

# Plot Refugi untuk Pengelolaan Resistensi Hama terhadap Tanaman Transgenik Bt

Bahagiawati

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111  
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; E-mail: bahagiawati@indo.net.id

Diajukan: 3 Mei 2011; Diterima: 13 September 2011

## ABSTRACT

**Refugea Plot as Insect Resistance Management in Transgenic Bt Crops. Bahagiawati.** The objective of this review is to share information on several cases of target insects became resistance to transgenic-Bt crops in the field and the refuge strategy used to manage this problem. Bt corn and Bt cotton have been planted widely for several years globally. One of the risks of planting transgenic Bt crop is the ability of the target insects adapted to the Bt protein and caused the resistance breakdown the transgenic Bt plants. This phenomenon was hypothesized in early 1990s based on the cases of several insects resistance to microbial Bt sprayed in laboratories and in the field. The mode of action of the pest resistance to Bt-toxin have been studied in several laboratories. In USA, to avoid the target insect resistance to transgenic Bt crops, a program called Insect Resistance Management (IRM) has been applied since 2001 for farmers growing Bt crops. Lately, there have been some reports of target insects became resistance to *cry1F*, *cry1Ab*, and *cry1Ac* in transgenic Bt crops. A report informed about the resistance of target insect in Puerto Rico was published in 2006, and so in South Africa in 2006/2007, and the last one in India in 2009. To avoid target's insect become resistance to Bt crops, a program called structural IRM and un-structural IRM were introduced and applied in several countries. One of the components of IRM is planting refuge plot, a plot that planting with isogenic line of Bt crops in/near by the area of Bt crops. This review will discuss about the cases of target insect became resistance to Bt crops in the field, mode of action of insect resistance to Bt, the model of IRM program in USA and the Philippines and finally the recommendation for Indonesia to prepare its IRM program for implementing Bt crops.

**Keywords:** Refuge, insect resistance, *Bacillus thuringiensis*, IRM.

## ABSTRAK

**Plot Refugi untuk Pengelolaan Resistensi Hama terhadap Tanaman Transgenik Bt. Bahagiawati.** Tinjauan ini bertujuan untuk memberikan informasi mengenai kasus resistensi hama target terhadap tanaman transgenik Bt serta strategi pengendalian yang disarankan. Tanaman transgenik Bt baik jagung Bt dan kapas Bt telah luas ditanam di beberapa negara di dunia. Salah satu risiko penanaman tanaman

Bt ini adalah terjadinya kepatahan ketahanan tanaman Bt karena serangan hama target yang berkembang menjadi resisten toksin Bt. Hal ini semula berdasarkan pengalaman yang telah terjadi pada kasus-kasus resistensi hama terhadap biopestisida Bt. Beberapa mekanisme resistensi hama terhadap Bt telah dipelajari. Di Amerika Serikat, sejak tahun 2001 telah menerapkan program IRM (*Insect Resistance Management*) atau Pengelolaan Resistensi Hama (PRH) yang merupakan keharusan (*mandatory*) bagi petani yang akan menanam tanaman Bt. Akhir-akhir ini telah dilaporkan kasus resistensi beberapa hama target terhadap tanaman Bt yang mengekspresikan *cry1F*, *cry1Ab*, dan *cry1Ac*. Kasus ini terjadi di Puerto Rico pada tahun 2006, di Afrika Selatan pada tahun 2006/2007, dan di India pada tahun 2009. Untuk menghindari terjadinya resistensi ini telah diadakan program PRH baik terstruktur maupun tidak terstruktur di beberapa negara yang menanam tanaman Bt. Salah satu komponen utamanya adalah menanam tanaman refuge, yaitu tanaman sejenis yang tidak mengandung Bt. Tinjauan ini akan memaparkan tentang kasus-kasus hama resisten tanaman transgenik Bt di lapang, mekanisme terjadinya resistensi tersebut, beserta contoh program PRH yang telah dilakukan di negara maju, yaitu di Amerika Serikat dan di negara berkembang Filipina serta langkah-langkah yang harus dilakukan Indonesia dalam menyusun program PRH dalam pemanfaatan tanaman transgenik Bt di Indonesia.

**Kata kunci:** Refugi, hama resisten, *Bacillus thuringiensis*, PRH.

## PENDAHULUAN

Hama tanaman masih merupakan salah satu kendala bagi peningkatan produksi pertanian di beberapa negara termasuk Indonesia. Menurut Gatehouse *et al.* (1993) kerugian yang disebabkan oleh hama tanaman di dunia rata-rata mencapai 13% atau sekitar US\$10 miliar per tahunnya. Di Indonesia hama kapas *Helicoverpa armigera* yang menyerang buah dapat menurunkan produksi sebesar 63% (Subiyakto, 2010), sedangkan kerugian yang disebabkan oleh hama penggerek batang jagung dapat mencapai 80% (Pabbage *et al.*, 2007). Salah satu alternatif pengendalian hama yang dapat digunakan adalah penanaman tanaman Bt yang tahan terhadap hama tertentu.

Tanaman transgenik Bt adalah tanaman transgenik tahan hama yang populer dan telah ditanam di

beberapa negara sejak tahun 1996. Tanaman transgenik Bt, adalah tanaman transgenik yang mengandung gen *cry* yang diisolasi dari *Bacillus thuringiensis*. Tanaman transgenik Bt ini mengalami kemajuan komersial yang sangat nyata. Pada saat pertama kali dilepas secara komersial pada tahun 1996, luas areal pertanaman tanaman transgenik Bt hanya 1,1 ha. Pada tahun 2010, luas pertanaman ini, termasuk tanaman *stack genes/gen ganda* yang mengandung gen Bt, sudah mencapai 58,6 juta ha yang didapat di 24 negara, yaitu USA, Kanada, Australia, Cina, Afrika Selatan, Spanyol, Portugis, Polandia, Argentina, Brazil, Honduras, Chile, Columbia, Filipina, India, Mexico, Mesir, Republik Chech, Slovakia, Rumania, Costa Rica, Pakistan, Myanmar, dan Bukina Faso (James, 2010).

Pengalaman 15 tahun menyatakan bahwa tanaman transgenik Bt dapat menurunkan ketergantungan petani terhadap pestisida, sehingga menurunkan polusi lingkungan dan keracunan pada hewan dan manusia. Sebagai contoh pada tahun 1997 petani kapas Bt di Arizona, Amerika Serikat menurunkan pemakaian pestisida sebesar 5,4 kali semprot untuk hama kapas *pink bollworm*. Penghematan ini mencapai \$80 per *acre* (Carriere *et al.*, 2001). Secara umum, penanaman kapas Bt secara global menurunkan pemakaian pestisida sebesar 10-15% (Rousch, 1994).

Namun demikian, pengendalian hama dengan varietas tahan baik yang dirakit melalui pemuliaan konvensional maupun bioteknologi (dalam hal ini tanaman transgenik Bt) mempunyai kendala patahnya ketahanan. Demikian pula pengendalian dengan pestisida baik pestisida anorganik maupun biopestisida Bt, di mana serangga hama resisten terhadap bahan aktif (Bahagiawati, 2001; 2002). Resistensi hama adalah suatu proses di mana populasi hama mengalami seleksi dan setelah beradaptasi dapat hidup dan berkembang biak jika dihadapkan pada suatu jenis pestisida atau tanaman tahan (Roush, 1997). Pengendalian populasi hama tanaman yang resisten baik terhadap pestisida maupun varietas tahan sangat sulit dilakukan dan memerlukan biaya besar. Misalnya, diperlukan biaya besar untuk mendeteksi di wilayah mana saja populasi hama telah resisten dan setelah itu di wilayah tersebut perlu ditarik dari peredaran benih varietas/pestisida yang telah tidak berfungsi tersebut serta menggantinya dengan benih varietas tahan atau pestisida yang masih aktif membunuh hama sasaran. Tanaman Bt dapat menjadi rentan terhadap serangga sasaran setelah ditanam selama beberapa musim (Bahagiawati, 2000). Hal ini sangat merugikan produsen benih tanaman Bt, karena masa jual/pakainya tidak lama. Di samping itu, produsen benih dan pemerintah juga akan kehilangan kepercayaan petani.

Resistensi hama mempunyai basis genetik, lingkungan dan faktor ekologi, yang mempengaruhi perkembangan resistensi tersebut. Resistensi ini dapat dikendalikan dengan pengelolaan resistensi hama (PRH) yang tepat dan sesuai dengan kondisi dan situasi setempat.

Perkembangan resistensi hama target terhadap biopestisida Bt telah banyak dilaporkan. Kasus resistensi hama terhadap Bt-toksin dilaporkan pertama kali pada tahun 1985 berdasarkan penelitian yang dilakukan di laboratorium. McGaughey (1985) melaporkan kasus resistensi hama *Indian mealmoth* (*Plodia interpunctella*) yang resisten terhadap biopestisida "dipel" (Abbot Laboratory), yaitu biopestisida komersial yang mengandung bahan aktif *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1. Resistensi hama lain terhadap Bt juga telah dilaporkan McGaughey dan Beeman (1988) pada *almond moth* (*Cadra cautella*) dan pada *Heliothis virescens* (Stone *et al.*, 1989). Kasus hama resisten terhadap biopestisida Bt juga dilaporkan terjadi di lapang. Tabashnik (1994) melaporkan bahwa hama *Plutella xylostella* resisten terhadap *cry1A* di lapang, misalnya di Hawaii, Florida, dan Filipina dan beberapa negara Asia lainnya. Pada beberapa daerah sentra kubis di Indonesia juga terdapat hama *P. xylostella* yang telah resisten terhadap biopestisida Bt (Sudarwohadi, 2001, komunikasi pribadi).

Pada tahun 2001 telah diterbitkan suatu tinjauan mengenai manajemen resistensi hama terhadap tanaman transgenik Bt (Bahagiawati, 2000). Pada saat itu, resistensi hama target terhadap tanaman transgenik Bt belum terjadi dan baru merupakan suatu hipotesis. Negara-negara penanam tanaman transgenik Bt baru terbatas 9 negara dengan total luas pertanaman 10 juta ha (James, 2001). Pada waktu itu, refuge masih merupakan suatu konsep yang belum diterapkan dengan ketat. Pada tahun 2010 telah terdapat seluas 58,6 juta hektar tanaman transgenik Bt yang ditanam di 26 negara, di mana lebih separuhnya adalah negara berkembang (James, 2010). Pada saat ini, di beberapa negara seperti Amerika Serikat dan Kanada telah menerapkan keharusan menanam tanaman refuge terstruktur yang dinyatakan dengan penanda tanaman kontrak antara produsen teknologi (perusahaan multinasional) dengan petani (*grower*). Sistem refuge terstruktur adalah penanaman tanaman sejenis tetapi non Bt di daerah yang sama dengan pertanaman tanaman Bt, baik campuran, atau barisan-barisan dalam pertanaman Bt maupun di luar pertanaman berupa tanaman pinggir. Di samping sistem refuge terstruktur, dikenal juga sistem refuge tidak terstruktur yang diterapkan di Filipina di daerah di mana pertanaman tanaman transgenik Bt hanya berupa spot-spot

kecil kurang dari 200 ha. Pada sistem refugium tidak terstruktur ini petani tidak diharuskan menanam tanaman non Bt di sekitar pertanaman Bt karena telah ada tanaman lainnya yang dapat merupakan inang alternatif hama sasaran.

Tinjauan ini bertujuan untuk memberikan informasi tentang kasus-kasus resistensi hama terhadap tanaman transgenik Bt di lapangan yang terjadi sejak tahun 2006, serta contoh program PRH yang telah dilakukan di Amerika Serikat, yaitu refugium terstruktur dan di Filipina dengan refugium tidak terstruktur (*non-structure* refugium) untuk daerah kecil 200 ha serta langkah-langkah yang harus dilaksanakan Indonesia dalam menyusun program PRH untuk pemanfaatan tanaman transgenik Bt di Indonesia.

### KASUS RESISTENSI HAMA TARGET TERHADAP TANAMAN TRANSGENIK Bt DI LAPANG

Pada saat pertama kali tanaman Bt dilepas memang sudah dikawatirkan akan terjadi kasus resistensi hama. Hal ini didasarkan pada pengalaman resistensi hama terhadap biopestisida Bt. Sehubungan dengan ini, di Amerika Serikat dan di beberapa negara lainnya telah diberlakukan program keharusan (*mandatory*) PRH untuk mengatasi kasus resistensi ini (Bahagiawati, 2001; Carriere *et al.*, 2001).

Kasus hama resisten tanaman transgenik Bt pertama kali diketahui di Puerto Rico pada tahun 2006 (Tabashnik *et al.*, 2009), yaitu kasus hama *Spodoptera frugiperda* (*fall armyworm*) resisten terhadap tanaman jagung Bt Herculex-1 yang mengandung gen *cry1F* (Matten, 2007). Kasus resistensi ini dikonfirmasi pada tahun 2007 dan hal tersebut terbukti (Tabashnik *et al.*, 2009). Herculex-1 telah ditanam petani Puerto Rico sejak akhir tahun 1996 dalam areal penelitian terbatas, dan di tahun-tahun berikutnya dilanjutkan dengan kebanyakan benih untuk induk hibrida yang digunakan untuk produksi benih hibrida yang ditanam petani di sana. Namun, pelepasan untuk tujuan komersial baru dilakukan pada tahun 2003 (Storer *et al.*, 2010).

*S. frugifera* merupakan hama utama tanaman jagung di Puerto Rico. Pada tahun 2006/2007, hama tersebut menjadi 100x lebih resisten dibandingkan dengan hama pekannya (Tabashnik *et al.*, 2009). Hal ini menyebabkan perusahaan Dow AgroScience dan Pioneer Hi-Bred International yang memproduksi Herculex-1 menghentikan penjualan benih dari pasaran di Puerto Rico. Pada tahun 2006, di Puerto Rico terjadi musim kemarau panjang sehingga tanaman inang alternatif *S. frugifera* (rumpun-rumpun) tidak hidup, sehingga serangga ini menyerang tanaman jagung non Bt yang ditanam di sekitar tanaman jagung Bt sebagai

plot refugium. Di samping itu, peningkatan populasi ulat grayak ini juga disebabkan oleh penanaman jagung yang tidak serempak dan dilakukan sepanjang tahun, sehingga populasinya meningkat sangat tinggi pada tanaman Herculex-1 yang mengakibatkan kepatuhan resistensi (Storer *et al.*, 2010).

Pada tahun 2006-2007 di Afrika Selatan juga ditemukan kasus resistensi serangga hama *Busseola fusca* (*African stalk borer*) terhadap tanaman transgenik Bt. Hama ini menjadi resisten terhadap jagung Bt YieldGard yang mengandung gen *cry1Ab* (Kruger *et al.*, 2009). *B. fusca* merupakan hama utama tanaman jagung di Afrika Selatan dan merupakan hama sasaran jagung YieldGard yang dilepas sejak 1998. Pada tahun 1998, hanya 7,7% petani YieldGard yang menanam tanaman refugium dengan luasan kecil. Pada tahun 2008, setelah dilaporkan kasus resistensi, 100% petani telah menanam tanaman refugium jika mereka menanam tanaman jagung transgenik Bt. Pada awal hama resisten ditemukan, ketika terjadi keterlambatan masa tanam YieldGard dan masa tanam yang tidak serentak (*stagger planting*), sehingga hama dapat terus menerus hidup dan berkembang biak mencapai populasi tinggi. Pada periode tahun 2006-2007 petani penanam YieldGard tidak 100% menanam refugium dengan alasan luasan pertanaman mereka kecil, kurang dari 25 ha (Kruger *et al.*, 2009).

Kasus resistensi terkini terjadi pada tahun 2009 di India, yaitu resistensi hama *Pectinophora gossypiella* (*pink bollworm*) terhadap tanaman kapas Bt Bollgard yang mengandung gen *cry1Ac* (Mahyco Monsanto, Press release 2010). Kasus ini dikonfirmasi pada tahun 2010, dan publikasinya sedang dipersiapkan (Graham Head, 2010 komunikasi pribadi). Pada waktu tersebut, di India belum menerapkan program PRH terstruktur.

Hal yang menarik adalah kejadian ditemukannya hama sasaran yang menjadi resisten terhadap tanaman Bt ini di daerah tropis, di mana petani dapat menanam tanaman inang secara terus menerus sepanjang tahun dan ditanam tidak serempak (*stagger planting*). Di samping itu, di daerah tersebut tidak atau belum menerapkan sistem plot refugium secara ketat dan terstruktur dengan salah satu alasan areal pertanaman yang mereka miliki tidak luas. Apabila ada petani yang menerapkan sistem refugium plotnya tidak besar, kurang dari 20%. Hal ini sangat bertentangan dengan yang dijumpai di daerah pusat jagung (*corn belt*) di Amerika Serikat, di mana terdapat musim dingin yang dapat memotong siklus hidup hama sasaran. Sampai saat ini, setelah 15 tahun tanaman transgenik Bt ditanam di daerah *corn belt* (*midwest*) Amerika Serikat yang dengan ketat melaksanakan program PRH menggunakan refugium terstruktur, kasus resistensi hama sasaran ter-

hadap tanaman transgenik Bt belum pernah dilaporkan (Storer *et al.*, 2010).

Dengan terjadinya kasus resistensi hama sasaran di beberapa daerah tropis, maka perlu dipikirkan pengembangan kebijakan PRH tidak hanya menggunakan refugi, tetapi juga dengan menanam tanaman transgenik yang multigenik dan menerapkan sistem rotasi tanaman khusus.

### MEKANISME RESISTENSI HAMA TERHADAP TOKSIN BT

Mekanisme resistensi serangga hama terhadap tanaman transgenik Bt adalah serupa mekanisme ketahanan hama terhadap biopestisida Bt. Pada tanaman transgenik Bt komponen aktifnya adalah protein *cry* (*cry protein*) yang diekspresikan oleh gen *cry* yang dihasilkan oleh *B. thuringiensis*. Protein *cry* juga merupakan bahan aktif pada biopestisida Bt. Menurut beberapa hasil penelitian ada dua mekanisme resistensi hama terhadap kristal protein *cry* yang diproduksi oleh *B. thuringiensis*. Resistensi hama terhadap toksin-Bt dapat terjadi pada dua fase, yaitu pada proses aktivasi pro-toksin menjadi toksin dan pada proses melekatnya (*binding*) toksin-Bt yang aktif pada sel reseptor epitelial pada dinding usus serangga. Johnson *et al.* (1990) menunjukkan bahwa mekanisme resistensi hama *P. interpunctella* adalah mekanisme kedua. Mereka juga menyatakan tidak ada perbedaan aktivitas proteolisis yang mengubah pro-toksin menjadi toksin di usus, baik pada serangga yang rentan maupun pada resisten toksin-Bt. Hal ini juga dikemukakan oleh Van Rie (1990) bahwa resistensi *P. interpunctella* terhadap protein *cry1Ab* berkorelasi dengan 50x reduksi dari afinitas toksin pada reseptor sel-sel epitelial dinding usus serangga.

Berkurangnya afinitas pada reseptor sel-sel epitelial terhadap toksin-Bt juga menjadi sebab resistensi pada *P. xylostella*, *H. virescens*, dan *Spodoptera exigua*. Namun demikian, tidak semua kasus penurunan afinitas toksin-Bt dan reseptor mengakibatkan terjadinya resistensi hama terhadap toksin-Bt (Oppert *et al.*, 1997). Sebaliknya Forcada *et al.* (1996) melaporkan bahwa mekanisme resistensi serangga *H. virescens* terhadap toksin-Bt bukan karena perubahan afinitas toksin-Bt dan reseptor di sel epitelial *midgut* serangga (mekanisme kedua), tetapi karena pada strain *H. virescens* yang resisten memerlukan waktu yang lebih lama bagi enzim proteinase yang memproses pro-toksin menjadi toksin. Setelah toksin terbentuk, proses degradasi toksin terjadi lebih cepat daripada proses yang terjadi di *midgut* serangga yang rentan toksin-Bt (mekanisme pertama). Oppert *et al.*

(1997) juga melaporkan bahwa resistensi *P. interpunctella* terhadap toksin-Bt disebabkan berkurangnya aktivitas proteinase yang mengaktifkan pro-toksin-Bt menjadi toksin-Bt. Di samping itu, Pang dan Gringorten (1998) menyatakan bahwa terjadinya degradasi toksin-Bt menyebabkan hama *Choristoneura fumiferana* menjadi resisten terhadap toksin-Bt.

Hasil-hasil penelitian di atas menunjukkan bahwa setiap hama mempunyai mekanisme resistensi yang berbeda-beda terhadap sesuatu jenis protein *cry*. Oleh sebab itu, untuk mengetahui mekanisme resistensi secara jelas harus diadakan penelitian mendalam menggunakan reseptor yang ada di *midgut* serangga tertentu yang ditantang (*challenge*) dengan protein *cry* tertentu (mekanisme kedua). Sementara untuk mengetahui mekanisme degradasi protein *cry* (mekanisme pertama), harus dilakukan penelitian pencernaan protein *cry* tertentu pada cairan saluran pencernaan serangga tertentu untuk mengetahui apakah protein itu menjadi tidak aktif, karena sudah mengalami degradasi sebelum dia mencapai *binding* reseptor di *midgut* serangga tertentu. Penelitian semacam ini belum pernah dilakukan di laboratorium di Indonesia. Data penelitian tersebut sangat penting diketahui pada saat perakitan tanaman transgenik Bt dengan gen ganda (*multiple gene*) yang merupakan salah satu komponen PRH. Perakitan tanaman dengan gen ganda ini hendaknya tidak dilakukan dengan menggabungkan dua gen yang memiliki mekanisme yang kontradiktif, sehingga berpotensi minimalkan efek antagonistik.

Analisis genetik pewarisan (*inheritance*) gen yang mengatur resistensi serangga hama terhadap toksin-Bt juga telah dipelajari. Pewarisan gen resistensi terhadap *P. interpunctella* bersifat autosomal dan resesif atau *partially* resesif, sedangkan pewarisan gen resisten pada *H. virescens* terhadap *B. thuringiensis sub sp.* kurstaki HD-1 bersifat autosomal dan *incompletely dominant* (Huang *et al.*, 1999). Pewarisan resistensi pada *Ostrinia nubilalis* terhadap protein *cry1Ab* bersifat autosomal dan dikendalikan oleh lebih dari satu lokus gen (Alves *et al.*, 2006), sedangkan pewarisan resistensi *Helicoverpa armigera* terhadap protein *cry1Ac* bersifat autosomal dan *incompletely dominant* (Akhurst *et al.*, 2003).

Penelitian pewarisan resistensi serangga sangat perlu dilakukan untuk menetapkan jumlah atau luas plot refugi yang diperlukan. Jika resistensi bersifat resesif, maka jumlah plot refugi yang sempit luasannya juga memadai, tetapi jika resistensi bersifat dominan, maka diperlukan jumlah dan luasan plot refugi yang lebih luas, harus ditanam berdekatan, dan tidak terpisah dari barisan tanaman Bt, serta dilakukan moni-

toring keberadaan hama secara lebih ketat. Penelitian untuk mengetahui pola pewarisan resistensi hama terhadap tanaman yang mengandung gen *cry* dan mikro-bial Bt juga belum pernah dilakukan di Indonesia.

### PROGRAM PRH REFUGI UNTUK TANAMAN TRANSGENIK BT

Untuk menghindari resistensi hama terhadap toksin-Bt, beberapa peneliti menyarankan beberapa strategi untuk menghindarkan terjadinya adaptasi serangga terhadap toksin-Bt (Roush, 1994; Bahagiawati, 2001). Pada saat ini yang sedang banyak dikembangkan di luar negeri adalah program PRH dengan sistem plot refugium (PRH refugium).

Program PRH dengan refugium adalah strategi untuk menghindarkan hama menjadi resisten terhadap tanaman transgenik Bt dengan cara menanam tanaman transgenik yang memproduksi  $\delta$ -endotoksin tinggi dan menyediakan plot refugium, yaitu plot tanaman sejenis non Bt yang rentan terhadap hama sasaran di areal pertanaman tanaman transgenik Bt. Konsep ini dimulai setelah diketahui bahwa gen resistensi hama terhadap toksin-Bt bersifat resesif (*homozygous resistance* = aa). Dengan adanya tanaman transgenik Bt maka serangga heterozigot (Aa dan aA) serta yang *dominant susceptible* homozigot (AA) dapat dibunuh/dihambat pertumbuhannya (Gould *et al.*, 1995). Plot refugia digunakan agar tidak semua serangga dengan heterozigot dan *susceptible* homozigot mati. Serangga-serangga ini diperlukan agar dapat kawin dengan serangga aa sehingga serangga heterozigot (Aa) tetap dominan di lapang dengan perkataan lain memperlambat terjadinya dominansi aa yang nantinya akan membentuk strain serangga baru yang tahan Bt.

Model-model simulasi yang menduga sampai berapa lama suatu tanaman transgenik Bt dapat bertahan di lapang juga telah dilaporkan (Roush, 1997). Strategi refugium ini merupakan strategi utama yang dipakai di Amerika Serikat. Petani diharuskan menanam plot tanaman non Bt pada areal tanaman Bt, baik pada kapas Bt ataupun jagung Bt. Plot tanaman non Bt harus dekat dengan pertanaman Bt, yaitu berjarak maksimal 0,8 km (0,5 mil) (Carriere *et al.*, 2001; Cohen *et al.*, 2000). Jarak tanam antara plot Bt dan non Bt berdasarkan hasil penelitian kemampuan terbang serangga sasaran.

Strategi ini juga mengharuskan menanam tanaman transgenik Bt yang mengekspresikan protein Bt dalam jumlah yang tinggi. Sampai berapa tinggikah ekspresi ini harus dipunyai suatu tanaman transgenik Bt? Menurut McLean dan MacKanzie (2001) suatu tanaman transgenik Bt harus dapat mengekspresikan protein

Bt 25 kali lebih tinggi dari dosis yang menyebabkan kematian 99,9% populasi hama target pada uji bioasai di laboratorium. Menurut Cohen *et al.* (2000), jumlah ini harus mencapai 2  $\mu\text{g/g}$  daun basah atau 0,2% dari total protein terlarut (*soluble protein*). Jumlah tersebut sangat sulit dicapai, sehingga perlu dipertimbangkan strategi lain terutama untuk PRH jangka panjang.

Strategi PRH refugium untuk suatu tanaman transgenik Bt berbeda-beda dari suatu negara ke negara lain, umumnya bergantung pada hama sasaran, teknik budi daya tanaman, serta teknologi yang diadopsi dan biaya. Penerapan peraturan PRH dapat bersifat sukarela (*voluntary*) atau wajib (*mandatory*).

### PRH REFUGI DI AMERIKA SERIKAT

Di Amerika Serikat, program PRH refugium diterapkan dengan tujuan untuk memperpanjang masa pakai suatu tanaman transgenik Bt dan untuk menghindarkan kasus hama menjadi resisten tanaman transgenik Bt. Hal ini penting bagi petani (*grower*), produsen (industri yang mempunyai teknologi atau tanaman transgenik Bt), peneliti, dan masyarakat umum Amerika Serikat. Menurut Adamson (2002), program PRH jagung Bt dan kapas Bt di Amerika Serikat meliputi hal-hal sebagai berikut:

1. Pengetahuan tentang biologi dan ekologi serangga hama sasaran yang penting termasuk biologi, siklus hidup, tanaman inang alternatif, dan musuh alami. Hal ini penting untuk menentukan strategi PRH yang akan diterapkan.
2. Strategi penanaman tanaman Bt dengan dosis protein tinggi. Strategi ini telah dianut sewaktu pelepasan tanaman jagung Bt dan kapas Bt yang menetapkan tanaman transgenik harus memproduksi toksin-Bt paling tidak harus 25 kali lebih tinggi daripada dosis yang menyebabkan kematian 99,9% populasi hama target pada uji bioasai di laboratorium.
3. Menanam refugium (tanaman sejenis tetapi non Bt) di sekitar atau di dalam areal penanaman tanaman Bt. Tujuannya adalah menyediakan tempat berlindung dan memperbanyak diri hama target tanpa harus beradaptasi dengan tanaman transgenik Bt yang berpotensi mengakibatkan kepatahan resistensi tanaman transgenik yang bersangkutan. Untuk meyakinkan produsen (perusahaan penghasil teknologi atau tanaman transgenik Bt) dan pemerintah, petani yang membeli benih tanaman Bt harus menandatangani perjanjian bahwa mereka akan mengikuti program PRH refugium.
4. Melaksanakan program monitoring resistensi hama dan program remediannya, jika resistensi terjadi.

Program ini penting agar petani dan petugas lapang (biasanya dari perusahaan penghasil tanaman transgenik) melakukan monitoring hama resisten, sehingga langkah-langkah dapat dilakukan untuk menghindari eksplosif hama jika resistensi terjadi.

5. Mengadakan program sosialisasi, komunikasi, dan edukasi kepada para pengguna produk (petani) yang dilakukan oleh perusahaan penghasil tanaman transgenik Bt dan pemerintah. Program ini penting dilakukan agar petani memahami bahwa jika PRH refugium tidak dilakukan maka hama dapat menjadi resisten sehingga tanaman transgenik Bt tidak efektif membunuh hama lagi.
6. Pelaporan tiap tahun dari hasil program PRH yang dilaksanakan dan kegiatan terkait PRH lainnya baik dari industri (perusahaan penghasil tanaman transgenik Bt) maupun pemerintah. Hal ini penting agar bisa mengendalikan jika ada kasus resistensi ditemukan di lapangan nantinya.
7. Penerapan IPM (*Integrated Pest Management*) atau PHT (Pengendalian Hama Terpadu) untuk menghambat hama beradaptasi dengan tanaman Bt dan menjadi resisten sehingga sulit dikendalikan.
8. Mengembangkan konstruk yang mengandung beberapa gen *cry* yang berbeda-beda mekanisme kerjanya. Hal ini diperlukan untuk merakit tanaman transgenik yang mempunyai gen resisten ganda. Tanaman yang mempunyai gen resisten ganda diakui mempunyai umur yang lebih lama (*durable*) dibandingkan dengan tanaman yang hanya mempunyai satu (*single*) gen resisten.

Dalam kaitannya dengan hal di atas, pada bulan September 2001, US-EPA telah mengeluarkan pedoman untuk meminimalkan resistensi hama terhadap tanaman transgenik Bt (EPA, 2001). Pada pedoman tersebut dinyatakan bahwa para pihak yang mendaftarkan produk transgenik Bt harus bertanggung jawab mengadakan program PRH refugium bagi produknya. Mereka harus mengimplementasikan program PRH refugium melalui perjanjian resmi (*legal*) yang ditanda tangani oleh petani yang menanam tanaman transgenik Bt (*grower*).

Dalam perjanjian itu disebutkan bahwa petani-*grower* penanam tanaman transgenik jagung Bt di daerah utama pertanaman jagung (*corn belt*) harus menanam sekurang-kurangnya 20% dari areal penanaman jagung mereka dengan jagung non Bt sebagai refugium. Namun demikian, hal ini baru dilakukan sejak tahun 2003 bersamaan dengan diadakannya program *stewardship* oleh beberapa perusahaan multinasional yang tergabung dalam CropLife (asosiasi perusahaan benih).

Pada saat ini, di Amerika Serikat terdapat empat konfigurasi penanaman refugium, yaitu sebagai tanaman tepi/pinggiran, plot-plot berupa baris-baris dalam areal pertanaman tanaman Bt, menanam refugium di dekat atau di dalam pertanaman jagung Bt tahan CRW (*corn root worm*) atau dengan jarak 0,5 mil (0,8 km) dari areal pertanaman jagung Bt yang tahan ECB (*European corn borer*). Petani dapat menyemprot tanaman non Bt dengan insektisida non Bt. Jika petani ketahuan tidak menerapkan PRH refugium dalam tempo dua tahun, maka tidak diperkenankan membeli jagung Bt lagi di kemudian hari (Wright dan Hunt, 2004). Penerapan program PRH refugium untuk jagung Bt dan kapas Bt di Amerika Serikat diuraikan lebih rinci di bawah ini.

### PROGRAM REFUGI PADA JAGUNG BT

Sejak dicanangkannya program PRH refugium oleh EPA-USA pada tahun 2001, pihak yang mendaftarkan produk (produsen) diharuskan membuat dan menyerahkan data banyaknya benih jagung Bt yang dijual per kabupaten (*county*) ke EPA, dan harus menyediakan material edukasi ke petani agar mereka dapat mengerti sebab diharuskannya menerapkan program PRH refugium dan mengerti cara menerapkannya. Program PRH refugium mengharuskan 20% dari tanaman sejenis yang non Bt ditanam sejauh maksimal 0,5 mil dari areal penanaman jagung Bt. Di daerah Amerika Serikat bagian selatan yang banyak ditanam kapas, diperlukan refugium yang lebih luas, yaitu 50% non Bt untuk jagung yang mengandung gen *cry1Ab* guna mencegah perkembangan resistensi *corn ear worm* (*Heliothis armigera*) yang mempunyai inang jagung dan kapas. Hama ini dapat menyerang baik jagung dan kapas, sehingga pertanaman kapas bisa menjadi plot refugium bagi jagung Bt. Menurut Adamson (2002), penerapan program PRH refugium khusus untuk daerah yang tidak menanam kapas adalah sebagai berikut:

1. Petani harus menanam plot refugium (jagung non Bt) minimal 20%, tanaman refugium ini dapat disemprot dengan insektisida untuk mengendalikan hama.
2. Penanaman tanaman refugium dapat dilakukan dengan 3 cara, yaitu pada area (plot) yang letaknya berdekatan (eksternal refugium) pertanaman jagung Bt, pada plot di dalam areal penanaman jagung Bt, atau dalam bentuk baris (*strip*) di antara baris-baris tanaman jagung Bt.
3. Penanaman untuk refugium eksternal harus berjarak  $\frac{1}{4}$ - $\frac{1}{2}$  mil dari areal tanaman Bt, berdasarkan pertimbangan hama masih dapat bermigrasi ke plot refugium.

4. Jika penanaman tanaman refugium berupa baris, maka lebar baris tanaman refugium minimal 4-6 baris. Hal ini untuk memberikan jumlah tanaman yang cukup bagi hama untuk berkembang biak tanpa harus beradaptasi menjadi resisten.
5. Tidak melakukan penyemprotan insektisida secara rutin, tetapi hanya jika diperlukan, yaitu ketika hama sudah mencapai ambang ekonomi. Insektisida yang digunakan bukan dari insektisida Bt.

### PROGRAM REFUGI PADA KAPAS BT

Program PRH refugium pada areal pertanaman kapas Bt agak berbeda dengan areal pertanaman jagung Bt. Hal ini disebabkan oleh perbedaan hama utama pada kapas dan jagung, yang tentunya mempunyai biologi yang berbeda pula dan perbedaan antara biologi dan morfologi jagung dan kapas. Penerapan program PRH refugium yang dikemukakan oleh Adamson (2002) adalah sebagai berikut:

1. Menanam 5% plot refugium eksternal dengan lebar baris 150-300 kaki (45-90 m). Plot refugium tidak boleh diberi hama steril atau feromon dan disemprot insektisida dan harus berjarak 0,5 mil dari tanaman Bt, atau
2. Menanam refugium eksternal 20% dengan jarak ½-1 mil dari areal pertanaman kapas Bt. Pertanaman refugium dapat diberi perlakuan hama steril, dan insektisida termasuk bioinsektisida Bt atau feromon.
3. Jika plot tanaman refugium terdapat di dalam areal pertanaman kapas Bt, maka luas minimal harus mencapai 5% dari total areal pertanaman kapas Bt dengan lebar 150-300 kaki (45-90 m). Tanaman refugium ini harus terletak di tengah atau di sekeliling pertanaman kapas Bt.

Hasil survei menunjukkan bahwa 80% petani di Amerika Serikat telah melaksanakan program PRH dengan refugia terstruktur (Alexander, 2007; Goldberger *et al.*, 2005).

### PENERAPAN PROGRAM PRH REFUGI JAGUNG BT DI FILIPINA

Pada saat ini Filipina adalah negara pertama di ASEAN yang telah menanam dan mempunyai program PRH bagi tanaman jagung Bt. Jagung Bt mulai ditanam di Filipina sejak tahun 2002, dimulai dengan Mon810 kemudian NK603 dan BT11 pada tahun 2005, serta GA21 pada tahun 2009 (Cayabyab *et al.*, 2010). Empat jagung transgenik itu masing-masing mempunyai sebuah gen yang dimasukkan ke tanaman (*single-event*). Di samping tanaman transgenik *single event*, di Filipina juga telah dilepas tanaman jagung transgenik

event ganda (*stack genes event*), yaitu Mon810 x NK603 pada tahun 2005. Saat ini di Filipina juga sedang diadakan percobaan lapang terbatas bagi dua *stack event* lain, yaitu Mon89034 x NK603 dan BT11 x GA21. Jumlah jagung hibrid transgenik di Filipina yang telah menda-pat izin (*approval*) ditanam adalah 33 hibrida, yaitu 17 hibrida dari Monsanto, 11 hibrida dari Pioneer, dan 5 hibrida dari Syngenta (Palacpac, 2010). Pada saat ini total pertanaman jagung Bt (termasuk *stack* yang mengandung Bt) adalah 341.018 ha, namun belum ada laporan kasus hama resisten tanaman jagung Bt (Cayabyab *et al.*, 2010).

Persyaratan agar tanaman transgenik jagung Bt mendapatkan *approval* untuk dilepas ke lapang di Filipina adalah sebagai berikut:

1. Memiliki dosis tinggi; tanaman yang akan dilepas harus dapat mematikan 99,9% penggerek batang jagung, agar yakin bahwa populasi hama yang tidak terbunuh sesedikit mungkin.
2. Penerapan refugium tidak berstruktur atau *unstructure refugee* di daerah luasan pertanaman jagung kurang dari 200 ha. *Unstructured refugee* dipilih di Filipina mengingat saat ini banyak areal pertanaman jagung yang berukuran kecil, jagung ditanam tersebar, tidak dalam areal yang sangat luas secara terus menerus, dan banyak didapatkan flora atau tanaman lain yang dapat menjadi tempat berlindung atau inang alternatif bagi hama sasaran.

Beberapa peraturan-peraturan lain terkait PRH yang telah diberlakukan oleh Filipina antara lain:

- a. DA-MC No. 8 tahun 2005 untuk melengkapi DA-MC No. 17 tahun 2003 yang menyatakan bahwa bila terjadi rotasi tanaman maka refugium terstruktur boleh tidak diberlakukan.
- b. DA-MC No. 1 (2006) yang memuat pedoman dan format monitoring PRH jagung Bt untuk produsen.
- c. MA-MC No. 4 (2007) yang merupakan revisi pedoman daftar isian untuk monitoring PRH jagung Bt dan pelaporannya.

Strategi PRH jagung Bt di Filipina secara lengkap adalah sebagai berikut:

1. Refugium tidak terstruktur berlaku bagi petani yang mempunyai sawah atau ladang yang luasannya kecil (1-2 ha), di sekitar pertanaman jagung Bt-nya terdapat pertanaman jagung konvensional (hibrida dan OPV), dan terdapat inang alternatif bagi hama penggerek batang jagung.
2. Refugium terstruktur (80 : 20) diberlakukan jika di suatu daerah terdapat adopsi jagung Bt lebih dari 80%, areal penanaman jagung Bt dalam hamparan luas (areal luas seragam dan berdekatan) men-

capai >200 ha dengan pola tanam jagung-jagung sepanjang tahun.

Monitoring PRH dilakukan terkoordinasi antara Kementerian Pertanian (DA)-BPI, DA-RCPC dan berkonsultasi dengan DA-RMAT. Monitoring penggerek batang jagung secara terus menerus dilakukan pada lima sentra produksi jagung di Filipina. Monitoring dilakukan untuk hama penggerek batang jagung. Di sentra jagung tersebut terdapat adopsi jagung Bt yang tinggi, potensi serangan penggerek batang jagung tinggi, dan terdapat pola tanam dari jagung terus menerus sepanjang tahun (Teano dan Miana, 2010).

Di samping itu, Cayabyab *et al.* (2010) menyatakan bahwa di Filipina dilakukan berbagai penelitian yang mendukung program PRH seperti:

1. Studi *baseline* kerentanan hama sasaran terhadap tanaman jagung Bt.
2. Inang alternatif dan biologi hama penggerek batang jagung dan preferensi terhadap beberapa inang alternatif.
3. PHT jagung Bt, dampak terhadap predator antara jagung Bt dan non Bt.
4. Diversitas serangga pada pertanaman jagung.
5. Periode perkembangan, perkawinan, dan oviposisi hama penggerek batang jagung.
6. Efek samping ditinjau dari segi ekologi pada pertanaman jagung Bt
7. Monitoring populasi hama penggerek batang jagung dan artropod lain pasca komersialisasi jagung Bt.
8. Pengaruh dispersi polen jagung Bt terhadap Lepidoptera bukan sasaran.
9. Pengkajian ekosistem pengaruh jagung toleran herbisida terhadap biodiversitas pada daerah sentra produksi jagung di Filipina.

Data hasil penelitian diperlukan untuk menentukan program PRH bagi petani di Filipina. Umumnya proyek penelitian tersebut dibiayai oleh industri melalui asosiasinya (CropLife).

### **PROSPEK PENERAPAN PROGRAM PRH REFUGI DI INDONESIA**

Indonesia juga menginginkan dapat memanfaatkan produk bioteknologi seperti tanaman transgenik Bt yang telah ditanam secara luas di 24 negara. Pada saat ini, beberapa tanaman jagung Bt sedang dalam proses mendapatkan izin untuk ditanam di Indonesia. Berdasarkan pengalaman dari negara-negara lain, maka selayaknya Indonesia juga mulai memikirkan penerap-

an program PRH tanaman transgenik Bt yang akan ditanam di Indonesia.

Penelitian primer dan sekunder (studi pustaka) untuk menentukan program PRH yang cocok untuk diterapkan di Indonesia perlu diadakan guna memperoleh informasi antara lain sebagai berikut:

1. Biologi dan ekologi hama sasaran: penelitian ini diperlukan sebagai dasar program PRH seperti siklus hidup hama sasaran, inang alternatif, musuh alami dan sebagainya. Jika ada tanaman inang alternatif, maka tanaman inang alternatif dapat dijadikan plot refugi sehingga PRH tidak terstruktur dapat diterapkan. Jika di sekitar banyak terdapat musuh alami ini maka tanaman transgenik Bt yang ekspresi proteinnya tidak terlalu tinggi dapat digunakan.
2. Populasi serangga dan arthropoda yang terdapat pada tanaman jagung non Bt (*baseline study*). Data ini diperlukan untuk mengetahui apakah setelah beberapa tahun ditanam terjadi perubahan kelimpahan arthropoda pada tanaman transgenik Bt.
3. *Baseline study* dari kerentanan hama sasaran terhadap jagung Bt. Data ini diperlukan untuk menentukan apakah hama sasaran sudah menjadi resisten tanaman transgenik Bt setelah ditanam selama beberapa tahun mendatang.
4. Data pola bercocok tanam pada sentra produksi jagung di mana jagung Bt akan dilepas guna menentukan strategi PRH yang akan diterapkan, apakah PRH refugi terstruktur atau cukup dengan PRH tidak terstruktur. Jika pola tanam jagung-jagung ditanam sepanjang tahun dan meliputi areal luas (lebih dari 200 ha) maka disarankan menggunakan PRH refugi terstruktur.
5. Pemilihan rata-rata areal pertanaman jagung per petani di sentra produksi jagung. Data ini diperlukan untuk menentukan strategi PRH yang akan diterapkan, apakah memakai PRH refugi terstruktur atau PRH refugi tidak terstruktur. Jika kepemilikan lahan kecil dan pola tanam tidak serempak, maka PRH refugi tidak terstruktur dapat dipertimbangkan untuk diterapkan.

Setelah itu, program PRH yang akan diterapkan serta sistem monitoring dan remediannya dapat ditentukan; pada umumnya ditentukan oleh produsen (perusahaan perakit tanaman transgenik) bersama pemerintah. Peraturan-peraturan juga perlu disiapkan untuk implementasi program ini. Program sosialisasi tentang pentingnya dilakukan program PRH di tingkat petani, penyuluh dan aparat pemerintah yang terkait dengan pertanian juga perlu direncanakan dan dilaksanakan secara sistematis.

## PENUTUP

Berdasarkan kasus resistensi hama sasaran terhadap tanaman Bt di lapang di beberapa negara di daerah tropis, risiko hama sasaran menjadi resisten terhadap tanaman Bt maka sangat perlu diperhitungkan, terutama jagung Bt yang sedang dimintakan izin pelepasannya di Indonesia. Pada saat ini, informasi yang mendukung penentuan program PRH spesifik lokasi di Indonesia belum ada. Perakitan program PRH yang tepat di suatu wilayah memerlukan informasi (data-data) seperti yang dikemukakan terdahulu, baik melalui pustaka maupun penelitian primer. Setelah itu baru dapat dirakit program PRH bagi tanaman Bt spesifik di daerah spesifik atau dengan perkataan lain program PRH perlu dilaksanakan sesuai dengan kondisi setempat. Penyiapan perangkat peraturan tentang implementasi PRH, serta program sosialisasi bagi petani dan aparat pemerintah terkait juga perlu dilaksanakan. Program sosialisasi ini hendaknya dilakukan oleh produsen (industri) dibantu oleh pemerintah. Demikian juga program monitoring resistensi hama dan program remediannya juga perlu disiapkan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adamson, S. 2002. Towards a strategy for using Bt toxins in New Zealand. Minister of Agriculture and Forestry (MAF) New Zealand. Technical Paper No. 2002/20.
- Akhurst, R.J., W. James, L.J. Bird, and C. Beard. 2003. Resistance to the *cry1Ac*  $\delta$ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis* in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ Entomol.* 96(4):1290-1299.
- Alexander, C. 2007. Insect resistance management plans: farmers perspective. *AgBioForum* 10 (1): Article 4.
- Alves, A.P., T.A. Spencer, B.E. Tabashnik, and B.D. Siegfried. 2006. Inheritance of resistance to the *cry1Ab* *Bacillus thuringiensis* toxin in *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). *J. Econ. Entomol.* 99(2):494-501.
- Bahagiawati, A. 2000. Adaptasi serangga hama terhadap *Bacillus thuringiensis* toksin dan proteinase inhibitor. Prosiding Seminar Nasional Bioteknologi Pertanian 2000. Yogyakarta, 7-8 November 2000. hlm. 294-300.
- Bahagiawati. 2001. Manajemen resistensi serangga hama pada tanaman transgenik Bt. *Bul. Agrobio* 4(1):1-8.
- Bahagiawati, A. 2002. Penggunaan *Bacillus thuringiensis* sebagai bioinsektisida. *Bul. Agrobio* 5(1):21-28.
- Carriere, Y., T.J. Dennehy, B. Pedersen, S. Haller, C. Ellers-Kirk, L. Antilla, Y. Liu, E. Willots, and B.E. Tabashnik. 2001. Large scale management of insect resistance to transgenic cotton in Arizona: Can transgenic insecticidal crops be sustained?. *J. Econ. Entomol.* 94(20):315-325.
- Cayabyab B.F., W.R. Cuaterno, E.P. Alcantara, S.C. Halos, J.M. Belen, and M. Salazar. 2010. Insect resistant management, p. 378-381. *In* P.H. Zaidi, M. Azrai, and K. Pixley (eds.) *The Philippines Experiences. Proc of the 10<sup>th</sup> Asian Regional Maize Workshop. Makassar 20-23 October 2009.*
- Cohen, M.B., F. Gould, and J.S. Bentur. 2000. Bt rice: Practical steps to sustainable use. *IRRN* 25(2):1-10.
- Environmental Protection Agency (EPA). 2001. Biopesticides registration action document-*Bacillus thuringiensis* plant-incorporated protectants. Washington, DC. [http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/pips/bt\\_brad.htm](http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/pips/bt_brad.htm).
- Forcada, C.E., Alcacer, M.D. Garcera, and R. Martinez. 1996. Differences in the midgut proteolytic activity of two *Heliothis virescens* strains, one is susceptible and one resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 3:257-272.
- Gatehouse, A.M.R., Y. Shi, K.S. Powell, C. Brough, V.A. Hilder, W.D.O. Hamilton, C. Newell, A. Merryweather, D. Butler, and J.A. Gatehouse. 1993. Approaches in insect resistance using transgenic plants. *Philosophical Transactions of the Royal Soc, London.* B342:279-286.
- Goldberger, J., J. Merrill, and T. Hurley. 2005. Bt corn farmer compliance with insect resistance management requirement in Minnesota and Wisconsin. *AgBioForum* 8(2 & 3): Article 12.
- Gould, F.A., A. Anderson, D. Jones, D. Sumerford, G. Heckel, J. Lopez, S. Micinski, R. Learnard, and M. Laster. 1995. Initial frequency of alleles for resistance to *B. thuringiensis* toxins in field population of *Helicoverpa virescens*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:3519-3523.
- Huang, F., L.L. Buschman, R.A. Higin, and W.H. McGaughey. 1999. Inheritance of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin (Dipel ES) in the European corn borer. *Science* 284:965-967.
- James, C. 2001. Global status of commercialized biotech/GM crops: 2001. Brief 24. ISAAA. Ithaca, NY.
- James, C. 2009. Global status of commercialized biotech/GM crops: 2008. Brief 41. ISAAA. Ithaca, NY.
- James, C. 2010. Global status of commercialized biotech/GM crops: 2008. Brief 42. ISAAA. Ithaca, NY
- Johnson, D.E., G.L. Brookhart, K.J. Kramer, B.D. Barnett, and W.H. McGaughey. 1990. Resistance to *Bacillus thuringiensis* by the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*: Comparison of midgut proteinases from susceptible and resistant larvae. *J. Invertebr. Pathol.* 55:235-244.
- Kruger, M., J.B.J. Van Rensburg, and J. Van den Berg. 2009. Perspective on the development of stem borer resistance to Bt maize and refuge compliance at the Vaalharts irrigation scheme in South Africa. *Crop Prot.* p. 684-689.

- Matten, S. 2007. Review of Dow AgroScience's (and Pioneer HiBred) submission (date July 12, 2007) regarding fall armyworm resistance to the cry1F protein expressed in TC1507 Herculex-1 Insect Protection Maize in Puerto Rico. MRID # 471760-01.
- McLean, M.A. and D.J. MacKenzie. 2001. Principle and practice of environmental safety assesment of transgenic plants. Workshop on Food Safety Environmental Risk Assesment, Bogor, 10-12 April 2001.
- McGaughey, W.H. 1985. Insect resistance to the biological insecticide *Bacillus thuringiensis*. *Science* 229:193-195.
- McGaughey, W.H. and R.W. Beeman. 1988. Resistance to *Bacillus thuringiensis* in colonies of the Indian meal moth and the Almond moth (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econ. Entomol.* 81:28-33.
- Mahyco Monsanto. 2010. Press Release. Cotton in India. [http://www.monsantoindia.com/monsanto/layout/pressreleases/mmb\\_pressrelease.asp](http://www.monsantoindia.com/monsanto/layout/pressreleases/mmb_pressrelease.asp).
- Oppert, B., K.J. Kramer, R.W. Beeman, and W.H. McGaughey. 1997. Proteinase-mediated insect resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins. *J. Biol. Chem.* 272:23473-23476.
- Pabbage, M.S., A.M. Adnan, dan N. Nonci. 2007. Pengelolaan hama prapanen jagung. Jagung: Teknik produksi dan pengembangan. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. hlm. 274-304.
- Palacpac, M.B., C.M. Barrion, S.A. Palizada, L. Teano, and E. Miana. 2010. Enhanced insect resistance management strategy for Bt corn in the Philipinnes. Asia Pacific Conference on Insect Resistance Management (IRM) for Bt crops. AIM Conference Center, Makati City, Philippines. March 18-19, 2010.
- Pang, A.S.D. and J.L. Gringorten. 1998. Degradation of *Bacillus thuringiensis*  $\delta$ -endotoxin in host insect gut juice. *FEMS Microbiol. Lett.* 167:281-285.
- Roush, R.T. 1994. Managing pests and their resistance to *Bacillus thuringiensis*: Can transgenic crops be better than sprays? *Biocontrol Sci. Technol.* 4:501-516.
- Roush, R.T. 1997. Bt-transgenic crops: Just another pretty insecticide or a chance for a new start in resistance management? *Pesticide Sci.* 51:328-334.
- Stone, T.B., S.R. Sims, and P.G. Marrone. 1989. Selection of tobacco budworm for resistance to a genetically engineered *Pseudomonas fluorescens* containing the  $\delta$ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis* subsp kurstaki. *J. Inverteb. Pathol.* 53:228-234.
- Storer, N.P., J.M. Babcock, M. Schlenz, T. Meade, G.D. Thompson, J.W. Bing, and R.M. Huckaba. 2010. Discovery and characterization of field resistance to Bt maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico. *J. Econ. Entomol.* 103(4):1031-1038.
- Subiyakto, M.P. 2010. Inovasi teknologi pengendalian hama berbasis ekologi dalam mendukung pengembangan kapas. Orasi Pengukuhan Profesor Riset Bidang Entomologi. Badan Litbang Pertanian, Kementerian Pertanian. 51 hlm.
- Tabashnik, B.E. 1994. Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annu. Rev. Entomol.* 39:47-79.
- Tabashnik, B.E., J.B.J. Van Resburg, and Y. Carriere. 2009. Field evolved insect resistance toBt crops: Difinition, theory, and data. *J. Econ. Entomol.* 102(6):2011-2025.
- Teano, L.A. and E. Miana. 2010. Validation of current IRM strategy for Bt corn, emerging trends and future developments. A paper presented at Asia Pacific Conference on insect resistance management (IRM) for Bt crops. AIM Conference Center, Makati City, Philippines. March 18-19, 2010.
- Van Rie, J., W.H. McGaughey, D.E. Johnson, B. Barnett, and H. Van Mellaert. 1990. Mechanism of insect resistance to microbial insecticide *Bacillus thuringiensis*. *Science* 247:72-74.
- Wright, R. and T. Hunt. 2004. Resistance management for YieldGard rootworm Bt corn (Publication No. NF04-594). University of Nebraska Cooperative Extention. <http://ianrpubs.unl.edu/insects/ng594.htm>.
-