

# Penggunaan *Bacillus thuringiensis* sebagai Bioinsektisida

Bahagiawati

Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor

## ABSTRACT

**Penggunaan *Bacillus thuringiensis* sebagai Bioinsektisida.** Bahagiawati. *Bacillus thuringiensis* (Bt) has been known as a microbial pesticide since decades. This bacteria is a gram-positive soil bacteria characterized by its ability to produce crystalline inclusions during sporulation. Bt-bioinsecticide has a significant advantage compare to synthetic pesticides because of its toxicity spesificity against targeted insects and relatively harmless to non-target organisms. This review discuss about mode of action, toxicity spesificity, and manipulation of this biopesticide for commercial purpose. In addition, this review also inform about cases where insect became resistance to this biopesticide and the effect of this bioinsecticide to some known natural enemies. The prospect of this bacteria either as microbial spray insecticide and as transgenic-Bt plant are also mentioned in this review.

**Key words:** *Bacillus thuringiensis*, microbial pesticides, transgenic plant

A danya kekhawatiran akan pengaruh negatif tentang pemakaian agrokhemikal telah meningkatkan perhatian masyarakat kepada bioinsektisida sebagai alternatif teknologi untuk menurunkan populasi hama. *Bacillus thuringiensis* (Bt), merupakan famili bakteri yang memproduksi kristal protein di *inclusion body*-nya pada saat ia bersporulasi. Bioinsektisida Bt merupakan 90-95% dari bioinsektisida yang dikomersialkan untuk dipakai oleh petani di berbagai negara. Dengan kemajuan teknologi, gen insektisidal 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 ini meningkat (James, 2000).

## SEJARAH DAN STATUS Bt

Bt telah dikenal sebagai biokon-trol agen sejak tahun 50-an. Bakteri ini tersebar di berbagai

tempat pa-da hampir semua penjuru dunia. Pertama kali dijumpai di Jepang pada tahun 1901, yang membunuh ulat sutera di tempat pemeliharaan. Sepuluh tahun kemudian, di Jerman ditemukan strain baru dari Bt pada larva yang menyerang biji-bijian (serealia) di gudang penyimpanan. Karena strain berikutnya ditemukan di Propinsi Thuringen, maka bakteri ini disebut *Bacillus thuringiensis*, yaitu nama yang diberikan pada famili bakteri yang memproduksi kristal paraspora yang bersifat insektisidal. Semula bakteri ini hanya diketahui menyerang larva dari serangga kelas Lepidoptera sampai kemudian ditemukan bahwa bakteri ini juga menyerang Diptera dan Koleoptera (Dent, 1993).

*B. thuringiensis* merupakan bakteri gram-positif berbentuk batang. Jika nutrien di mana dia hidup sangat kaya, maka bakteri ini hanya tumbuh pada fase vegetatif, namun bila suplai makanannya menu-run maka akan membentuk spora dorman yang mengandung satu atau lebih jenis kristal protein. Kristal ini mengandung protein yang disebut  $\delta$ -endotoksin, yang

bersifat lethal jika dimakan oleh serangga yang peka.

Produksi bioinsektisida Bt berkembang dengan pesat dari 24 juta dolar Amerika Serikat pada 1980 menjadi 107 juta dolar Amerika Serikat pada tahun 1989. Kenaikan permodalan diperkirakan mencapai 11% per tahun, di mana pada tahun 1999 mencapai 300 juta dolar Amerika Serikat. Bt yang dikomersialkan dalam bentuk spora yang membentuk inklusi bodi. Inklusi bo-di ini mengandung kristal protein yang dikeluarkan pada saat bakteri lisis pada masa *phase stationary*. Produk ini digunakan sebanyak 10-50 g per acre atau 1020 molekul per acre. Potensi toksisitasnya berlipat kali dibandingkan dengan pestisida, misalnya 300 kali dibandingkan dengan sintetik pyrethroid (Feitelson *et al.*, 1992). Penggunaan Bt tidak hanya dalam bentuk *microbial spray* yang berkembang di lapang, tetapi juga dalam bentuk tanaman transgenik Bt. Sebagai contoh luas penanaman transgenik Bt di USA meningkat hampir 3 kali lipat, yaitu dari 4 juta ha pada tahun 1997 menjadi 11,5 ha pada tahun 2000 (James, 2000).

## CARA KERJA

*B. thuringiensis* adalah bakteri 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  $\delta$ -endotoksin. Kristal ini sebenarnya hanya merupakan pro-toksin yang jika larut dalam usus serangga akan berubah menjadi poli-peptida yang lebih pendek (27-149 kd) serta mempunyai sifat insektisidal. Pada umumnya kristal Bt di alam bersifat protoksin, karena adanya aktivitas proteolisis dalam sistem

pencernaan serangga dapat mengubah Bt-protoksin menjadi polipeptida yang lebih pendek dan bersifat toksin. Toksin yang telah aktif berinteraksi dengan sel-sel epithelium di midgut serangga. Bukti-bukti telah menunjukkan bahwa toksin Bt ini menyebabkan terbentuknya pori-pori (lubang yang sangat kecil) di sel membran di saluran pencernaan dan mengganggu keseimbangan osmotik dari sel-sel tersebut. Karena keseimbangan osmotik terganggu, sel menjadi bengkak dan pecah dan menyebabkan matinya serangga (Hofte dan Whiteley, 1989).

#### DIVERSIFIKASI SUBSPESIES Bt DAN KLASIFIKASI GEN CRY

Beberapa subspecies dari bakteri Bt, yaitu *kurstaki*, *aizawai*, *sotto*, *entomocidus*, *berliner*, *san diego*, *tenebroid*, *morrisoni*, dan *israelensis*. Dalam satu subspecies Bt dijumpai beberapa jenis strain Bt seperti HD-1, HD-5, dan sebagainya. Umumnya lebih dari satu jenis kristal protein ditemukan dalam strain Bt seperti yang disajikan pada Tabel 1. Gen yang mengkode kristal protein yang dihasilkan oleh bakteri ini telah diisolasi dan dikarakterisasi, dikenal dengan sebutan gen *cry* yang berasal dari kata *crystal*.

Kristal endotoksin Bt telah dikelompokkan menjadi delapan kelas utama, yaitu *cryIA* sampai *cryX* ber-

dasarkan homologi sekuen asam amino di N-terminalnya, berat molekulnya, dan aktivitas insektisidalnya (Margino dan Mangundihardjo, 2002). Delapan kelas tersebut adalah:

1. *CryI* yang menyerang serangga lepidoptera
2. *CryII* yang menyerang lepidoptera dan diptera
3. *CryIII* yang menyerang koleoptera
4. *CryIV* yang menyerang diptera
5. *CryV* yang menyerang lepidoptera dan koleoptera
6. *CryVI* yang menyerang nematoda
7. *CryIXF* yang menyerang lepidoptera
8. *CryX* yang menyerang lepidoptera

Pengetahuan tentang mekanisme daya kerja dari endotoksin ini penting untuk menentukan proses kunci (*key process*) yang bertanggung jawab terhadap spesifikan dari sebuah kristal protein. Faktor utama yang menentukan kisaran ruang (*host range*) dari kristal protein adalah perbedaan pada larva midgut yang mempengaruhi proses kelarutan (*solubilization*) dan prosesing kristal dari tidak aktif menjadi aktif, dan keberadaan dari spesifik (*binding-site*) protoksin di dalam gut dari spesies-spesies serangga.

#### SELEKSI, MANIPULASI, DAN EVALUASI STRAIN Bt

Strain dan isolat Bt yang baru terus bermunculan dan dievaluasi penggunaannya sebagai pestisida mikrobial. Pencarian strain baru merupakan hal yang penting untuk dilakukan karena akan menjadi dasar untuk penggunaan Bt di masa mendatang.

Umumnya strain Bt diseleksi berdasarkan potensinya untuk menghambat pertumbuhan serangga. Karena salah satu kelemahan yang sering dijumpai dalam pengaplikasian Bt di lapang adalah sensitivitasnya terhadap sinar ultra violet (UV) maka seleksi juga harus berdasarkan tingkat ketahanannya terhadap sinar UV. Dengan perkembangan ilmu pengetahuan, maka gen Bt dapat diisolasi. Bahkan dengan teknik rekombinan DNA telah membuka kemungkinan untuk memanipulasi gen Bt sehingga strain Bt menjadi lebih baik. Salah satu teknik yang digunakan adalah menempatkan gen Bt di vektor yang berupa plasmid. Plasmid ini berada di dalam bakteri. Perbaikan bakteri dapat dilakukan dengan cara protoplas transformasi, transduksi, dan konjugasi. Dengan teknik tersebut, tidak hanya dapat dipelajari cara kerja Bt tapi juga memperbaiki formulasi, *host range*, dan toksisitasnya. Di antara ketiga teknik tersebut, teknik konjugasi merupakan teknik yang paling banyak digunakan untuk memperbaiki sifat Bt, yaitu dengan cara mengawinkan strain-strain (*mixture culture*) untuk pertukaran plasmid di antara strain Bt. Cara ini lebih bersifat alami untuk memperbaiki aktivitas Bt dan spektrumnya daripada cara transduksi dan transformasi protoplas. Beberapa penelitian telah dilakukan, misalnya dengan mentransfer gen kristal lepidoptera-aktif ke dalam strain koleoptera-aktif untuk mendapatkan strain Bt yang aktif terhadap lepidoptera dan koleoptera (Dent, 1993).

**Tabel 1.** Klasifikasi kristal protein (*Cry*) *Bacillus thuringiensis* dan spesifikasi terhadap serangga dan nematoda (Margino dan Mangundihardjo, 2002)

No.	Klas	Contoh	Kelompok hama/nematoda
1.	I	<i>Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1Cb, Cry1F</i>	Lepidoptera
2.	II	<i>CryIIA, CryIIB, CryIIC</i>	Lepidoptera
3.	III	<i>CryIIIA, CryIIIB, CryIIIC</i>	Koleoptera
4.	IV	<i>CryIVB, CryIVC</i>	Diptera
5.	V	<i>CryV</i>	Lepidoptera dan Koleoptera
6.	VI	<i>CryVI</i>	Nematoda
7.	IX	<i>CryIXF</i>	Lepidoptera
8.	X	<i>CryX</i>	Lepidoptera

## FERMENTASI, FORMULASI, DAN APLIKASI DI LAPANG

Berhasilnya isolasi strain Bt, tidak merupakan garansi untuk mendapatkan bioinsektisida Bt yang dapat digunakan oleh petani. Untuk dapat dikomersialkan strain Bt tersebut harus dapat diproduksi secara massal. Di samping itu, memerlukan formulasi yang tepat dan harus dapat memberikan performansi yang baik di lapang.

### Fermentasi

Proses fermentasi dapat mengikuti proses fermentasi konvensional yang umumnya digunakan untuk fermentasi bakteri. Beberapa perbaikan telah diterapkan terutama perbaikan media (Burgess, 1981), sistem airasi (Luthy, 1986), dan formulasi (Burgess, 1981). Perbaikan media umumnya untuk mencari media yang lebih murah dan dapat ditemukan di lokasi setempat (Dent, 1993). Perbaikan ini dapat juga dilakukan dengan menyisipkan gen Bt ke dalam bakteri yang mudah ditumbuhkan seperti *Pseudomonas* spp. (Jutsum, 1988).

### Formulasi

Bahan aktif Bt biasanya diformulasikan dalam bentuk *wettable powder*, *dust* atau *granular*. Dahulu, *wettable powder* kurang digemari karena mempunyai kelemahan, yaitu tidak larut dan menyebabkan sedimentasi. Namun sejak tahun 1980-an *wettable powder* ini dimodifikasi sehingga banyak digunakan tanpa menyebabkan kesulitan dalam aplikasinya.

Dalam formulasi ini sering ditambahkan *additive* yang berfungsi memperbaiki persistensi, mengurangi degradasi kristal Bt yang disebabkan kontaminasi dengan protease, melindungi dari sinar UV dan mencegah berkecambahnya spora

karena air atau larutan yang berada pada permukaan daun tanaman. Beberapa *additive* merupakan *feeding stimulant* atau materi yang memperbaiki aplikasi atau ritensinya.

Semula persistensi Bt mempunyai jangka waktu yang relatif pendek, yaitu sekitar 4 hari atau kurang, namun sekarang bioinsektisida Bt yang baru dapat bertahan sampai 10 hari (Dent, 1993). Inaktivasi kristal Bt oleh sinar UV merupakan faktor pembatas utama dalam aplikasi di lapang. Salah satu solusi adalah memberikan zat yang dapat melindungi dari sinar UV dalam formulasinya. Materi yang dapat dipakai misalnya *congo red*, *folic acid*, dan *paraamino benzoate*. Enkapsulasi kristal Bt dengan *starch matrix* dapat juga digunakan (Dunkle dan Shasha, 1989).

### Aplikasi

Hasil dari penelitian di lapang menunjukkan adanya variasi tetapi umumnya menyatakan hasil yang positif terhadap hama di lapang seperti *Plodia interpunctella*, *Spodoptera littoralis*, *Helicoverpa armigera*, *Lepidoptera decimlineata*, dan lain sebagainya. Beberapa faktor yang menentukan keberhasilan pemakaian *microbial spray* di lapang antara lain distribusi spora yang tidak merata, laju konsumsi serangga/ larva, variasi larutan spora dalam tanki, ukuran droplet, dan sebagainya (Dent, 1993). Aplikasi Bt di lapang dapat dilakukan dengan berbagai cara seperti menggunakan *knapsack sprayers*, *hand-bait*, *dust-blower*, dan kapal terbang.

### KOMERSIALISASI Bt SEBAGAI MIKROBIAL PESTISIDA

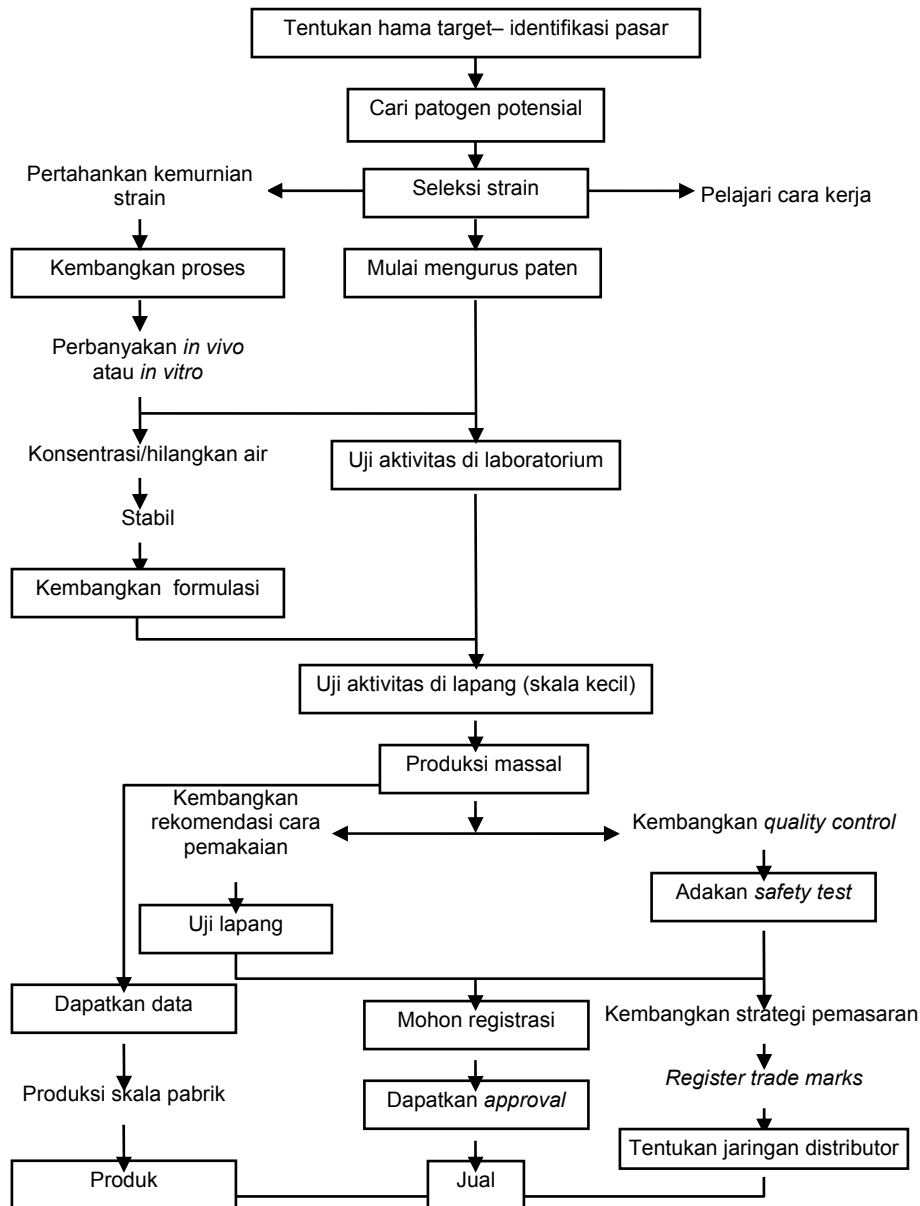
Keberhasilan Bt sebagai mikrobia pestisida tidak hanya tergantung dari faktor-faktor yang telah

dikemukakan, tetapi juga keberhasilan dalam menciptakan pasar. Jika pasar tidak tercipta maka usaha untuk membuat biopestisida Bt yang memerlukan biaya mahal akan sia-sia. Langkah-langkah yang dilakukan untuk memproduksi secara komersial suatu agen insektisidal mikrobial dapat dilihat pada Gambar 1. Dalam Gambar 1 diterangkan urutan langkah-langkah mulai dari penentuan hama target yang akan ditangani, identifikasi pasar, penentuan jenis patogen (dalam hal ini mikroba), dan proses identifikasi strain serta perbanyakan massalnya. Langkah berikutnya adalah paten dan penetapan jaringan distribusi serta penjualan produk.

### KASUS DAN MEKANISME SERANGGA HAMA MENJADI RESISTEN Bt-TOXIN

Keuntungan pemakaian Bt jika dibandingkan dengan pestisida kimiawi adalah Bt bersifat toksin terhadap hama dari spesies tertentu sehingga tidak membunuh serangga dan hewan bukan sasaran. Namun demikian, setelah pemakaian pestisida mikrobial ini selama bertahun-tahun di lapang, ada indikasi hama menjadi resisten terhadap Bt.

Kasus resistensi hama terhadap Bt-toxin telah dilaporkan pertama kali pada tahun 1985. Berdasarkan penelitian yang diadakan di laboratorium, McGaughey (1985) melaporkan kasus resistensi hama *Indian mealmoth* (*Plodia interpunctella*) terhadap dipel (Abbot Laboratory), Bt komersial yang mengandung *Bacillus thuringiensis* subsp kurstaki HD-1. Koloni *P. interpunctella* ini diperbanyak pada makanan buatan yang mengandung dipel pada dosis yang menghasilkan mortalitas larva sebesar 70-90%. Dalam waktu dua generasi, resistensi meningkat menjadi 30 kali dan setelah



Sumber: Dent (1993)

Gambar 1. Skema tahapan komersialisasi mikrobial pestisida

15 generasi, resistensi mencapai *plateau* dimana terjadi 100 kali peningkatan resistensi dibandingkan dengan kontrol. Resistensi hama lain terhadap Bt juga telah dilaporkan misalnya pada *almond moth Cadra cautella* (Huang *et al.*, 1999) dan *Heliothis virescens* (Stone *et al.*, 1989).

Analisis genetik dari gen yang mengatur resistensi serangga hama terhadap Bt-toxin juga telah dipela-

jari. *Inheritance* dari resistensi *P. interpunctella* adalah *autosomal* dan bersifat resesif atau resesif sebagian, sedangkan pada *H. virescens* yang resisten terhadap subsp kurstaki HD-1 adalah *autosomal* dan *incompletely dominant* dan dikontrol oleh beberapa faktor (Huang *et al.*, 1999).

Resistensi hama terhadap Bt-toksin dapat terjadi pada dua fase, yaitu pada proses aktivasi protoksin

menjadi toksin dan proses melekatnya (*binding*) Bt-toksin yang aktif di sel reseptor di epitelial pada dinding usus serangga.

Hasil penelitian Johnson *et al.* (1990) pada hama *P. interpunctella* menunjukkan bahwa mekanisme kedua berperan di sini. Mereka menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan antara aktivitas di usus serangga pada proses aktivitas proteolisis yang mengubah protoksin menjadi toksin di antara serangga peka dan tahan Bt. Hal ini juga dikemukakan oleh Van Rie (1990) yang memperlihatkan bahwa resistensi *P. interpunctella* terhadap *cry1Ab* berkorelasi dengan 50 kali reduksi dari afinitas toksin di reseptor pada sel-sel epitelial dinding usus serangga.

Berkurangnya afinitas Bt-toxin pada sel reseptor epitelial juga dilaporkan menjadi sebab resistensi *Plutella xylostella*, *H. virescens*, dan *S. exigua*. Tetapi tidak semua kasus di mana terjadi reduksi afinitas Bt-toxin dan reseptor mengakibatkan terjadinya resistensi hama terhadap Bt-toxin (Oppert *et al.*, 1997).

Forcada *et al.* (1996) menunjukkan bahwa mekanisme resistensi serangga *H. virescens* terhadap Bt-toksin bukan karena perubahan afinitas Bt-toksin dan reseptor sel epitelial di midgut serangga. Resistensi terjadi karena pada strain *H. virescens* yang resisten dijumpai enzim proteinase yang memproses protoksin menjadi toksin lebih lama dan setelah toksin terbentuk terjadi proses degradasi toksin lebih cepat daripada proses yang terjadi di midgut serangga yang masih peka Bt-toksin. Oppert *et al.* (1997) menemukan juga bahwa resistensi *P. interpunctella* terhadap Bt-toksin disebabkan karena kurangnya aktivitas proteinase yang dapat mengaktifkan Bt-protoksin

menjadi Bt-toksin, selanjutnya Pang dan Gringorten (1998) menunjukkan bahwa degradasi Bt-toksin menyebabkan hama *Chroristoneura fumiferana* resisten terhadap Bt.

### ALTERNATIF PENGGUNAAN Bt SEBAGAI TANAMAN TRANSGENIK

Bt-toksin telah digunakan sebagai bahan/agen dalam pengendalian hama secara alami sejak tahun 1950-an, yaitu sebagai insektisidal mikrobial. Namun demikian, insektisidal mikrobial ini mempunyai beberapa kelemahan, antara lain peka terhadap sinar ultraviolet sehingga efektifitasnya terbatas dalam waktu yang pendek. Selain itu, beberapa hama tanaman menyerang pada lokasi yang sulit dicapai oleh insektisidal mikrobial yang umumnya berbentuk tepung atau granular. Dengan berkembangnya teknik rekombinan, beberapa gen yang mengkode Bt-toksin telah berhasil diklon dan diintroduksi ke dalam tanaman. Dengan terintegrasinya gen Bt di dalam sel tanaman dapat memperpanjang peluang Bt dalam mengendalikan hama dan meningkatkan efektifitas pengendalian.

Sebagian besar usaha perakitan tanaman transgenik tahan hama menggunakan gen dari *B. thuringiensis*. Pada tahun 1995 tanaman transgenik pertama mulai tersedia bagi petani di Amerika Serikat (jagung hibrida yang mengandung *cry1A(b)*, Maximizer, yang dibuat oleh Novartis, tanaman kapas Bollgard mengandung *cry1A(c)*, yang dibuat oleh Monsanto, dan kentang Newleaf yang mengandung *cry3A*, yang dibuat oleh Monsanto. Pada tahun 1996 luas area pertanaman jagung transgenik hanya 400.000 *acre*, tetapi tahun 1997 luas area 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 menjadi tanaman transgenik tahan hama. Tanaman tersebut adalah tembakau, tomat, kentang, kapas, padi, jagung, poplar, whitespruce, kacang "garden pea", kacang hijau, strawberry, dan kanola (Schuler *et al.*, 1998).

Hasil penelitian di laboratorium ada yang mengindikasikan bahwa beberapa hama dapat menjadi resisten terhadap Bt toksin sehingga beberapa strategi telah diajukan untuk memperlambat atau menghindari proses terjadinya resistensi hama Bt (Bahagiawati, 2001). Umumnya strategi ini lebih ditekankan pada pemakaian tanaman transgenik Bt daripada Bt sebagai biopestisida. Sebagai contoh, program untuk *re-sistance management* dari tanaman transgenik tahan hama adalah program komprehensif *resistance management* dari tanaman kentang *newleaf* yang diproduksi oleh Monsanto. Tanaman kentang ini adalah tanaman kentang transgenik pertama yang dilepas yang mengandung gen *cry3A* yang tahan terhadap *Colorado potato beetle*. Umumnya program ini adalah suatu program pengendalian hama terpadu (PHT) yang salah satu komponennya adalah tanaman transgenik tahan hama. Komponen yang disarankan adalah penanaman refugia plot, monitoring keberadaan hama, pengendalian kultural dan fisik, pengendalian biologikal, dan penggunaan pestisida yang selektif (Fieldman dan Stone, 1997).

### PENGARUH Bt ENDOTOKSIN TERHADAP PERKEMBANGAN POPULASI ARTHROPODA PENGENDALI HAYATI

Secara keseluruhan Bt-endotoksin baik yang digunakan secara *microbial spray* maupun yang berupa tanaman transgenik

mempunyai pengaruh terhadap musuh alami. Namun demikian, pengaruh Bt endotoksin terhadap musuh alami lebih kecil dibandingkan dengan pestisida buatan. Pengaruh ini sangat spesifik tergantung jenis gen tahan yang diekspresikan tanaman transgenik, jenis hama, dan jenis predator/parasitnya. Penelitian tentang pengaruh Bt-endotoksin terhadap musuh alami telah dilakukan baik di laboratorium maupun di lapang.

### Potensi Pengaruh Bt terhadap Perkembangan Parasitoid

Bt-protoksin yang digunakan sebagai pestisida mikrobial tidak toksis terhadap parasitoid meskipun ada beberapa kasus pengecualian yang telah dilaporkan (Schuler *et al.*, 1999). Serangga parasitoid mempunyai karakteristik yang berbeda antara imago dan larvanya. Tanaman transgenik akan mempengaruhi parasitoid dalam fase larva secara tidak langsung karena parasitoid ini terekspos lebih banyak ke jaringan tubuh larva yang dimakan daripada langsung ke tanaman transgenik. Larva parasitoid akan terekspos ke berbagai protein yang ada di tubuh serangga yang diparasit secara langsung ketika memakan jaringan tubuh inangnya. Ada kemungkinan dosis sublethal dari toksin yang ada di tubuh inang akan meningkatkan daya parasitismenya, yaitu dengan melemahnya sistem imun dari inangnya. Penelitian mengenai pengaruh Bt-toksin pada dosis sublethal terhadap hama kubis *diamond backmoth (Plutella xylostella)*, ternyata ditemukan bahwa Bt dapat memperpanjang periode pupa dari parasit braconid *Cotesia plutellae*. Namun demikian, tidak dijumpai pengaruhnya terhadap braconid lainnya, yaitu *Diadegma*

*insulare* yang juga memangsa *P. xylostella* (Schuler *et al.*, 1999). Pengaruh negatif juga tidak dijumpai pada parasitoid hama kubis lainnya seperti hama *Helicoverpa armigera* dengan parasit *Microplitis croceipes* (Blumberg *et al.*, 1997).

Percobaan lapang dengan tanaman transgenik tembakau yang mengekspresikan Bt-toksin dalam level rendah menunjukkan adanya sinergistik dengan parasitoid *C. sonorensis* dalam mengendalikan *H. virescens*. Perpanjangan periode larva pada *H. virescens* yang makan tanaman tembakau Bt memperpanjang *C. sonorensis* sebagai parasit *H. virescens* (Johnson, 1997).

#### Pengaruh Bt terhadap Imago Parasitoid

Parasitoid yang berada dalam fase imago makan pada nektar di bagian bunga tanaman. Kemungkinan kontak dengan toksin yang ada pada tanaman transgenik kecil karena umumnya promoter yang dipakai untuk transformasi tanaman tidak terekspresi di benang sari. Walaupun ada kontak, ternyata hasil penelitian menunjukkan bahwa *cry1Ac* toksin tidak berpengaruh terhadap parasitoid *Nasonia vitripennis* jika imagonya makan pada nektar yang dicampur *cry1Ac* (Schuler *et al.*, 1999).

Telah diketahui bahwa mekanisme parasit dan predator untuk mendapatkan inangnya berdasarkan senyawa volatil yang dikeluarkan oleh tanaman ketika dimakan oleh serangga hamanya. Ditemukan bahwa *Cotesia plutella* lebih menyenangi tanaman yang telah dirusak/dimakan oleh larva *P. xylostella* yang sehat daripada larva yang makan pada tanaman Bt (Schuler *et al.*, 1999).

Pertukaran tingkah laku hama yang makan pada tanaman transgenik juga mempengaruhi kesuksesan parasitoid. Sebagai contoh,

larva *L. decemlineata* dan *P. xylostella* yang makan pada tanaman Bt membuat larva lemah dan tidak banyak bergerak. Hal ini memudahkan parasitoid *M. doryphorae* dan *C. plutellae* untuk meletakkan telurnya (Lopez dan Ferro, 1995).

#### Pengaruh Bt-endotoksin terhadap Perkembangan Predator

Predator dewasa dan larva hidup bebas (tidak di dalam tubuh serangga), lebih bebas bergerak dan biasanya mempunyai mangsa yang lebih beraneka ragamnya. Predator ini biasanya tidak terpengaruh oleh reduksi jumlah populasi dari mangsanya. Predator *Coccinella* mencari mangsanya secara random sedangkan predator lainnya seperti *lacewing* menggunakan senyawa volatil yang dikeluarkan oleh tanaman. Perubahan dari profil volatil yang dikeluarkan oleh tanaman transgenik seharusnya mempengaruhi keberhasilan predator ini mendapatkan habitatnya.

Pengaruh tanaman transgenik Bt terhadap predator suatu jenis hama berbeda. Hilbeck *et al.* (1998) mengamati mortalitas larva *Ostrinia nubilalis* dan *S. littoralis* pada tanaman jagung transgenik yang mengandung *cry1Ac*, sedangkan artropod

pengendalinya adalah *Chryso-perla carnea*. Mereka menemukan bahwa masa periode larva *C. carnea* yang memangsa *O. nubilalis* yang makan jagung Bt lebih panjang daripada yang memangsa *O. nubilalis* yang makan tanaman kontrol. Hal ini tidak terjadi pada *C. carnea* yang memangsa *S. littoralis* baik yang memakan tanaman Bt ataupun non-Bt.

Percobaan lapang dengan tanaman transgenik yang mengandung Bt dan lektin (CpTI) memperlihatkan tidak adanya perbedaan populasi predator dari famili Nabidae (Schuler *et al.*, 1999). Pengaruh tanaman transgenik Bt terhadap populasi predator dari famili lainnya yang memangsa *O. nubilalis* juga telah diteliti di lapang. Hasil penelitian di lapang selama dua tahun menyatakan bahwa tanaman transgenik Bt tidak mempengaruhi keberadaan predator dari famili Coccinellidae, Anthocoridae, dan Chrysopidae yang merupakan predator *O. nubilalis* pada tanaman transgenik jagung Bt (Pilcher *et al.*, 1997).

Dari hasil penelitian yang dikemukakan, terindikasi bahwa tanaman transgenik tahan hama mempengaruhi fungsi arthropoda. Pengaruh ini dapat bersifat positif (sinergis), negatif (antagonis), dan netral (tidak ada pengaruh). Pengaruh ini tergantung pada beberapa hal, antara lain jenis

**Tabel 2.** Pengaruh faktor tanaman transgenik terhadap populasi arthropoda pengendali hayati

Tingkat tropik	Atribut
Tanaman transgenik	Tingkat ketahanan tanaman Promoter yang mengatur ekspresi gen Perubahan senyawa volatil
Hama tanaman	Keberadaan tanaman alternatif yang peka Kepekaan terhadap toksin yang diintroduksi Adanya inang alternatif Perubahan perilaku serangga (geografi)
Musuh alami	Perubahan mobilitas serangga Jenis musuh alami (predator dan parasitoid) Kepekaan terhadap toksin yang diintroduksi Mobilitas

Sumber: Schuler *et al.*, (1999)

toksin yang ditransfer ke tanaman transgenik, jenis hama, dan jenis predator/ parasit yang berada di habitat tanaman transgenik tersebut (Tabel 2). Namun secara garis besar tanaman transgenik seperti halnya tanaman tahan hama yang dirakit dengan sistem konvensional umumnya berpengaruh terhadap sistem pertanian secara keseluruhan sehingga dapat menurunkan penggunaan pestisida, memperbaiki kualitas tanah, air, dan udara. Secara tidak langsung hal tersebut berpengaruh baik terhadap biodiversitas/keanekaragaman arthropoda pengendali hayati.

### PROSPEK

Dengan diperbaikinya sistem perbanyak dan formulasi bioinsektisida Bt, maka *microbial spray* tetap merupakan komponen yang penting dalam program pengendalian hama di luar negeri. Pencarian strain baru di Indonesia merupakan langkah penting untuk mendapatkan strain Bt yang tinggi virulensinya serta mempunyai potensi untuk digunakan di lapang. Perbaikan sistem fermentasi dan formulasi merupakan bidang penelitian yang seharusnya mendapat perhatian. Hal ini memungkinkan Indonesia dapat memproduksi dan menggunakan bioinsektisida Bt lokal yang lebih murah harganya dibandingkan dengan mikrobial Bt impor.

Penelitian tentang tanaman transgenik Bt baik di luar negeri maupun di Indonesia telah berkembang pesat. Tanaman transgenik Bt di luar negeri telah dikomersialkan dan permintaan benihnya meningkat karena dapat menurunkan biaya produksi akibat penggunaan pestisida yang menurun secara drastis. Seiring dengan perakitan tanaman transgenik Bt lainnya, penelitian

mengenai dampak negatif tanaman transgenik Bt dan mana-gemen resistensi terhadap Bt juga telah berkembang di luar negeri. Hal ini membantu kita untuk merancang penelitian yang bertujuan sama untuk kondisi Indonesia. Dengan berkembangnya penelitian tersebut, diharapkan dapat menghasilkan suatu paket teknologi yang menggunakan tanaman transgenik Bt sebagai salah satu komponennya menjadi lebih ramah terhadap lingkungan dibandingkan dengan teknologi yang umum digunakan saat ini.

### KESIMPULAN

Dari tulisan ini dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Penggunaan *B. thuringiensis* dalam dua bentuk, yaitu sebagai *microbial spray biopesticide* dan tanaman transgenik Bt.
2. Cara kerja Bt adalah sebagai racun pencernaan di mana  $\delta$ -endotoksin (protein) yang telah mengalami proteolisis dari non-aktif menjadi aktif menempel di sel pada epithelial, yang menyebabkan keseimbangan osmosis sel terganggu, dan menyebabkan sel pecah dan matinya serangga.
3. Bt dapat dikomersialkan melalui suatu proses yang dimulai dengan identifikasi hama target, pasar, isolat potensial, perbanyak-an massal dengan fermentasi, dan formulasi. Di samping itu, perlu direncanakan secara matang dan menyeluruh tentang proses produksi, registrasi, jaringan distribusi dan pemasarannya.
4. Pengaruh Bt terhadap parasitoid dan predator dapat bersifat sinergis, antagonis, dan netral tergantung dari jenis toksin Bt, jenis hama target, jenis predator/parasit serta fase

parasit/predator tersebut sewaktu terekspos Bt.

5. Perlu diketahui cara manajemen resistensi hama terhadap Bt terutama untuk manajemen resistensi hama pada tanaman transgenik Bt, karena beberapa serangga menjadi resisten terhadap Bt *microbial spray*.
6. Penggunaan Bt *microbial spray* dan tanaman transgenik Bt mempunyai prospek baik di luar negeri maupun di Indonesia. Di Indonesia, identifikasi strain Bt yang potensial perlu dilakukan, demikian pula dengan penemuan teknik fermentasi dan formulasi yang lebih baik sehingga *microbial spray* tersebut dapat dikembangkan dan dipasarkan. Identifikasi strain Bt potensial tidak hanya dapat diarahkan untuk pestisida mikrobial tetapi juga dalam usaha kloning gen *cry* yang dapat digunakan untuk merakit tanaman transgenik Bt.

### DAFTAR PUSTAKA

- Bahagiawati. 2001.** Manajemen resistensi serangga hama pada tanaman transgenik Bt. Buletin Agrobio 4(1): 1-8.
- Blumberg, D., A. Navon, S. Keren, S. Goldenberg, and S.M. Ferkovich. 1997.** Interaction among *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), its larval endoparasitoid *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae), and *Bacillus thuringiensis*. J. Econ. Entomol. 90:1181-1186.
- Burgess, H.D. 1981.** Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980. Academic press, London.
- Dent, D.R. 1993.** The use of *Bacillus thuringiensis* as insecticide. In Jones, D.G. (Ed.). Exploitation of Microorganisms. Chapman and Hall, p. 19-44.
- Dunkle, R.L. and B.S. Sasha. 1989.** Response of starch-encapsulated *Bacillus thuringiensis* containing

- ultra violet screens to sunlight. *Environmental Entomology* 18:1035-1041.
- Fieldman, J. and T. Stone. 1997.** The development of a comprehensive resistance management plan for potatoes expressing the *cry3A* endotoxin. In Carozzi, N. and M. Koziel (Eds.), *Advance in Insect Control. The Role of Transgenic Plants.* Taylor and Francis. p. 49-61.
- Feitelson, J.S., J. Payne, and L. Kim. 1992.** *Bacillus thuringiensis*: Insects and beyond. *Bio/Technology* 10: 271-275.
- 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.
- Hilbeck, A., M. Baumgartner, P.M. Fried, and F. Bigler. 1998.** Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environ. Entomol.* 27:480-487.
- Huang, F., L.I. Buschman, R.A. Higgins, and W.H. McGaughey. 1999.** Inheritance of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin (Dipel ES) in the European corn borer. *Science* 284:965-967.
- Hofte, H. and H.R. Whiteley. 1989.** Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiol. Rev.* 53: 42-255.
- James, C. 2000.** Global review of commercial transgenic crops: 2000. ISAAA Briefs. No. 21: Preview. ISAAA: Ithaca, New York.
- Johnson, M.T. 1997.** Interaction of resistant plants and wasp parasitoid of tobacco budworm (Lepidoptera: Nuctuidae). *Environ. Entomol.* 26: 207-214.
- 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
- Jutsum, A.R. 1988.** Commercial application of biological control: status and prospects. *Philosophical Transaction of the Royal society, London, Series B*:357-373.
- Lopez, R. and D.N. Ferro. 1995.** Larviposition response of *Myopharus doryphorae* (Diptera: Tachinidae) to Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) larvae treated with lethal and sublethal doses of *Bacillus thuringiensis* Berliner subsp tenebroidis. *J. Econ. Entomol.* 88:870-874.
- Luthy, P. 1986.** Insect pathogenic bacteria as pest control agents. In Franz, J.M. (Ed.). *Biological Plant and Health Protection Progress in Zoology* 32:201-216.
- Margino, S. dan S. Mangundihardjo. 2002.** Pemanfaatan keanekaragaman hayati untuk biopestisida di Indonesia. Lokakarya Keanekaragaman Hayati untuk Perlindungan Tanaman. Yogyakarta, 7 Agustus 2002.
- 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.
- McGaughey, W.H. 1985.** Insect resistance to the biological insecticide *Bacillus thuringiensis*. *Science* 229: 193-195.
- 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.
- Pang, A.D.S. and J.L. Gringorten. 1998.** Degradation of *Bacillus thuringiensis* endotoxin in host gut juice. *FEMS Microbiol. Lett.* 167:281-285
- Pilcher, C.D., J.J. Obrycki, M.E. Rice, and L.C. Lewis. 1997.** Preimaginal development, survival, and field abundance of insect predators on transgenic *Bacillus thuringiensis* corn. *Environ. Entomol.* 26:446-454.
- Schuler, T.H., G.M. Poppy, B.R. Kerry, and I. Denholm. 1998.** Insect resistant transgenic plants. *TibTech.* 16:168-175.
- Schuler, T.H., G.M. Poppy, B.R. Kerry, and I. Denholm. 1999.** Potential side effects of insect-resistant trans-genic plants on arthropod natural enemies. *TibTech.* 17:210-216.
- 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. Invertebr. Pathol.* 53:228-234.
- 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.
-