

**PENINGKATAN SERAPAN NITROGEN DAN FOSFOR TEBU
TRANSGENIK IPB-1 YANG MENGEKSPRESIKAN GEN FITASE DI
LAHAN PG JATIROTO, JAWA TIMUR**

(Uptake of Nitrogen and Phosphorus by Transgenic
Sugarcane IPB-1 Expressing Phytase Gene Grown in PG Jatiroto Research
Field, West Java)

**Dwi Andreas Santosa¹⁾, Miza, Rahayu Widyastuti¹⁾, Kukuh Murtilaksono¹⁾,
Agus Purwito²⁾, Nurmalasari³⁾**

¹⁾ Dep. Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, Fakultas Pertanian IPB

²⁾ Dep. Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian IPB

³⁾ PT Perkebunan Nusantara XI, Surabaya, Jawa Timur

ABSTRAK

Gen fitase telah berhasil disisipkan ke dalam tanaman tebu PS851 yang menghasilkan tebu transgenik IPB-1. Tebu transgenik tersebut berhasil dipindahkan ke lapang dan diuji efisiensinya dalam menyerap unsur hara terutama N dan P. Hampir semua dari 20 klon tebu transgenik IPB-1 terseleksi yang berumur 3 bulan memiliki kandungan N dan P yang lebih tinggi dibanding isogeniknya (PS851) terutama untuk tanaman yang dipupuk dengan dosis 25% rekomendasi. Kandungan N klon-klon tebu transgenik juga lebih tinggi pada lahan yang diberi pemupukan P 50% dosis rekomendasi. Dari hasil percobaan lapang ini, tanaman tebu transgenik IPB-1 memiliki potensi untuk menurunkan penggunaan pupuk terutama P.

Kata kunci : Tebu transgenik IPB-1, serapan N dan P.

ABSTRACT

The fitase gene was successfully transferred into the sugarcane variety PS851 and produced transgenic sugarcane IPB-1. The plants were grown in the field and tested on the efficiency of N and P uptake. Most of all of 20 selected clones at 3 months old have N and P content higher than its isogenic counterpart (PS851) especially in the field fertilized with 25% of recommended P fertilizer dose. The N content was also higher in the transgenic plants than the isogenic in the field with 50% recommended P fertilizer dose. This result show that the transgenic sugarcane IPB-1 can reduce the fertilizer uses especially the P fertilizer.

Keywords: Transgenic sugarcane IPB-1, N and P uptake.

PENDAHULUAN

Pupuk fosfor (P) merupakan salah satu pupuk terpenting di dalam perkebunan tebu karena berpengaruh langsung terhadap rendemen (kandungan gula), serta proses kristalisasi gula di refinari. Penurunan dosis pemupukan P secara nyata menurunkan produksi gula. Dalam struktur biaya di perkebunan tebu,

pupuk menyusun komponen biaya terbesar yaitu berkisar 50 – 65% total biaya produksi, dan dari biaya tersebut sekitar 1/3 nya digunakan untuk pembelian pupuk P. Untuk suatu perkebunan tebu skala menengah dengan luas areal 200.000 hektar, biaya untuk pembelian pupuk P mencapai 360 milyar rupiah per musim.

Kendala pemupukan P lainnya adalah efisiensi pemupukan yang rendah karena dijerap oleh partikel liat dan organik, terlindi dan pengubahan menjadi P organik. Di dalam tanah senyawa P organik itu pada umumnya berkisar antara 20 - 50% dan 70% untuk tanah Andosol yang seluruhnya tidak dapat dimanfaatkan oleh tanaman. Di dalam jaringan tanaman sendiri, P juga mudah mengalami perubahan bentuk menjadi P organik. Sebagian P tersebut akan tersimpan dalam bentuk P organik (senyawa fitat). P dalam bentuk seperti itu tidak lagi tersedia untuk proses metabolisme tanaman. Ekspresi gen fitase pada tanaman tebu diharapkan berdampak positif bagi sistem metabolisme tanaman serta meningkatkan serapan P asal tanah. Dalam penelitian yang telah dikerjakan sejak tahun 2002, gen fitase asal bakteri telah berhasil ditransfer ke berbagai varietas tebu asal Indonesia (Santosa *et al.*, 2004).

Ketersediaan P di tanaman secara langsung akan mempengaruhi ketersediaan unsur-unsur hara lainnya terutama nitrogen (N). N merupakan unsur yang penting bagi budidaya tanaman tebu. Jika tanaman kekurangan N, maka tanaman akan tumbuh kerdil dan sistem perkarannya terbatas. Selain itu, pada hampir seluruh tanaman N merupakan unsur yang mengatur penyerapan dan penggunaan kalium (K), P, dan penyusun lainnya (Soepardi, 1983). N akan mempengaruhi pertumbuhan dan rendemen yang dihasilkan tebu.

Dengan penyisipan gen fitase ke tanaman tebu, diharapkan ketersediaan N akan meningkat, sehingga dapat mendukung pertumbuhan tanaman tebu. Hal ini dikarenakan, tanaman yang kekurangan P menjadi tidak mampu menyerap unsur lain yang salah satunya adalah N (Soepardi, 1983). Menurut Mengel dan Kirkby (1982) serta berdasarkan penelitian Gartner (1969) reaksi N tergantung seberapa baik tanaman disuplai oleh hara yang lain. Tanpa pemupukan P dan K reaksi N terhadap hasil panen lebih kecil jika dibandingkan dengan pemupukan P dan K dalam jumlah yang tepat.

Peningkatan serapan unsur hara terutama N dan P oleh tebu transgenik diharapkan akan meningkatkan hasil dan/atau meningkatkan efisiensi pemupukan. Tebu transgenik yang mengekspresikan gen fitase ditargetkan mampu menurunkan penggunaan pupuk P sebesar 50% tanpa berpengaruh terhadap kandungan P di jaringan, hasil dan rendemen tebu. Penurunan penggunaan pupuk P diharapkan menghemat biaya produksi cukup tinggi.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu

Penelitian dilakukan di kebun percobaan PG Jatiroto, Jawa Timur, Laboratorium Bioteknologi Tanah, Departemen Ilmu Tanah dan Sumber Daya Lahan, dan Laboratorium Bioteknologi Lingkungan, *Indonesian Center for Biodiversity and Biotechnology (ICBB)*, Bogor, pada bulan September 2008 – November 2009.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan antara lain adalah: 20 klon tebu transgenik terpilih, primer untuk deteksi gen fitase EC1 dan EC3, bahan-bahan untuk analisis molekuler, pupuk dan bahan lainnya untuk pemeliharaan tanaman serta bahan untuk analisis N dan P di jaringan tanaman.

Alat-alat yang digunakan antara lain adalah: lahan percobaan, alat-alat gelas, *laminar air flow cabinet*, *autoclave*, pisau, pinset, lampu bunsen/spritus, rak kultur, botol media, lemari es, aluminium foil, plastik *cling wrap*, inkubator, spektrofotometer, alat sentrifugasi, tabung *eppendorf*, pipet mikro, tip, mikro filter, *water bath*, mortar, perangkat elektroforesis, sarung tangan, mesin PCR, film polaroid, UV-transluminator, polibag, dan alat-alat pertanian.

Percobaan lapang

Percobaan lapang dibuat dalam petak-petak percobaan untuk penanaman 71 bibit stek batang klon tebu transgenik terpilih dan tebu isogenik untuk setiap perlakuan. Percobaan disusun dalam Rancangan acak Lengkap dengan 3 ulangan dan 2 perlakuan taraf pemupukan. Tebu ditanam di lahan penelitian tebu Perusahaan Gula (PG) Jatiroto, PT Perkebunan Nusantara XI, Jawa Timur.

Pemupukan P dilakukan sebanyak 25% dan 50% dari dosis yang dianjurkan. Pemupukan P di bawah dosis anjuran dilakukan karena dari hasil analisis tanah kandungan P sebesar 92 ppm yang berdasarkan kriteria tergolong sangat tinggi. Lubang tanam dibuat dengan kedalaman 35 cm dan jarak antar lubang tanam 30 cm, dan antar baris 100 cm. Pemupukan diberikan pada saat tanam. Pupuk lainnya diberikan sesuai dengan dosis anjuran.

Seleksi keragaan tanaman dilakukan terhadap 71 klon tersebut untuk mendapatkan 20 klon terbaik yang kemudian dianalisis kandungan N dan P jaringan. Parameter keragaan tanaman yang digunakan untuk seleksi yaitu: jumlah batang 1 dan 3 bulan, panjang dan lebar daun atas, serta panjang dan lebar daun bawah tebu.

Analisis Jaringan Tanaman

Dari 20 klon terseleksi yang ada di lapangan sebagian jaringan tanaman dipanen pada umur 3 dan 6 bulan. Parameter yang diukur adalah kandungan N dan P tanaman. Kandungan N diukur dengan metode Kjeldahl dan P diukur dengan metode P Bray.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Serapan Nitrogen Tebu Transgenik PS IPB 1

Dari hasil analisis yang telah dilakukan (Tabel 1), ternyata pada lahan 1 (25% P) hampir keseluruhan klon tebu transgenik pada umur 3 bulan memiliki kandungan N yang lebih tinggi dari isogenik PS 851. Sedangkan pada umur 6 bulan, masih terdapat 7 klon yang mengandung N di bawah isogenik PS 851. Pada lahan 2 (50% P) juga hampir keseluruhan klon tebu transgenik memiliki kandungan N di atas isogenik PS 851, bahkan pada umur 6 bulan, keseluruhan klon tebu transgenik, memiliki kandungan N lebih tinggi dari isogenik PS 851.

Tabel 1. Tabel Hasil Analisis Kandungan Nitrogen Tebu Transgenik PS IPB1 dan Isogeniknya (%).

Klon	Lahan 1		Lahan 2	
	3 Bulan	6 Bulan	3 Bulan	6 Bulan
1	1,680	0,875	1,295	1,155
2	1,575	0,840	1,435	1,085
3	1,470	0,875	1,435	1,120
5	1,820	0,910	1,575	1,190
7	1,505	1,050	1,260	1,120
12	1,770	1,015	1,490	1,400
20	1,680	0,910	1,505	1,225
29	2,170	0,805	1,155	1,155
34	1,520	1,050	1,810	1,120
36	1,645	0,805	1,365	1,260
39	1,740	0,980	1,630	1,295
41	1,470	0,770	1,645	1,120
46	1,840	0,945	1,420	1,295
52	1,740	0,805	1,560	1,260
53	1,575	0,945	1,785	1,470
55	1,225	0,910	1,575	1,330
56	1,750	0,805	1,190	1,225
59	1,400	0,735	1,400	1,225
70	2,120	0,945	1,490	1,365
71	1,700	0,945	1,980	1,610
Isogenik PS 851	1,435	0,875	1,225	0,945

Perbedaan besarnya kandungan nitrogen pada masing-masing klon tebu transgenik dan isogeniknya selain dikarenakan kemampuan penyerapan N pada setiap klon yang berbeda-beda juga dikarenakan berbagai faktor yang mempengaruhi serapan N pada tanaman. N diserap tanaman dalam bentuk NO_3^- atau NH_4^+ dari dalam larutan tanah dan dalam bentuk NH_3 dari atmosfer.

Serapan N dari larutan tanah dipengaruhi oleh suhu dan pH. Pada suhu rendah, NH_4^+ akan lebih cepat diserap dibandingkan dengan NO_3^- . Sedangkan pada suhu yang tinggi terjadi kondisi yang sebaliknya. Ammonium diserap dengan baik pada pH yang netral dan serapan menurun seiring dengan penurunan pH. Sedangkan serapan NO_3^- lebih cepat diserap pada nilai pH yang rendah (Rao and Rains, 1976). Gas amonia (NH_3) dijerap oleh trubus melalui stomata. Serapan ini tergantung dari tekanan parsial NH_3 di atmosfer. Serapan NH_3 tidak terjadi pada tekanan parsial atmosfer yang lebih kecil dari 2.5 nbar pada suhu 26°C .

Peningkatan tekanan membuat serapan NH_3 meningkat dan penurunan tekanan parsial menyebabkan kehilangan NH_3 dari tanaman (Mengel dan Kirkby, 1982).

Jika diurutkan, pada lahan 1 umur 3 bulan kandungan N yang tertinggi hingga terendah adalah Klon PS IPB1-29, 70, 46, 5, 12, 56, 39, 52, 71, 1, 20, 36, 2, 53, 34, 7, 3, 41, isogenik PS 851, 59, 55. Pada lahan 1 umur 6 bulan kandungan N yang tertinggi hingga terendah adalah Klon PS IPB1-7, 34, 12, 39, 46, 53, 70, 71, 5, 20, 55, 1, 3, isogenik PS 851, 2, 29, 36, 52, 56, 41, 59. Pada lahan 2 umur 3 bulan kandungan N yang tertinggi hingga terendah adalah Klon PS IPB1-71, 34, 53, 41, 39, 5, 55, 52, 20, 12, 70, 2, 3, 46, 59, 36, 1, 7, isogenik PS 851, 56, 29. Pada lahan 2 umur 6 bulan kandungan N yang tertinggi hingga terendah adalah Klon PS IPB 1-71, 53, 12, 70, 55, 39, 46, 36, 52, 20, 56, 59, 5, 1, 29, 3, 7, 34, 41, 2, isogenik PS 851.

Berdasarkan umurnya, ternyata kandungan nitrogen tebu transgenik pada lahan 1 saat berumur 3 bulan, jelas terlihat lebih tinggi dibandingkan pada saat umur 6 bulan. Sedangkan pada lahan 2 walaupun tidak terlalu jauh perbedaannya, namun hampir keseluruhan klon tebu pada saat berumur 3 bulan, memiliki kandungan nitrogen yang lebih tinggi daripada klon berumur 6 bulan. Hal ini dikarenakan tebu menyerap unsur N terbanyak pada saat berumur 3 sampai 4 bulan (Sudiatso, 1980). Selain itu, unsur N sangat diperlukan pada fase pemanjangan batang yang terjadi pada saat tebu berumur 4-9 bulan (Satuan Kerja Pengembangan Tebu Jatim, 2005), sehingga kemungkinan unsur N yang terdapat pada tebu saat berumur 6 bulan sudah digunakan tanaman tebu untuk pertumbuhan dan pemanjangan batangnya, baik jumlah batang, tinggi batang, diameter batang, jumlah ruas, dan pengembangan tajuk daunnya.

Penurunan konsentrasi nitrogen berdasarkan waktu juga dinyatakan oleh Ziadi *et al.* (2008) dimana semakin matang tanaman maka konsentrasi N akan menurun. Selain itu, kehilangan NH_3 terjadi lebih besar pada saat tanaman berumur lebih lanjut, dibandingkan saat masih muda. Hal ini, mengakibatkan kandungan N pada saat tanaman berumur lebih muda, menjadi lebih tinggi dibandingkan dengan pada saat tanaman berumur lebih tua.

Jika dilihat dari perlakuannya, ternyata terjadi fenomena yang berbeda diantara kedua lahan pada stadia umur 3 bulan dan 6 bulan. Pada saat berumur 3

bulan ternyata kandungan N klon-klon tebu transgenik pada lahan 1 (25% P), dominan lebih tinggi dibandingkan dengan lahan 2 (50% P). Sedangkan pada saat berumur 6 bulan kandungan N klon-klon tebu transgenik pada lahan 1 (25% P) seluruhnya lebih rendah dibandingkan dengan lahan 2. Namun perbedaan kandungan hara pada lahan 1 dan lahan 2 pada umur 3 bulan, tidak berbeda secara signifikan. Sedangkan pada umur 6 bulan, perbedaan kandungan N pada kedua lahan terlihat jelas.

Menurut pendapat Dwisejoputro (1980), terdapat pengaruh timbal balik antara ketersediaan P dengan serapan N, dimana jika P yang tersedia di dalam tanah tidak cukup banyak, maka N yang ada akan berkurang. Berdasarkan analisis tanah yang telah dilakukan sebelumnya, kandungan P pada lahan sebelum ditanami menunjukkan kandungan P yang tinggi. Pada umur 3 bulan, ternyata pada lahan 1 yang diberikan pemupukan hara P yang lebih rendah sebagian besar klon-klon tebu transgenik mampu menyerap N lebih tinggi dibandingkan klon-klon tebu transgenik pada lahan 2 walaupun tidak terlalu jauh perbedaannya. Kondisi hara P yang tinggi pada lahan menyebabkan tanaman berada pada kondisi hara P yang cukup sehingga tidak mengganggu serapan hara nitrogen. Selain itu, dengan adanya gen fitase yang telah disisipkan pada tebu transgenik, memungkinkan tanaman dapat mengubah hara P yang terikat dalam bentuk P organik menjadi tersedia, sehingga ketersediaan P di dalam tanaman mencukupi walaupun dalam kondisi pemupukan P yang rendah. Hal ini, juga dinyatakan oleh Susiyanti *et al.* (2006), bahwa penyisipan gen fitase dapat meningkatkan ketersediaan P dalam jaringan tanaman maupun di sekitar perakaran, sehingga pemakaian pupuk P lebih efisien.

Ketika berumur 6 bulan, sebagian hara telah digunakan untuk metabolisme dan pertumbuhan tanaman tebu, sehingga kemungkinan hara yang ada semakin berkurang. Pada lahan 1 dengan 25% pemupukan P, kemungkinan terjadinya kekurangan hara lebih besar dibandingkan dengan lahan 2 yang menerima pemupukan P lebih tinggi. Hal ini mengakibatkan serapan nitrogen pada lahan 2 (50% P) lebih tinggi, dibandingkan dengan lahan 1 (25% P).

Serapan Fosfor Tebu Transgenik PS IPB 1

Dari hasil analisis yang telah dilakukan (Tabel 2), ternyata pada lahan 1 (25% P) umur 3 bulan, keseluruhan klon tebu transgenik memiliki kandungan P yang lebih tinggi dibandingkan isogenik PS 851, sedangkan pada umur 6 bulan terdapat 7 klon tebu transgenik yang memiliki kandungan P dibawah isogenik PS 851. Pada lahan 2 (50% P) juga masih terdapat cukup banyak klon transgenik yang memiliki kandungan P dibawah isogenik 851, dimana 9 klon pada umur 3 bulan dan 8 klon pada umur 6 bulan.

Tabel 2. Tabel Hasil Analisis Kandungan Fosfor Tebu Transgenik PS IPB1 dan Isogeniknya (ppm).

Klon	Lahan 1		Lahan 2	
	3 Bulan	6 Bulan	3 Bulan	6 Bulan
1	90	119	111	258
2	418	110	172	191
3	328	136	426	284
5	332	148	656	203
7	291	254	201	93
12	490	449	296	203
20	389	555	734	148
29	750	178	738	314
34	273	85	328	292
36	496	191	373	547
39	305	114	416	458
41	414	208	381	315
46	546	631	634	302
52	416	453	444	359
53	512	182	266	530
55	344	203	734	636
56	373	186	447	225
59	262	123	397	326
70	264	360	460	356
71	458	445	597	242
Isogenik PS 851	74	153	410	278

Perbedaan kandungan P yang terdapat pada masing-masing klon tebu transgenik dan isogeniknya dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya ekspresi gen fitase dan faktor lingkungan khususnya tanah. Selain itu, juga dipengaruhi oleh perbedaan kemampuan klon-klon tersebut dalam menyerap hara. Disamping ketersediaan P yang rendah pada larutan tanah dibandingkan dengan P yang

terjerap, serapan P juga dipengaruhi oleh pH (Mengel dan Kirkby, 1982). P bergerak ke permukaan akar melalui proses difusi yang terjadi karena perbedaan konsentrasi antara permukaan akar dan larutan tanah. P akan bergerak ke permukaan akar jika konsentrasi permukaan akar lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi pada larutan tanah. Menurut Leiwakabessy (1988), difusi dipengaruhi oleh kandungan air tanah, perbedaan konsentrasi larutan antara permukaan akar dan larutan tanah dan juga dipengaruhi oleh luas permukaan absorpsi hara.

Serapan P sangat dipengaruhi oleh perbedaan pH antara permukaan akar dengan larutan tanah yang juga dipengaruhi oleh bentuk N yang ditambahkan. Jika penambahan N yang diberikan dalam bentuk NO_3^- , maka serapan anion akan lebih besar dibandingkan dengan serapan kation sehingga OH^- akan dilepaskan dari akar dan menyebabkan pH pada permukaan akar akan lebih basa dibandingkan dengan larutan tanah sehingga serapan P dapat terjadi. Sedangkan jika penambahan N yang diberikan dalam bentuk NH_4^+ , serapan kation akan lebih besar dibandingkan dengan anion sehingga H^+ akan dilepaskan dari akar sehingga pH permukaan akar akan lebih asam dibandingkan dengan larutan tanah (Mengel dan Kirkby, 1982). Banyaknya faktor-faktor yang mempengaruhi serapan P ini memungkinkan perbedaan kandungan fosfor yang terdapat pada jaringan tanaman sehingga kandungan fosfor pada klon-klon tebu transgenik dan isogeniknya berbeda.

Jika diurutkan, pada lahan 1 umur 3 bulan kandungan P yang tertinggi hingga terendah adalah Klon PS IPB1-29, 46, 53, 36, 12, 71, 2, 52, 41, 20, 56, 55, 5, 3, 39, 7, 34, 70, 59, 1, isogenik PS 851. Pada lahan 1 umur 6 bulan kandungan P yang tertinggi hingga terendah adalah Klon PS IPB1-46, 20, 52, 12, 71, 70, 7, 41, 55, 36, 56, 53, 29, isogenik PS 851, 5, 3, 59, 1, 39, 2, 34. Pada lahan 2 umur 3 bulan kandungan P yang tertinggi hingga terendah adalah Klon PS IPB1-29, 20, 55, 5, 46, 71, 70, 56, 52, 3, 39, isogenik PS 851, 59, 41, 36, 34, 12, 53, 7, 2, 1. Pada lahan 2 umur 6 bulan kandungan P yang tertinggi hingga terendah adalah Klon PS IPB1-55, 36, 53, 39, 52, 70, 59, 41, 29, 46, 34, 3, isogenik PS 851, 1, 71, 56, 5, 12, 2, 20, 7.

KESIMPULAN

Penyisipan gen fitase pada tanaman tebu berpengaruh positif terutama terhadap serapan N dan P tanaman pada 2 lahan yang diberi perlakuan pupuk P berbeda yaitu 25% dan 50% dosis rekomendasi. Dosis pemupukan P tersebut digunakan karena kandungan P di dalam tanah tergolong sangat tinggi (92 ppm). Hampir semua dari 20 klon tebu transgenik IPB-1 terseleksi yang berumur 3 bulan memiliki kandungan N dan P yang lebih tinggi dibanding isogeniknya (PS851) terutama untuk tanaman yang dipupuk dengan dosis 25% rekomendasi. Kandungan N klon-klon tebu transgenik juga lebih tinggi pada lahan yang diberi pemupukan P 50% dosis rekomendasi. Dari hasil percobaan lapang ini, tanaman tebu transgenik IPB-1 memiliki potensi untuk menurunkan penggunaan pupuk terutama P.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dapat terlaksana karena dukungan baik pendanaan maupun fasilitas dari PT Perkebunan Nusantara XI dan pendanaan dari Direktorat Pendidikan Tinggi, Depdiknas. Penulis mengucapkan terimakasih kepada Sarjito, Juleha dan Asih Karyati yang telah membantu dalam analisis N dan P jaringan tanaman serta staf *Indonesian Center for Biodiversity and Biotechnology* yang telah membantu dalam proses seleksi dan pengiriman klon tebu transgenik untuk percobaan lapang.

DAFTAR PUSTAKA

- Dwijoseputro D. 1980. Pengantar Fisiologi Tumbuhan. Jakarta:PT Gramedia
- Gardner FP, RB Pearce, RL Mitchell. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Herawati Susilo, penerjemah. Jakarta: UI Press. Terjemahan dari: *Physiology of Crop Plants*.
- Leiwakabessy FM. 1988. Kesuburan Tanah. Bogor : IPB.
- Mengel K, Kirkby EA. 1982. Principles of Plant Nutrition. Switzerland : International Potash Institut.

- Rao KP and Rains DW. 1976. Nitrate absorption by barley. *Plant Physiol.* 57:59-62.
- Santosa, D.A., Hendroko, R., Farouk, A., Greiner, R. (2004). A rapid and high efficient method for transformation of sugarcane callus. *Molecular Biotech.* 28:113-119.
- Satuan Kerja Pengembangan Tebu Jatim. 2005. Standar Karakterik Pertumbuhan Tebu. Jawa Timur. http://tebu.mine.nu/karakteristik_tebu/standar_karakterik_pertumbuhan.htm [10 Juni 2009].
- Soepardi G. 1983. Sifat dan Ciri Tanah. Bogor : IPB.
- Sudiatso S. 1980. Bertanam Tebu. Bogor : IPB.
- Susiyanti, Zul RH, Nena A, Wattimena GA, Surahman M, Purwito A, Anwar S, Santosa DA. 2006. Transformasi beberapa klon tebu melalui *Agrobacterium tumefaciens* GV 2260 dengan plasmid *PBIN1-ECS* dan *PMA* yang membawa gen fitase. Di dalam Sujiprihati S, Sudarsono, Sobir, Purwito A, Yudiwanti, Wirnas D (penyunting) Sinergi Bioteknologi dan Pemuliaan Dalam Perbaikan Tanaman. Prosiding Seminar Nasional Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman; Bogor, 1-2 Agustus 2006. Bogor : Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor. hlm 213-217.
- Ziadi N, Belanger G, Cambouris AN, Tremblay N, Nolin MC, Claessens A. 2008. Relationship between phosphorus and nitrogen concentrations in spring wheat. *Agron J.* 100:80-86.