



**AKTIVITAS *SUCROSE PHOSPHATE SYNTHASE*
DAN KANDUNGAN SUKROSA PADA
TANAMAN TEBU *OVEREKSPRESI*
*SUCROSE PHOSPHATE SYNTHASE***

SKRIPSI

**Diajukan guna memenuhi salah satu persyaratan
Untuk menyelesaikan Program Sarjana pada
Program Studi Agronomi Jurusan Budidaya Pertanian
Fakultas Pertanian Universitas Jember**

Oleh

**Yuwanita Kurniawati
NIM. 021510101014**

**JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2007

SKRIPSI

**AKTIVITAS *SUCROSE PHOSPHATE SYNTHASE*
DAN KANDUNGAN SUKROSA PADA
TANAMAN TEBU *OVEREKSPRESI*
*SUCROSE PHOSPHATE SYNTHASE***

Oleh

Yuwanita Kurniawati

NIM. 021510101014

Pembimbing

Pembimbing Utama : Tri Agus Siswoyo, SP., M.Agr., Ph.D.

Pembimbing Anggota : Ir. Slameto, MP.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul: **Aktivitas *Sucrose Phosphate Synthase* dan Kandungan Sukrosa pada Tanaman Tebu *Overekspresi Sucrose Phosphate Synthase***, telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Pertanian pada:

Hari : Kamis
Tanggal : 21 Juni 2007
Tempat : Fakultas Pertanian

Tim Penguji
Ketua,

Tri Agus Siswoyo, SP., MAgr., Ph.D
NIP.132 207 406

Anggota I,

Ir. Slameto, MP
NIP.131 658 010

Anggota II,

Ir. Bambang Sukowardojo, MP
NIP. 130 905 615

Mengesahkan
Dekan,

Prof. Dr. Ir. Endang Budi Trisusilowati, MS
NIP. 130 531 982

RINGKASAN

Aktivitas *Sucrose Phosphate Synthase* dan Kandungan Sukrosa pada Tanaman Tebu *Overekspresi Sucrose Phosphate Synthase*; Yuwanita Kurniawati; 021510101014; 2007; 31 halaman; Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Jember

Sucrose Phosphate Synthase (SPS) merupakan enzim penting dalam biosintesis sukrosa. Keberadaan SPS sangat mempengaruhi pertumbuhan tanaman. Hal ini disebabkan SPS memiliki hubungan langsung dengan pembentukan sukrosa. Pada tanaman tebu aktivitas SPS menentukan akumulasi sukrosa di daun dan berkorelasi tinggi dengan tingkat pertumbuhan dan hasil gulanya. SPS juga merupakan enzim yang menentukan kandungan sukrosa pada batang tebu. Pemanfaatan teknologi rekayasa genetika menggunakan cara *overekspresi* SPS diharapkan mampu untuk meningkatkan rendemen tanaman tebu. Salah satu hasil rekayasa genetika adalah tanaman *overekspresi*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas SPS dan kandungan sukrosa pada tanaman tebu *overekspresi* SPS dan untuk mengetahui korelasi antara aktivitas SPS dan kandungan sukrosa baik di daun maupun di batang tanaman tebu *overekspresi* SPS. Hasil penelitian diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai dasar pengembangan penelitian bioteknologi pada tanaman tebu *overekspresi* SPS. Disamping hal tersebut hasil penelitian ini juga diharapkan dapat memberikan suatu gambaran tentang besarnya aktivitas SPS dan kandungan sukrosa pada tanaman tebu *overekspresi* SPS serta dapat memberikan informasi tentang korelasi antara aktivitas SPS dan kandungan sukrosa.

Bahan yang digunakan antara lain MOPS-NaOH, PMSF, DNS, PVD, dan β -ME, sedangkan alat yang digunakan antara lain *mortal-stumper*, tabung reaksi, neraca digital, sentrifuse, spektrofotometer, mikro pipet, *water bath*, dan lain-lain. Tanaman hasil *overekspresi* yang diuji terdiri dari 20 tanaman transforman dan satu tanaman kontrol. Penelitian dilaksanakan dengan cara ekstraksi enzim, pengukuran aktivitas enzim, penentuan kandungan sukrosa daun, penentuan kandungan sukrosa batang dan penentuan kandungan protein.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 20 tanaman transforman yang diuji semua tanaman mengalami peningkatan aktivitas SPS dibandingkan dengan kontrol. Sedangkan untuk kandungan sukrosa daun dari 20 tanaman transforman yang diuji yang mengalami peningkatan dibandingkan dengan kontrol adalah sebanyak 17 tanaman transforman sedangkan untuk kandungan sukrosa batang semua tanaman transforman mengalami peningkatan dibandingkan kontrol dari 7 tanaman transforman yang diuji. Hubungan antara aktivitas SPS dan kandungan sukrosa daun menunjukkan korelasi positif dengan nilai $r = 0,59$ dan hubungan aktivitas SPS dan kandungan sukrosa batang juga menunjukkan korelasi positif dengan nilai $r = 0,88$.

SUMMARY

The Behaviors of Sucrose Phosphate Synthase and Sucrose Substance on Sugar-Cane Plants with Overexpression Sucrose Phosphate Syntheses. Yuwanita Kurniawati; 021510101014; 2007; 31 pages; Agronomy Department, Faculty of Agriculture, Jember University

Sucrose Phosphate Syntheses (SPS) is an important enzyme in biosynthetic sucrose. The existence of SPS strongly influences plant growth. This is because SPS has a direct relation with sucrose formation. On sugar-cane plants, the SPS activities determine sucrose accumulation on leaves and highly correlate with growth level and the production of sugar. SPS is also an enzyme which controls sucrose substance on sugar-cane stem. The use of genetic engineering technology involving SPS overexpression is expected to increase sucrose of sugar-cane plants. One of the results of genetic engineering is overexpression plants. In line with this, this research is intended to identify SPS behaviors and sucrose substance on sugar-cane plants with SPS overexpression and to recognize the correlation between SPS behaviors and sucrose substance either on the leaves or in the stem of sugar-cane plants with SPS overexpression. This research is expected to be the basis of biotechnological research development on sugar-cane plants with SPS overexpression. Besides, the research findings can hopefully give a clear description of the number of SPS behaviors and sucrose substance on the sugar-cane plants with SPS overexpression and can provide information about the correlation between SPS behaviors and sucrose substance.

The materials involved were MOPS-NaOH, PMSF, DNS, PVD, and β -ME. Meanwhile, the tools used were mortar-stamper, reaction cylinder, digital balance, centrifuge, spectrophotometer, micro pipet, water bath, etc. The overexpression plants examined consisted of 20 transformed plants and one controlling plants. The research was undertaken by extracting enzyme, measuring enzyme behaviors, determining sucrose substance of leaves, determining sucrose substance of stem, and determining protein substance.

The research findings showed that of 20 transformed plants which were examined, all plants experienced SPS behavior increase compared to the

controlling plants. Meanwhile, for the sucrose substance of leaves, of the 20 transformed plants examined, 17 plants experienced an increase compared to the controlling plants. Furthermore, the sucrose substance of stems of all transformed plants increased compared to controlling plants of 7 transformed plants examined. The correlation between SPS behaviors and sucrose substance indicated positive correlation with value of $r = 0.59$. In addition, the correlation between SPS behaviors and sucrose substance of stems showed positive correlation with the value of $r = 0.88$.

PRAKATA

Alhamdulillah, penulis memanjatkan syukur kehadirat Allah SWT atas rahmat dan hidayahNya, Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi) yang berjudul “**Aktivitas *Sucrose Phosphste Synthase* dan Kandungan Sukrosa pada Tanaman Tebu *Overekspresi Sucrose Phosphate Synthase***” ini dapat terselesaikan. Penelitian ini didanai oleh PTPN XI. Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu menyelesaikan tulisan ini terutama kepada :

1. Ayah dan Ibu, Adik-adikku, Rohman beserta segenap keluarga dan sahabat-sahabatku atas dukungan dan doanya.
2. Tri Agus Siswoyo, SP., M.Agr., Ph. D selaku Dosen Pembimbing Utama, Ir. Slameto, MP selaku Dosen Pembimbing Anggota, dan Ir. Bambang Sukowardojo, MP sebagai dosen Pembimbing Akademik dan sebagai penguji skripsi yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. Prof. Dr. Ir. Bambang Sugiharto, M.Agr. Sc. dan Dr. Tri Handoyo, SP. Sebagai ketua dan wakil tim proyek dari PTPN XI yang telah memberikan kesempatan, bimbingan serta masukan dalam penyelesaian skripsi ini.
4. Direktur PTPN XI yang telah mendanai penelitian ini.
5. Prof. Dr. Ir. Endang Budi Trisusilowati, MS. Selaku Dekan Fakultas Pertanian Unversitas Jember.
6. Ir. Bambang Kusmanadi, MS. Selaku Ketua Jurusan Budidaya Pertanian.
7. Keluarga besar Biologi Molekuler Universitas Jember dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan dukungan selama pelaksanaan penelitian hingga penulisan skripsi selesai.

Penulis menyadari bahwa kesempurnaan bukan milik manusia tetapi hanya milik Allah SWT, sehingga disampaikan ucapan maaf yang sebesar-besarnya atas kesalahan dalam skripsi ini. Semoga Karya Ilmiah Tertulis ini dapat bermanfaat.

Jember, Juni 2007

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PEMBIMBING	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
RINGKASAN	iv
SUMMARY	vi
PRAKATA	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR ISTILAH	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Dasar Asimilasi Carbon pada Tanaman Tebu (C4)	4
2.2 Peranan Sucrose Phosphate Synthase pada Akumulasi Sukrosa	5
2.3 Rekayasa Genetik <i>Overekspresi</i> Tanaman Tebu	7
2.4 Transformasi Gen Menggunakan <i>Agrobacterium</i> <i>tumefaciens</i>	9
2.5 Hipotesis	11

BAB 3. METODE PENELITIAN	12
3.1 Waktu dan Tempat	12
3.2 Bahan dan Alat	12
3.3 Tahapan Penelitian.....	12
3.3.1 Bahan Tanam	12
3.3.2 Ekstraksi Enzim	13
3.3.3 Pengukuran Aktivitas Enzim	13
3.3.4 Penentuan Kandungan Sukrosa Daun	13
3.3.5 Penentuan Kandungan Sukrosa Batang	14
3.3.6 Penentuan Kandungan Protein.....	15
3.3.7 Rancangan Percobaan	15
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	15
4.1 Aktivitas SPS pada Tanaman Tebu <i>Overekspresi</i> SPS dan Tanaman Kontrol	16
4.2 Kandungan Sukrosa Daun dan Batang pada Tanaman Tebu <i>Overekspresi</i> SPS dan Tanaman Kontrol	17
4.3 Hubungan Aktivitas SPS dan Kandungan Sukrosa pada Tanaman Tebu <i>Overekspresi</i> SPS dan Tanaman Kontrol	19
BAB 5. SIMPULAN DAN SARAN	22
5.1 Simpulan	22
5.2 Saran	22
DAFTAR PUSTAKA	23

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul	Halaman
1.	Tanaman Transforman yang Mengalami Peningkatan Aktivitas SPS	16
2.	Beberapa Tanaman Transforman yang Mengalami Peningkatan Kandungan Sukrosa Daun	18
3.	Tanaman Transforman yang Mengalami Peningkatan Kandungan Sukrosa Batang	19

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul	Halaman
1.	Jalur Asimilasi Carbon Tanaman C4	5
2.	Lintasan Sintesis Sukrosa pada Sitosol dalam sel Fotosintesis	7
3.	Peta konstruksi pKYS-SPS1	9
4.	Proses Transfer T-DNA dari <i>Agrobacterium</i> ke Sel Tanaman	11

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul	Halaman
1.	Hasil Pengukuran Aktivitas SPS.....	27
2.	Hasil Pengukuran Kandungan Sukrosa Daun.....	28
3.	Hasil Pengukuran Kandungan Sukrosa Batang	29
4.	Hasil Pengukuran Total Protein Terlarut.....	30
5.	Standart yang Digunakan untuk Pengukuran.....	31

DAFTAR ISTILAH

ABS	:	absorbansi
AI	:	acid invertase
ATP	:	adenosin triphosphate
BB	:	berat basah
BSA	:	bovine serum albumin
DTT	:	dithiothreitol
EDTA	:	ethylenediaminetetraacetic acid
mM	:	mili molar
MOPS	:	3 (N-Morpolino) Propanol
NADH	:	nicotineamide adenine dinucleotida
PEG	:	polyethylen glicol
PEP	:	pospoenolpiruvate
PMSF	:	phenylmethylnsulfinil fluoride
PVP	:	polyvinylpoypirolidone
SPS	:	sucrose phosphate synthase
SS	:	sucrose synthase
TPT	:	total protein terlarut
Tris	:	(hydroxymethyl) aminomethane
UDPG	:	uridine diphosphoglucose
β -ME	:	β -Mercaptoetanol