

# BULETIN *AgroBio*

ISSN 0853-9022

Vol. 3, No. 2, 2000

---

**JURNAL TINJAUAN ILMIAH RISET BIOLOGI DAN BIOTEKNOLOGI PERTANIAN**

---

- Identifikasi Bahan Makanan Alternatif dan Teknologi Pengolahannya untuk Ketahanan Pangan Nasional **Sri Widowati** ... 45
- Prospek dan Produksi Enzim  $\alpha$ -amilase dari Mikroorganisme **Nur Richana** ..... 51
- Protein Disulfida Isomerase: Pembentuk Ikatan Disulfida dan Pelipatan Protein **Jumiarti Agus** ... 59
- Kajian Metode Skrining Padi Tahan Kekeringan **Didi Suardi** ... 67
- Peranan dan Potensi *Dietary Insecticidal Protein* dalam Rekayasa Genetika Tanaman Tahan Hama **Bahagiawati Amirhusin** ..... 74



**Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan**  
**Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian**

**Penerbit**

Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan  
Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian  
Departemen Pertanian

**Alamat Penerbit**

Jalan Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111, Indonesia

**E-mail:** borif@indo.net.id & rifcb@indo.net.id

**Telepon:** (0251) 339793, 337975

**Faksimile:** (0251) 338820

**Kala Terbit**

Dua nomor per volume

**Penanggung Jawab**

Sugiono Moeljopawiro  
Kepala Balai Penelitian  
Bioteknologi Tanaman Pangan

**Redaktur Teknis**

Novianti Sunarlim  
Sutrisno  
Ida Hanarida Somantri  
Sri Widowati

**Redaktur Pelaksana**

Suyono  
Ida N. Orbani

**Buletin AgroBio** (dahulu bernama **Buletin Penelitian**) memuat artikel tinjauan ilmiah hasil riset dalam bidang biologi dan bioteknologi tanaman. Naskah (boleh ditulis dalam bahasa Indonesia atau Inggris) yang diajukan untuk diterbitkan hendaknya belum pernah dipublikasikan pada media cetak manapun dan ditulis sesuai dengan "Pedoman Bagi Penulis" (lihat sampul belakang bagian dalam). Dewan Redaksi berhak menyunting naskah tanpa mengubah isi dan makna tulisan atau menolak menerbitkan suatu naskah.

Naskah dapat bersifat tinjauan ilmiah (kritis) atau tinjauan informatif (anotasi) terhadap subjek tertentu, atau gabungan antara keduanya. Tinjauan ilmiah merupakan hasil evaluasi, sintesis, dan analisis kritis tentang riset bagi kepentingan ilmu pengetahuan dan teknologi, sedangkan tinjauan informatif merupakan hasil evaluasi bagi kepentingan pengguna.

Isi naskah dapat membahas salah satu dari butir-butir berikut, yaitu: (a) status riset pada subjek tertentu, baik yang telah, sedang, maupun yang akan dikerjakan, (b) pengungkapan masalah dan pemecahannya, (c) pengembangan suatu metode atau konsepsi, dan (d) gagasan dan pendekatan yang dapat dijadikan landasan bagi suatu usulan riset. Sumber bacaan seyogyanya meliputi bahan pustaka terbitan dalam dan luar negeri yang terkini dan relevan.

# Peranan dan Potensi *Dietary Insecticidal Protein* dalam Rekayasa Genetika Tanaman Tahan Hama

Bahagiawati Amirhusin

Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor

## ABSTRACT

**Role and Potential Use of Dietary Insecticide Protein in Genetic Engineering of Insect Plant Resistance.** *Bahagiawati Amirhusin.* Plant genetic engineering offers opportunities for creation of insect resistant plants through insertion and expression of insecticide proteins in plants. Since mid 1980's more than 10 plant species have been engineered for resistance to specific target insects. The gene product of most genes used in this program affecting insect growth by impairment of the insect's digestion system. Examples of the insecticide dietary proteins are Bt-endotoxins, proteinase inhibitors, and lectins (carbohydrate binding proteins). This review discusses the mode of action of some dietary insecticidal proteins used in plant genetic engineering for insect resistance their prospects.

**Key words:** Insecticidal protein, genetic engineering, proteinase inhibitor, Bt-endotoxin

Tujuan pembangunan sektor pertanian ialah untuk menaikkan produksi pertanian, kesempatan kerja, menaikkan pendapatan petani, menunjang produksi pertanian, pemerataan pendapatan, serta melestarikan sumber daya alam. Produksi pertanian harus dinaikkan untuk memenuhi kebutuhan pangan penduduk yang terus bertambah sekitar 1,98% per tahun (BPS, 1999) dan tuntutan pola konsumsi masyarakat yang berubah. Salah satu kendala dalam menaikkan produksi pertanian adalah serangan hama dan penyakit. Kerugian yang disebabkan oleh serangan hama di dunia diperkirakan 13% dari produksi total (Gatehouse *et al.*, 1994). Di Amerika Serikat diperkirakan lebih dari US\$ 10.000 juta dipergunakan untuk mengatasi persoalan hama tanaman. Salah satu cara untuk mengendalikan hama adalah dengan menanam varietas tanaman yang tahan atau resisten terhadap hama tertentu.

Dengan perkembangan ilmu dan teknologi telah terbuka kesempatan untuk menggunakan teknologi rekayasa genetika untuk merakit

tanaman tahan hama. Teknologi ini mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan dengan teknologi konvensional dalam beberapa hal, yaitu (1) memperluas pengadaan sumber gen resistensi karena dengan teknologi ini kita dapat menggunakan gen resistensi dari berbagai sumber, tidak terbatas dari tanaman dalam satu spesies tetapi juga dari tanaman yang berbeda spesies, genus atau ordo, dari bakteri, fungi, dan mikroorganisme lain, (2) dapat memindahkan spesifik gen ke lokasi yang spesifik pula pada tanaman, (3) dapat menelusuri stabilitas gen yang dipindahkan atau yang diintroduksi ke tanaman dalam setiap generasi tanaman, (4) memungkinkan mengintroduksi beberapa gen tertentu dalam satu event transformasi sehingga dapat memperpendek waktu perakitan tanaman multiple resisten, (5) tingkah laku gen yang diintroduksi di dalam lingkungan tertentu dapat diikuti dan dipelajari, seperti kemampuan gen tersebut di dalam tanaman tertentu untuk pindah ke tanaman lain yang berbeda spesiesnya (*outcrossing*), dan dampak negatif dari gen tersebut di dalam ta-

naman tertentu terhadap lingkungan dan organisme bukan target.

Setelah ada laporan tentang pembuatan tanaman transgenik yang pertama kali pada tahun 1984 (Horsch *et al.*, 1984) terdapat perkembangan yang pesat dalam bidang ini. Pembuatan tanaman transgenik resisten hama merupakan salah satu bidang yang mendapat perhatian besar dalam perbaikan tanaman. Sebagian besar usaha pembuatan tanaman transgenik tahan hama mempergunakan gen dari *Bacillus thuringiensis* (Bt). Pada tahun 1995 tanaman transgenik pertama mulai tersedia bagi petani di Amerika Serikat (jagung hibrida *Maximizer* mengandung *cry1A(b)* yang dibuat oleh Novartis, tanaman kapas *Bollgard* mengandung *cry1A(c)* yang dibuat oleh Monsanto, dan kentang *Newleaf* mengandung *cry3A*, yang dibuat oleh Monsanto. Pada tahun 1996 luas areal pertanaman jagung transgenik hanya 400.000 acre. Pada tahun 1997 luas areal ini meningkat menjadi 3-4 juta acre dan pada tahun 1998 mencapai 17 juta acre (Matten, 1998). Sampai dengan tahun 1998 lebih dari 10 jenis tanaman telah berhasil ditransformasi untuk tanaman transgenik tahan hama. Tanaman tersebut meliputi tembakau, tomat, kentang, kapas, padi, jagung, poplar, *whitespruce*, kacang polong, kacang hijau, *strawberry*, dan *canola* (Schuler *et al.*, 1998).

Gen tahan hama tanaman yang berhasil diintroduksi ke tanaman sampai saat ini umumnya menyerang sistem pencernaan serangga. Sebagai contoh adalah gen yang berasal dari *B. thuringiensis* dan tanaman (*plant-derived genes*). Saat ini, ada dua kelompok besar gen tanaman yang dipakai untuk membuat tanaman transgenik tahan hama, yaitu penghambat enzim pencernaan (*digestive enzyme inhibitor*) dan lektin.

## SISTEM PENCERNAAN SERANGGA

Untuk mengetahui insektisidal protein apakah yang akan dipakai sebagai penghambat pertumbuhan serangga, maka perlu diketahui sistem pencernaan serangga serta cara bekerja insektisidal protein tersebut dalam menghambat pertumbuhan hama.

Alat pencernaan serangga umumnya terdiri dari mulut, *hind-gut*, *mid-gut*, dan *fore-gut*. Pemecahan protein, karbohidrat, dan lemak yang masuk ke pencernaan serangga melalui mulut umumnya terjadi secara intensif di *mid-gut*. Umumnya *mid-gut* dilapisi oleh sampul (*envelope*) yang dikenal dengan *peritrophic membrane*, yaitu membran yang selektif karena hanya molekul yang memiliki ukuran kecil yang bisa melalui membran ini kemudian menuju ke *epithelial* sel untuk penyerapan oleh darah atau sistem sirkulasi serangga yang kemudian diedarkan ke seluruh atau ke bagian tubuh serangga yang menggunakannya. Zat penyusun *peritrophic membrane* dan *epithelial* sel antara lain adalah *chitin* (karbohidrat).

Salah satu enzim pencernaan dalam *mid-gut* serangga adalah enzim proteinase. Enzim proteinase ini mengkatalisis pemecahan protein yang dimakan oleh serangga untuk mendapatkan asam amino yang penting bagi pertumbuhan serangga secara normal. Ada empat kelas proteinase, yaitu serine, cysteine, aspartat, dan *metallo proteinase* (Koiwa *et al.*, 1997). Hanya tiga kelas pertama dari proteinase tersebut yang dijumpai di *mid-gut* serangga. Umumnya serangga dari golongan Lepidoptera tergantung kepada serine proteinase sebagai enzim untuk memecahkan protein yang dimakannya, sedangkan serangga golongan Coleoptera dan Hemiptera tergantung kepada cysteine dan/atau aspartat proteinase.

## INSEKTISIDAL PROTEIN

### Bt-Toxin

*Bacillus thuringiensis* adalah bakteri gram positif yang menghasilkan kristal protein yang bersifat membunuh serangga (insektisidal) sewaktu mengalami proses sporulasinya (Hofte dan Whiteley, 1989). Kristal protein yang bersifat insektisidal ini sering disebut dengan insektisidal kristal protein (IKP) atau  $\delta$ -endotoxin. IKP menempel secara spesifik di reseptor pada *epithelial* sel di *mid-gut* serangga. Penempelan ini menyebabkan tidak seimbang tekanan osmosis pada sel dan lingkungannya yang menyebabkan sel pada *epithelial* pecah (*lysis*) dan akibatnya serangga mati. Karena sifat insektisidalnya, Bt-toxin telah dipakai sebagai bahan/agen dalam pengendalian hama secara alami pada beberapa dekade ini, yaitu sebagai mikrobial insektisidal, tetapi mikrobial insektisidal ini mempunyai beberapa kelemahan, antara lain peka terhadap sinar ultra violet sehingga keefektifannya terbatas dalam waktu yang pendek. Di samping itu, beberapa hama tanaman menyerang tanaman pada lokasi yang sulit untuk dicapai oleh mikrobial insektisidal tersebut yang umumnya berbentuk tepung. Dengan berkembangnya teknik rekombinan, beberapa gen yang mengkode IKP ini telah berhasil diklon dan diintroduksi ke tanaman. Dengan integrasi gen Bt di dalam sel tanaman, dapat memperpanjang peluang Bt dalam mengendalikan hama dan meningkatkan keefektifan pengendalian.

Insektisidal kristal protein (IKP) telah dikelompokkan menjadi 6 kelas utama, yaitu *cry1* sampai *cry6* berdasarkan homologi sekuen asam amino di N-terminal, berat molekulnya, dan aktivitas insektisidalnya. Enam kelas tersebut adalah

1. *cry1* dapat menyerang serangga Lepidoptera
2. *cry2* dapat menyerang Lepidoptera dan Diptera
3. *cry3* dapat menyerang Coleoptera
4. *cry4* dapat menyerang Diptera,
5. *cry5* dapat menyerang Lepidoptera dan Coleoptera, dan
6. *cry6* yang menyerang nematoda

Beberapa tanaman transgenik telah direkayasa dengan gen tersebut di atas antara lain tanaman kapas yang mengandung gen *cry1A(c)* yang tahan terhadap serangga hama kapas *cotton bollworm* dan *beet armyworm* (Perlak *et al.*, 1990), kentang yang mengandung *cry3A* yang tahan terhadap *Colorado potato beetle* (Perlak *et al.*, 1993), padi yang mengandung *cry1A(b)* yang tahan terhadap hama penggerek batang *striped stem-borer* dan *leaf folder* (Fujimoto *et al.*, 1993).

## GEN INSEKTISIDAL BERASAL DARI TANAMAN

Telah diketahui bahwa ada beberapa protein yang diisolasi dari tanaman yang mempunyai pengaruh negatif bagi pertumbuhan dan perkembangan serangga. Di antara protein ini adalah  $\alpha$ -amilase inhibitor, lektin, dan *proteinase inhibitor*. Seluruh insektisidal protein yang disebutkan di atas umumnya ditemukan secara alami pada biji dan daun tanaman dalam jumlah 1-10% dari protein total tanaman tersebut.

Beberapa *proteinase inhibitor* telah diisolasi dari tanaman dan gen yang mengkode pembuatan protein ini telah berhasil disekuen dan diklon dalam vektor untuk dipergunakan dalam usaha transformasi tanaman. Sebagai contoh adalah  $\alpha$ -amilase inhibitor yang diisolasi dari biji tanaman *Phaseolus vulgaris* (Marshall dan Lauda, 1975; Altabella dan Chrispeels, 1990) dan

dari biji gandum *Triticum aestivum* (Yette *et al.*, 1979), *serine proteinase inhibitor* dari tanaman tomat (Fox 1986) dan kentang (Keil *et al.*, 1986), *cysteine proteinase inhibitor* dari biji padi (Abe *et al.*, 1987) dan biji kedelai (Hines *et al.*, 1991).

#### **$\alpha$ -amilase Inhibitor**

$\alpha$ -amilase inhibitor adalah protein yang menghambat enzim amilase di *mid-gut* serangga. Enzim amilase diperlukan oleh serangga terutama serangga yang memakan biji-bijian dan ubi yang kaya dengan zat pati (*starch*). Pati ini harus dipecahkan untuk mendapatkan molekul karbohidrat yang lebih kecil seperti polisakarida dan monosakarida agar dapat dipergunakan dalam sistem metabolisme serangga. Dengan dihambatnya pemecahan pati oleh  $\alpha$ -amilase inhibitor maka serangga tidak mendapatkan kebutuhan karbohidratnya yang kemudian dapat berakibat fatal bagi serangga tersebut.

$\alpha$ -amilase inhibitor dari *P. vulgaris* menghambat aktivitas amilase pada *crude extract* dari *mid-gut* serangga Lepidoptera seperti *Spodoptera littoralis*, *Agrotis ipsilon*, dan *Plodia interpunctella* (Gutierrez *et al.*, 1993). Inhibitor ini juga diketahui menghambat aktivitas amilase di *mid-gut* serangga *Callosobruchus maculatus* dan *Tribolium confusum* (Gatehouse *et al.*, 1986).

#### **Proteinase Inhibitor**

*Proteinase inhibitor* dijumpai pada berbagai makhluk hidup dan merupakan kelas protein yang banyak dijumpai. Tumbuh-tumbuhan terutama pada organ penyimpan seperti biji dan umbi mengandung berbagai kelas *proteinase inhibitor* (1-10% dari total proteinnya). *Proteinase inhibitor* terbagi atas beberapa kelas berdasarkan proteinase yang tidak diaktifkan, yaitu *serine proteinase inhibitor*, *cysteine pro-*

*teinase inhibitor*, dan *aspartyl proteinase inhibitor* (Ryan, 1990).

#### **Serine Proteinase Inhibitor**

*Serine proteinase inhibitor* merupakan kelas yang paling banyak dipelajari dibandingkan dengan kelas *proteinase inhibitor* lain. Banyak serangga dari kelas Lepidoptera tergantung dengan *serine proteinase* (trypsin, chymotrypsin, dan esterase) sebagai proteinase utama untuk mendapatkan asam amino dari protein yang dimakannya. Serangga Lepidoptera umumnya mempunyai pH 9-11 (alkali) pada *mid-gut*nya di mana pH ini merupakan pH optimal untuk *serine proteinase*. *Serine proteinase inhibitor* mempunyai efek negatif terhadap pertumbuhan serangga Lepidoptera dan Coleoptera. Salah satu *serine proteinase inhibitor*, yaitu *Kunitz inhibitor* yang diisolasi dari kedelai mempunyai efek negatif terhadap pertumbuhan larva *European cornborer* jika diberikan dalam dosis 2-5% dalam pakan buatan. *Inhibitor* ini dalam konsentrasi tinggi (10%) menghambat pertumbuhan *C. maculatus* dan *Manduca sexta* (Gatehouse dan Boulter, 1983; Shukle dan Murdock, 1983).

#### **Cysteine Proteinase Inhibitor**

*Cysteine proteinase inhibitor* juga banyak dijumpai di alam pada binatang, mikroorganisme, dan tanaman. *Cysteine proteinase* dijumpai dalam jumlah yang relatif besar di *mid-gut* lumen dari serangga golongan Hemiptera dan Coleoptera di mana pada dua kelas serangga ini pH di *mid-gut*nya sekitar 5. Serangga seperti *C. maculatus* (Campos *et al.*, 1989; Murdock *et al.*, 1988), *Zabrotes subfaciatus* (Lemos *et al.*, 1987), dan *Tribolium castaneum* (Murdock *et al.*, 1987) tergantung pada proteinase ini untuk mendapatkan asam amino bagi pertumbuhannya. *Cysteine proteinase inhibitor* telah diisolasi dari ber-

bagai biji tanaman seperti padi (*oryza cystatin*) dan kedelai (*soya cystatin*). Di samping itu, protein ini juga telah diisolasi dari umbi kentang (*potato multi cystatin*).

Gen yang mengkode *Oryza cystatin* telah diklon dan diintroduksi ke beberapa tanaman seperti tembakau (Bencheckroun *et al.*, 1995), kentang (Lecardonnel *et al.*, 1999), dan poplar (Leple *et al.*, 1995). Dari transformasi ini hanya transformasi pada tanaman poplar dan kentang yang memperlihatkan ketahanan terhadap hama tertentu.

#### **Aspartat Proteinase Inhibitor**

Pengetahuan mengenai *aspartat proteinase inhibitor* lebih sedikit jika dibandingkan dengan kedua kelas inhibitor lain. Houseman dan Downe (1983) melaporkan adanya proteinase ini di *mid-gut* serangga golongan Hemiptera. Proteinase ini juga dijumpai pada serangga Coleoptera seperti *C. maculatus* dan *Colorado potato beetle* (Silva dan Xavier-Filho, 1985; Thie dan Houseman, 1990).

*Aspartat proteinase inhibitor* juga telah diisolasi dari tanaman tomat dan kentang. Gen yang mengkode pembuatan protein ini juga telah diklon (Werner *et al.*, 1993; Shuh *et al.*, 1991; Hannapel 1993).

#### **Lektin**

Lektin merupakan *carbohydrate binding protein*, yaitu protein yang menempel pada *glycan* di *glycoprotein*, *glycolipid*, dan polisakarida (Golstein *et al.*, 1980). Lektin banyak dijumpai pada jaringan tanaman terutama pada biji tanaman leguminosa. Beberapa lektin sudah diketahui mempunyai *anti-nutritional* efek terhadap pertumbuhan serangga golongan Hemiptera, Coleoptera, Lepidoptera, dan Diptera.

Lektin *wheatgerm agglutinin* (WGA), umbi kentang, *thorn apple*, dan *osage orange* menghambat

pertumbuhan serangga hama *cowpea bruchid* (Murdock *et al.*, 1990). Lektin yang diisolasi dari *Ricinus communis*, *Triticum vulgare*, dan *Bauhinia purpurea* menyebabkan pengaruh yang fatal terhadap serangga penggerek batang jagung *European cornborer* (Czapla dan Lang, 1990). Lektin dari *snowdrop* (*Galanthus nivalis*) toksik terhadap hama wereng batang coklat, *Nilaparvata lugens* (Powell *et al.*, 1995). Cara kerja lektin ini dalam menghambat pertumbuhan serangga diperkirakan karena penempelan lektin ini pada karbohidrat yang menyusun *peritrophic membrane* akan mengganggu fungsi *peritrophic membrane* ini.

#### POTENSI DIETARY INSECTICIDAL PROTEIN DALAM REKAYASA GENETIKA TANAMAN TAHAN HAMA

Sampai saat ini telah dilakukan banyak transformasi tanaman untuk ketahanan terhadap hama dengan menggunakan *dietary insecticidal protein*. Sebagian besar transformasi itu menggunakan gen Bt yang memproduksi Bt-toxin. Tanaman transgenik yang mengekspresi Bt-toxin telah ditanam di beberapa negara baik di negara berkembang maupun di negara maju. Di Amerika Serikat luas areal penanaman tanaman transgenik yang mengandung gen Bt meningkat dari tahun ke tahun. Selain di Amerika Serikat, tanaman transgenik banyak ditanam di Kanada, Australia, Jepang, dan China. Pada saat ini, telah dimulai eksplorasi penggunaan *dietary insecticidal protein* dari jenis *Bacillus* lain selain *B. thuringiensis*.

Penggunaan insektisidal lain seperti *proteinase inhibitor*,  $\alpha$ -*amilase inhibitor*, dan lektin di berbagai negara hanya pada tahap percobaan (penelitian). Beberapa tanaman transgenik telah dihasilkan dimana

tanaman transgenik ini memperlihatkan efek negatif terhadap pertumbuhan serangga. Sebagai contoh adalah transformasi tanaman kacang polong dan kacang hijau dengan  $\alpha$ -*amilase inhibitor* dari *P. vulgaris* memperlihatkan ketahanan terhadap hama bruchid (Shade *et al.*, 1994; Schroeder *et al.*, 1995; Ishimoto *et al.*, 1996). Transformasi tanaman dengan *proteinase inhibitor* yang telah dilakukan adalah dengan *serine proteinase inhibitor*. Sebagai contoh adalah transformasi tanaman dengan *cowpea trypsin inhibitor* pada tanaman tembakau yang menghambat pertumbuhan serangga *Heliothis virescens* (Hilder *et al.*, 1987), transformasi pada tanaman *strawberry* terhadap hama *strawberry weevil* (Graham *et al.*, 1997), pada tanaman padi terhadap *Sesamia inferens* (Duan *et al.*, 1996), dan pada tanaman kentang terhadap *Lacanobia oleracea* (Gatehouse *et al.*, 1997). Contoh transformasi dengan *serine proteinase inhibitor* jenis lain adalah dengan *pinII* di mana *pinII* telah diintroduksi ke beberapa tanaman seperti tembakau yang memperlihatkan ketahanan terhadap *Chrysodeixis eriosoma* (McManus *et al.*, 1994) dan *M. sexta* (Johnson *et al.*, 1989), dan tanaman padi yang memperlihatkan ketahanan terhadap *Chilo suppressalis* (Xu *et al.*, 1996). Transformasi dengan gen yang mengkode *cysteine proteinase inhibitor* telah pula dilaporkan, yaitu dengan menggunakan *Oryza cystatin*. Hal ini telah dilakukan pada tanaman kentang yang menunjukkan ketahanan terhadap *Colorado potato beetle* (Lecardonel *et al.*, 1999) dan *poplar* (Leple *et al.*, 1995).

Transformasi tanaman menggunakan lektin telah dilakukan, misalnya menggunakan gen *pea lectin* pada tembakau yang memperlihatkan ketahanan terhadap *tobacco budworm* (Hepher *et al.*, 1989) dan dengan GNA (*snowdrop lectin*)

yang menunjukkan ketahanan terhadap *tobacco budworm* dan *potato aphid* (Hilder *et al.*, 1995).

Transformasi tanaman dengan menggunakan *dietary insecticidal protein* mempunyai batasan di mana telah diketahui beberapa hama tanaman menjadi tahan terhadap insektisidal protein tertentu. Mekanisme terjadinya ketahanan ini disebabkan oleh kemampuan enzim pencernaan serangga untuk beradaptasi dengan insektisidal yang dimakan secara terus menerus dalam periode waktu tertentu. Beberapa cara untuk mencegah terjadinya adaptasi ini telah disarankan termasuk untuk merakit tanaman dengan *multiple resistance genes*.

#### KESIMPULAN

Beberapa insektisidal protein dapat berperan dalam usaha perakit tanaman transgenik tahan hama. Bt-endotoxin yang telah berhasil diklon adalah gen *cry 1, 2, 3, 4, 5, dan 6* yang menyerang kelas hama tertentu. Beberapa gen Bt ini telah berhasil diintroduksi dan menunjukkan ketahanan terhadap serangga target.

Beberapa tanaman telah berhasil ditransformasi dengan gen yang berasal dari tanaman seperti  $\alpha$ -*amilase inhibitor*, *proteinase inhibitor*, dan lektin yang menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan serangga.

Adanya bukti bahwa beberapa hama menjadi resisten terhadap beberapa insektisidal protein sehingga diantisipasi dengan cadangan strategi untuk manajemen resistensi, salah satu di antaranya menggunakan tanaman yang multiple resisten.

## PUSTAKA

- Abe, K., Y. Emori, H. Kondo, K. Suzuki, dan S. Arai. 1987. Molecular cloning of a cysteine proteinase inhibitor of rice (*Oryza cystatin*): homology with animal cystatins and transient expression in the ripening process of rice seeds. *J. Biol. Chem.* 262:16793-16797.
- Altabella, T. and M.J. Chrispeels. 1990. Tobacco plants transformed with the bean  $\alpha$ -amylase inhibitor gene expressed an inhibitor of insect  $\alpha$ -amylase in their seeds. *Plant Physiol.* 93:805-810.
- Bencheckroun, A., D. Michaud, B. Nguyen-Qouc, S. Overney, Y. Desjardins, and S. Yelle. 1995. Synthesis of active *Oryza* cystatin I in transgenic potato plants. *Plant Cell Reports* 14:585-588.
- Biro Pusat Statistik (BPS). 1999. Statistik Indonesia 1999. Biro Pusat Statistik, Jakarta. 610 hlm.
- Campos, F.A.P., J. Xavier-filho, C.P. Silva, and M.B. Ary. 1989. Resolution and partial characterization of proteinase and  $\alpha$ -amylases from midguts of larvae of bruchid beetle, *C. maculatus* F. *Comp. Biochem. Physiol.* 92B:51-57.
- Czapla, T.H. and B.A. Lang. 1990. Effect of plant lectin on the larval development of European cornborer (Lepidoptera: Pyralidae) and Southern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. Econ. Entomol.* 83:2480-2485.
- Duan, X., X. Li, Q. Xue, M. Abo el Saad, D. Wu, and R. Wu. 1996. Transgenic rice plants harboring an introduced potato proteinase inhibitor II gene are insect resistance. *Nature Biotechnol.* 14:494-498.
- Fujimoto, H., K. Itoh, M. Yamamoto, J. Kyojuka, and K. Shimamoto. 1993. Insect resistant rice generated by introduction of  $\delta$ -endotoxin gene of *Bacillus thuringiensis*. *Bio/Tech.* 11:1151-1155.
- Fox, E.A. 1986. Isolation and characterization of a proteinase inhibitor II gene from *Lycopersicon esculentum*. Ph.D. thesis, Washington state University.
- Gatehouse, A.M.R. and D. Boulter. 1983. Assessment of the antimetabolic effects of trypsin inhibitors from cowpea (*Vigna unguiculata*) and other legumes on the development of the bruchid beetle *Callosobruchus maculatus*. *J. Sci. Food Agric.* 34:345-350.
- Gatehouse, A.M.R., K.A. Fenton, I. Jepson, dan D.J. Paney. 1986. The effect of  $\alpha$ -amylase inhibitor on storage pests: inhibition of  $\alpha$ -amylase *in vitro* and effects on development *in vivo*. *J. sci. food Agric.* 37:727-734.
- Gatehouse, A.M.R., W.D.O. Hamilton, C.A. Newell, A. Merryweather, D. Boulter, dan J.A. Gatehouse. 1994. Approaches in insect resistance using transgenic plants. In Beaven, M.W., B.D. Harrison, and C.J. Leaver (Eds.). *The Production and Uses of Genetically Transformed Plants*. p. 91-98.
- Gatehouse, A.M.R., G. Davison, C.A. Newell, A. Merryweather, W.D.O. Hamilton, E.J. Burgess, R.J.C. Gilbert, and J.A. Gatehouse. 1997. Transgenic potato plants with enhanced resistance to tomato moth, *Lacanobia oleracea*. *Mol. Breed.* 3:49-63.
- Goldstein, I.J., R.C. Hughes, M. Osawa, and N. Sharon. 1980. What should be called lectin? *Nature* 285: 66
- Gutierrez, C., G. Garcia-Casado, R. Sanchez-Monge, L. Gomez, P. Castnera, and G. Salcedo. 1993. Three inhibitor types from wheat endosperm are differentially active against  $\alpha$ -amylase of Lepidoptera pests. *Entomol. Exp. Appl.* 66: 47-52
- Graham, J., S.C. Gordon, and R.J. McNicol. 1997. The effect of the CPTI gene in strawberry against attack by vine weevil (*Otiorhynchus sulcatus* F. (Coleoptera: Curculionidae). *Ann. Appl. Biol.* 131:133-139.
- Hannapels, D.J. 1993. Nucleotide and deduced amino acid sequence of the 22 kD cathepsin D inhibitor protein of potato (*Solanum tuberosum*). *Plant Physiol.* 101:703-704.
- Hepher, A., G. Edward, and J.A. Gatehouse. 1989. Improvements relating to transgenic plants. European Patent Application No. 892018995
- Hilder, V.A., A.M.R. Gatehouse, R.F. Baker, and D. Boulter. 1987. A novel mechanism of insect resistance engineered into tobacco. *Nature* 330:160-163.
- Hilder, V.A., K.S. Powell, A.M.R. Gatehouse, J.A. Gatehouse, Y. Shi, W.D.O. Hamilton, A. Merryweather, C.A. Newell, and J.C. Timans. 1995. Expression of snow-drop lectin in transgenic tobacco plants results in added protection against aphid. *Transgene Res.* 4:18-25.
- Hines, M.E., C.I. Osuala, and S.S. Nielsen. 1991. Isolation and partial characterization of a soybean cystatin cysteine proteinase inhibitor of coleopteran digestive proteolytic activity. *J. Agric. Food Chem.* 39:1515-1520.
- Hofte, H. and H.R. Whiteley. 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiol. Rev.* 53:242-255.
- Horsch, R.B., R.T. Fraley, S.G. Rogers, P.R. Sander, A. Lloyd, and H. Hoffman. 1984. Inheritance of functional genes in plants. *Science* 223:496-498.
- Houseman, J.G. and A.E.R. Downe. 1983. Cathepsin D-like activity in the posterior mid-gut of hemipteran insects. *Comp. Biochem. Physiol.* 75B:509-512.
- Ishimoto, M., J. Sato, M.J. Chrispeels, and K. Kitamura. 1996. Bruchid resistance of transgenic adzuki bean expressing seed  $\alpha$ -amylase inhibitor in the common bean. *Entomol. Exp. Appl.* 79:309-315.
- Johnson, R., J. Navaez, G. An, dan C. Ryan. 1989. Expression of proteinase inhibitor I and II in transgenic tobacco plants: effects on natural defense against *Manduca sexta* larvae. *Natl. Acad. Sci. USA* 86:9871-9875.

- Keil, M., Sanchez-Serrano, J. Schell, and L. Willmitzer. 1986. Primary structure of a proteinase inhibitors II gene from potato (*Solanum tuberosum*). *Nuc. Acids Res.* 14:5641-5650.
- Koiwa, H., R.A. Bressan, and P.M. Hasegawa. 1997. Regulation of proteinase inhibitors and plant defense. *Trends Plant Sci.* 2:379-384.
- Lecardonnell, A., L. Chauvin, L. Jouanin, A. Beujean, G. Prevost, and B. Sangwan-Norreel. 1999. Effects of rice cystatin I expression in transgenic potato on Colorado potato beetle larvae. *Plant Science* 140:71-79.
- Lemos, F.A.J., J. Xavier-filho, and F.A.P. Campos. 1987. Proteinases of the mid-gut of *Zabrotes subfasciatus* larvae. *Arq. Biol. Technol.* 30:46.
- Lepie, J.C. M. Bonade-Botinno, S. Agustin, G. Pilaste, V.D. Le Tan, A. Deplanque, D. Cornu, and L. Jouanin. 1995. Toxicity to *Chrysomela tremulae* (Coleoptera: Chrysomelidae) of transgenic poplars expressing a cysteine proteinase inhibitor. *Mol. Breed.* 1:319-328.
- Marshall, J.J. and C.M. Lauda. 1975. Purification and properties of phaseolamin, an inhibitor of  $\alpha$ -amylase from kidney bean *Phaseolus vulgaris*. *J. Biol. Chem.* 250:8030-8037.
- Matten, S. 1998. EPA regulation of resistance management of Bt plant-pesticide. A Seminar Presented at A Joint Annual Meeting ESA and APS. Las Vegas, Nevada, November 8-12, 1998.
- McManus, M.T., D.W.R. White, and P.G. McGregor. 1994. Accumulation of a chymotrypsin inhibitor in transgenic tobacco can effect the growth of insects. *Transgenic Research* 3:50-58.
- Murdock, L.L., G. Brookhart, P.E. Dunn, D.E. Foard, S. Kelley, L. Kitch, R.E. Shade, R.H. Shukle, and J.L. Wolfson. 1987. Cysteine digestive proteinases in Coleoptera. *Comp. Biochem. Physiol.* 87B:783-787.
- Murdock, L.L., R.E. Shade, and M.A. Pomeroy. 1988. Effects of E-64,  $\alpha$ -cysteine proteinase inhibitor, on cowpea weevil growth, development, and fecundity. *Environ. Entomol.* 17:467-469.
- Murdock, L.L., J.E. Huesing, S.S. Nielsen, R.C. Pratt, and R.E. Shade. 1990. Biological effects of plant lectins on the cowpea weevil. *Phytochem.* 29:85-89.
- Perlak, F.J., R.W. Deaton, T.A. Armstrong, R.L. Fuchs, S.R. Simms, J.T. Greenplate, and D.A. Fischhoff. 1990. Insect resistant cotton plants. *Bio/Tech.* 8:939-943.
- Perlak, F.J., T.B. Stone, Y.M. Muskopf, L.J. Petersen, G.B. Parker, S.A. McPherson, J. Wyman, S. Love, G. Reed, D. Beaver, and D.A. Fischhoff. 1993. Genetically improved potatoes: Protection from damage by Colorado potato beetles. *Plant Mol. Biol.* 22:313-321.
- Powell, K.S., A.M.R. Gatehouse, V.A. Hilder, and J.A. Gatehouse. 1995. Antifeedant effects of plant lectins and an enzyme on the adult stage of rice planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Entomol. Exp. Appl.* 75:51-59.
- Ryan, C.A. 1990. Proteinase inhibitors in plants: Genes for improving defenses against insects and pathogens. *Annual Rev. Phytopath.* 28:425-449.
- Schuler, T.H., G.M. Poppy, B.R. Kerry, and I. Denholm. 1998. Insect resistant transgenic plants. *TibTech.* 16:168-175.
- Schroeder, H.E., S. Gollash, A. Moore, L.M. Tabe, S. Craig, D.C. Hardie, M.J. Chrispeels, D. Spencer, and T.J.V. Higgins. 1995. Bean  $\alpha$ -amylase inhibitor confers resistance to pea weevil (*Bruchus pisorum*) in transgenic peas (*Pisum sativum*). *Plant Physiol.* 107:1233-1239.
- Shade, R.E., H.E. Schroeder, J.J. Pueyo, L.M. Tabe, L.L. Murdock, T.J.V. Higgins, and M.J. Chrispeels. 1994. Transgenic pea seeds expressing the  $\alpha$ -amylase inhibitor of the common bean are resistant to bruchid beetles. *Bio/Technology* 12:793-796.
- Shukle, R.H. and L.L. Murdock. 1983. Lypogenase, trypsin inhibitor, and lectin from soybeans: Effect on larval growth of *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae). *Environ. Entomol.* 12:787-791.
- Shuh, S.G., W.J. Stiekema, dan D.J. hannapel. 1991. Proteinase inhibitor activity and wound inducible gene expression of 22 kD potato-tuber proteins. *Planta*: 184:423-430.
- Silva, C.P. and J. Xavier-Filho. 1991. Comparison between the levels of aspartic and cysteine proteinases of the larval midguts of *Callosobruchus maculatus* and *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera:Bruchidae). *Comp. Biochem. Physiol.* 99B:529-533.
- Thie, N. and J. Houseman. 1990. Cysteine and serine proteolytic activities in the larval midgut of yellow mealworm, *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae). *Insect Biochem.* 20:741-744.
- Xu, D., Q. Xue, D. McElroy, Y. Mawal, V.A. Hilder, and R. Wu. 1996. Constitutive expression of a cowpea trypsin inhibitor gene, CPTi, in transgenic rice plants confers resistance to two major rice pests. *Mol. Breed.* 2:167-173.
- Werner, R., M. Guiton, and H. Muhlbach. 1993. Nucleotide sequence of cathepsin D inhibitor protein from larvae *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Comp. Biochem. Physiol.* 89B:419-426.
- Yette, M.A., R.M. Saunders, and H.P. Boles. 1979.  $\alpha$ -amylase inhibitors from wheat kernels as factors in resistance to postharvest insects. *Cereal Chem.* 56:243-244.