

Perakitan Varietas Tebu Produksi Gula Tinggi Melalui Rekayasa Genetik Peningkatan Sintesis dan Transport Sukrosa

Peneliti : ¹⁾ Prof. Dr. Ir. Bambang Sugiharto, M.Sc
²⁾ Dr. Ir. Parawita Dewanti, MP
³⁾ Dr. Netty Ermawati

Mahasiswa terlibat : M. Saifudin Aswan (S2)
Novita Berliana Gunawan (S1)
Wimbuh Tri Widodo (S1)
Riski Maulana (S1)
Ifan Yulianto (S1)

Sumber Dana : DP2M Dikti (MP3EI)

- ¹⁾ Jurusan Biologi, Fakultas MIPA Universitas Jember
- ²⁾ Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Jember
- ³⁾ Laboratorium BioSain, Politeknik Negeri Jember

ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk merakit varietas unggul tebu melalui transformasi genetik dua gen yaitu gen untuk sintesis sukrosa (SoSPS1) dan gen untuk translokasi sukrosa (SoSUT1). Saat ini konstruk gen SoSPS1 dan SoSUT1 telah diselesaikan dan telah diuji coba transformasinya dalam tanaman model tomat. Overekspresi (transformasi) dua gen SoSPS1 dan SoSUT1 dapat meningkatkan kandungan sukrosa dan sekaligus produksi buah tomat transgenik (Dewanti, 2011). Mengacu keberhasilan pada tanaman tomat, overekspresi dua gen SoSPS1 dan SoSUT1 pada tebu diharapkan dapat meningkatkan kandungan sukrosa dan sekaligus produksi gula tebu. Peningkatan produksi gula tebu sudah tentu akan mengurangi import dan menjamin swasembada gula, dimana saat ini sekitar 50% dari kebutuhan gula nasional masih harus diimport. Penelitian ini juga diarahkan untuk mendukung program konversi energi dengan menyediakan varietas unggul tebu berproduksi gula tinggi., sehingga peningkatan produktivitas gula tebu akan meningkatkan produksi gula sekaligus produksi bioethanol.

Penelitian ini direncanakan berlangsung selama 3 (tiga) tahun dengan tahapan. Penelitian yang sudah dilakukan adalah transformasi tunggal gen SoSPS1 atau gen SoSUT1 pada tahun pertama dan transformasi ganda gen SoSPS1 dan gen SoSUT1 pada tahun ke dua. Penelitian dilakukan dengan transformasi gen SPS dan SUT pada eksplan tunas lateral tebu dilakukan dengan melalui *Agrobacterium tumefaciens*. Hasil penelitian yang diperoleh sampai tahun ke dua adalah telah berhasil didapatkan prototype tanaman tebu PRG – rendemen tinggi melalui: (1) Overekspresi gen SoSPS1 (single trait) dengan sifat peningkatkan sintesis dan akumulasi gula sukrosa pada tebu PRG, (2) Overekspresi

gen SoSUT1 (single trait) dengan sifat peningkatkan translokasi dan kandungan gula sukrosa pada tebu PRG, dan (3) Double overekspresi gen SoSPS1 dan SoSUT1 (*double trait*) dengan sifat peningkatan sintesis dan translokasi sukrosa serta kandungan gula tanaman.

Kata kunci: tebu (*Saccharum officinarum* L.), rekayasa genetik, sintesis dan transport sukrosa, gen SoSPS1, gen SoSUT1

Perakitan Varietas Tebu Produksi Gula Tinggi Melalui Rekayasa Genetik Peningkatan Sintesis dan Transport Sukrosa

Peneliti : ¹⁾ Prof. Dr. Ir. Bambang Sugiharto, M.Sc
²⁾ Dr. Ir. Parawita Dewanti, MP
³⁾ Dr. Netty Ermawati

Mahasiswa terlibat : M. Saifudin Aswan (S2)
Novita Berliana Gunawan (S1)
Wimbuh Tri Widodo (S1)
Riski Maulana (S1)
Ifan Yulianto (S1)

Sumber Dana : DP2M Dikti (MP3EI)
Kontak email : bbsghrt@yahoo.com

Diseminasi:

1. Seminar Nasional dan Kongres Indonesia Protein Society (IPS)
2. Seminar dalam Temu Pakar Bioteknologi 2012 di IPB
3. Seminar Get into Biotech Crops di Universitas Gajah Mada
4. Semiloka Nasional di Balai Penelitian Tanaman Serat Malang
5. Seminar Agriculture Teknologi 2012 diadakan oleh Winrock International Jakarta
6. Seminar Agriculture Biotechnology diadakan oleh PBS di UNEJ
7. Seminar Agricultural Biotechnology diadakan oleh PBS di Medan
8. Seminar Agricultural Biotechnology Exchange Programs di California, USA
9. Seminar Regional Workshop on Enhancing Knowledge and Communication Skills on Biotechnology and Biosafety, SEMEO SEARCA Bangkok, Thailand
10. Orasi Ilmiah Pengembangan Bioteknologi untuk Meningkatkan Kesejahteraan Masyarakat disampaikan pada Wisuda Ke II Poiteknik Banyuwangi
11. Publikasi Tebu Transgenik Pertama Toleran Kekeringan di Majalah agrina, Vol 9 No.210 September 2013

¹⁾ Jurusan Biologi, Fakultas MIPA Universitas Jember

²⁾ Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Jember

³⁾ Laboratorium BioSain, Politeknik Negeri Jember

Latar Belakang dan Tujuan Penelitian

Tanaman tebu merupakan tanaman utama penghasil gula sukrosa di Indonesia, akan tetapi hasil gulanya masih belum mencukupi kebutuhan nasional. Dalam kurung waktu 20 tahun terakhir produksi gula terus mengalami penurunan dan data dari *Sugar Word Market & Trade* tahun 2004/2005 menyatakan bahwa import gula mencapai lebih dari 50% total kebutuhan gula nasional. Banyak faktor yang menyebabkan rendahnya produksi gula tebu, diantaranya adalah mutu/potensi produktivitas gula tebu yang makin menurun.

Perakitan varietas tanaman melalui tehnik rekayasa genetika (transformasi gen) lebih akurat dan efisien dibandingkan metoda persilangan. Pada tanaman tebu persilangan sangat sulit dilakukan dan viabilitas pollen tebu sangat singkat serta mudah kering dan mati. Walaupun biji tebu masih bisa dibentuk tapi ukuranya sangat kecil (250 biji per gram), sulit tumbuh di alam dan memerlukan penanganan khusus untuk pembibitannya. Bioteknologi tanaman memegang peranan penting dalam usaha perbaikan pertumbuhan dan produksi tanaman. Rekayasa genetika melalui tehnik overekspresi gen telah banyak dilakukan untuk meningkatkan proses biokimiwi sel.

Pada tanaman tebu biosintesis sukrosa dikatalisis oleh enzim *sucrose-phosphate synthase* (SPS), dan peningkatan aktivitas SPS berkorelasi positif meningkatkan kandungan sukrosa (Sugiharto *et al*, 1997a). Gen *SPS* tebu telah berhasil diisolasi (Sugiharto *et al*, 1997b) dan overekspresi gen *SPS* ini dapat meningkatkan aktivitas SPS dan kandungan sukrosa pada daun tanaman transgenik tembakau dan tebu (Sugiharto *et al*, 2003 ; Miswar *et al*, 2005). Namun peningkatan kandungan gula sukrosa di batang kurang sepadan dengan peningkatannya di daun tebu (Miswar *et al*, 2007). Hal ini diduga karena tidak adanya peningkatan translokasi sukrosa dari daun sebagai tempat sintesis ke batang sebagai organ penyimpanan. Beberapa penelitian melaporkan bahwa translokasi sukrosa difasilitasi oleh protein *sucrose transporter* (SUT) dan overekspresi gen *SUT* dapat meningkatkan translokasi sukrosa dan produksi tanaman kentang (Lamoine *et al*, 2007). Saat ini kloning dan konstruk gen *SoSUT1* dari tebu telah dilakukan (Sugiharto dkk, hasil penelitian 2009), dan bersama-sama dengan konstruk gen *SoSPS1* (Sugiharto *et al*, 2003) dapat digunakan untuk meningkatkan sintesis dan sekaligus transport

sukrosa pada tanaman. Penelitian pada tanaman model double overekspresi gen *SoSPS1* bersama-sama dengan gen *SoSUT1* dapat meningkatkan kandungan dan produksi buah tomat transgenik (Dewanti, 2011). Melalui *double* overekspresi gen *SoSPS1* dan *SoSUT1* diharapkan dapat meningkatkan sintesis sukrosa oleh aktivitas enzim SPS dan translokasi sukrosa oleh protein SUT pada tanaman tebu. Oleh karena itu penelitian ini ditujukan untuk perakitan varietas tebu unggul produktivitas gula (sukrosa) tinggi melalui rekayasa genetik peningkatan sintesis dan transport sukrosa.

Penelitian ini bertujuan untuk merakit varietas tebu unggul produksi gula tinggi dan dapat adaptif pada kondisi kekurangan air melalui overekspresi dua gen yaitu gen *SoSPS1* dan *SoSUT1*. Overekspresi gen *SoSPS1* akan meningkatkan aktivitas sintesis sukrosa selama fotosintesis dan overekspresi gen *SoSUT1* akan meningkatkan transport sukrosa, sehingga terjadi peningkatan akumulasi sukrosa pada batang tebu secara *significant*.

Metodologi Penelitian yang digunakan

Penelitian dengan tujuan untuk merakit varietas tebu produksi gula tinggi dengan overekspresi dua gen yaitu *SoSPS1* dan *SoSUT1* ditarget selesai dalam waktu 3 (tiga) tahun. Untuk penelitian tahun kedua dengan tahapan sebagai berikut :

Bulan	Ukuran Keberhasilan Tahun II
6	Perbanyak eksplant tebu transforman gen <i>SoSUT1</i> dan <i>SoSPS1</i> sebagai bahan transformasi, dan persiapan <i>Agrobacterium</i> yang mengandung konstruk gen
8	Transformasi gen <i>SoSPS1</i> pada tanaman transforman <i>SoSUT1</i> hasil penelitian Tahun I dan sebaliknya Seleksi plantlet tebu transforman tahan antibiotik yang mengandung <i>double target gen</i>
10	Aklimatisasi plantlet transforman <i>double gen</i> . Konfirmasi tebu transforman dengan analisa PCR.

Rincian metoda penelitian selengkapnya adalah sebagai berikut:

a. Persiapan eksplan tebu untuk transformasi

Eksplan yang akan digunakan untuk transformasi adalah tanaman tebu *in vitro* putatif transforman gen *SoSPS1* dan Gen *SoSUTI* hasil penelitian tahun pertama. Tanaman tebu *in vitro* ditumbuhkan dari tanaman tebu varietas BL menggunakan metode seperti yang disebutkan oleh Sugiharto *et al.*, (2005) dan Setyati *et al.*, (2007).

b. *Agrobacterium* strain GV3101 yang mengandung konstruk gen pCL4-*SoSPS1*, pSMAB-*SoSPS1*, pAct-*SoSUTI* telah tersedia dan perlu dilakukan konfirmasi keberadaan konstruk gen melalui analisis PCR yang menggunakan cetakan (*template*) DNA plasmid yang diisolasi dari sel *Agrobacterium*.

c. Transformasi konstruk gen melalui *Agrobacterium* pada eksplan tebu

Transformasi konstruk gen ke sel tanaman tebu dengan vektor *Agrobacterium* dilakukan menggunakan metode Arencibia *et al.*, (1998) dan Setyati *et al.*, (2007). Pada prinsipnya infeksi dilakukan dengan menginkubasikan tanaman tebu *in vitro* dalam media MS1 cair yang mengandung sel *Agrobacterium* (10^9 cfu/mL) dan acetosyringone (100 ppm) selama 15-30 min pada suhu 28°C. Kokultivasi dilakukan pada media MS padat yang mengandung acetosyringone pada suhu 28°C selama 2-3 hari pada tempat gelap. Seleksi resisten planlet dilakukan dengan cara memindahkan (sub kultur) pada media MS1 padat yang mengandung antibiotik cefotaxime dan agen seleksi (antibiotik kanamisin, higromycin, atau herbisida BASTA) selama \pm 3 – 4 minggu.

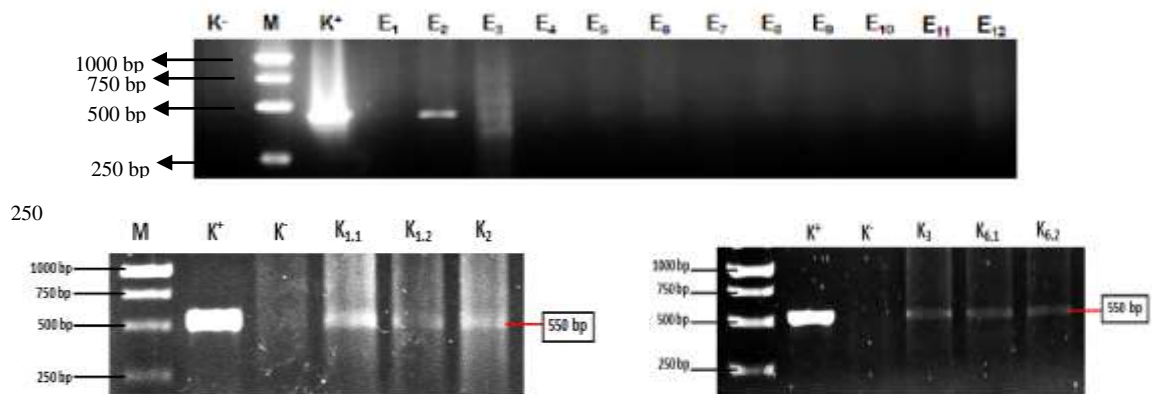
d. Aklimatisasi dan analisis tanaman tebu putatif transforman

Aklimatisasi tanaman tebu transforman dilakukan dengan memindahkan planlet putatif transforman pada media aklimatisasi (tanah : pasir : kompos = 1 : 1: 1) dan ditumbuhkan pada rumah kaca. Pertumbuhan dan pemeliharaan dilakukan dengan penyiraman larutan hara Hoagland (pH 6,5). Setelah periode aklimatisasi, kemudian dilakukan isolasi DNA genom untuk analisa tanaman transforman. Isolasi DNA dilakukan berdasarkan metode Zheng *et al.*, (1995), hasil isolasi DNA genom selanjutnya dianalisa menggunakan metode PCR untuk mengetahui keberhasilan integrasi gen target kedalam genom tanaman.

Hasil dan Pembahasan

1. Tanaman Tebu Putatif Transforman Gen *SoSPS1*

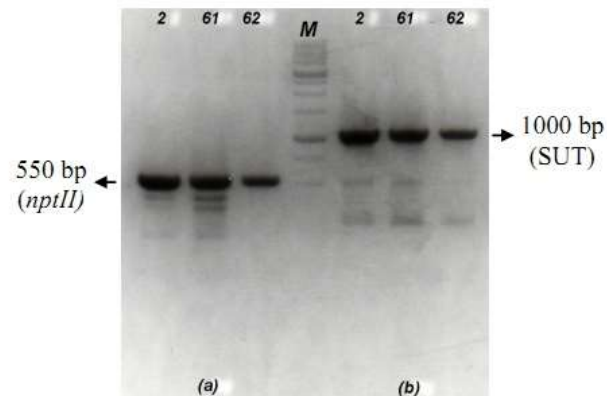
Keberhasilan dari proses transformasi gen kedalam sel tanaman ditentukan oleh terintegrasinya gen target kedalam genom tanaman. Untuk memastikan keberadaan gen dilakukan analisis PCR yang diawali dengan isolasi DNA genom. DNA genom tanaman putatif transforman yang telah di PCR selanjutnya dielektroforesis dengan menggunakan 1% gel agarose untuk melihat pita DNA hasil amplifikasi PCR. Berdasarkan hasil PCR dari tanaman transforman gen *SoSPS1* dengan menggunakan plasmid pSMAB-*SoSPS1* didapatkan bahwa klon E₂, K1.1, K1.2, K2 dan K3, K6.1, K6.2 adalah tanaman transforman (Gambar 1).



Gambar 1. Elektroforesis 1% gel agarose DNA hasil PCR dengan menggunakan pasangan primer bar (1a) dan *nptII-F/R* (1b; 1c). M: Marker DNA 1 kb (*Intron Biotechnology*); K⁺: plasmid yang mengandung gen *SoSPS1*; K⁻: tanaman kontrol (non transforman); K; E : sampel DNA genom dari template DNA genomik tebu putatif transforman.

2. Tanaman Tebu Putatif Transforman Gen *SoSUT1*

Transformasi gen *SoSUT1* pada tanaman invitro juga telah berhasil dilakukan dan memberikan hasil positif. Pada gambar dibawah dapat terlihat bahwa *pAct* yang diamplifikasi selain menunjukkan ketahanan terhadap *nptII* juga menunjukkan adanya cDNA SUT1 yang di masukkan ke dalam plasmid bakteri *A. tumefaciens*. Hasil amplifikasi plasmid pAct pada tanaman tebu terjadi pada klon 2, 61 dan 62 dengan menggunakan *primer* yang didesain pada daerah ketahanan terhadap *hygromycin* (*nptII*) dan cDNA SUT1(SUT) yang disisipkan (Gambar 2).



Gambar 2 Hasil elektroforesis PCR produk DNA plasmid pAct menggunakan (a) primer 2F/2R *SUT* pada DNA plasmid GV 3101-pAct *SoSUT1* dan (b) primer F/R *nptII* pada DNA plasmid GV 3101 -pAct *SoSUT1* ; (M) 1 kb DNA marker (Saputra, 2011).

Tanaman transforman yang telah dianalisa PCR dan menunjukkan hasil positif tertransformasi gen SPS ataupun SUT akan diperbanyak lagi secara invitro yang ditanam pada media seleksi. Eksplan berupa tanaman invitro akan ditransformasi dengan gen yang berbeda, tanaman transforman SPS ditransformasi dengan gen SUT dan sebaliknya sehingga didapatkan ekspresi *double* gen dalam satu tanaman.

3. Transformasi Gen *SoSPS1* Pada Tanaman Putatifl Transforman Gen *SoSUT1*

Tanaman tebu *putative* transforman akan mampu beregenerasi pada media seleksi dan tidak terganggu proses metabolismenya. Hal ini karena konstruk plasmid pCL4 yang mengandung gen *nptII* sebagai *selectable marker* telah terinsersi ke dalam genom tanaman sehingga tanaman *putative* transforman memiliki mekanisme ketahanan terhadap antibiotik kanamycin. Mekanisme ketahanan tanaman transforman terhadap paparan antibiotik kanamycin dilakukan dengan mensintesa enzim neomycin phosphotransferase II untuk menginaktivasi antibiotik kanamycin yang masuk ke dalam tanaman sehingga antibiotik kanamycin tidak dapat mengganggu sintesis protein tanaman (Matthews *et al.*, 1995). Sedangkan tanaman yang tidak transforman pada akhirnya akan mati ketika berada pada media seleksi. Setelah keluar dari tahap seleksi, tanaman tebu *putative* transforman kemudian ditumbuhkan pada media MS0 untuk pengakaran dan selanjutnya tanaman tebu di aklimatisasi.

Pada penelitian ini, transformasi dilakukan sebanyak 3 kali yang masing-masing merupakan penelitian terpisah (*independen eksperimen*). Hasil transformasi hingga tahapan seleksi ke-5 masing-masing dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Efektivitas transformasi menggunakan eksplan tunas tebu *in-vitro* dan vektor *A. tumefaciens* yang mengandung konstruk plasmid pCL4-*SoSPS1* selama 5 periode siklus seleksi.

Transformasi	Persentase jumlah planlet tiap tahapan (%)						
	K	E	S1	S2	S3	S4	S5
1	100	100	20	10,90	10,90	10,90	1,81
2	100	100	62,90	62,90	62,90	59,67	41,93
3	100	100	89,28	19,64	19,64	17,85	8,92

K: Ko-kultivasi, **E:** Eliminasi, dan **S:** Seleksi.

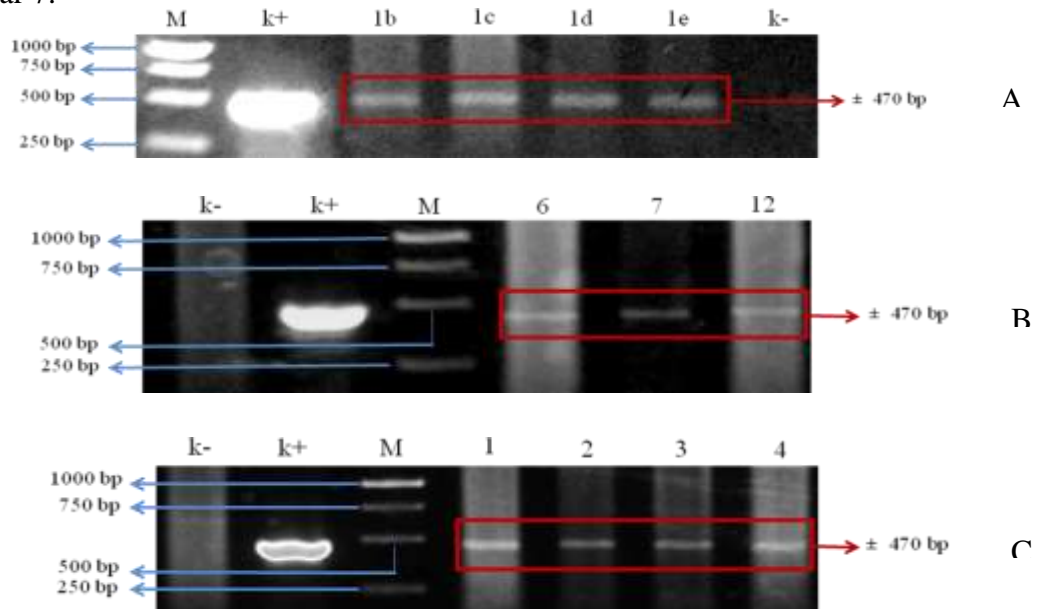
Jumlah eksplan awal (K) pada transformasi 1, 2, dan 3 berturut-turut 55, 62, dan 56.

Berdasarkan tabel diatas, persentase planlet *putative* transforman yang mampu tumbuh hingga pada media seleksi ke-5 yaitu 1,81% (1 planlet) pada transformasi ke-1, 41,93% (26 planlet) pada transformasi ke-2, dan 8,92% (5 planlet) pada transformasi ke-3. Pada transformasi ke-1 jumlah planlet yang dihasilkan hingga seleksi ke-5 lebih sedikit dibandingkan pada transformasi ke-2 dan transformasi ke-3. Hal ini disebabkan pada transformasi pertama terdapat beberapa planlet yang mengalami kontaminasi jamur pada saat dalam media seleksi ke-5. Pada transformasi ke-2 dan transformasi ke-3, kematian planlet pada media seleksi diduga karena gen target tidak terinsersi ke dalam genom tanaman sehingga eksplan tidak tahan terhadap antibiotik yang terkandung dalam media seleksi. Hasil aklimatisasi menunjukkan bahwa pada proses transformasi ke-1 planlet berhasil diaklimatisasi seluruhnya yaitu berjumlah 6 tanaman yang berasal dari 1 tanaman, begitu pula pada transformasi ke-3 yang berjumlah 5 tanaman. Pada transformasi ke-2, dari 26 tanaman *putative* transforman overekspresi ganda gen *SoSUT1* dan gen *SoSPS1* yang didapatkan, planlet yang berhasil diaklimatisasi yaitu 22

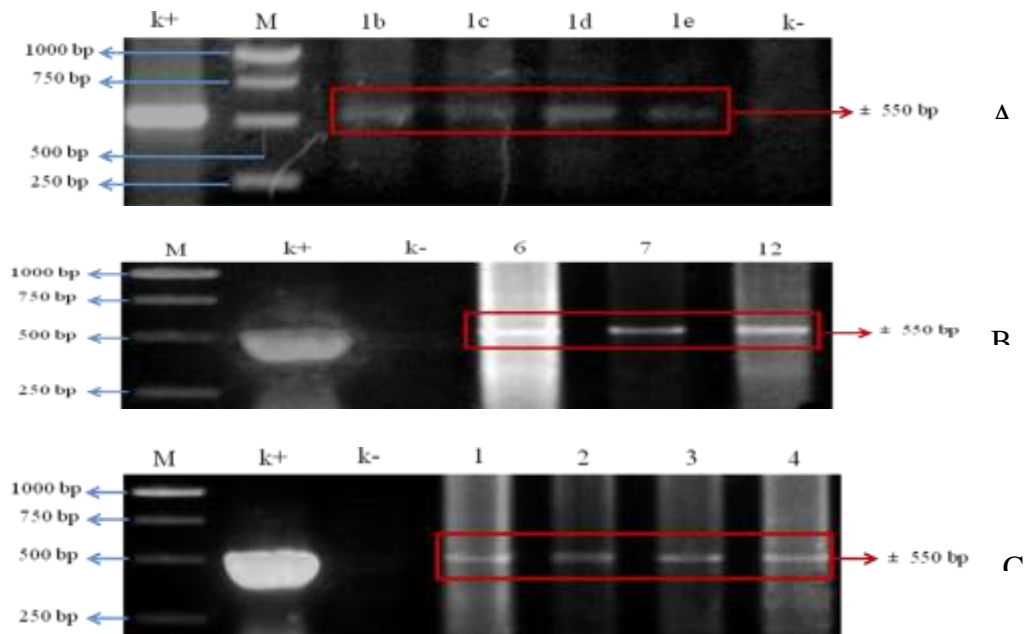
tanaman. Kematian planlet yang dihasilkan pada transformasi ke-2 pada saat tahapan aklimatisasi karena planlet tidak dapat beradaptasi dengan lingkungan.

3. Hasil Analisis PCR Tanaman Tebu *Putative* Transforman *Double Gen*

Berdasarkan hasil analisis PCR menggunakan primer *hptII* dan *nptII*, persentase tanaman tebu *putative* transforman yang positif mengandung gen *SoSUTI* dan gen *SoSPSI* sebesar 1,81% (4 tanaman yang berasal dari 1 tanaman) pada transformasi ke-1, 4,84% (3 tanaman) pada transformasi ke-2 dan 7,14% (4 tanaman) pada transformasi ke-3 sehingga efektivitas rata-rata transformasi gen *SoSPSI* menggunakan konstruk plasmid pCLA-*SoSPSI* yang dikendalikan oleh promoter *RUBQ2* pada tanaman tebu overekspresi gen *SoSUTI* sebesar 4,59%. Hasil analisis PCR dari DNA genom sampel nomer 1b, 1c, 1d, dan 1e pada transformasi ke-1 (berasal dari 1 tanaman), sampel nomer 6, 7, dan 12 pada transformasi ke-2 dan sampel nomer 1, 2, 3, dan 4 pada transformasi ke-3 berhasil mengamplifikasi fragmen DNA dengan panjang 470 bp yang sesuai dengan panjang primer *hptII* dan fragmen DNA dengan panjang 550 bp yang sesuai dengan panjang primer *nptII* yang digunakan seperti pada Gambar 6 dan Gambar 7.



Gambar 6. Hasil elektroforesis gel agarose 1% DNA hasil PCR dengan menggunakan pasangan primer *hptII* F/R dan *template* DNA genom tebu, M: Marker DNA 1 Kb *Ladder*; K+: Plasmid pAct-*SoSUTI*; K-: Tanaman kontrol non transforman; A: Transformasi ke-1; B: Transformasi ke-2; C: Transformasi ke-3.



Gambar 7. Hasil elektroforesis gel agarose 1% DNA hasil PCR dengan menggunakan pasangan primer *nptII* F/R dan *template* DNA genom tebu, M: Marker DNA 1 Kb *Ladder*; K+: Plasmid pCLA-*SoSPS1*; K-: Tanaman transforman gen *SoSUT1*; A: Transformasi ke-1; B: Transformasi ke-2; C: Transformasi ke-3.

Simpulan akhir dari hasil penelitian

Hasil penelitian yang diperoleh sampai tahun ke dua adalah telah berhasil didapatkan prototype tanaman tebu PRG – rendemen tinggi melalui: (1) Overekspresi gen *SoSPS1* (single trait) dengan sifat peningkatkan sintesis dan akumulasi gula sukrosa pada tebu PRG, (2) Overekspresi gen *SoSUT1* (single trait) dengan sifat peningkatkan translokasi dan kandungan gula sukrosa pada tebu PRG, dan (3) Double overekspresi gen *SoSPS1* dan *SoSUT1* (*double trait*) dengan sifat peningkatan sintesis dan translokasi sukrosa serta kandungan gula tanaman.

Kata kunci: tebu (*Saccharum officinarum* L.), rekayasa genetik, sintesis dan transport sukrosa, gen *SoSPS1*, gen *SoSUT1*

Referensi

- Dewanti, P., M. Islahuddin, P. Okviandari, S. Waluyo, B. A. Saputra, T. Wardiyati, and B. Sugiharto, 2011. Efisiensi transformasi tomat (*Lycopersicon esculentum*) dengan gen *sosps1* menggunakan *Agrobacterium tumefaciens*. Berk. Penel. Hayati Edisi Khusus 4C:73–78.
- Lemoine, R., Burkle, L., Soulaïman, S., Kuhn, C., Regnacq, M., Gaillard, C., Delrot, S., and Frommer, W. B. 1999. Identification of a pollen-specific transporter-like protein NtSUT3 from tobacco FEBS Letters 454 : 325 – 330
- Miswar, B. Sugiharto, J. Soedarsono dan S. Moeljopawiro. 2007. Transformasi Gen Sucrose Phosphate Synthase (*SoSPS1*) Menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* untuk Meningkatkan Sintesis Sukrosa pada Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.). Berk. Penel. Hayati. Vol. 12: 137 - 143.
- Miswar, B. Sugiharto, J. Soedarsono dan S. Moeljopawiro (2005) Transformasi gen sucrose-phosphate synthase (SoSPS1) tebu (*Saccharum officinarum* L.) untuk meningkatkan sintesis sukrosa pada daun tembakau (*Nicotiana tabacum* L.). Berkala Ilmiah BIOLOGI 4(5):337-347.
- Setyati, S., P. Oktaviandari, M. Hazmi dan B. Sugiharto. 2007. Studi Perbandingan Metode Transformasi DNA Menggunakan Vector *Agrobacterium tumefaciens* pada Tanaman Tebu (*Saccharum hybrid*). Berk. Penel. Hayati. Vol. 13: 39 - 44.
- Sugiharto, B., H. Sakakibara, Sumadi, dan T. Sugiyama. 1997. Differential Expression of Two Genes for Sucrose Phosphate Synthase in Sugar Cane: Molecular Cloning of the cDNAs and Comparative Analysis of Gene Expression. *Plant Cell Physiol.* Vol. 38: 961 – 965.
- Sugiharto, B., Miswar, U. Murdiyatmo (2003b). Overekspresi gen sucrose-phosphate synthase untuk peningkatan biosintesis sukrosa pada tanaman tebu. Laporan Akhir RUT VIII. Universitas Jember dan Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, 42p.
- Sugiharto, B. T. Handoyo, and Sumadi (1997b) Variabilitas genetic dalam enzim fotosintesis dan enzim metabolisme sukrosa pada beberapa varietas tebu. *Zuriat* 7:76-85.
- Zhu, Y.J., K. Komor, and P.H. Moore (1997) Sucrose accumulation in the sugarcane stem is regulated by the difference between the activities of soluble acid invertase and sucrose phosphate synthase. *Plant Physiol.* 115: 609-6