

Konfirmasi Virulensi Beberapa Isolat Bt Lokal yang Mengandung Gen *Cry* terhadap Hama Tanaman

Bahagiawati, Habib Rijzaani, M. Iman, Harnoto, Tri P. Priyatno, dan Haeni Purwanti

Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

ABSTRAK

Telah dikonfirmasi toksisitas beberapa isolat Bt terhadap 4 jenis hama tanaman, yaitu *Ostrinia furnacalis* (penggerek batang jagung), *Spodoptera lituralis* (ulat-grayak), hama kubis *Plutella xylostella*, dan hama kedelai *Phaedonia inclusa*. Pengujian yang digunakan untuk mengetahui toksisitas terhadap *O. furnacalis* dan *S. lituralis* adalah dengan teknik pakan buatan sedangkan untuk *P. xylostella* dan *P. inclusa* adalah dengan sistem *leaf disk* (oles daun). Hasil penelitian toksisitas pada *O. furnacalis* menunjukkan bahwa dari 15 isolat yang diuji, 6 isolat memperlihatkan toksisitas tinggi dengan mortalitas di atas 80%, sedangkan terhadap *S. lituralis* dari 6 isolat yang diuji hanya 3 isolat yang menunjukkan mortalitas lebih besar 50%. Untuk *P. xylostella* telah diuji 12 isolat dan hanya 6 isolat memperlihatkan mortalitas sama dengan atau lebih besar dari 90%. Pengujian terhadap *P. inclusa* memperlihatkan dari 13 isolat yang diuji, 4 isolat memperlihatkan toksisitas relatif tinggi dengan LD₅₀ 2,0-3,3 hari.

Kata kunci: *Bacillus thuringiensis*, gen *cry*, hama

ABSTRACT

The toxicity of several Bt isolates were tested against 4 different plant pest i.e. *Ostrinia furnacalis*, *Spodoptera lituralis*, *Plutella xylostella*, and *Phaedonia inclusa*. For the first two pests, the artificial diet was used for bioassays while for the last two was leaf disk bioassays. The result of this experiment showed that from 15 isolates tested against *O. furnacalis*, only 6 isolat showed larval mortality over 80% while against *S. lituralis* from 6 isolates tested, only 3 isolates showed larval mortality over 50%. Twelve isolates were tested against *P. xylostella* and only 6 isolates gave mortality over 90%. For *P. inclusa* from 13 isolates tested, 4 isolates showed relatively high toxicity with LD₅₀ between 2.0-3.3 days.

Key words: *Bacillus thuringiensis*, *cry* gene, pest

PENDAHULUAN

Kerugian yang disebabkan oleh hama dan penyakit tanaman diperkirakan dapat mengurangi total produksi pertanian hingga 37%, 13% di antaranya adalah karena serangan hama. Di Amerika Serikat kerugian yang disebabkan oleh serangan hama dapat mencapai 7,7 miliar dolar per tahun atau 61,6 triliun rupiah per tahun (Bent dan Yu, 1999).

Teknologi yang sampai saat ini sering digunakan untuk mengendalikan hama adalah pemakaian insektisida sintetis. Teknologi ini merupakan

teknologi yang populer karena efeknya dapat dilihat dalam waktu singkat setelah aplikasi dan kemudahan dalam mendapatkannya, tetapi teknologi ini relatif mahal, terutama bagi para petani di negara yang sedang berkembang. Di samping itu, teknologi insektisida sintetik ini cukup berbahaya bagi manusia, hewan, dan spesies bukan sasaran serta lingkungan, jika dilakukan dengan prosedur yang kurang tepat.

Teknologi lain yang dapat digunakan untuk pengendalian hama adalah varietas tahan. Penggunaan varietas tahan ini telah menunjukkan keefektifannya di dunia, termasuk di Indonesia, di mana VUTW cukup sukses dalam mengendalikan hama wereng coklat (Oka dan Bahagiawati, 1984). Namun demikian, tidak tersedia varietas tahan untuk berbagai jenis hama. Kalaupun ada, jumlahnya sangat terbatas. Perkembangan teknologi DNA rekombinan telah memungkinkan perakitan tanaman tahan hama dengan teknologi rekayasa genetika.

Dikarenakan oleh adanya kekhawatiran akan pengaruh negatif pemakaian insektisida sintetik, maka masyarakat mengalihkan perhatiannya kepada bioinsektisida sebagai teknologi alternatif untuk menurunkan populasi hama. *Bacillus thuringiensis* (Bt), merupakan famili bakteri yang memproduksi kristal protein di *inclusion body*-nya pada saat ia bersporulasi (Hofte dan Whiteley, 1989). Bioinsektisida Bt merupakan 90-95% dari bioinsektisida yang dikomersialkan untuk dipakai oleh petani di berbagai negara (Feitelson *et al.*, 1993). Salah satu kelemahan pemakaian bioinsektisida Bt adalah kepekaan bioinsektisida ini terhadap sinar ultra violet, sehingga keefektifannya di lapang tidak bertahan lama (Dent, 1993). Di samping itu, bioinsektisida ini tidak dapat dipakai pada beberapa jenis hama yang hidup di dalam jaringan tanaman karena tidak dapat dijangkau oleh bioinsektisida yang digunakan. Contohnya adalah hama penggerek batang jagung dan padi. Dengan kemajuan teknologi, gen insektisida Bt ini telah dapat diisolasi dan diklon sehingga membuka kemungkinan untuk diintroduksi ke dalam tanaman.

Tanaman yang mengekspresikan gen Bt ini dikenal dengan sebutan tanaman transgenik Bt. Tanaman transgenik Bt pertama kali dikomersialkan pada tahun 1995/96 dan sejak itu luas pertanaman tanaman ini selalu meningkat (James, 1998). Tanaman transgenik Bt ini dapat mengatasi kelemahan yang dimiliki oleh bioinsektisida Bt karena faktor kepekaannya terhadap sinar UV dapat dihilangkan. Di samping itu, gen Bt ini terekspresi di dalam jaringan tanaman sehingga tanaman transgenik ini diharapkan dapat menghambat hama yang memakan jaringan tanaman tersebut.

Langkah awal dari upaya transformasi tanaman dengan gen Bt ini adalah mengkloning gen Bt ke dalam vektor yang sesuai. Pada saat ini semua upaya transformasi tanaman dengan gen Bt di Indonesia memakai gen Bt yang berasal dari luar negeri yang umumnya telah dipatenkan. Sehingga penggunaan gen ini di Indonesia hanya terbatas untuk penelitian saja. Karena tujuan akhir dari transformasi adalah untuk melepaskan tanaman

rakitan dan komersialisasinya, maka sangat diperlukan ketersediaan gen Bt yang dibuat sendiri sehingga kita bebas menggunakan sesuai dengan keperluan kita.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi isolat Bt lokal asal Indonesia dan menguji toksisitasnya terhadap hama target. Penelitian ini akan dimulai dengan mengkonfirmasi isolat-isolat yang telah ada di Balitbiogen yang telah diketahui mengandung gen *cry* tentang toksisitasnya terhadap hama target. Isolat yang mempunyai gen *cry* serta bertoksistas tinggi akan dipakai sebagai bahan kloning pada ROPP 2.

BAHAN DAN METODE

Pada penelitian ini diuji toksistas isolat Bt, baik isolat baru dan isolat yang telah ada di Balitbiogen, terhadap 4 jenis hama, yaitu *Ostrinia furnacalis*, *Spodoptera lituralis*, *Plutella xylostella*, dan *Phaedonia inclusa*.

Pakan yang digunakan untuk perbanyak *O. furnacalis* adalah pakan buatan, sedangkan untuk perbanyak *S. lituralis*, *P. Xylostella*, dan *P. inclusa* adalah pakan alami. Bahan untuk membuat pakan buatan adalah agar kertas, tepung kacang merah, tepung gandum, kasein, yeast Fermipan, asam askorbat, asam sorbat, methyl paraben, tetrasiklin, vitamin mix, dan madu 40% (v/v). Untuk *P. xylostella*, larva dipelihara di lembaran krop dari kubis, sedangkan *S. lituralis* dan *P. inclusa* berturut-turut dipelihara di daun talas dan kedelai. Untuk perbanyak dan penyimpanan isolat Bt dilakukan pada medium agar Luria Bertani (LB) sedangkan untuk pembuatan suspensi Bt untuk uji toksistas dilakukan pada medium T3.

Medium Perbanyak *Bacillus thuringiensis*

Luria Bertani (LB). Sebanyak 10 g tripton, 5 g *yeast extract*, dan 5 g NaCl, dimasukkan ke dalam gelas Beaker 1000 ml yang telah berisi air destilasi 500 ml, kemudian diaduk hingga homogen dengan *magnetic stirrer*. Derajat keasaman (pH) akhir diatur menjadi 7,2 dengan menggunakan NaOH atau HCl. Setelah itu, dimasukkan 20 g agar dan ditambahkan air destilasi hingga volume akhir mencapai 1000 ml, kemudian dipanaskan hingga seluruh agarnya larut. Masing-masing 10 ml medium dimasukkan ke dalam tabung 100 ml. Sterilisasi dilakukan selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm. Setelah itu, tabung berisi medium diletakkan miring di atas meja dan dibiarkan mengeras, selanjutnya disimpan dalam ruang pendingin suhu 5°C.

T3 cair. Pembuatan medium T3 cair tanpa menggunakan 2 g tryptose. Sebanyak 3 g tripton, 1,5 g *yeast extract*, 6,9 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, dan 8,9 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ dimasukkan ke dalam gelas Beaker 1000 ml yang telah berisi air destilasi 1000 ml, lalu diaduk hingga homogen dengan *magnetic stirrer*, kemudian ditambahkan 0,005 g MnCl_2 . Sebanyak 50 ml medium dimasukkan

dalam gelas Beaker 100 ml dan ditutup dengan kertas aluminium. Sterilisasi dilakukan selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm.

Persiapan Suspensi *Bacillus thuringiensis*

Koloni yang tumbuh di agar miring diambil dengan jarum ose, kemudian di-masukkan ke dalam 50 ml medium T3 cair dalam labu erlenmeyer 250 ml, dikocok dua hari dengan kecepatan 150 rpm. Setelah berumur dua hari, suspensi bakteri tersebut dipindahkan ke dalam tabung reaksi 50 ml, lalu disentrifugasi dengan ke-cepatan 4000 rpm selama 15 menit. Setelah itu, dicuci dengan air steril tiga kali, masing-masing disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit, ke-mudian dicuci lagi dengan NaCl (58, 44 g/l) satu kali, disentrifugasi dengan ke-cepatan 4000 rpm selama 15 menit, lalu dicuci lagi dengan air steril satu kali, disentri-fugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit. Air yang masih tersisa di-buang yang tinggal hanya endapannya saja. Setelah itu, endapan tersebut ditam-bahkan air steril 1 ml (sebagai pengganti bufer alkalik) lalu dikocok sampai homo-gen, kemudian dimasukkan dalam tabung eppendorf 1,5 ml.

Perbanyakan Serangga

Ostrinia furnacalis. Sebanyak 48 g agar kertas direndam dalam akuades sampai mengembang, kemudian air rendaman di buang. Agar tersebut dididihkan dalam 1200 ml akuades sampai larut. Sebanyak 250 g tepung kacang merah yang diayak, 200 g tepung gandum yang diayak, 100 g kasein, 125 g yeast Fermipan, 12 g asam askorbat, 6 gram asam sorbat, dan 10 gram methyl paraben di masukkan ke dalam 1000 ml akuades, dimixer sampai tercampur rata. Campuran tersebut dima-sukkan ke dalam larutan agar, lalu dimasak selama dua menit. Setelah campuran bahan agak dingin ditambahkan 0,25 g tetracyclin dan 20 g vitamin mix yang sudah dilarutkan dalam sedikit akuades. Campuran tersebut dituang ke dalam stoples plastik dan disimpan dalam lemari pendingin.

Larva *O. furnacalis* diperoleh dari pemeliharaan penelitian sebelumnya. Larva dipelihara di dalam stoples plastik yang tutupnya berlubang dan diberi kain kasa. Makanan buatan ditambahkan ke dalam stoples setiap 2 hari. Pada larva stadium terakhir di stoples diletakkan kertas yang dilipat bentuk kipas yang lipatan-nya akan digunakan larva sebagai tempat membentuk pupa.

Larva yang sudah membentuk pupa dipindahkan ke stoples lain yang pada seluruh dindingnya dilapisi kertas dan di dalamnya diletakkan kertas yang dilipat berbentuk kipas sebagai tempat ngengat meletakkan telur. Setelah imago keluar, ke dalam wadah tersebut diletakkan kapas yang sudah diberi larutan madu se-bagai makanan bagi imago. Imago biasanya mulai bertelur dua hari setelah keluar dari kepompong. Telur tersebut kemudian dikumpulkan dengan memotong kertas tempat telur berada, kemudian dipindahkan ke dalam wadah yang kering dan ber-sih. Setelah 3 hari instar 1 akan keluar. Larva tersebut akan digunakan pada uji tok-sitas.

***Spodoptera lituralis*.** Larva *S. lituralis* yang dikumpulkan dari lapang dan dipelihara dalam stoples plastik yang bersih dan tutupnya berlubang dan diberi kain kasa. Larva dipelihara di laboratorium dengan diberi pakan daun talas. Daun diganti setiap 2 hari. Larva yang sudah membentuk pupa dipindahkan ke dalam stoples lain yang seluruh dindingnya dilapisi kertas dan diletakkan kertas yang dilipat berbentuk kipas sebagai tempat ngengat meletakkan telur. Dalam wadah diletakkan kapas yang sudah direndam dalam larutan madu sebagai makanan ngengat.

Imago yang telah kawin biasanya meletakkan kelompok telur di permukaan kertas pelapis dinding stoples dan kipas. Telur tersebut dikumpulkan, dipindahkan ke stoples bersih, dan larva yang keluar akan dipergunakan dalam uji toksisitas.

***Plutella xylostella*.** Larva *P. xylostella* diperoleh dari lapang dan dipelihara dalam stoples plastik yang bersih. Makanannya berupa kubis yang diganti setiap 2 hari. Dalam wadah yang berisi kubis juga diletakkan kapas yang sudah direndam akuades dan diperas sedikit untuk menjaga kelembaban kubis agar tidak cepat layu. Larva biasanya membentuk pupa pada permukaan bawah atau lipatan kubis. Pupa akan menjadi ngengat dalam tempo 4 hari. Ngengat diberi makan berupa madu 40%. Ngengat yang sudah kawin meletakkan telur di permukaan kubis. Kubis yang membawa telur dipisahkan dalam wadah yang lain sampai telur menetas. Larva tersebut akan dipergunakan dalam uji toksisitas.

***Phaedonia inclusa*.** Serangga dewasa yang didapat dari lapang dipelihara dalam stoples plastik yang berisi daun kedelai muda. Di samping itu, ke dalam plastik juga dimasukkan kapas dengan madu 40%. Telur berwarna kuning dan diletakkan pada bagian bawah daun kedelai. Lebih kurang 4-5 hari kemudian telur akan menetas. Nimfa dipelihara di daun kedelai muda yang diganti setiap 2 hari sampai berpupa.

Uji Toksisitas *Bacillus thuringiensis* terhadap Larva Instar 1

***Ostrinia furnacalis*.** Pemberian suspensi Bt terhadap larva instar 1 *O. furnacalis* dilakukan melalui pakan buatan. Pakan buatan yang dipergunakan untuk perlakuan dibuat dalam kondisi steril. Proses pembuatan pakan untuk uji sama dengan pembuatan pakan untuk perbanyakan.

Sebelum makanan buatan dingin dan mengeras diambil 9 ml dengan menggunakan pipet kemudian dicampur dengan 1 ml suspensi Bt. Campuran tersebut kemudian dimasukkan ke dalam 3 cawan petri masing-masing berisi makanan buatan sebanyak 2500 µl. Untuk memudahkan pengamatan maka makanan buatan tersebut dibagi menjadi 5 bagian, masing-masing 500 µl. Proses pencampuran dan pencetakan tersebut dilakukan di dalam laminar *air flow*.

Pada masing-masing cawan dimasukkan 10 ekor larva instar 1, pengamatan terhadap mortalitas dilakukan pada hari ke-5 setelah infestasi.

Spodoptera lituralis. Cara pemberian Bt kepada *S. lituralis* sama seperti pemberian Bt terhadap *O. furnacalis*, yaitu menggunakan makanan buatan yang sama dengan makanan buatan untuk *O. furnacalis*. Sebelum makanan buatan di-angin dan mengeras diambil 9 ml dengan menggunakan pipet kemudian dicampur dengan 1 ml suspensi Bt. Campuran tersebut kemudian dimasukkan ke dalam 3 cawan petri masing-masing berisi makanan buatan sebanyak 2500 µl. Untuk memudahkan pengamatan maka makanan buatan tersebut dibagi menjadi 5 bagian, masing, masing 500 µl. Proses pencampuran dan pencetakan tersebut dilakukan di dalam laminar *air flow*.

Pada masing-masing cawan dimasukkan 10 ekor larva instar 1, pengamatan terhadap mortalitas dilakukan pada hari ke-5 setelah infestasi.

Plutella xylostella. Perlakuan terhadap *P. xylostella* dilakukan dengan pemberian suspensi *B. thuringiensis* terhadap kubis segar. Helaian kubis dipotong kotak dengan ukuran 1,5 cm x 1,5 cm, dicelup sampai terendam seluruhnya dalam larutan Bt selama 3 detik, kemudian dikering-anginkan sampai permukaan kubis benar-benar kering. Masing-masing potongan kubis dimasukkan dalam cawan petri yang sudah diberi kertas saring steril yang sudah dibasahi akuades steril. Pada masing-masing petri dimasukan 10 ekor larva instar. Pengamatan terhadap mortalitas larva dilakukan setiap hari selama 5 hari.

Phaedonia inclusa. Nimfa instar 1 digunakan untuk penelitian uji toksisitas. Pengujian dilaksanakan dengan sistem oles di mana daun kedelai muda dioles dengan suspensi Bt plus Tween 0,05%. Inokulasi Bt dilakukan dengan teknik peng-olesan pada 3 lembar daun kedelai menggunakan kuas. Pangkal daun dibalut kapas basah untuk mencegah agar daun tidak cepat layu. Daun diletakan dalam cawan petri (diameter 9 cm) yang dialasi dengan kertas saring basah. Nimfa *Phaedonia* instar I diinfestasikan setelah daun kering-angin. Mortalitas nimfa di-amati setiap hari selama 5 hari.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ostrinia furnacalis

Hasil penelitian disajikan pada Tabel 1. Dari Tabel 1 terlihat bahwa dari 15 isolat Bt yang diuji ada 6 isolat yang menunjukkan persentase kematian lebih dari 80%. Isolat tersebut adalah C512, Lam864, C531, C432, Jtg2151, dan C522.

Spodoptera lituralis

Hasil penelitian disajikan pada Tabel 2. Dari Tabel 2 terlihat bahwa larva *S. lituralis* agak tahan terhadap toksin Bt yang digambarkan dengan persentase kematian relatif rendah. Kontrol positif (Dipel) hanya memperlihatkan persentase kematian larva tertinggi, yaitu 70%. Hanya ada 3

isolat yang memperlihatkan persen-tase kematian yang lebih besar dari 50%, yaitu Jtg2151, Lam752, dan Lam762.

Plutella xylostella

Hasil penelitian disajikan pada Tabel 3. Dari 12 isolat yang diuji, 6 isolat memperlihatkan persentase kematian sama dengan atau lebih besar dari 90%. Isolat-isolat tersebut adalah Jtg2151, Lam864, C432, C522, G631, dan C531.

Phaedonia inclusa

Hasil penelitian disajikan pada Gambar 1. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aplikasi beberapa isolat Bt terhadap larva *P. inclusa* menimbulkan laju mortalitas yang cukup bervariasi. Mortalitas larva mulai terjadi pada 2 hari setelah inokulasi (HSI), dan pada 5 HSI, mortalitas larva mencapai 50-86,7% (Gambar 1). Pada serangga kontrol tidak ada larva yang mati. Hasil analisis probit menunjukkan bahwa waktu yang diperlukan isolat-isolat Bt untuk membunuh 50% populasi serangga (LT₅₀) umumnya terjadi pada 3 HSI. Isolat Lam941, Cib452, Lam954, dan Cib244 mempunyai nilai LT₅₀ paling rendah masing-masing adalah 2,8; 3,0; 3,3; dan 3,3 hari.

Dari Tabel 1 dan Tabel 3 terlihat bahwa ada 6 isolat Bt yang menunjukkan level toksisitas yang sama terhadap 2 jenis serangga. Keenam isolat tersebut, yaitu Jtg2151, C432, Lam864, C522, G631, dan C531 menunjukkan toksisitas tinggi terhadap *O. furnacalis* dan *P. xylostella*. Namun dua isolat lain, yaitu C423 dan C512 relatif tidak toksik terhadap *P. xylostella* tetapi toksik terhadap *O. furnacalis*. Jika Tabel 1 dan 3 dihubungkan dengan Tabel 2 terlihat bahwa Jtg2151 yang menunjukkan toksisitas tinggi terhadap *O. furnacalis* (91%) dan *P. xylostella* (97%) tetapi hanya menunjukkan persentase kematian lebih rendah terhadap *S. lituralis*, yaitu hanya sekitar 50%.

Tabel 3. Toksisitas isolat isolat Bt terhadap *Phaenocarpa xylosteella*

Isolat	Persentase kematian**
Isolat kontrol negatif	0,0 a
Kontrol negatif	20,0 a
Lam 762	18,3 a
Cib 361	18,3 a
Cib 452	18,3 a
Lam 954	16,7 a
Lam 861	40,0 ab
Cib 451	66,7 ab
Lam 752	47,0 bc
Lam 854	60,0 b
Cib 433	93,3 cd
Cib 631	74,0 cd
Lam 2151	96,7 c
C522	100,0 d
Lam 864	82,3 d
Cib 432	100,0 c
Cib 371	88,7 d
Lam 864	100,0 c
Lam 2151	91,0 d
Kontrol positif (Dipel)	100,0 c
C522	100,0 d

*Hasil rata-rata dari 3 ulangan. Angka-angka dalam satu

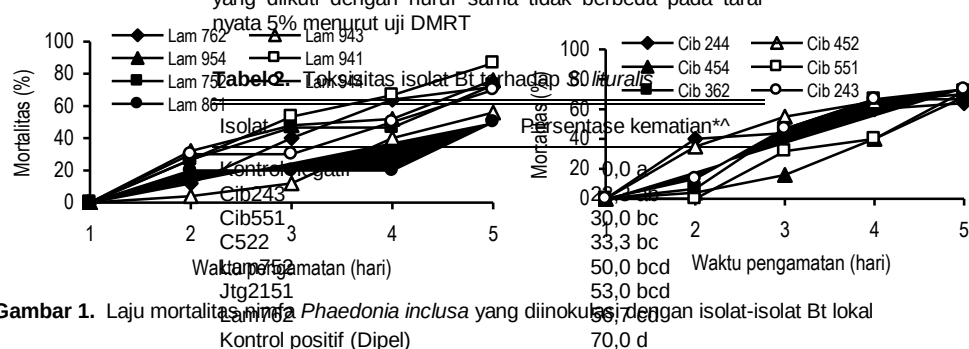
lajur yang diikuti dengan huruf sama tidak berbeda pada

taraf nyata 5% menurut uji DMRT

**Hasil rata-rata dari 3 ulangan. Angka-angka dalam satu

lajur yang diikuti dengan huruf sama tidak berbeda pada

taraf nyata 5% menurut uji DMRT



Gambar 1. Laju mortalitas nymfa *Phaenocarpa inclusa* yang diinokulasi dengan isolat-isolat Bt lokal

*Hasil rata-rata dari 3 ulangan. Angka-angka dalam satu

lajur yang diikuti dengan huruf sama tidak berbeda pada

taraf nyata 5% menurut uji DMRT

Jika dihubungkan Tabel 2 dan Gambar 1 maka terlihat isolat Lam752 dan Lam762 sama-sama bersifat toksik dengan persentase kematian lebih besar dari 50% terhadap *P. inclusa* (sekitar 50%) dan *S. litoralis* (sekitar 70%) akan tetapi Cib551 hanya menyebabkan kematian rendah (30%) pada *S. litoralis* tetapi menyebabkan kematian tinggi pada *P. inclusa*. Kedua serangga ini berlainan Ordo, *S. litoralis* termasuk dalam Lepidoptera sedangkan *P. inclusa* adalah Coleoptera. Saluran pencernaan serangga Lepidoptera umumnya mempunyai pH tinggi sedangkan Coleoptera umumnya mempunyai pH rendah. Dari penelitian ini di-ketahui bahwa toksisitas isolat Bt tidak sama terhadap semua jenis serangga. Ter-hadap serangga spesies tertentu sebuah isolat Bt dapat menyebabkan kematian tinggi namun pada serangga spesies lainnya tidak menyebabkan kematian seperti pada serangga jenis/spesies pertama.

Tabel 4. Nilai LT₅₀ isolat-isolat Bt terhadap nimfa *Phaedonia inclusa*

Isolat	Intersep (a)	Slope (b)	LT ₅₀ (hari)
Lam762	2,4435	4,6840	3,5
Lam943	1,5114	5,2285	4,6
Lam954	3,2098	3,4773	3,3
Lam941	2,7244	4,9466	2,8
Lam752	3,3072	3,0773	3,5
Lam944	3,1025	3,3260	3,7
Lam861	3,0187	2,5412	6,0
Cib244	3,4691	2,9409	3,3
Cib452	3,3532	3,4028	3,0
Cib454	1,3059	5,8335	4,3
Cib551	1,2944	6,0891	4,3
Cib362	2,3707	4,7859	3,5
Cib243	2,5627	4,6275	3,4

Toksisitas Bt terhadap serangga target tergantung dari jenis enzim protease dan pH yang ada di saluran pencernaan serangga (Lereclus *et al.*, 1993). Aktivitas Bt endotoksin sebagai insektisida mencakup beberapa tahap, yaitu masuknya endotoksin ke dalam saluran pencernaan serangga, aktivitas proteolitik enzim protease, pengikatan toksin pada membran *brush border* yang spesifik pada epitel usus tengah serangga, kerusakan sel pada membran dalam bentuk lisis dan kematian serangga. Jika salah satu tahap tidak terpenuhi maka protein tersebut tidak dapat membunuh serangga.

KESIMPULAN

Telah dikonfirmasi toksisitas sejumlah 28 isolat Bt terhadap *O. furnacalis*, *P. xylostella*, *S. lituralis* dan *P. inclusa*. Dari penelitian ini diketahui bahwa isolat Jtg2151 berpotensi untuk diklon karena isolat ini menunjukkan toksisitas terhadap semua serangga yang diuji kepadanya.

DAFTAR PUSTAKA

- Bent, A.F. and I.C. Yu. 1999.** Applications of molecular biology to plant disease and insect resistance. *Advances in Agronomy* 66:251-297.
- Dent, D.R. 1993.** The use of *Bacillus thuringiensis* as insecticide. In D.G. Jones (*Ed.*). *Exploitation of Microorganism*. Chapman and Hall. London. p. 9-44.
- Feitelson, J.S. 1993.** The *Bacillus thuringiensis* family tree. In L. Kim (*Ed.*). *Advanced Engineered Pesticides*. Marcell Dekker, Inc., New York. p. 63-71.
- Hofte, H. and H.R. Whiteley. 1989.** Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiol. Rev.* 53:242-255.

- James, C. 1998.** Global review of commercialized transgenic crops: 1998. ISSAA Briefs No. 8. 43 p
- Lereclus, D., A. Delecluse, and M.M. Lacadet. 1993.** Diversity of *Bacillus thuringiensis* toxins and genes. In P.F. Entwistle, J.S. Cory, M.J. Bailey, and S. Higgs (*Eds.*). *Bacillus thuringiensis*, an Environmental Biopesticide: Theory and Practice. New York
- Oka, I.N. and Bahagiawati. 1984.** Development and management of a new brown planthopper (*N. lugens*) in North sumatra. Contribution No. 71.