampel 4 (node 13) dan pada nomor sampel 2 dengan nomor sampel 5, 6, 19 dan 21 (node 14). Nomor sampel 2, 5, 6, 19 dan 21 juga bertemu dengan nomor sampel 8, 10, 13, 14, 15, 20, 24 dan 25 pada nilai kesamaan 0.867 (node 16). Nomor sampel 3, 26, 11, 18 bertemu dengan nomor sampel M (varietas Monthong) pada nilai kesamaan 0.833 (node 17) dan bertemu dengan nilai kesamaan 0.767 dengan nomor sampel 1 dan 4 (node 18). Node 18 bertemu dengan node 16 pada nilai kesamaan 0.733 (node 19). Node 19 bertemu dengan sampel nomor 23 dengan nilai similaritas 0.706 (node 20). nomor sampel 27 dengan nomor sampel B (varietas Bido) dengan nilai kesamaan 0.667 (node 21). Sedangkan node 21 bertemu dengan node 20 pada nilai kesamaan 0.606 (node 22).

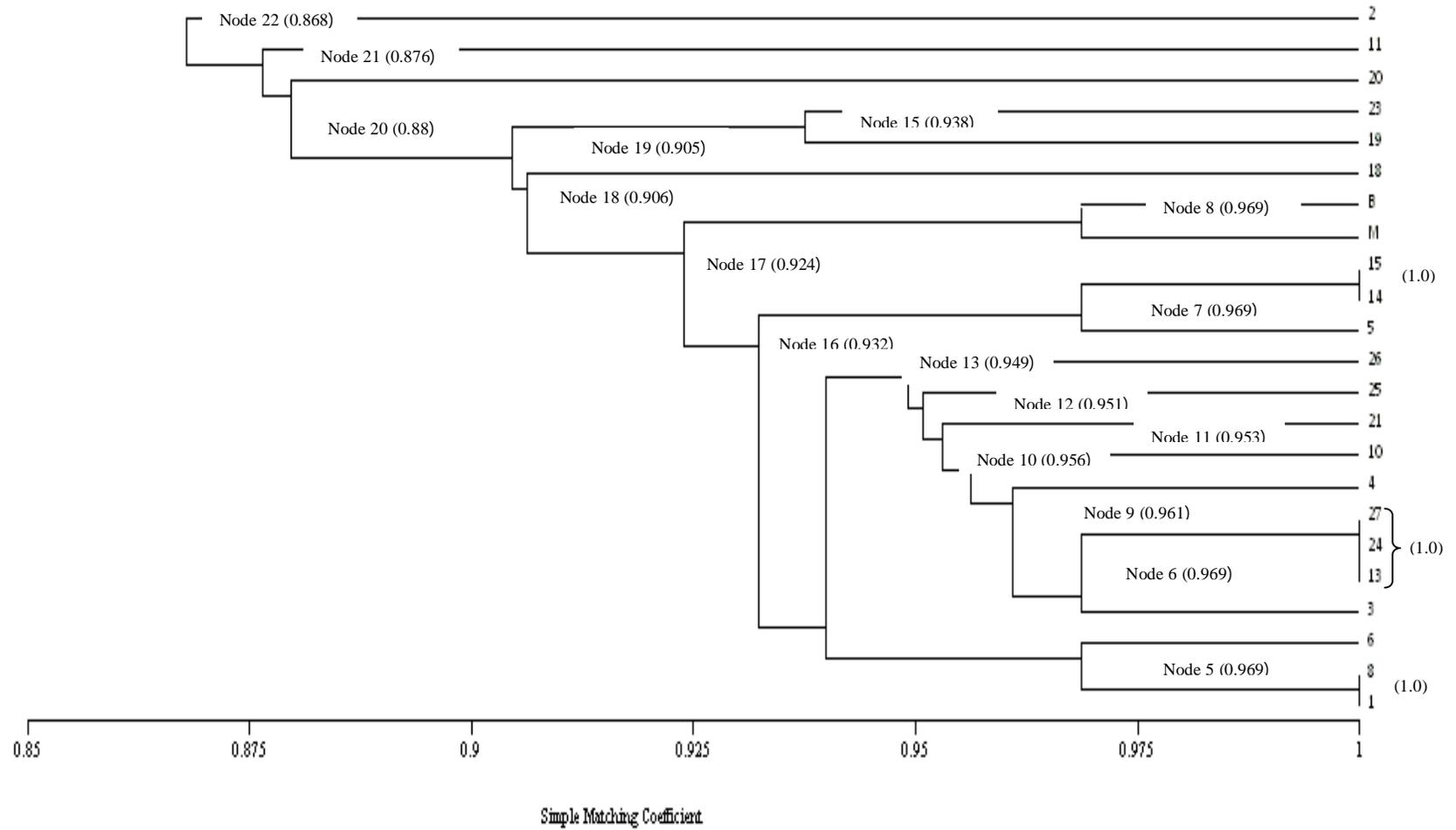


Gambar 11. Dendrogram Dari Analisis Isozim Peroksidase

4.1.5. Analisa Dendogram Dari Analisis Isozim Esterase

Dendogram dari analisis isozim esterase (Gambar 12) dan analisis pengelompokannya (Lampiran 10) menunjukkan bahwa terdapat 3 kelompok yang identik dengan nilai kesamaan 1 yaitu pada sampel nomor 1 yang identik dengan sampel nomor 8 (node 1), sampel nomor 13 identik dengan sampel nomor 24 (node 2) dan 27 (node 3) serta sampel nomor 14 identik dengan sampel nomor 15 (node 4). Sampel nomor 1 dan 8 bertemu dengan sampel nomor 6 pada nilai kesamaan 0.969 (node 5). Nilai kesamaan 0.969 juga mempertemukan antara sampel nomor 3 dengan node 3 yang beranggotakan sampel nomor 13, 24 dan 27 (node 6); sampel nomor 5 dengan node 4 dan sampel M (varietas Monthong) dengan sampel B (varietas Bido). Sampel yang terdapat dalam node 6 bertemu dengan sampel nomor 4 pada nilai kesamaan 0.961 (node 9) dan bertemu dengan sampel nomor 10 dengan nilai kesamaan 0.956 (node 10). Node 10 bertemu dengan sampel nomor 21 pada nilai kesamaan 0.953 (node 11) dan bertemu dengan sampel nomor 25 pada nilai kesamaan 0.951 (node 12). Node 12 bertemu dengan sampel nomor 26 pada nilai kesamaan 0.949 (node 13).

Sampel pada node 5 (1, 8, 6) bertemu dengan sampel nomor 3, 24, 27, 4, 10, 21, 25 dan 26 pada nilai kesamaan 0.94 (node 14). Sampel nomor 19 bertemu dengan sampel nomor 23 pada nilai kesamaan 0.938 (node 15). Sampel yang terdapat dalam node 14 bertemu dengan sampel dalam node 7 (5, 14, 15) pada nilai kesamaan 0.932 (node 16). Sampel dalam node 16 bertemu dengan sampel dalam node 8 (sampel M dan B) pada nilai kesamaan 0.924 (node 17). Sampel-sampel yang terdapat dalam node 17 bila dibandingkan dengan sampel nomor 18 maka bertemu pada nilai kesamaan 0.906 (node 18). Sampel dalam node 18 bila dibandingkan dengan sampel dalam node 15 maka bertemu pada nilai kesamaan 0.906 (node 19) dan bertemu dengan sampel nomor 20 pada nilai kesamaan 0.88 (node 20). Sampel dalam node 20 bertemu dengan sampel nomor 11 pada nilai kesamaan 0.876 (node 21) dan bertemu dengan sampel nomor 2 pada nilai kesamaan 0.868 (node 22).



Gambar 12. Dendrogram Dari Analisis Isozim Esterase

4.2 Pembahasan

Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa isozim peroksidase (Gambar 6) memiliki kenampakan pita yang sangat jelas dan dapat divisualisasikan dengan baik sehingga memungkinkan untuk dilakukan interpretasi genetik. Sedangkan pada hasil elektroforesis isozim esterase (Gambar 7) divisualisasikan cukup jelas namun memiliki kenampakan pita yang sangat tipis. Hasil analisis isozim yang dilakukan pada 21 sampel yang diuji menunjukkan adanya pola pita yang berbeda menurut sistem enzimnya seperti yang diungkapkan oleh Dewatisari *et al.* (2008) bahwa berbagai jaringan yang berbeda dapat mengandung isozim yang berbeda dan semua isozim tersebut mempunyai afinitas terhadap substrat yang berbeda pula. Dalam analisis isozim menggunakan teknik elektroforesis, migrasi molekul-molekul enzim (R_f) dipengaruhi oleh berat molekul yang termigrasi dan kekuatan ionik dari molekul tersebut.

Zimogram peroksidase menunjukkan adanya perbedaan pada jarak migrasi pita dan ukuran pitanya, demikian pula pada zimogram esterase. Hal ini terjadi karena ukuran pita isozim dipengaruhi oleh berat molekul yang termigrasi dan berakibat pada tebal atau tipisnya ukuran pita yang tampak pada gel hasil elektroforesis. Semakin besar berat molekul enzim yang termigrasi pada saat berlangsungnya elektroforesis maka molekul tersebut tidak dapat terpisah dengan baik sehingga membentuk kenampakan pita yang tebal sebaliknya apabila semakin kecil berat molekul enzim yang termigrasi maka akan dapat terpisah dengan baik sehingga membentuk kenampakan pita yang tipis pada gel hasil elektroforesis. Jarak migrasi pada pita sangat dipengaruhi oleh kekuatan ionik dari molekul yang termigrasi tersebut. Apabila kekuatan ionik yang dimiliki molekul tersebut besar, maka akan semakin jauh jarak migrasinya sebaliknya bila kekuatan ionik molekulnya rendah maka jarak migrasinya akan dekat. Hal ini sesuai dengan Cahyarini *et al.* (2004) yang mengatakan bahwa molekul yang mempunyai kekuatan ionik besar akan termigrasi lebih jauh daripada molekul yang memiliki kekuatan ionik lebih rendah.

Pola pita isozim mencerminkan komponen protein yang menyusun enzim. Pola pita hasil elektroforesis pada isozim peroksidase dan isozim esterase

memiliki perbedaan. Hal ini sesuai dengan Rahmawati *et al.* (2010) yang menyatakan bahwa perbedaan isozim akan menghasilkan kecepatan gerak (kecepatan migrasi molekul) yang tidak sama bila dikondisikan dalam medan listrik dan medium gel yang semi porous sehingga setiap enzim yang berbeda akan menyebabkan pola pita atau banding pattern yang berbeda pula. Kedua isozim tersebut juga menghasilkan pola pita yang polimorfis yang berarti bahwa dapat diinterpretasikan sebagai susunan genetik karena enzim yang tersusun dari asam amino merupakan produk langsung dari gen. Polimorfisme pola pita isozim yang dihasilkan pada kedua isozim juga menunjukkan genotip-genotip yang diuji mempunyai variabilitas genetik (Yugi R. dan Darjanto, 2010).

Tingkat kemiripan pita pada analisis isozim didapatkan pada dendogram yang dibuat dari data biner (Lampiran 7 dan 8) berdasarkan zimogram isozim yang diuji. Menurut Micales dan Bonde *dalam* Hardiyanto (2008) nilai similaritas berkisar antara 0 - 1,0 dan hubungan kekerabatan semakin dekat apabila nilai similaritasnya semakin mendekati 1,0. Menurut Cahyarini *et al.* (2004) dua varietas atau lebih dapat dikatakan mirip apabila jarak kemiripannya atau tingkat similaritasnya tidak kurang dari 0,60 atau 60%. Pada dendogram peroksidase (Gambar 11) 21 sampel durian yang diuji terkelompok menjadi 2 kelompok besar pada tingkat kemiripan 60% antara durian Bido (sampel B) dan sampel nomor 27 (kelompok pertama) dengan sampel durian lainnya dalam kelompok kedua. Pada kelompok kedua terdapat 4 sub kelompok yang dikatakan identik karena memiliki nilai similaritas 1,0 atau tingkat kemiripan 100%. Keidentikan pada setiap kelompok tersebut dapat dilihat dari pola pita isozimnya yang juga memiliki kesamaan.

Pada dendogram esterase (Gambar 12) sampel durian yang diuji terkelompok menjadi 2 kelompok besar antara sampel nomor 2 dengan sampel durian lainnya pada tingkat kemiripan 86%. Berdasarkan zimogramnya, sampel nomor 2 memang memiliki pola pita yang berbeda dibandingkan dengan sampel lainnya. Sedangkan pada kelompok kedua terdapat 3 sub kelompok yang identik, keidentikan ini juga didukung oleh adanya kesamaan pada pola pita isozimnya. Hubungan pola pita dengan tingkat kemiripan atau keidentikan ini juga diungkapkan oleh Widiyanti *et al.* (2008) dalam penelitiannya setelah dilakukan

analisis isozim varietas padi rojolele tetap memiliki pola pita yang sama walaupun berasal dari lokasi penanaman yang berbeda. Hal ini juga berkaitan dengan karakter isozim, isozim dapat digunakan sebagai salah satu alternatif untuk mengklasifikasi dan mengkarakterisasi koleksi plasma nutfah karena sifatnya yang relatif stabil terhadap lingkungan dan umumnya polimorfik (Dewatisari *et al.*, 2008).

Pengamatan morfologi memang perlu dilakukan untuk menunjang pengidentifikasian suatu tanaman. Pengamatan morfologi dapat dilakukan pada daun, batang, akar, bentuk tajuk dan pada semua bagian tanaman yang tampak. Pengamatan morfologi daun yang dilakukan pada 21 sampel tanaman durian meliputi pengamatan kualitatif (warna daun dan bentuk daun) dan pengamatan kuantitatif (panjang daun, lebar daun dan ratio panjang lebar daun) (Tabel 3). Dari hasil pengamatan tersebut warna daun, bentuk daun serta ratio panjang lebar daun pada 21 sampel yang diuji tidak menunjukkan perbedaan. Dari 21 sampel yang diuji terdapat 69% daun yang memiliki warna daun hijau (141 B*) pada bagian atas daun dan berwarna coklat (148 C*) pada bagian bawah daunnya. Demikian pula yang terjadi pada panjang dan lebar daun, rata-rata panjang dan lebar daun pada setiap sampel yang diuji tidak berbeda bahkan bila dilihat pada ratio panjang lebar daunnya 100% dari 21 sampel yang diuji tersebut memiliki ratio panjang lebar daun yang sama yaitu 3.

Tanaman cenderung memiliki kemampuan beradaptasi dengan lingkungan tempat tumbuhnya, inilah yang mempunyai pengaruh sangat besar pada pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Namun tidak menutup kemungkinan apabila faktor genetik dari tanaman tersebut sangat kuat maka pada lingkungan yang berbedapun tidak akan menampakkan perbedaan morfologi dengan daerah asalnya. Hal ini diungkapkan juga oleh Sitompul dan Guritno (1995) dalam Rahmawati *et al.* (2010) bahwa penampilan bentuk tanaman dikendalikan oleh sifat genetik tanaman dibawah pengaruh faktor-faktor lingkungan. Fenotip pada individu merupakan interaksi antara genotip dan lingkungan. Faktor lingkungan diyakini dapat mempengaruhi terjadinya perubahan morfologi tanaman (Cahyarini *et al.*, 2004). Faktor lingkungan yang berpengaruh meliputi suhu, jenis tanah, curah hujan, intensitas penyinaran matahari dan cara pembudidayaannya.

Dalam penelitian ini faktor lingkungan menyebabkan tidak adanya perbedaan morfologi daun yang meliputi warna, bentuk dan ratio panjang lebar daun pada sampel yang diuji, karena sampel tanaman masih berada pada satu lokasi wilayah yang sama yaitu berada pada satu kecamatan Wonosalam yang mana perbedaan kondisi lingkungan tempat tumbuh setiap sampel tidak berbeda jauh. Sehingga perbedaan genetik pada 21 sampel tanaman durian yang diuji tidak dapat terlihat hanya dengan melakukan pengamatan pada morfologi tanaman terutama pada morfologi daun dikarenakan adanya faktor lingkungan yang sangat dominan.

Menurut Kartikaningrum *et al.*, (2003) yang melakukan analisis genetik pada sejumlah genotip anggrek, hubungan kekerabatan antara dua individu atau populasi dapat diukur berdasarkan kemiripan sejumlah karakter dengan asumsi bahwa karakter-karakter yang berbeda tersebut disebabkan oleh adanya perbedaan susunan genetik. Dari hasil dendogram peroksidase (Gambar 11) dan dendogram esterase (Gambar 12), durian Bido (sampel B) memiliki kemiripan pada nomor sampel yang berbeda. Pada dendogram peroksidase diketahui bahwa sampel nomor 27 hanya mempunyai nilai similaritas atau tingkat kemiripan sebesar 0.66 atau 66% dengan durian Bido. Walaupun berdasarkan nilai similaritasnya, sampel nomor 27 telah dapat dikatakan mirip dengan durian Bido tetapi diduga kemiripan ini hanya ada pada suatu karakter tertentu saja sehingga tidak secara spesifik menunjukkan karakter genetik durian yang sama dengan durian Bido. Hal ini terlihat dari pola pita isozim keduanya, durian Bido memiliki jumlah 3 pita sedangkan sampel nomor 27 memiliki jumlah 4 pita dan kemiripan karakter antara sampel nomor 27 dengan durian Bido terlihat dari tampaknya pita yang ada pada jarak migrasi 0.64 dan 0.84 saja.

Dari dendogram esterase didapatkan bahwa durian Monthong (sampel M) memiliki kemiripan atau berkerabat dekat dengan durian Bido pada nilai similaritas atau tingkat kemiripan 0.96 (96%). Hal ini terjadi diduga karena durian Monthong yang merupakan varietas introduksi dari Thailand mengalami plastisitas dalam responnya terhadap lingkungan (Indonesia). Seperti halnya yang diungkapkan oleh Rahmawati *et al.* (2010) dalam penelitiannya bahwa pola pita isozim buah naga supermerah yang ditanam di Sukoharjo mengalami perbedaan dari buah naga supermerah yang ditanam di Pasuruan yang merupakan daerah

pertama buah naga tersebut ditaman. Hal ini diduga karena buah naga dari Sukoharjo mengalami plastisitas dalam responnya terhadap lingkungan. Terlebih seperti yang dinyatakan oleh Hadiati dan Sukmadjaja (2002) bahwa aktivitas enzim esterase dipengaruhi oleh lingkungan yang dominan seperti panas, suhu dan pH.

Selain itu durian Bido juga berkerabat dekat dengan beberapa sampel pada dua sub kelompok dengan nilai similaritas 0.92 (92%) yaitu sub kelompok pertama yang terdiri dari sampel nomor 5, 14, 15 dan sub kelompok kedua yang terdiri dari sampel nomor 1, 3, 4, 6, 8, 10, 13, 21, 24, 25, 26, 27. Hal ini terlihat juga dari zimogramnya yang memiliki beberapa pita yang sama pada jarak migrasinya. Namun dilihat dari pola pitanya dua sub kelompok tersebut, yang memiliki hubungan kekerabatan terdekat dengan durian Bido adalah sampel nomor 5, 21 dan 25 dikarenakan pita-pita yang ada pada pola pitanya tidak jauh berbeda dengan pola pita durian Bido. Dengan nilai similaritas yang tinggi (92%) sampel nomor 5, 21 dan 25 diduga memiliki beberapa karakter yang juga dimiliki oleh durian Bido namun hal ini masih diperlukan penelitian lebih lanjut karena dalam analisis isozim dengan teknik elektroforesis tidak semua perubahan asam amino enzim menyebabkan perubahan pada muatan elektrik dan bentuk molekul atau dapat dikatakan bahwa dua molekul dengan perbedaan yang tipis akan masih mengalami migrasi pada titik yang bersinggungan pada gel dan dalam keadaan tersebut akan tetap dinilai sama meskipun kenyataannya berbeda (Widiyanti *et al.*, 2008).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Analisis isozim peroksidase dan esterase dapat digunakan untuk identifikasi genetik pada tanaman durian karena kedua sistem enzim ini bersifat polimorfik yang ditunjukkan dengan terbentuknya beberapa macam pola pita pada masing-masing sistem enzim.
2. Berdasarkan hasil analisis isozim tidak terdapat durian varietas Bido pada 21 sampel yang diuji, sedangkan 6 sampel yang lain (sampel nomor 7, 9, 12, 16, 17 dan 22) tidak dapat diuji.
3. Berdasarkan pada analisis isozim peroksidase sampel nomor 27 memiliki tingkat kemiripan tertinggi (66%) dengan durian varietas Bido, sedangkan berdasarkan analisis isozim esterase sampel nomor 5, 21 dan 25 memiliki tingkat kemiripan tertinggi dengan durian varietas Bido (92 %)
4. Berdasarkan pengamatan morfologi daun tidak terdapat perbedaan antara morfologi daun dari pohon induk tunggal durian Bido dengan 21 jenis durian mirip Bido.

5.2. Saran

Untuk pengembangan tanaman durian varietas Bido kedepannya yang dapat dilakukan adalah :

1. Memelihara sisa potongan pohon induk tunggal durian varietas Bido yang masih ada, untuk selanjutnya dapat dilakukan upaya perbanyakan secara grafting sehingga dapat dijadikan sebagai pohon induk tunggal.
2. Mengadakan uji ulang dengan menggunakan metode lain seperti analisis DNA pada 21 jenis durian yang diuji guna menentukan durian varietas Bido yang baru.



DAFTAR PUSTAKA

- Acquah, G. 1992. Practical protein electrophoresis for genetic research. Dioscorides Press. Portland Oregon. p 127
- Anonymous. 2012a. Durian Research Centre Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. <http://drc.fp.ub.ac.id>. pp 17. Diakses tanggal 4 Mei 2012
- Anonymous. 2012b. Produk Unggulan Sektor Pertanian Kabupaten Jombang. <http://www.jombangkab.go.id>. pp 1. Diakses tanggal 10 Juni 2012
- Ashari, S. 2004. Biologi Reproduksi Tanaman buah-Buahan Komersial. Bayumedia. Malang. p 83-91
- Ashari, S. dan S. Wahyuni. 2012. Kajian Biologi Reproduksi Tanaman Durian (*Durio zibethinus*, Murray). 7 pp
http://drc.fp.ub.ac.id/doc/kajian_biologi_reproduksi_durian.pdf
- Bansir, L. 2011. Pengembangan Potensi Durian (*Durio zibethinus* L.) Lokal: Eksplorasi, Identifikasi Persilangan dan Perbanyakkan Vegetatif. Disertasi. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.
<http://drc.fp.ub.ac.id/index.php/dokumen/skripsi-mahasiswa>
- Cahyarini, R.D., A. Yunus dan E. Purwanto. 2004. Identifikasi Keragaman Genetik Beberapa Varietas Lokal Kedelai di Jawa Berdasarkan Analisis Isozim. Agrosains 6 (2): 79-83
- Dewatisari, W.F., Suranto dan P. Setyono. 2008. Keanekaragaman Beberapa Varietas *sansevieria trifasciata* Berdasarkan Karakter Anatomi, Isozim Dan Kandungan Saponin. Jurnal Bioteknologi 5 (2): 56-62
- Fatchiyah, EL., S.W. Arumingtyas dan S. Rahayu. 2011. Biologi Molekular : Prinsip Dasar Analisis. Erlangga. Jakarta. p 149-167
- Hadiati, S. dan D. Sukmadjaja. 2002. Keragaman Pola Pita Aksesori Nenas Berdasarkan Analisis isozim. Jurnal Bioteknologi Pertanian 7 (2): 62-70
- Hardyanto, N. F., Devy dan C. Martasari. 2008. Identifikasi Kekerbatan Genetik Klon-klon Bawang Putih Indonesia Menggunakan Isozim Dan RAPD. Jurnal Hortikultura 18 (4): 385-394

- Indrioko, S. 2000 Pola Berkas Isozim Pada *G. melina arborea Roxb* Dengan Berbagai Macam Buffer Ekstrak dan Sistem Enzim. pp 275-278. Dalam kumpulan makalah Seminar Nasional Status Silvikultur: Peluang dan Tantangan Menuju Produktivitas dan Kelestarian Sumberdaya Hutan Jangka Panjang. Fakultas Kehutanan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. pp 275-278
- Kartikaningrum, S., N. Hermiati, A. Baihaki, M.H. Karmana dan Toruan- Mathius. 2003. Kekerabatan 13 Genotipe Anggrek Subtribe Sarcanthinae Berdasarkan Morfologi Dan Pola Pita DNA. Jurnal Hortikultura 13 (1): 7-15
- Lakitan, B. 2007. Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta. p 91-103
- Leaflet Dinas Pertanian Kabupaten Jombang. 2010. Produk Unggulan Kabupaten Jombang. Jombang. 1 pp
- Lisdiyanti, P. dan N.S. Hartati. 1997. Studi Keragaman Genetik Tanaman Kehutanan Melalui Analisis Isozim. Warta Biotek XI (1-2): 1-3
- Mangoendidjojo, W. 2003. Dasar-Dasar Pemuliaan Tanaman. Kanisius. Yogyakarta. p 20-30
- Rahmawati, B., Suranto dan E. Mahajoeno. 2010. Studi Variasi Morfologi Dan Pola Pita Isozim Pada Varietas Buah Naga (*Hylocereus sp.*). Seminar Nasional Pendidikan Biologi FKIP UNS
- Rakhman, M. A., 2006. Keragaman Tanaman Pamelon (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) Di Kabupaten Magetan Berdasarkan Morfologi Dan Analisis Isozim. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang. pp 77
- Sigh, R. P. and U. S. Sigh. 1995. Molecular Methods in Plant Pathology. CRC Press. United States of America. p 115-130
- Suketi, K. 1994. Studi Karakterisasi Bibit Durian Melalui Analisis Isozim. Tesis. Fakultas Pertanian. Insitut Pertanian Bogor. Bogor
<http://web.ipb.ac.id/~lppm>
- Sulistiyowati, E., Sulistiyowati, S. Rustini, S. Sumartini dan Abdurrakhman. 2009. Varias Genetik Beberapa Spesies Kapas (*Gossypium sp.*) Berdasarkan Keragaman Pola Pita Isozim. Jurnal Littri 5 (4): 174-183

- Surat Keputusan Menteri Pertanian Nomor: 340/kpts/SR.120/5/2006. 2006. Pelepasan Durian Bido Wonosalam Sebagai Varietas Unggul. Jakarta.
- Suryo. 2005. Genetika Strata1. Universitas Gadjah Mada Press. Yogyakarta. p 97-115
- Tjitrosomo, S. S. 1983. Botani Umum 1. Angkasa. Bandung. p 168-186
- Toha, A. H. A. 2001. Biokimia : Metabolisme Biomolekul. Alfabeta. Bandung. p 11-19
- Trisnaningrum, N. 2005. Keragaman Beberapa Varietas Lokal Bawang Putih (*Allium sativum*, L) Berdasarkan Morfologi Dan Analisis Isozim. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang. pp 56
- Wendel, J.F. and N.F. Weeden. 1989. Visualization And Interpretation Of Plant Isozymes In Plant Biology. In D.E.Soltis and P.S. Soltis. Isozymes in Plant Biology Volume 4. Dioscorides Press. Portland, Oregon. p 5-45
- Widiyanti, Suranto dan Sugiyarto. 2008. Studi Variasi Morfologi Biji, Serbuk Sari dan Pola Pita Isozim Padi (*Oryza sativa*) Varietas Rojolele. Jurnal Bioteknologi 5 (1): 18-25
- Yugi R., Ahadiyat dan Darjanto. 2010. Upaya Pemurnian Varietas Kedelei Dengan Seleksi Massa Berdasarkan Karakter Morfologi Dan Analisis Isozim. Jurnal Agrosains 12 (1): 14-18
- Yunus, A.. 2007. Identifikasi Keragaman Genetik Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) di Jawa Tengah Berdasarkan Penanda Isoenzim. Biodiversitas 8 (3): 249-252

KEPUTUSAN MENTERI PERTANIAN
NOMOR: 340/Kpts/SR.120/5/2006

TENTANG

PELEPASAN DURIAN BIDO WONOSALAM
SEBAGAI VARIETAS UNGGUL

DENGAN RAHMAT TUHAN YANG MAHA ESA

MENTERI PERTANIAN,

- Menimbang : a. bahwa dalam rangka meningkatkan produksi durian, varietas unggul mempunyai peranan penting;
- b. bahwa durian Bido Wonosalam memiliki keunggulan daging buah cukup tebal dan berwarna kuning dengan rasa manis dan pulen, waktu panen tiga kali dalam satu tahun, beradaptasi dengan baik di dataran rendah sampai tinggi;
- c. bahwa berdasarkan hal tersebut di atas, dipandang perlu untuk melepas durian Bido Wonosalam;
- Mengingat : 1. Undang-Undang Nomor 12 Tahun 1992 tentang Sistem Budidaya Tanaman (Lembaran Negara Tahun 1992 Nomor 46, Tambahan Lembaran Negara Nomor 3478);
2. Peraturan Pemerintah Nomor 44 Tahun 1995 tentang Perbenihan Tanaman (Lembaran Negara Tahun 1995 Nomor 85, Tambahan Lembaran Negara Nomor 3616);
3. Keputusan Presiden Nomor 27 Tahun 1971 tentang Badan Benih Nasional ;
4. Keputusan Presiden Nomor 187/M Tahun 2004 tentang Pembentukan Kabinet Indonesia Bersatu;
5. Peraturan Presiden Nomor 9 Tahun 2005 tentang Kedudukan, Tugas, Fungsi, Susunan Organisasi dan Tata Kerja Kementrian Negara Republik Indonesia;

6. Peraturan Presiden Nomor 10 Tahun 2005 tentang Unit Organisasi dan Tugas Eselon I Kementrian Negara Republik Indonesia;
7. Surat Keputusan Menteri Pertanian Nomor 461/Kpts/Org/11/1971 tentang Kelengkapan Susunan Organisasi, Perincian Tugas dan Tata Kerja Badan Benih Nasional;
8. Keputusan Menteri Pertanian Nomor 902/-Kpts/KP.240/12/1996 jo Keputusan Menteri Pertanian Nomor 737/Kpts/TP.240/9/1998 tentang Pengujian, Penilaian dan Pelepasan Varietas;
9. Keputusan Menteri Pertanian Nomor 01/Kpts/OT.210/2/2001 jis Keputusan Menteri Pertanian Nomor 354.1/Kpts/OT.210/6/2001, Keputusan Menteri Pertanian Nomor 354/Kpts/OT.210/6/2003 dan Keputusan Menteri Pertanian Nomor 257/Kpts/OT.140/4/2004 tentang Organisasi dan Tata Kerja Departemen Pertanian;
10. Keputusan Menteri Pertanian Nomor 99/Kpts/OT.210/2/2001 jis Keputusan Menteri Pertanian Nomor 392/Kpts/OT.210/7/2001, Keputusan Menteri Pertanian 355/Kpts/-OT.210/6/2003 dan Keputusan Menteri Pertanian Nomor 258/Kpts/OT.140/4/2004 tentang Kelengkapan Susunan Organisasi dan Tata Kerja Departemen Pertanian;
11. Keputusan Menteri Pertanian Nomor 388/Kpts/OT.160/6/2004 tentang Tim Penilai dan Pelepas Varietas;
12. Keputusan Menteri Pertanian Nomor 363/Kpts/Kp.430/6/2001 jo Keputusan Menteri Pertanian Nomor 393/Kpts/Kp.150/6/2002 tentang Susunan Pimpinan dan Keanggotaan Badan Benih Nasional;

Memperhatikan : Surat Badan Benih Nasional Nomor 024/BBN/IV/2006 tanggal 12 April 2006

MEMUTUSKAN

Menetapkan :

- KESATU : Melepas durian Bido Wonosalam sebagai varietas unggul.
- KEDUA : Deskripsi durian varietas Bido Wonosalam seperti tercantum pada Lampiran Keputusan ini.
- KETIGA : Keputusan ini mulai berlaku pada tanggal ditetapkan.

Ditetapkan di Jakarta
Pada tanggal 4 Mei 2006

MENTERI PERTANIAN,
ttd
ANTON APRIYANTONO

SALINAN Keputusan ini disampaikan
Kepada Yth.:

1. Menteri Koordinator Bidang Perekonomian;
2. Menteri Dalam Negeri;
3. Menteri Negara Riset dan Teknologi /Ketua BPPT;
4. Kepala Badan Pengawasan Keuangan dan Pembangunan;
5. Kepala Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia;
6. Direktur Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional
7. Pimpinan Unit Kerja Eselon I di lingkungan Departemen Pertanian;
8. Gubernur Kepala Daerah Tingkat I di seluruh Indonesia;
9. Dinas Pertanian Propinsi Jawa Timur , BPSBTPH Propinsi Jawa Timur, Pemerintah Daerah Kabupaten Jombang;
Dinas Pertanian dan Ketahanan Pangan Kabupaten Jombang.

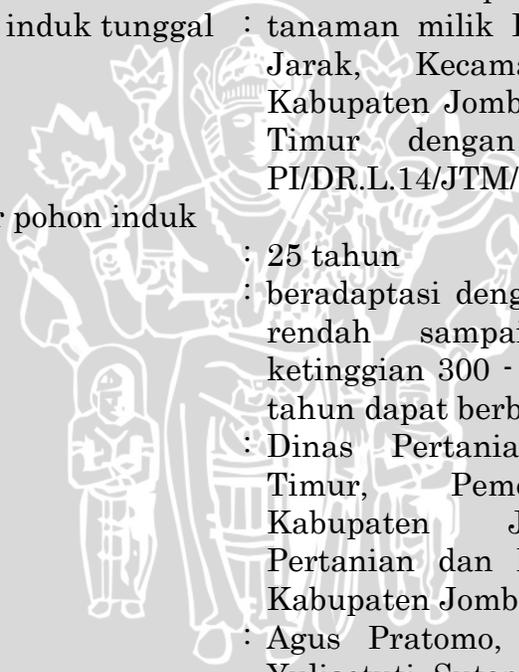
LAMPIRAN KEPUTUSAN MENTERI PERTANIAN

NOMOR : 340/Kpts/SR.120/5/2006

TANGGAL : 4 Mei 2006

DESKRIPSI DURIAN VARIETAS BIRO WONOSALAM

Asal	: Desa Jarak, Kecamatan Wonosalam, Kabupaten Jombang, Propinsi Jawa Timur.
Silsilah	: Seleksi pohon induk
Golongan varietas	: klon
Warna batang	: kecoklatan
Bentuk batang	: silindris
Warna daun bagian atas	: hijau
Permukaan daun bagian atas	: halus
Warna daun bagian bawah	: coklat agak ungu muda
Permukaan daun bagian bawah	: halus
Bentuk daun	: eliptik agak panjang
Ukuran daun	: panjang 10,8 – 12,5 cm, lebar 3,5 – 5,0 cm
Tepi daun	: rata
Ujung daun	: lancip
Panjang tangkai daun	: 3,2 – 3,7 cm
Warna mahkota bunga	: putih
Warna benangsari	: putih kekuningan
Warna kelopak bunga	: hijau muda
Bentuk bunga	: bulat
Jumlah bunga per tandan	: 1 – 10 bunga
Warna kulit buah masak	: hijau kekuningan
Bentuk buah	: bulat kerucut agak lonjong
Ukuran buah	: tinggi 18,1 – 19,7 cm, diameter 15,4 – 17,8 cm
Warna daging buah	: kuning
Ketebalan daging buah	: 0,9 – 1,3 cm
Rasa daging buah	: manis pulen, agak pahit jika terlalu tua
Aroma buah	: sedang
Kandungan gula	: 15,3 %
Bentuk biji	: lonjong
Warna biji	: coklat muda kekuningan
Jumlah biji normal per buah	: 7 – 17 biji
Ukuran biji normal	: panjang 4,2 – 4,7 cm, diameter 1,9 – 2,3 cm



Jumlah biji kempes per buah	: 2 – 3 biji
Ukuran biji kempes	: panjang 1,1 – 1,2 cm, diameter 0,3 – 0,4 cm
Jumlah juring per buah	: 4 – 6 cm
Persentase buah yang dapat dimakan	: 22,8 – 23,7 %
Ketebalan kulit buah	: 0,9 – 1,0 cm
Duri buah	: kerucut , tajam
Kekerasan buah	: sedang
Panjang tangkai buah	: 4,3 - 4,8 cm
Berat per buah	: 1,8 – 2,8 kg
Jumlah buah per tandan	: 1 – 2 buah
Waktu berbunga	: Juli, September, Desember
Waktu panen	: Nopember - Desember, Januari - Pebruari, April – Mei.
Hasil	: 80 – 190 buah/pohon/tahun
Identitas pohon induk tunggal	: tanaman milik Bapak Sutopo Desa Jarak, Kecamatan Wonosalam, Kabupaten Jombang, Propinsi Jawa Timur dengan PIT nomor : PI/DR.L.14/JTM/2003
Perkiraan umur pohon induk tunggal	: 25 tahun
Keterangan	: beradaptasi dengan baik di dataran rendah sampai tinggi dengan ketinggian 300 - 950 m dpl, dalam 1 tahun dapat berbuah 3 kali
Pengusul	: Dinas Pertanian Propinsi Jawa Timur, Pemerintah Daerah Kabupaten Jombang, Dinas Pertanian dan Ketahanan Pangan Kabupaten Jombang,
Peneliti	: Agus Pratomo, Aswadi, Tjaturina Yuliasuti, Sutopo.

MENTERI PERTANIAN,
ttd
ANTON APRIYANTONO

Lampiran 2

**NAMA-NAMA 27 PETANI PEMILIK POHON DURIAN MIRIP
VARIETAS BIDO DI KECAMATAN WONOSALAM**

No	Nama	Alamat		UmurTanaman
		Dusun	Desa	
1	Purnomo	Galengdowo	Galengdowo	± 160 tahun
2	Siswoyo	Plumpung	Galengdowo	± 30 tahun
3	Wulyo	Plumpung	Galengdowo	± 120 tahun
4	Mulut	Wates	Galengdowo	± 90 tahun
5	Hery (Edi Rohais)	Wonomerto	Wonomerto	± 100 tahun
6	Tasirin	Gotehan	Wonomerto	±50 tahun
7	Bambang WH	Ganten	Wonomerto	± 40 tahun
8	H. darianto	Wonoasih	Wonomerto	± 50 tahun
9	Nursin	JarakTegal	Jarak	± 45 tahun
10	B. Win	JarakKrajan	Jarak	± 80 tahun
11	Miskan	JarakKrajan	Jarak	± 40 tahun
12	Kaseran	JarakKrajan	Jarak	± 50 tahun
13	Paiman	Sambirejo	Sambirejo	± 70 tahun
14	Wagiso	Sambirejo	Sambirejo	± 40 tahun
15	Yanto	Sambirejo	Sambirejo	± 100 tahun
16	Solikin	Komboh	Sambirejo	± 100 tahun
17	Gimin	Bangunrejo	Sambirejo	± 100 tahun
18	B. Sukad	Wonosalam	Wonosalam	± 120 tahun
19	Ngadiman	Notorejo	Wonosalam	± 80 tahun
20	Perhutani	Notorejo	Wonosalam	± 100 tahun
21	H. Salim	Mangirejo	Wonosalam	± 100 tahun
22	H. Mochid	Sumber	Wonosalam	± 100 tahun
23	Sutiyo	Wonosalam	Wonosalam	± 70 tahun
24	Siswaji	CarangWulung	CarangWulung	± 80 tahun
25	Sodek	Bangunrejo	CarangWulung	± 80 tahun
26	Wagisan	Mendiro	Panglungan	± 25 tahun
27	B. Sri	Dampak	Panglungan	± 60 tahun

Lampiran 3

Pohon Induk Tunggal Durian Bido Wonosalam Berdasarkan SK Menteri
Pertanian Nomor: 340/kpts/SR.120/5/2006



Lampiran 4

- **Buffer ekstrak dan larutan Reducing Sample Buffer (RSB)/ dye**

Larutan	Bahan	Jumlah
Buffer ekstrak	EDTA 0,01 M	0,4 ml (dari stock EDTA 0,5 M pH 8)
	(Asam Etilen Diamin Tetraasetat)	
	KCL 0,1 M	1 ml (dari stock KCL 2 M)
	MgCl₂.6H₂O 0,1 M	1 ml (dari stock MgCl₂ 2 M)
	PVP 40.000 (Polyvinyl pyrrolidone)	0,22 g(dari PVP 90000)
	BSA (Bovine serum albumin)	0.04 g
	Tris-Cl 0,1 M pH 7,5	1 ml (dari stock Tris-Cl 2 M pH 7,5)
	2-mercaptoetanol Aquades	20 µl
		(ditambahkan hingga volume mencapai 20ml)
RSB (Reducing Sample Buffer)	Tris-Cl 1 M pH 6,8	30µl
	Gliserol 50%	250 µl
	2-mercaptoetanol	25 µl
	Bromofenol biru	0,005 g
	Aquades	195 µl

- **Cara pembuatan**

Buffer ekstrak : Larutkan EDTA 0,01 M, KCL 0,1 M, MgCl₂.6H₂O 0,1 M, PVP 40.000, BSA dan Tris-Cl pH 7,5 dan 2-mercaptoetanol dengan aquades kemudian dihomogenkan menggunakan stirer.

Reducing Sample Buffer (RSB)/ dye : Masukkan Tris-Cl 1 M pH 6,8, Gliserol 50%, Bromofenol biru, dan 2-mercaptoetanol dalam sebuah tube ukuran 1,5 ml yang telah dilapisi alumunium foil pada bagian luarnya. Kemudian larutkan dengan aquades lalu dihomogenkan dengan menggunakan pipet atau dengan cara divortex .

Lampiran 5

- Separating gel, stacking gel dan buffer elektrolit

Bahan	Bahan Penyusun	Volume/ Berat
Stok akrilamida 30% 50 ml	Akrilamida	14,6 g
	Bis-akrilamida	0,4 g
	Aquades	sampai 50 ml
Separating gel 7%	Aquades	6000 μ l
	Akrilamida 30%	2840 μ l
	1M Tris pH 8,8	3000 μ l
	APS 10%(Ammonium persulphat)	60 μ l
Stacking gel 5%	TEMED(Tetramethylethyl-enediamine)	6 μ l
	Aquades	3600 μ l
	Akrilamida 30%	840 μ l
	1M Tris pH 6,8	1500 μ l
	APS 10%	60 μ l
Buffer elektrolit / Running buffer pH 8,3	TEMED	6 μ l
	Trisma-Base	0,75 g
	Glisin	1,8 g
	Aquades	Sampai 1L

- Cara pembuatan

Stok akrilamida 30% : Campurkan semua bahan kemudian dihomogenkan dengan menggunakan stirer.

Separating gel 7% : Aquades, Akrilamida 30%, Tris-HCL pH 8,8 dan APS 10% dihomogenkan dalam tube. Selanjutnya ditambahkan TEMED dan dihomogenkan lagi. Setelah di homogenkan larutan dituang pada plate (cetakan) hingga garis batasnya dan permukaannya diberi aquades agar permukaan gel tersebut merata. Plate berisi larutan dibiarkan hingga gel membeku lalu sisa aquades dibuang.

Stacking gel 5% : Aquades, Akrilamida 30%, Tris-HCL pH 6,8 dan APS 10% dihomogenkan dalam tube. Selanjutnya ditambahkan TEMED dan dihomogenkan lagi.

Bufur elektrolit pH 8,3: Trisma-Base dan Glisin dilarutkan dalam aquades, lalu dilakukan uji pH 8,3. Selanjutnya aquades ditambahkan sampai volume 1L.

Lampiran 6

- **Pembuatan larutan pewarna enzim esterase**

Bahan	Jumlah
Na-phosfat pH 6,0	50 ml
α -naphtyl asetat	0,025 g
β - naphtyl asetat	0,025 g
Garam Fast Blue BB	0,05 g
Aseton	750 μ l

Larutkan masing-masing α - naphtyl asetat, β - naphtyl asetat dan garam Fast Blue BB dengan 250 μ l aseton dingin dalam tube 1,5 ml yang telah dilapisi aluminium foil pada bagian luarnya dengan cara divortex, lalu Na-fosfat pH 6,0 ditambahkan. Semua bahan kemudian dimasukkan dalam gelas ukur yang telah dilapisi aluminium foil pada bagian luarnya lalu dilarutkan dengan menggunakan stirer sampai menjadi homogen.

- **Pembuatan larutan pewarna enzim peroksidase**

Bahan	Jumlah
50 mM Na-acetate buffer pH 5,0	50 ml
1M CaCl ₂	1 ml
Hydrogen peroxide 3%	250 μ l
3-Amino-9-ethylcarbazole	0,025 g
N,N-Dimethylformamide	2 ml

Larutkan 3-Amino-9-ethylcarbazole dalam N,N-Dimethylformamide dalam gelas ukur yang telah di lapisi aluminium foil pada bagian luarnya. Kemudian tambahkan CaCl₂, 50 mM Na-acetate buffer pH 5,0 dan Hydrogen peroxide 3%. Semua bahan lalu dihomogenkan dengan menggunakan stirer.

- **Pembuatan larutan Destaining**

Bahan	Jumlah
Gliserol	20 ml (dari Gliserol 50%)
Aquades	Sampai 100 ml

Larutkan gliserol dengan aquades sampai menjadi homogen.

Lampiran 7

Data biner dari analisis isozim menggunakan pewarna peroksidase

Enzim Sampel	P1 (0.52)	P2 (0.53)	P3 (0.60)	P4 (0.61)	P5 (0.61)	P6 (0.61)	P7 (0.61)	P8 (0.61)	P9 (0.61)
1	0	0	1	0	0	1	0	0	0
2	1	0	0	0	1	1	0	0	0
3	0	0	0	1	1	1	0	0	0
4	0	0	0	0	0	1	0	0	0
5	0	0	0	0	1	1	0	0	0
6	0	0	0	0	1	1	0	0	0
8	0	0	0	0	1	0	0	0	0
10	0	0	0	0	1	0	0	0	0
11	0	0	0	1	0	1	0	0	0
13	0	0	0	0	1	0	0	0	0
14	0	0	0	0	1	0	0	0	0
15	0	0	0	0	1	0	0	0	0
18	0	0	0	1	0	1	0	0	0
19	0	0	0	0	1	1	0	0	0
20	0	0	0	0	1	0	0	0	0
21	0	0	0	0	1	1	0	0	0
23	0	1	0	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	1	0	0	0	0
25	0	0	0	0	1	0	0	0	0
26	0	0	0	1	1	1	0	0	0
27	0	0	0	1	1	0	1	1	0
M	0	1	0	1	0	1	0	0	0
B	0	0	0	0	1	0	1	0	1

Lampiran 8. Data Biner Dari Analisis Isozim Menggunakan Pewarna Enzim Esterase

Sampel/Enzim	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13	E14	E15	E16
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
6	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Sampel/Enzim	E17	E18	E19	E20	E21	E22	E23	E24	E25	E26	E27	E28	E29	E30	E31	E32
1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0
2	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
6	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
8	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
11	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

Sampel/Enzim	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13	E14	E15	E16
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
20	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Sampel/Enzim	E17	E18	E19	E20	E21	E22	E23	E24	E25	E26	E27	E28	E29	E30	E31	E32
15	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
18	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
21	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
23	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
25	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
26	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
27	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
M	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
B	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1



Lampiran 9

CLUSTER ANALISIS DENDOGRAM DARI ANALISIS ISOZIM PEROKSIDASE

Analysis begun: Thursday, April 18, 2013 10:42:17 AM

Analysing 9 variables x 23 cases

UPGMA

Simple Matching Coefficient

Node	Group 1	Group 2	Similaritas.	Objects in group
1	3	26	1	2
2	5	6	1	2
3	Node 2	19	1	3
4	Node 3	21	1	4
5	8	10	1	2
6	Node 5	13	1	3
7	Node 6	14	1	4
8	Node 7	15	1	5
9	Node 8	20	1	6
10	Node 9	24	1	7
11	Node 10	25	1	8
12	11	18	1	2
13	1	4	0,889	2
14	2	Node 4	0,889	5
15	Node 1	Node 12	0,889	4
16	Node 14	Node 11	0,867	13
17	Node 15	M	0,833	5
18	Node 13	Node 17	0,767	7
19	Node 18	Node 16	0,733	20
20	Node 19	23	0,706	21
21	27	B	0,667	2
22	Node 20	Node 21	0,606	23



Lampiran 10

CLUSTER ANALISIS DENDOGRAM DARI ANALISIS ISOZIM ESTERASE

Analysis begun: Thursday, April 18, 2013 10:48:35 AM

Analysing 32 variables x 23 cases

UPGMA

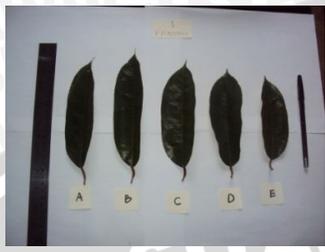
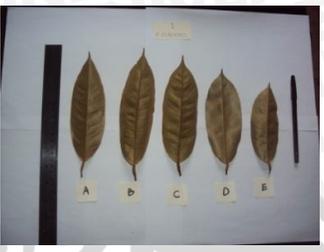
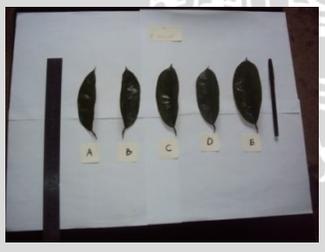
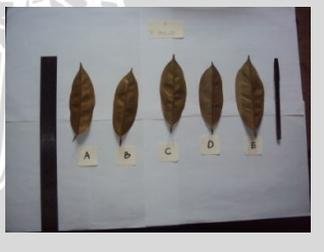
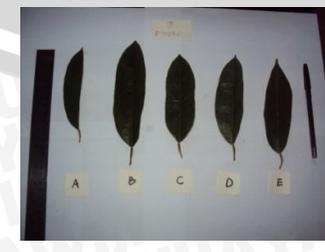
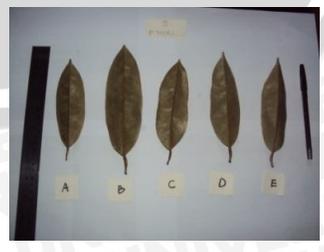
Simple Matching Coefficient

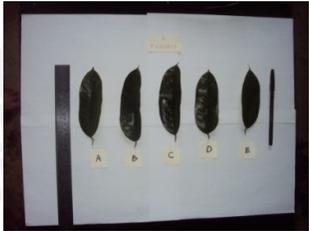
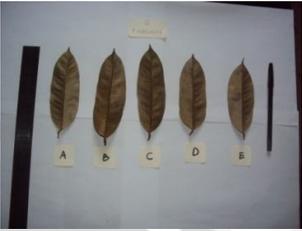
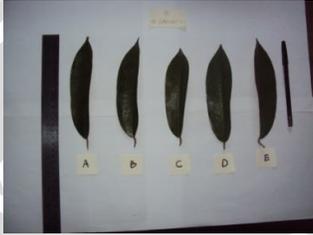
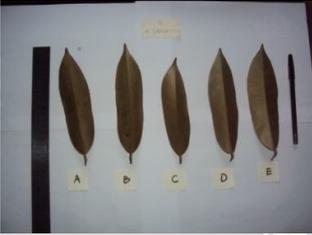
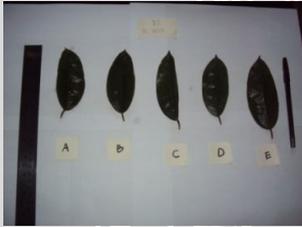
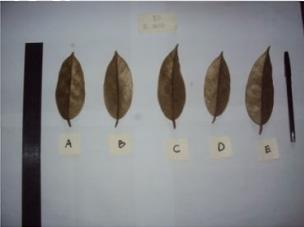
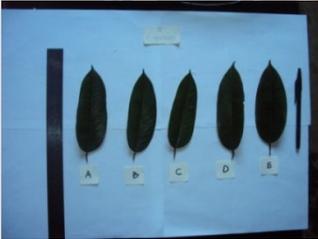
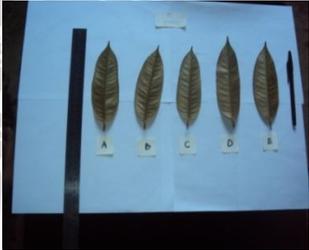
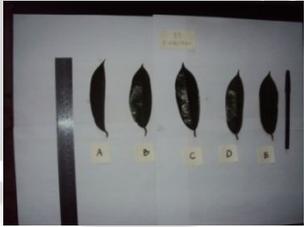
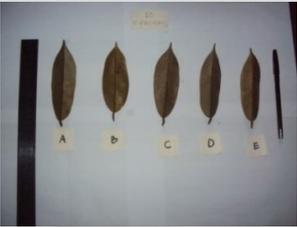
Node	Group 1	Group 2	Simil.	Objects in group
1	1	8	1	2
2	13	24	1	2
3	Node 2	27	1	3
4	14	15	1	2
5	Node 1	6	0,969	3
6	3	Node 3	0,969	4
7	5	Node 4	0,969	3
8	M	B	0,969	2
9	Node 6	4	0,961	5
10	Node 9	10	0,956	6
11	Node 10	21	0,953	7
12	Node 11	25	0,951	8
13	Node 12	26	0,949	9
14	Node 5	Node 13	0,94	12
15	19	23	0,938	2
16	Node 14	Node 7	0,932	15
17	Node 16	Node 8	0,924	17
18	Node 17	18	0,906	18
19	Node 18	Node 15	0,905	20
20	Node 19	20	0,88	21
21	Node 20	11	0,876	22
22	Node 21	2	0,868	23

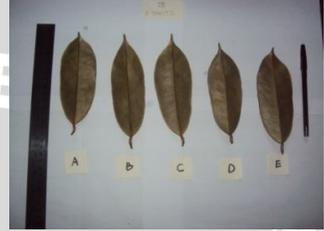
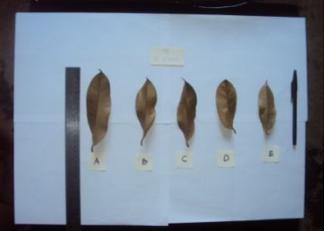
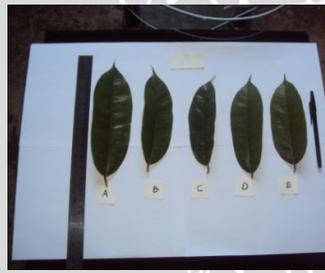


Lampiran 11

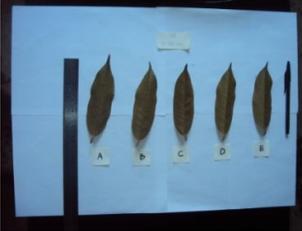
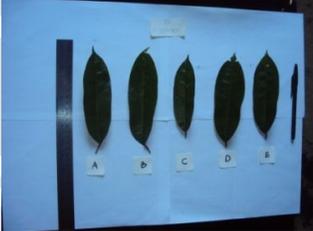
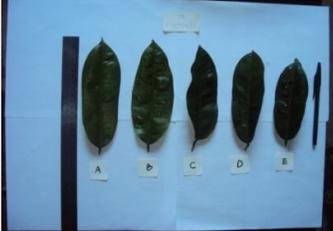
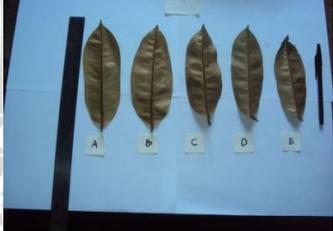
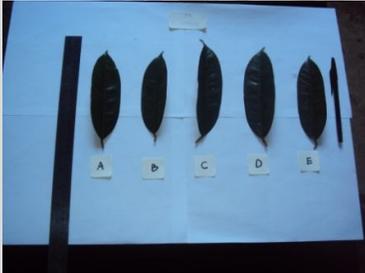
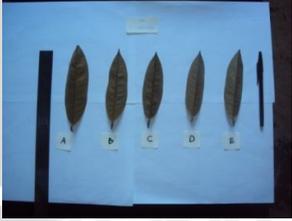
Warna daun durian Bido, Monthong dan 21 sampel yang dianalisis

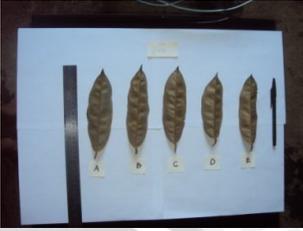
Nomor sampel	Daun bagian atas	Daun bagian bawah
1		
2		
3		
4		
5		

Nomor sampel	Daun bagian atas	Daun bagian bawah
6		
8		
10		
11		
13		

Nomor sampel	Daun bagian atas	Daun bagian bawah
14		
15		
18		
19		
20		



Nomor sampel	Daun bagian atas	Daun bagian bawah
21		
23		
24		
25		
26		

Nomor sampel	Daun bagian atas	Daun bagian bawah
27		
M		
B		