



Unit UPT Perpustakaan  
UNIVERSITAS JEMBER

**AKTIVITAS INVERTASE  
DAN KANDUNGAN GULA PADA BATANG  
TEBU GENJAH DAN NON GENJAH**

**KARYA ILMIAH TERTULIS  
(SKRIPSI)**

Diajukan Guna Memenuhi Salah Satu Syarat Untuk  
Menyelesaikan Pendidikan Program Strata Satu  
Jurusan Budidaya Pertanian Program Studi Agronomi  
Fakultas Pertanian Universitas Jember

Oleh :

*Rike Apriyanti*

NIM. 981510101180

Asal :

Terima

P.o. Induk

Hadiah

Pembelian

Tgl 2 JUL 2003

SyH.

Klass

633.61

APR

a e i

DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS PERTANIAN

JUNI 2003

**DOSEN PEMBIMBING :**

- 1. Dr. Ir. Sri Hartatik, MS (DPU)**
- 2. Dr. Ir. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc (DPA I)**
- 3. Dr. Ir. Didik Pudji Restanto, MS (DPA II)**

**KARYA ILMIAH TERTULIS BERJUDUL**

**AKTIVITAS *INVERTASE* DAN KANDUNGAN GULA PADA  
BATANG TEBU GENJAH DAN NON GENJAH**

Dipersiapkan dan disusun oleh

**Rike Apriyanti**

NIM. 981510101180

Telah diuji pada tanggal

7 Juni 2003

dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

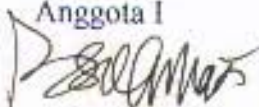
**TIM PENGUJI**

Ketua.

  
Dr. Ir. Sri Hartatik, MS


NIP. 131 274 725

Anggota I

  
Dr. Ir. Bambang Sugiharto, M. Agr. Sc

NIP. 131 131 021

Anggota II

  
Dr. Ir. Didik Pudji Restanto, MS

NIP. 132 095 706

**MENGESAHKAN**

Dekan,

  
Ir. Ane Mudjihariati, MS

NIP. 130 609 808



*Karya Ilmiah Tertulis ini kupersembahkan :*

1. Ayahanda "Moch Yasin" dan "Ibunda Agus Tari" kasih, sayang, cinta, dorongan dan seluruh pengorbanan kalian yang membuatku selalu ingin maju.
2. Kakak-kakaku "Andy Yuswantoro " dan "Dyah Rositaningrum" buat sayang serta dukungan kalian padaku
3. Adik-adikku "Rita Damayanti " dan "Fitrah Putri Fisabilillah"
4. My aunt "Shieva Anandiya" semoga kamu tumbuh menjadi manusia yang berguna
5. Pendamping hidupku kelak
6. Almamater yang kubanggakan



## KATA PENGANTAR

Segala puji syukur “ Alhamdulillah “ penulis persembahkan kehadiran Allah SWT atas segala limpahan berkah, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan. Penulisan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Pertanian pada Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Penulisan skripsi dengan judul “Aktivitas Invertase dan Kandungan Gula pada Batang Tebu Genjah dan Non Genjah”, disusun berdasarkan hasil penelitian yang dilaksanakan di rumah koi Fakultas Pertanian Universitas Jember pada bulan April sampai November 2002.

Dalam penyusunan hingga terselesaikannya skripsi ini, penulis telah banyak mendapat bantuan, bimbingan, dan dorongan dari berbagai pihak. Untuk itu dengan kerendahan hati penulis ingin menyampaikan ungkapan rasa terima kasih yang tak terhingga kepada :

1. Ir. Arie Mudjiharjati, MS selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
2. Dr.Ir. Sri Hartatik, MS selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dr.Ir. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc. selaku Dosen Pembimbing Anggota I yang telah meluangkan waktunya dan dengan penuh kesabaran telah memberikan komentar, saran, bimbingan serta pengarahan yang bermanfaat dalam penyusunan skripsi ini.
3. Dr.Ir. Didik Pudji Restanto, MS selaku Dosen Pembimbing Anggota II yang telah memberi masukan dan saran dalam penyempurnaan skripsi ini.
4. Dr.Ir. Sri Hartatik selaku Ketua Jurusan Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember.
5. Partner kerjaku “Tentrem Triasih” atas kerjasamanya dan kebersamaan yang kita lalui selama ini.

6. Sahabatku Lita, Anita, Trina, Ima, Hesti, , Tria, Susan, Eva, Tiara, Fery, Tantowi yang dengan kesabarannya telah memberikan bantuan pemikiran, tenaga, semangat dan do'a.
7. Innanta Krisshendy Alifvianto yang selalu ada dalam suka dan duka, serta kesabarannya menemaniku dalam menyelesaikan skripsi ini.
8. Teman-temanku Suwadi, Norma, Kristin, Fafan, Ika, Su'udi, dan semua warga Biomol atas segala kebersamaan dan motivasinya.
9. Teman-teman Himaagro khususnya angkatan 1998 atas kebersamaan yang kita lalui.
10. Teman-teman di Jl. Jawa II / 26 atas bentuk persahabatan yang indah ini.
11. Semua teman-teman penulis selama menempuh study di Jember serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran demi sempurnanya hasil penulisan ini. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan masyarakat pada umumnya.

Jember, 2003

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	ii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	v
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	viii
<b>RINGKASAN</b> .....	xi
<b>I. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang Permasalahan .....	1
1.2 Tujuan dan Manfaat .....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Klon Tebu Ganjah dan Non Ganjah .....	4
2.2 Fisiologi Tanaman Tebu .....	4
2.3 Pengaturan Akumulasi Sukrosa di Batang Oleh <i>Soluble Acid Invertase</i> .....	5
2.4 Hipotesis .....	7
<b>III. METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Tempat dan Waktu Percobaan .....	8
3.2 Pelaksanaan Penelitian .....	
3.2.1 Bahan Tanam dan Pertumbuhan Tanaman .....	8
3.2.2 Ekstraksi Enzim Batang Tebu .....	9
3.2.3 Ekstraksi Gula Batang Tebu .....	10



3.3 Pengamatan .....	
3.3.1 Pengukuran Aktivitas Soluble Acid Invertase .....	10
3.3.2 Penentuan Kandungan Protein terlarut .....	10
3.3.3 Penentuan Kandungan Sukrosa .....	11
3.3.4 Penentuan Kandungan Gula reduksi .....	11

#### **IV. HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1 Pertumbuhan Tanaman .....	12
4.2 Aktivitas Soluble Acid Invertase pada batang tebu .....	12
4.3 Akumulasi Sukrosa pada btang tbu .....	14
4.4 Akumulasi Gula reduksi pada batang tebu .....	17

#### **V. KESIMPULAN DAN SARAN**

5.1 Kesimpulan .....	20
5.2 Saran .....	20

#### **DAFTAR PUSTAKA**

#### **LAMPIRAN**



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1	Bagan urutan kerja ekstraksi enzim pada batang tebu ..... 9
Gambar 2	Hubungan aktivitas SAI dengan internode batang tebu antara varietas PSTG 87-22643 dan varietas M 442-51 ..... 13
Gambar 3	Hubungan antara kandungan sukrosa dengan internode batang tebu pada varietas PSTG 87-22643 dan varietas M 442-51 .... 14
Gambar 3a	Hubungan antara aktivitas SAI dengan kandungan sukrosa pada varietas PSTG 87-22643 ..... 16
Gambar 3b	Hubungan antara aktivitas SAI dengan kandungan sukrosa pada varietas M 442-51 ..... 16
Gambar 4	Hubungan antara kandungan gula reduksi dengan internode batang tebu varietas PSTG 87-22643 dan varietas M 442-51 ..... 17
Gambar 4a	Hubungan antara aktivitas SAI dengan kandungan gula reduksi pada batang tebu varietas PSTG 87-22643 ..... 18
Gambar 4b	Hubungan antara aktivitas SAI dengan kandungan gula reduksi pada batang tebu varietas M 442-51 ..... 19

## DAFTAR SINGKATAN

SAI	:	Soluble Acid Invertase
DTT	:	Dithiotrietol
EDTA	:	Ethylene diamine tetra acetic acid
MOPs	:	3- (N-Morpholino) Propane Sulfonic Acid
PMSF	:	Phenylmethylsulfonyl fluoride
PVP	:	Polyvinyl pyrolidone
BSA	:	Bovine Serum Albumin
g FW	:	gram fresh weight

Rike Apriyanti, 981510101180. **Aktivitas *Invertase* dan Kandungan Gula pada Batang Tebu Genjah dan Non Genjah.** Dibawah bimbingan Dr. Ir. Sri Hartatik, Msi (DPU) dan Dr. Ir. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc. (DPA).

### RINGKASAN

*Soluble Acid Invertase* merupakan enzim kunci dalam akumulasi sukrosa serta berkorelasi tinggi terhadap kandungan gula reduksi dan pertumbuhan tanaman, tetapi berkorelasi rendah terhadap kandungan sukrosa. Akumulasi sukrosa lebih ditentukan oleh keseimbangan antara enzim sintesis sukrosa (SPS) dan enzim penghidrolisis sukrosa (SAI).

Penelitian bertujuan untuk mengetahui perbandingan aktivitas SAI pada kedua varietas tebu serta hubungannya dengan kandungan sukrosa dan gula reduksi.

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa aktivitas SAI pada tebu M 442-51 lebih tinggi daripada tebu PSTG 87-22643, namun kandungan sukrosa yang dihasilkan pada kedua varietas tebu tersebut hampir sama. Kedua varietas tebu mengalami peningkatan konsentrasi sukrosa seiring dengan bertambahnya umur internode batang tebu, sedangkan kandungan gula reduksinya mengalami penurunan. Hal ini disebabkan kemampuan SAI untuk memecah sukrosa semakin menurun. Secara morfologi menyebutkan pada tebu M 442-51 memiliki pertumbuhan tanaman yang lebih cepat daripada tebu PSTG 87-22643 dikarenakan sukrosa yang dipecah menjadi gula reduksi lebih banyak digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman itu sendiri.

Kata kunci : Tebu genjah dan non genjah, Batang tebu, *Soluble Acid Invertase*, Sukrosa, Gula Reduksi.



## I. PENDAHULUAN



### 1.1 Latar Belakang Permasalahan

Varietas tebu dengan ciri berumur genjah yang mempunyai rendemen tinggi sangat diperlukan untuk mengatasi masalah rendahnya produksi gula dan tebu (Sukarso *et.al.*, 1993). Lebih dari itu pergerakan tebu ke lahan tadah hujan dan kering memaksa tanaman untuk lebih dapat menyesuaikan dengan tabiat iklim. Iklim dengan masa pertumbuhan pendek, iklim bimodal, dan difersifikasi produk merupakan pendorong pemanfaatan tebu genjah (Sukarso. *et. al.* 1993).

Sukarso *et.al.*, (1992 dan 1993) berhasil mendapatkan klon-klon tebu berumur 6-7 bulan dengan kandungan sukrosa 16-19% dan kandungan gula reduksi berkisar 0,41-2,05%. Pada kajian selanjutnya disebutkan bahwa tebu genjah PSTG 87-22643 pada umur 6-7 bulan memiliki kualitas nira yang lebih baik dibandingkan tebu non genjah F 154 dimana memiliki kadar sukrosa 12 - 16%, pada tebu genjah hampir dua kali dibandingkan kadar sukrosa tebu non genjah F 154 yang hanya 8,97% (Suryani,A., 2000).

Tebu dengan ciri berumur genjah sangat menguntungkan karena produksi persatuan waktu dapat meningkat. Hasil analisis data potensi bobot tebu per hektar menunjukkan bahwa potensi hasil tebu per hektar varietas tebu genjah PSTG 87-22643 pada umur 7 bulan sebesar 85,40 ton dan tidak berbeda nyata dengan varietas tebu non genjah F 154. Selain itu data hasil hablur menunjukkan bahwa varietas tebu genjah PS 87-22643 menghasilkan hablur lebih tinggi yaitu 9,87 ton perhektar artinya varietas tebu PS 87-22643 mempunyai potensi hasil hablur lebih tinggi 1,32 kali perhektar dari varietas tebu non genjah F 154. Sedangkan potensi hasil rendemen per hektar pada varietas genjah PS 87-22643 lebih tinggi 1,44 kali potensi rendemen varietas non genjah F 154.

Dari uraian diatas dapat diketahui bahwa tebu varietas genjah berpotensi menghasilkan gula tinggi dengan hasil tebu yang relatif tinggi dalam waktu 7 bulan. Penggunaan varietas tebu genjah sebagai tambahan atau alternatif untuk pasok pada awal giling akan dapat meningkatkan efisiensi dalam memproduksi gula antara lain :



- Dengan tonase tebu yang relatif lebih rendah akan diperoleh hasil hablur yang lebih tinggi, dengan demikian akan dapat menghemat biaya tebang dan angkut.
- Penggunaan tebu yang berendemen tinggi akan dapat meningkatkan efisiensi pabrik dan akan diperoleh gula yang berkualitas baik.
- Dari aspek budidaya, tebu genjah dapat ditanam pada akhir musim tanam, dapat ditebang pada awal giling yang berpotensi rendemen tinggi.

Zhu *et.al* (1997) melakukan penelitian yang bertujuan untuk mencari enzim penentu yang berperan dalam mengakumulasi sukrosa dalam batang tebu dengan cara menghubungkan aktivitas enzim *Netral Invertase* (NI), *Soluble Acid Invertase* (SAI), *Sucrose Synthase* (SS) dan *Sucrose Phosphat Synthase* (SPS) dengan kemampuan suatu varietas mengakumulasi sukrosa di batang.

Aktivitas SAI pada umumnya tinggi dalam jaringan yang sel-selnya aktif membelah seperti kultur sel dan jaringan, pucuk akar dan internoda batang muda. Selama pertumbuhan dan perkembangan internoda menuju kemasakan, aktivitas SAI dapat menurun lebih dari dua kalinya. Varietas-varietas tebu dalam kelompok *Saccharum* yang mampu mempertahankan aktivitas SAI yang tinggi pada jaringan penyimpanan batang masak (tua) tidak dapat menyimpan sukrosa dalam batang pada kadar tinggi.

Lingle *et.al* (2001) menjelaskan bahwa pada ruas yang sedang memanjang kandungan sukrosa dan total gula pada genotip pengakumulasi sukrosa rendah tidak berbeda nyata dengan genotip pengakumulasi sukrose tinggi. Perbedaan baru tampak pada ruas yang sudah masak.

Menurut Zhu *et.al* (1997) menyatakan bahwa akumulasi sukrosa pada internode muda baik pada varietas pengakumulasi sukrosa rendah atau varietas pengakumulasi sukrosa tinggi adalah rendah, sedangkan pada internode lebih dewasa akan mengakumulasi sukrosa dengan konsentrasi berbeda tergantung pada kemampuan varietas tebu dalam menyimpan sukrosa. Perbedaan konsentrasi sukrosa pada varietas genjah dan non genjah tidak hanya diperoleh pada konsentrasi akhir (kandungan sukrosa secara total), tetapi perbedaan tersebut juga nampak pada tahap-tahap perkembangan internode dan awal penyimpanan

sukrosa dimana penelitian yang menginformasikan mengenai data perbedaan akumulasi sukrosa pada tiap-tiap internode belum ada sebelumnya.

Pada klon tebu genjah dan non genjah dihipotesakan terjadi perbedaan aktivitas *Soluble Acid Invertase* (SAI) pada tiap-tiap internodenya. Aktivitas SAI pada umumnya tinggi dalam jaringan yang sel-selnya aktif membelah seperti kultur sel dan jaringan, pucuk akar serta internoda batang muda, namun selama pertumbuhan dan perkembangan internoda menuju kemasakan, aktivitas SAI dapat menurun lebih dari dua kalinya. Hasil penelitian Zhu *et.al* (1997) menunjukkan bahwa terdapat korelasi negatif nonlinier yang nyata antara aktivitas SAI dengan akumulasi sukrosa pada setiap internode. Jika aktivitas SAI tinggi, konsentrasi sukrosa selalu rendah, tetapi jika aktivitas SAI rendah maka konsentrasi sukrosa dapat rendah, tinggi atau konstan

## **1.2 Tujuan dan Manfaat**

- a. Untuk mengetahui aktivitas *Soluble Acid Invertase* (SAI) pada klon tebu genjah dan non genjah.
- b. Untuk mengetahui hubungan antara *Soluble Acid Invertase* (SAI) dengan akumulasi sukrosa dan gula reduksi pada klon tebu genjah dan non genjah





## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Klon Tebu Genjah dan Non Genjah

Tanaman tebu genjah memiliki berbagai macam definisi. Peneliti di India dan Afrika mendefinisikan tebu genjah yang dikaitkan dengan proses optimalisasi konsentrasi gula yang terbentuk dalam nira batang tebu. Beberapa peneliti di Indonesia mendefinisikan tebu genjah sebagai varietas tebu yang masak dan ditebang bulan Mei-Juni yang lazimnya dikaitkan sebagai tebu masak awal. Menurut Sukarso *et.al* (1992) mendefinisikan tebu genjah merupakan tebu dimana pada umur 6-7 bulan sudah memiliki kadar kandungan gula total (glucose, fructose dan sucrose) cukup tinggi, sehingga pada umur tersebut sudah dapat dipanen untuk diambil gulanya

Pemanfaatan tebu genjah diarahkan untuk menghasilkan gula cair, namun tidak menutup kemungkinan untuk dikristalkan karena kandungan sukrosanya cukup tinggi yaitu 16-19% dengan kandungan gula reduksi berkisar 0,41-2,05% (Sukarso *et.al.*, 1992). Menurut Suryani (2000) menyebutkan bahwa tebu genjah memiliki kualitas nira yang lebih baik dibandingkan klon tebu non genjah, dengan kandungan sukrosa pada umur 6-7 bulan berkisar 16,12% sementara kandungan sukrosa non genjah hanya mencapai 8,97%.

### 2.2 Fisiologi Tanaman Tebu

Tanaman tebu (*Saccharum officinarum*) merupakan jenis tanaman  $C_4$ , dengan laju fotosintesis yang lebih tinggi dibandingkan jenis tanaman  $C_3$ , terutama pada intensitas cahaya yang tinggi pada kondisi lingkungan yang optimal. Tanaman  $C_4$  lebih produktif karena pada jenis tanaman ini tidak diketemukan adanya foto respirasi.

Dalam tanaman  $C_4$  seperti tebu ini, secara anatomis mempunyai 2 tipe sel fotosintesis yaitu sel Mesofil dan sel Seludang berkas. Kedua sel tersebut berperan untuk menghasilkan sukrosa pati, dan produk tumbuhan lainnya (Campbell dan Black dalam Salisbury dan Ross, 1995). Hasil penelitian dari Zhu *et.al* (1997) menunjukkan pada internoda muda yang aktif tumbuh, sukrosa ditranspor dari

daun sebagai *source* (produsen) kemudian dirombak untuk menyediakan gula reduksi yang nantinya akan digunakan untuk proses biosintesis, respirasi dan metabolisme atau dalam bentuk disimpan (*sink*)

### 2.3 Pengaturan Akumulasi Sukrosa di Batang oleh *Soluble Acid Invertase* (SAI)

Akumulasi sukrosa pada tanaman tebu tergantung dari banyak faktor, terutama adalah tingkat asimilasi karbon dan tingkat sintesis sukrosa pada sel daun tanaman tebu. Zhu *et.al.* (1997) melakukan penelitian yang bertujuan untuk menentukan enzim kunci yang berperan dalam mengakumulasi sukrosa dalam batang tebu dengan cara menghubungkan aktivitas enzim SPS, SS, SAI dan NI dengan kemampuan suatu varietas mengakumulasi sukrosa dalam batang. Menurut hasil penelitian yang diperoleh, rata-rata konsentrasi sukrosa pada setiap internode berbeda antar varietas. Pada varietas yang memiliki kemampuan mengakumulasi sukrosa rendah, rata-rata konsentrasi sukrosa sebesar 25,9  $\mu\text{mol/g}$  berat basah sedangkan pada varietas pengakumulasi sukrosa tinggi rata-rata konsentrasi sukrosa sebesar 304,9  $\mu\text{mol/g}$  berat basah. Pada semua varietas internode muda mengakumulasi sukrosa pada konsentrasi yang rendah, namun pada internode dewasa (masak) kadar sukrosa yang terakumulasi dalam batang berbeda pada setiap varietas.

Selain ditentukan oleh sintesis karbon, biosintesis sukrosa juga dipengaruhi oleh enzim pembentuk sukrosa (Huber dan Huber, 1992). *Sucrose Phosphate Synthase* merupakan enzim utama yang menentukan biosintesis sukrosa pada tanaman (Huber, 1996). Pada tanaman tebu aktivitas enzim SPS menentukan akumulasi sukrosa didaun (Sugiharto, 1995) dan berkorelasi dengan tingkat pertumbuhan dan produktivitas gulanya (Sugiharto *et.al.*, 1997). Sedangkan *Soluble Acid Invertase* (SAI) merupakan penghidrolisis sukrosa pada tanaman (Huber, 1996).



Fruktosa-6-phosphate + UDP-Glukosa  $\xrightarrow{\text{SPS}}$  sukrosa phosphate + UDP

*Soluble Acid Invertase* (SAI) merupakan enzim penghidrolisis sukrosa pada tanaman. Menurut Zinsemeier *et. al* (1999), proses kerja SAI yaitu :



Pada umumnya enzim Invertase pada tanaman diklasifikasikan sebagai *Soluble Acid Invertase* (SAI), *Netral Invertase* (NI) dan *Alkali Invertase* menurut pH optimum reaksi katalisnya. *Soluble Acid Invertase* terdapat dalam tanaman dalam bentuk terlarut dan terikat pada dinding sel (Howard dan Witham, 1983). Berat molekul SAI bervariasi antara 50.000 kDa (kilodalton) sampai 70.000 kDa, kecuali enzim dari perkebunan gula bit yaitu 28.000 kDa (Masudi dan Sugawa, 1980 dalam Zhu, *et.al.*, 1997). Aktivitas optimum SAI pada pH rendah antara 4 – 5,5 mempunyai aktivitas berbeda berfungsi optimal pada pemuliaan siklus pertumbuhan sel kemudian menurun aktivitasnya dengan segera pada saat akumulasi sukrosa terjadi dengan cepat (Goldner *et.al.*, 1991).

Gayler dan Glasziou (1972) melaporkan bahwa SAI merupakan enzim kunci yang mengatur akumulasi sukrosa pada jaringan penyimpanan batang tebu. Zhu *et.al* (1997) juga menyampaikan bahwa aktivitas SAI bervariasi seiring dengan umur interode. Aktivitas paling tinggi terjadi pada internode muda klon pengakumulasi sukrosa rendah, dan paling rendah pada klon pengakumulasi sukrosa tinggi.

Spesies yang mengakumulasi sukrosa tinggi biasanya mempunyai aktivitas SAI yang rendah (Huber, 1992). Aktivitas SAI relatif tinggi dan mengalami penurunan aktivitas pada saat sukrosa terakumulasi (Miron dan Schaffer, 1990). Pada klon pengakumulasi sukrosa tinggi, aktivitas SAI tertinggi pada internode muda (pucuk), dan menurun dengan cepat pada internode nomor 3 atau 5. Penurunan ini sejalan dengan fakta bahwa akumulasi sukrosa dimulai pada internode ini.

Menurut Hubart *et. al.* (1989) menyatakan bahwa akumulasi sukrosa pada tanaman melon ditentukan oleh hubungan antara aktivitas SPS (biosintesis sukrosa) dan aktivitas SAI (penyebab penurunan sukrosa)

#### **2.4 Hipotesis**

- a. Terdapat perbedaan aktivitas *Soluble Acid Invertase* antara klon tebu genjah dan klon tebu non genjah.
- b. Terdapat perbedaan mengenai akumulasi gula (sukrosa dan gula reduksi) dibatang klon tebu genjah dan klon tebu non genjah pada umur 6-7 bulan.
- c. Terdapat korelasi antara aktivitas SAI dengan kandungan sukrosa maupun dengan kandungan gula reduksi pada batang klon tebu genjah dan non genjah.





### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Tempat dan waktu Percobaan

Penelitian dilaksanakan di rumah kot dan laboratorium Biologi Molekuler, Puslit Biologi Molekuler Universitas Jember. Pelaksanaan penelitian dilakukan mulai bulan April 2002 sampai dengan Nopember 2002.

#### 3.2 Pelaksanaan Penelitian

##### 3.2.1 Bahan tanam dan Pertumbuhan tanaman

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah bibit tebu genjah PSTG 87-22643 serta tebu non genjah M 442-51 (masak tengah lambat). Bahan dan alat tanam yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah bahan dan alat yang berfungsi untuk menumbuhkan bibit tanaman tebu.

Bibit tanaman tebu genjah dan non genjah dengan bentuk bibit bagal dikecambahkan terlebih dahulu pada media pasir yang bersih selama  $\pm 2$  minggu. Sementara mengecambahkan, disiapkan media tanam tanah kering angin yang dimasukkan pada poly bag. Setelah berkecambah, bibit tebu genjah PS 87-22643 dan non genjah M 442-51 ditumbuhkan pada poly bag yang telah diisi tanah. Masing-masing poly bag ditanam satu bibit semai.

Pupuk nitrogen diberikan sesuai standart yaitu 100 % N, pupuk P dan K juga diberikan sesuai standar yaitu 1 ku TSP / ha dan 2 ku KCl. / Ha. Dosis pupuk ditetapkan berdasarkan analisis tanah dan nomografi (Pawirosemadi, 1996), seperti tercantum pada lampiran 2. Waktu pemupukan ditetapkan sebagai berikut :

- Pupuk I : bersamaan tanam (seluruh dosis pupuk P dan K)
- Pupuk II : umur  $\frac{1}{2}$  - 1 bulan (seluruh dosis N)

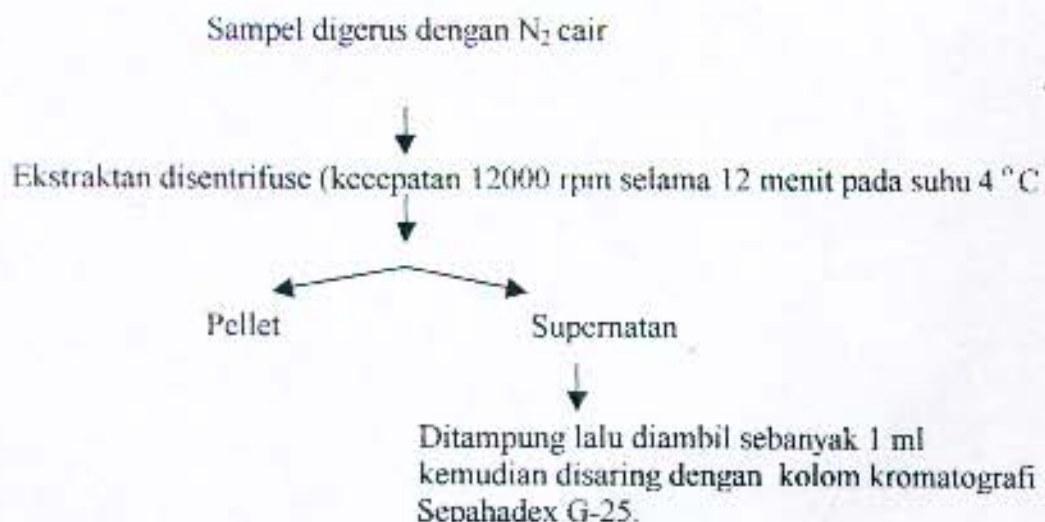
Pemeliharaan tanaman yang lain seperti penyiraman dan pengendalian hama penyakit dilakukan sesuai baku teknis dengan memperhatikan kondisi tanaman di lapang.

Pertumbuhan meliputi tinggi tanaman, jumlah tunas, jumlah daun dan diameter batang. Pengambilan contoh batang dilakukan dengan cara batang tebu diambil

dipilih batang yang merupakan perkembangan tunas primer supaya umurnya sama. Pengambilan contoh batang tebu dilakukan pada setiap internode mulai internode ke-1 sampai dengan ke-7 dimana didefinisikan internode ke-1 sebagai internode pertama yang berada dibawah daun yang membuka sempurna. Kemudian contoh batang tebu yang telah diambil sesuai dengan internodenya lalu dibelah menjadi dua bagian, satu bagian untuk analisa enzim dan total protein terlarut dan bagian yang lainnya untuk analisa kandungan gula (sukrosa dan gula reduksi).

### 3.2.2 Ekstraksi Enzim dari batang tebu

Batang dari tiap internode digerus dengan menggunakan mortal stumper dingin dengan nitrogen cair, setelah halus ditambahkan larutan buffer ekstraksi dengan volume sebanyak 2 kali berat sample. Komposisi buffer ekstraksi adalah 50 mM MOPS (pH 7,5); 12 mM  $MgCl_2$ ; 1 mM EDTA, serta 10 mM DTT dan 0,1 mM PMSF. Ekstraktan disentrifuse dengan kecepatan 12.000 rpm selama 12 menit pada suhu 4°C, lalu diambil supernatannya. Crude ekstrak disaring dengan kolom kromatografi Sephadex G-25 yang sudah diequilibrasi dengan larutan buffer pada suhu 4°C. Bagan urutan kerja ekstraksi enzim seperti pada gambar berikut :



Gambar 1 : Bagan urutan kerja ekstraksi enzim



### 3.2.3 Ekstraksi Gula dari batang tebu

Sebanyak  $\pm$  2 gr batang tebu digerus dengan menggunakan mortal stumper. Setelah berbentuk bubuk (powder) maka dapat ditambahkan ethanol sebanyak 50  $\mu$ L kemudian pada suhu 80 °C. Hasil yang didapatkan kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring sehingga didapatkan supernatan sedangkan pelletnya dapat ditambahkan ethanol lagi lalu diinkubasi pada suhu 80°C kemudian supernatan ditampung , begitu seterusnya sampai pellet berwarna putih. Selanjutnya supernatan yang ditampung dievaporator untuk memisahkan ethanol dan gula total. Hasil akhirnya adalah pellet yang berupa gula total dan siap untuk dianalisa.

## 3.3 Pengamatan

### 3.3.1 Pengukuran Aktivitas *Soluble Acid Invertase*

Pengukuran Aktivitas enzim menggunakan metode yang disebutkan oleh Zhu *et.al* (1997). Aktivitas SAI diukur dalam larutan penguji yaitu 50  $\mu$ l Sodium asetat (pH 4,5) dan 50  $\mu$ l enzim. Reaksi enzim dimulai dengan menambahkan 100  $\mu$ l larutan sukrosa (120 mM). Larutan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 30  $\mu$ l Tris base (2,5 M) dan 250  $\mu$ l Reagent Somogy, lalu dipanaskan pada suhu 100 °C selama 20 menit. Setelah dingin tambahkan 250  $\mu$ l Reagent Nelson , kemudian volume dijadikan 3,125 ml dengan menambahkan aquades. Besarnya gula reduksi yang terbentuk ditentukan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 760 nm dengan membanding standar gula reduksi yang digunakan (5 mM fruktosa) dengan volume pengambilan yang bertingkat 0, 5, 15, 30, dan 50  $\mu$ L. Satu unit enzim AI didefinisikan sebagai sejumlah enzim yang dapat menghasilkan gula reduksi (mM) per menit pada suhu 30 °C.

### 3.3.2 Penentuan Kandungan Protein Terlarut (TPT)

Kandungan total protein terlarut diukur menurut metode Bradford (1976) dengan BSA sebagai standar protein dengan kandungan 0, 5, 10, 20, 40, dan

60 µl. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 595 nm.

### **3.3.3 Penentuan Kandungan Sukrosa**

Pengujian kandungan sukrosa dengan pemberian 50µl pellet yang sudah diencerkan ditambah 70 µl NaOH (0,1N) kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu 100 °C. Setelah dingin tambahkan 250 µl reagent resorsinol (1% dalam ethanol 95%) dan 750 µl HCl 30%, lalu campuran tersebut diinkubasi lagi selama 8 menit pada suhu 80 °C. Kandungan sukrosa diukur absorbansinya pada panjang gelombang 520 nm dan standar sukrosa 3 mM dengan volume bertingkat 0, 10, 20, 30, 40, dan 50 µl sebagai pembanding.

### **3.3.4 Penentuan Kandungan Gula Reduksi**

Pengujian kandungan gula reduksi dengan memasukkan 50 µl pellet dan 250 µl Reagent Somogy pada tabung reaksi lalu diinkubasi selama 20 menit pada suhu 100 °C. Setelah dingin tambahkan 250 µl Reagent Nelson kemudian encerkan dengan aquadest sampai volume 1,5 ml. Kandungan gula reduksi diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 760 nm dan standart glukosa dengan volume bertingkat 0, 10, 20, 30, 40, dan 50 µl sebagai pembandingnya.





## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat ditarik beberapa kesimpulan yaitu :

1. Varietas tebu non genjah memiliki aktivitas SAI pada batang lebih tinggi dibandingkan varietas tebu genjah.
2. Kandungan sukrosa pada internode ke-1 sampai dengan ke-7 belum dapat mencerminkan tingkat rendemen pada batang tebu.
3. Korelasi antara aktivitas SAI dengan kandungan sukrosa menunjukkan hasil yang rendah ( $r^2 = 0,03$ ). Jadi Akumulasi sukrosa tidak hanya ditentukan oleh tingkat degradasinya tetapi juga ditentukan oleh tingkat sintesis sukrosa dimana keseimbangan kedua enzim tersebut lebih menentukan kandungan sukrosa yang dihasilkan pada batang tebu.
4. Dengan bertambahnya internode batang tebu maka terjadi peningkatan kandungan sukrosa namun kandungan gula reduksi mengalami penurunan.
5. Terdapat korelasi yang tinggi antara aktivitas SAI dengan kandungan gula reduksi pada batang tebu

### 5.2 Saran

Penelitian sebelumnya menganalisa enzim pensintesis sukrosa (SPS) masih belum memberikan hasil, oleh karna itu penelitian lebih lanjut tentang enzim pensintesis sukrosa (SPS) pada tanaman tebu perlu dilakukan untuk memastikan akumulasi sukrosa tiap-tiap internode pada batang tebu genjah dan non genjah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, A.G. 1973. *A comprehensive Study of the Saccharum Source-to Sink System. Sugarcane Physiology*. Agriculture Experiment Station University of Puerto Rico.
- Botha, F.C and Black, K.G. 2000. *Sucrose Phosphate Synthase and Sucrose Synthase Activity during maturation of internodal tissue in Sugarcane*. *Plant Physiol.* 27 : 81-85.
- Gayler, K. and R. Glasziou, K.T. 1972. *Physiological Functions of Acid and Neutral Invertase in Growth and Sugar Storage in Sugarcane*. *Plant Physiol.* 27 : 25-31
- Howard, H.F. and F.H. Witham. 1983. *Invertase activity and the kinetin stimulated enlargement of detached radish cotyledons*. *Plant Physiol.* 73 : 304-308.
- Hubard, N.I., S.C. Huber and D.M. Pharr. 1989. *Sucrose Phosphate Synthase and Acid Invertase as Determinant of Sucrose Concentration in Developing Musk Melon (*Cucumis melon*) fruits*. *Plant Physiol.* 91 : 1529-1534.
- Huber, J.L. and S.E. Huber. 1992. *Role of Sucrose Phosphate Synthase in Sucrose Metabolism in Leaves*. *Plant Physiol.* 99 : 1275-1278
- Huber, S.C and J.L. Huber. 1996. *Role and Regulation of Sucrose Phosphate Synthase in higher Plants*. *Plant Physiol.* 47: 431-444.
- Kohler, J., E. Komor, M. Thom and A. Maretzki. 1988. *Activity of Sucrose Phosphate Synthase in Sugarcane Leaves*. *Phytochemistry* 77: 1605-1608.
- Lingle, S.E and R.C. Smith. 1991. *Sucrose Metabolism Selected to Growth and Ripening in Sugarcane Internodes*. *Crop Science*. 31: 172-177.
- Lingle, S.E., A.B. Allen and M.I. Valdez-Garza. 2001. *Comparison of Sucrose Metabolism and Expression in two diverse Saccharum genotypes*. *Proc. Int. Soc. Sugar Tech.* XXIV. Australia. 323-326



- Marjayanti, S. dan W.D. Arsana. 2000. *Tebu Genjah Sebagai Alternatif Pasok Awal Giling yang Efisien*. Berita P3GI. 27: 5-10.
- Miron, D. and A.A. Schaffer. 1990. *Sucrose phosphate synthase, Sucrose synthase and Invertase activities in developing fruit of Lycopersicon esculentum Mill and the sucrose Accumulating Lycopersicon hirsutum*. Plant Physiol. 95 : 623-627
- Salisbury, F.B. dan C.W. Ross. 1995. *Plant Physiol*. Wadsword. Belmont, California.
- Sugiharto, B. 1992. *Pengaruh dosis umur nitrogen terhadap kandungan enzim utama asimilasi karbon dan biomassa tanaman jagung*. Departemen Pendidikan dan kebudayaan RI. Universitas Jember
- Sugiharto, B. 1995. *Effects on activities of the phosphoenol pyruvate carboxylase and sucrose phosphate synthase, and the levels of sucrose in sugarcane leaf*. Photosintesis Research an International Journal in Xth International Photosynthesis Congress. 20-25 August 1995. Montpellier, France.
- Sugiharto, B., T. Handoyo dan Sumadi. 1997. *Variabilitas genetik dalam nzim fotosintetik dan enzim metabolisme sukrosa pada beberapa varietas tebu*. **Zuriat**. 7: 76-78.
- Sugiharto, B. 1997. *Karakterisasi dan Isolasi gen asimilasi karbon untuk perakitan varietas unggul tebu melalui rekayasa genetik*. Laporan Riset Terpadu Tahun 1996/1997.
- Sukarso, G., T.H. Suci dan Soepardi. 1992. *Kadar Gula Total Varietas Tebu Umur 6-7 bulan dari PS 87*. Berita P3GI. 7: 1.
- Sukarso, G., B. Trijanto dan T. Harisutji. 1993. *Varietas Tebu Genjah*. Berita P3GI. 8: 1.
- Supriyadi, A. 1992. *Rendemen Tebu dan Liku-liku Permasalahannya*. Penerbit Kanius. Yogyakarta.
- Suryani, A. 2000. *Keragaan PS 87 - 22643 dan PS 87 - 22870 sebagai varietas tebu genjah*. Berita P3GI. 27 : 1-4.

- Sutardjo, E. 1999. *Budidaya Tanaman Tebu*. Bumi Aksara. Jakarta.
- Widyasari, W.B. 2000. *Peranan enzim Invertase Dan Sucrose Phosphate Synthase pada Akumulasi Sukrosa (gula) dalam Batang Tebu*. Buletin P3GI Pasuruan No. 154.
- Zhu, Yun, J.E. Komor and P.H. Moore. 1997. *Sucrose Accumulation in the Sugarcane is Regulated the Difference between the Activities of Soluble Acid Invertase and Sucrose Phosphate Synthase*. *Plant Physiol.* 115: 609-61

### **LAMPIRAN 1 : Pengamatan pertumbuhan**

1. Tinggi tanaman, diukur pada umur 5,6 dan 7 bulan. Pengukuran tinggi dilakukan mulai permukaan tanah sampai dengan daun  $k + 1$  menurut Kuijper yaitu daun pertama yang telah membuka sempurna. Pengamatan dilakukan pada seluruh tanaman (tunas) dalam poly bag.
2. Jumlah daun dihitung mulai umur 5, 6 dan 7 bulan pada sample batang yang sama untuk pengukuran tinggi tanaman.
3. Jumlah tunas dihitung mulai umur 5, 6 dan 7 bulan dengan mengamati seluruh tunas yang ada.



## LAMPIRAN 2 : Perhitungan Dosis Pupuk per Hektar

1. Kandungan hara N, P, dan K berdasarkan analisis tanah yaitu:

- N : 0,12%
- $P_2O_5$  : 75 ppm
- $K_2O$  : 156 ppm

2. Perhitungan kebutuhan pupuk

a. Menentukan dosis pupuk N

N tanah sebesar 0,12% tergolong sedang, kesesuaian dengan anak panah nomograf menunjuk angka 100 berarti tanah tersebut perlu dipupuk 100 kg N/ha atau dengan pupuk ZA (20% N) sebesar :

$$\frac{100}{20} \times 100 \text{ kg ZA} = 500 \text{ kg ZA atau 5 ku ZA}$$

b. Menentukan dosis pupuk P

P tanah sebesar 75 ppm tergolong tinggi sekali, berdasarkan kesesuaian nomograf seharusnya tidak ditambah pupuk P tetapi untuk tindakan preventif dapat ditambahkan 1 ku TSP/ha.

c. Menentukan dosis pupuk K

K tanah sebesar 156 ppm tergolong sedang, kesesuaian dengan anak panah nomograf menunjuk angka  $\pm 117,5$  berarti tanah tersebut perlu dipupuk 117,5 Kg  $K_2O$ /ha, atau dengan pupuk KCl (60% $K_2O$ ) sebesar :

$$\frac{117,5}{60} \times 100 \text{ kg KCl} = 195,8 \text{ KCl/ha dibulatkan 2 ku KCl/ha}$$

### LAMPIRAN 3 : Perhitungan Kebutuhan Pupuk per poly bag

1. Poly bag dengan berat tanah 40 kg

$$Bv \text{ tanah} = 1,05 \text{ gr/cm}^3$$

Berat tanah / ha kedalaman 20 cm :

$$= 1,05 \text{ gr/cm}^3 \times 20 \text{ cm} \times 10000 \text{ cm} \times 10000 \text{ cm}$$

$$= 1,05 \text{ gr/cm}^3 \times 2 \cdot 10^9 \text{ cm}^3$$

$$= 2,1 \cdot 10^9 \text{ cm}^3$$

$$= 2,1 \cdot 10^6 \text{ kg}$$

- a) Kebutuhan pupuk N per poly bag

Perlakuan N = 5 ku ZA/ha

$$\frac{40 \text{ kg}}{2,1 \cdot 10^6 \text{ kg}} \times 500 \text{ kg ZA}$$

$$= 0,00952 \text{ kg ZA}$$

$$= 9,52 \text{ ZA}$$

**LAMPIRAN 4 : PENAMPILAN KARAKTER MORFOLOGI TANAMAN  
TEBU GENJAH DAN NON GENJAH PADA UMUR  
BERBEDA**

A. Tebu genjah (PSTG 87-2264)

Umur (bln)	Tinggi Tanaman	$\Sigma$ daun	$\Sigma$ tunas	Diameter		
				Atas	Tengah	Bawah
5	103,25	10	3	3,75	6,88	8
6	146,25	11	4	4,63	7,38	8,88
7	233,5	11	5	5,125	7,88	9,38

B. Tebu non genjah (M 442-51)

Umur (bln)	Tinggi Tanaman	$\Sigma$ daun	$\Sigma$ tunas	Diameter		
				Atas	Tengah	Bawah
5	114	4	10	4,4	7,5	9,13
6	160,25	10	11	5,38	7,88	9,38
7	239	7	7	6,13	8,38	10,25



MIK UPT Perpustakaan  
UNIVERSITAS JEMBER