

**PEMANFAATAN SERANGGA *HELICOVERPA ARMIGERA* UNTUK MENDETERMINASI
KEBERADAAN DAN LAJU DEGRADASI TOKSIN *BACILLUS THURINGIENSIS* CRY1AC DI
TANAH**

**THE USE OF *HELICOVERPA ARMIGERA* TO DETERMINE THE PRESENCE AND
DEGRADATION RATE OF A *BACILLUS THURINGIENSIS* TOXIN CRY1AC IN SOIL**

Y. Andi Trisyono¹, Eddy Mahrub², dan Rahman Sutanto²

ABSTRACT

Cotton expressing a *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac (transgenic cotton) has been planted in South Sulawesi. One of the identified risks is the effect of the toxin resulted from decomposition of transgenic plants on soil biodiversity. The objectives of this research were to develop a bioassay procedure using larvae of *Helicoverpa armigera* to estimate the presence and degradation rate of Cry1Ac in soil. Cry1Ac in 1 ml water was spiked on 1 g soil. The treated soil was mixed with the artificial diet (120 g) during its preparation. The newly hatched larvae were released on diet containing Cry1Ac ranging from 0.1-1,000,000 ng/120 g diet. Observations were made on the 7th day after release by assessing larval mortality, weighing and identifying the instar of surviving larvae. The study on degradation of Cry1Ac was carried out at the concentrations of 100,000 and 1,000,000 ng with 0-30 days incubation period. Similar bioassay procedures were implemented. Larvae of *H. armigera* were susceptible to Cry1Ac, and using growth inhibition as the end-point observation Cry1Ac could be detected at relatively low concentration. Degradation of Cry1Ac under the condition of 26-29°C and 10:14 L:D was observed to start occurring at the 20th day after incubation.

Key words: Environmental risk assessment, Transgenic cotton, *Bacillus thuringiensis*, Bioindicator, and *Helicoverpa armigera*

PENGANTAR

Tanaman kapas yang mampu menghasilkan protein *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac (selanjutnya disebut kapas transgenik) sudah di tanam di beberapa negara termasuk di Indonesia (Sulawesi Selatan). Kapas transgenik efektif dalam mengendalikan dua hama utama (*Helicoverpa armigera* dan *Earias vitella*) pada pertanaman kapas di Sulawesi Selatan (Trisyono *et al.*, 2001). Toksin *B. thuringiensis* yang termakan oleh serangga yang peka akan menyebabkan kematian dalam waktu 2-4 hari (Ferro and Gelernter, 1989; English and Slatin, 1992; Trisyono and Whalon, 1997). Pemaparan toksin pada dosis/konsentrasi yang tidak mematikan (*sublethal*) mempunyai efek dalam menghambat pertumbuhan dan perkembangan pada beberapa spesies serangga seperti *Leptinotarsa decemlineata* (Trisyono and Whalon, 1999), *H. zea* dan *Spodoptera frugiperda* (Adamczyk *et al.*, 2001), *Lymantria dispar* (Erb *et al.*, 2002), dan *Pectinophora gossypiella* (Liu *et al.*, 2001).

Disamping potensi keuntungan yang dimiliki oleh kapas transgenik, ada beberapa potensi risiko yang telah diidentifikasi. Salah satu risiko adalah efek dari residu tanaman yang ditinggalkan setelah musim tanam selesai bagi kehidupan organisme tanah atau organisme lain dalam jalur rantai makanan. Toksin Cry1Ac hasil dekomposisi residu kapas transgenik tersedia dalam jumlah yang sangat kecil (Head *et al.*, 2002). Prosedur pendeteksian toksin dengan metode ELISA telah dilakukan (Palm *et al.*, 1994; Head *et al.*, 2002), namun demikian metode ini mempunyai kelemahan karena sebagian dari protein terikat oleh partikel tanah dan tidak dapat diekstraksi (Palm *et al.*, 1994). Data yang diperoleh dengan ELISA bersifat

¹ Staf Pengajar, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada

² Guru Besar Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

kuantitatif tetapi tidak menggambarkan besar kecilnya risiko bagi organisme bukan sasaran yang hidup dalam ekosistem tersebut.

Salah satu metode alternatif yang dikembangkan akhir-akhir ini adalah menggunakan serangga peka sebagai bioindikator dalam mengestimasi keberadaan, laju degradasi, dan efek biologis suatu toksin. *H. virescens* telah terbukti merupakan serangga model yang tepat dalam mendeteksi laju degradasi toksin Cry1Ab (Sims and Holden, 1996), Cry1F (Herman *et al.*, 2001), dan Cry1Ac (Head *et al.*, 2002) dengan menggunakan parameter mortalitas maupun penghambatan pertumbuhan. Uji hayati (*bioassay*) ini mempunyai beberapa keunggulan diantaranya: 1) menghindari problem ekstraksi yang terjadi apabila ELISA digunakan sebagai metode deteksi (Palm *et al.*, 1994), 2) lebih murah dan sederhana (tidak membutuhkan peralatan laboratorium yang "canggih") sehingga dapat dimanfaatkan secara luas, dan 3) efek biologis dapat diukur secara langsung sehingga risiko yang mungkin timbul akibat adanya pemaparan lebih realistis.

H. armigera merupakan hama sasaran tanaman transgenik di Indonesia dan mempunyai hubungan kekerabatan yang dekat dengan *H. virescens*. Oleh karena itu, *H. armigera* dipilih sebagai serangga bioindikator dalam pengembangan uji hayati untuk mendeterminasi keberadaan dan laju degradasi protein Cry1Ac.

CARA PENELITIAN

A. Serangga uji

Larva *H. armigera* diperoleh dari populasi hasil pembiakan di Laboratorium Pengendalian Hayati, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, UGM menggunakan pakan buatan (Trisyono *et al.*, 2003). Resep tersebut merupakan hasil modifikasi dari resep pakan buatan yang digunakan di insektarium Balitbio Bogor (B. Soegiarto, komunikasi pribadi). Populasi awal *H. armigera* dikumpulkan dari pertanaman kapas di Sulawesi Selatan pada tahun 2001, dan sampai saat penelitian ini dimulai serangga tersebut telah dikembangkan di laboratorium dengan menggunakan pakan buatan >10 generasi. Pemeliharaan *H. armigera* di laboratorium menggunakan prosedur yang telah dikembangkan oleh Trisyono *et al.* (2003).

B. Toksin Cry1Ac

B. thuringiensis toksin Cry1Ac yang dienkapsulasi dalam *Pseudomonas fluorescens* yang telah dimatikan (MVP-II dengan 21% bahan aktif) dibeli dari Mycogen Co., San Diego, California, USA.

C. Tanah

Sampel tanah diambil dari Kebun Pendidikan, Penelitian, dan Pengembangan Pertanian (KP4) UGM di Sleman, Yogyakarta dan Kebun Balai Penelitian Jagung dan Serealia lain (Balitjas) di Gowa, Sulawesi Selatan. Sampel tanah dipersiapkan di Laboratorium Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian UGM dan selanjutnya dilakukan karakterisasi sifat fisik dan kimia tanah. Tanah yang sama kemudian digunakan dalam uji hayati.

D. Uji hayati

1. Penghambatan pertumbuhan larva *H. armigera* oleh Cry1Ac

Penyiapan pakan kontrol atau pakan perlakuan dilakukan dengan menggunakan prosedur yang telah dikembangkan oleh Head *et al.* (2002), Trisyono and Chippendale

(2002), dan Trisyono *et al.* (2003). Modifikasi dilakukan untuk mengubah dosis toksin Cry1Ac sesuai dengan tingkat sensitivitas larva *H. armigera*. Tiga seri pakan buatan yang mengandung tujuh atau delapan macam konsentrasi Cry1Ac, termasuk kontrol, disiapkan. Seri pakan pertama mengandung toksin dan tanah dari KP4 UGM; seri pakan kedua mengandung toksin dan tanah dari Kebun Balitjas; dan seri pakan ketiga hanya mengandung toksin.

Berdasarkan hasil uji pendahuluan, dosis yang dipilih bervariasi antara 0,1–100.000 ng/g tanah/120 g pakan untuk menghambat pertumbuhan larva antara 5–99% dibandingkan dengan pertumbuhan larva kontrol. Cry1Ac dilarutkan dalam akuades sesuai dengan dosis yang telah ditentukan. Larutan toksin (1 ml) kemudian dicampurkan dengan 1 g tanah. Campuran tersebut kemudian ditambahkan ke dalam bahan kering yang digunakan dalam pembuatan pakan buatan. Larutan agar yang telah dipanaskan ($\pm 70^{\circ}\text{C}$) kemudian dituangkan ke dalam mesin pencampur yang telah berisi semua komponen pakan buatan lainnya. Cara ini ditempuh untuk menghindari pengaruh suhu panas secara langsung pada toksin Cry1Ac. Pakan yang telah dibuat kemudian dimasukkan ke dalam refrigerator untuk proses pemadatan. Pakan kemudian dipotong dalam bentuk kubus (1x1x1 cm). Setiap potongan pakan kemudian dimasukkan ke dalam botol plastik (diameter 2 cm tinggi 2 cm), dan larva instar satu yang berumur <24 jam dimasukkan ke dalam botol yang telah berisi pakan (1 larva/botol). Satu minggu setelah larva dipaparkan pada pakan buatan yang telah diperlakukan maupun pakan buatan tanpa perlakuan diamati tingkat mortalitasnya. Larva yang hidup diidentifikasi instarnya dan kemudian ditimbang.

2. Degradasi Cry1Ac

Untuk menentukan laju degradasi Cry1Ac dalam tanah, uji hayati dilakukan dengan cara yang sama dengan cara yang telah diuraikan pada uji sebelumnya. Konsentrasi Cry1Ac yang diuji adalah 100.000 dan 1.000.000 ng/g tanah/120 g pakan. Larutan toksin (1 ml) ditambahkan pada 1 g tanah, dan campuran tersebut ditaruh pada suhu ruangan dengan kisaran temperatur 27–29°C dengan panjang penyinaran dari lampu ± 10 jam/hari. Masa inkubasi yang diuji adalah 0, 5, 10, 20, dan 30 hari. Cry1Ac yang telah diinkubasikan sesuai dengan masa inkubasi yang diuji kemudian dicampurkan dengan bahan lain dalam pembuatan pakan buatan. Jenis pakan buatan yang disiapkan adalah pakan buatan yang mengandung Cry1Ac dalam tanah, mengandung Cry1Ac tanpa tanah, mengandung tanah tanpa Cry1Ac, dan tanpa mengandung tanah maupun Cry1Ac. Larva yang digunakan adalah larva instar satu yang baru menetas (<24 jam). Minimum sepuluh larva digunakan untuk setiap perlakuan. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan prosedur yang sama seperti pada pengujian sebelumnya.

E. Analisis data

Penghambatan pertumbuhan (%) larva yang diperlakukan dibandingkan relatif terhadap larva perlakuan kontrol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Analisis contoh tanah

Hasil analisis laboratorium menunjukkan bahwa bahan tanah dari KP4 UGM dan Kebun Balitjas mempunyai sifat fisik dan kimia tanah yang mirip (Tabel 1). Tekstur

kedua bahan tanah didominasi fraksi pasir dengan kelas tekstur pasir geluhan. Perhitungan porositas tanah berdasarkan kerapatan lindak (BV) dan BJ tanah menunjukkan bahwa kedua bahan tanah relatif berbeda. Kerapatan lindak tanah KP4 UGM ($1,82 \text{ g/cm}^3$) relatif lebih mampat dibandingkan tanah Kebun Balitjas ($1,42 \text{ g/cm}^3$). Perbedaan ini mungkin lebih disebabkan karena intensitas pengolahan tanah yang akhirnya menyebabkan perbedaan kesarangan tanah. Tanah Kebun Balitjas ($n = 48,18\%$) lebih sarang dibandingkan tanah KP4 UGM ($n = 29,46\%$).

Hasil pengukuran kemasaman (pH) tanah Kebun Balitjas diklasifikasikan netral (pH = 6,66), sedangkan tanah KP4 UGM agak masam (pH = 6,42). Kandungan C-organik tanah Kebun Balitjas (0,08%) lebih rendah dibandingkan KP4 UGM (0,24%). Kandungan nitrogen organik kedua bahan tanah yang diukur berdasarkan N-total tanah diklasifikasikan sangat rendah ($< 0,10\%$). Tanah Kebun Balitjas KTK diklasifikasikan sangat rendah ($< 5 \text{ cmol/kg}$), sedangkan KP4 UGM diklasifikasikan rendah (5-15 cmol/kg).

Tabel 1. Sifat fisik dan kimia sampel tanah dari KP4 UGM Sleman, Yogyakarta dan Kebun Balitjas Gowa, Sulawesi Selatan

Parameter	KP4 UGM	Kebun Balitjas
Kadar lengas 0,5 mm (%)	2,66	1,60
Kadar lengas 2 mm (%)	2,91	1,74
Kadar lengas asli (%)	9,29	1,32
Berat jenis (g/cm^3)	2,58	2,74
Kerapatan lindak (BV, g/cm^3)	1,82	1,42
Porositas (n, %)	29,46	48,18
pH H ₂ O	6,42	6,66
C organik (%)	0,24	0,08
Bahan organik (%)	0,41	0,14
N total (%)	0,06	0,06
KTK (cmol/kg)	5,76	4,88
Lempung (%)	6,39	6,29
Debu (%)	17,51	16,33
Pasir (%)	76,10	77,38
Kelas tekstur	Pasir geluhan	Pasir geluhan

2. Penghambatan pertumbuhan larva *H. armigera* oleh Cry1Ac

Hasil uji pendahuluan menunjukkan adanya korelasi positif antara dosis Cry1Ac dengan persentase penghambatan pertumbuhan larva *H. armigera* yang hidup. Disamping itu, penambahan tanah sebanyak 1 g ke dalam pakan buatan (120 g) tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan larva (data tidak ditampilkan) dan jumlah tersebut kemudian digunakan sebagai standar pada pengujian berikutnya.

Tanah yang diambil dari KP4 UGM maupun Kebun Balitjas tidak menimbulkan efek yang berbeda bagi Cry1Ac dalam menghambat pertumbuhan larva *H. armigera* (Tabel 2-4). Cry1Ac yang diujikan pada dosis rendah ($\leq 100 \text{ ng}$) menghasilkan variasi data cukup tinggi. Sebagian larva yang diperlakukan dengan dosis Cry1Ac rendah mencapai berat rata-rata yang lebih tinggi dibandingkan larva kontrol (Tabel 2 dan 4). Pada pengujian lain, penghambatan pertumbuhan larva teramati pada dosis

rendah namun hubungan antara konsentrasi toksin dengan besarnya penghambatan pertumbuhan tidak konsisten (Tabel 3).

Cry1Ac yang diujikan pada dosis tinggi (≥ 1000 ng) mengakibatkan penghambatan pertumbuhan larva *H. armigera* yang nyata. Hubungan yang menunjukkan semakin tinggi konsentrasi toksin semakin lambat pertumbuhan larva terjadi pada dosis Cry1Ac 1000-100.000 ng (Tabel 2-4). Larva *H. armigera* yang mampu hidup pada pakan yang mengandung Cry1Ac juga mengalami penghambatan dalam proses *moulting* (Tabel 2-4). Sebagian besar larva kontrol ($> 95\%$) telah mencapai instar tiga pada hari ketujuh setelah pemaparan. Namun demikian, persentase larva yang mampu mencapai instar ketiga semakin sedikit dengan semakin tinggi dosis Cry1Ac yang ada di dalam pakan (Tabel 2-4).

Tabel 2. Hubungan antara dosis Cry1Ac yang dicampurkan ke dalam tanah KP4 UGM Sleman, Yogyakarta dan pakan buatan dengan pertumbuhan larva *Helicoverpa armigera*

Cry1Ac (ng/g tanah/120 g pakan)	n	Mortalitas larva (%)	Distribusi instar larva* (%)				Berat larva (mg)	Penghambatan pertumbuhan (%)
			L1	L2	L3	L4		
100.000	26	96,2	100				5,6	94,7
10.000	22	45,5		33	67		8,3	92,2
1.000	25	48,0		8	38	54	27,3	74,3
100	30	100,0						
10	23	13,0		5	5	90	136,5	28,7 (+)
1	23	17,4			5	95	94,1	11,3
0,1	18	22,2			21	79	54,9	48,2
Kontrol	24	33,3			6	94	106,1	0

Keterangan: pengamatan dilakukan satu minggu setelah pemaparan; * = larva instar 1 (L1), instar 2 (L2), instar 3 (L3), dan instar 4 (L4); + = menunjukkan persentase kelebihan berat larva yang diperlakukan dibandingkan dengan berat larva kontrol

Tabel 3. Hubungan antara dosis Cry1Ac yang dicampurkan ke dalam tanah Kebun Balitjas Gowa, Sulawesi Selatan dan pakan buatan dengan pertumbuhan larva *Helicoverpa armigera*

Cry1Ac (ng/g tanah/120 g pakan)	n	Mortalitas larva (%)	Distribusi instar larva* (%)				Berat larva (mg)	Penghambatan pertumbuhan (%)
			L1	L2	L3	L4		
100.000	24	91,2	50	50			5,2	91,0
10.000	27	74,1		43	57		7,3	87,4
1000	26	38,5			88	12	21,0	63,7
100	24	4,2		4	52	44	44,4	23,2
10	24	12,5			29	71	55,3	4,4
1	23	13,0		10	10	80	52,7	8,8
0,1	25	24,0		10	32	58	36,3	37,2
Kontrol	26	53,9			17	83	57,8	0

Keterangan: pengamatan dilakukan satu minggu setelah pemaparan; * = larva instar 1 (L1), instar 2 (L2), instar 3 (L3), dan instar 4 (L4).

Tabel 4. Hubungan antara dosis Cry1Ac yang dicampurkan ke dalam pakan buatan dengan pertumbuhan larva *Helicoverpa armigera*

Cry1Ac (ng/120 g pakan)	n	Mortalitas larva (%)	Distribusi instar larva* (%)				Berat larva (mg)	Penghambatan pertumbuhan (%)
			L1	L2	L3	L4		
10.000	21	42,9		33	67		6,58	69,9
1.000	23	39,1		14	50	36	16,38	25,3
100	24	29,2		6	59	35	24,45	11,5 (+)
10	28	39,3		6	65	29	16,19	26,1
1	30	93,3			100		12,15	44,6
0,1	22	9,1			35	65	31,76	44,9 (+)
Kontrol	27	18,5	5	10	55	30	21,92	0

Keterangan: pengamatan dilakukan satu minggu setelah pemaparan; * = larva instar 1 (L1), instar 2 (L2), instar 3 (L3), dan instar 4 (L4); + = menunjukkan persentase kelebihan berat larva yang diperlakukan dibandingkan dengan berat larva kontrol.

3. Degradasi Cry1Ac

Larva yang diberi pakan mengandung 1.000.000 ng Cry1Ac/120 g pakan dengan masa inkubasi 0-30 hari seluruhnya mati. Namun demikian, larva yang diperlakukan dengan dosis yang lebih rendah (100.000 ng Cry1Ac/120 g pakan) sebagian masih hidup. Toksin yang diinkubasikan dalam air saja selama 30 hari masih menunjukkan aktivitas yang sama dengan tanpa inkubasi (0 hari) baik dalam mematikan maupun menghambat pertumbuhan larva. Mortalitas larva yang diperlakukan dengan toksin yang telah diinkubasikan dalam air selama 30 hari mencapai 68,7%, sedangkan toksin dengan dosis dan masa inkubasi yang sama tetapi diinkubasikan dalam air dan tanah mortalitasnya hanya mencapai 38,2%. Penghambatan pertumbuhan larva yang hidup pada pakan yang dicampur dengan Cry1Ac dan telah diinkubasikan dalam tanah hanya mencapai 42,2%, sedangkan yang diinkubasikan hanya dengan air mencapai 96,9% (Tabel 5). Hal ini menunjukkan bahwa toksin Cry1Ac yang diinkubasikan dalam air dan tanah mengalami degradasi yang lebih cepat dibandingkan dengan yang diinkubasikan hanya dalam air, dan degradasi mulai nampak nyata setelah diinkubasikan selama 20 hari (Tabel 5).

Penghambatan pertumbuhan larva juga mengakibatkan penghambatan dalam proses *moulting* ke instar berikutnya. Larva yang hidup pada pakan yang mengandung 100.000 ng Cry1Ac/120 g pakan dengan inkubasi 30 hari pada air tidak mampu mencapai instar tiga setelah dipelihara pada pakan selama tujuh hari, sedangkan 66,7% larva yang hidup pada pakan yang mengandung Cry1Ac yang telah diinkubasikan dalam tanah dengan masa inkubasi 30 hari berhasil berkembang menjadi instar tiga. Namun demikian, persentase tersebut masih lebih kecil dibandingkan dengan jumlah larva yang mencapai instar tiga pada perlakuan kontrol (88%).

Tabel 5. Degradasi protein Cry1Ac yang ditunjukkan oleh penurunan kemampuan menghambat pertumbuhan larva *Helicoverpa armigera* (%) dibandingkan dengan larva kontrol

Masa inkubasi (hari)	Penghambatan pertumbuhan larva (%)	
	100.000 ng Cry1Ac dalam 1 ml air	100.000 ng Cry1Ac dalam 1 ml air + 1 g tanah
0	93,2	93,5
5	-	98,9
10	96,2	97,0
20	-	64,5
30	96,9	42,2

Keterangan: Jumlah larva yang diuji untuk setiap perlakuan bervariasi antara 16-72; - : tidak ada larva yang hidup.

B. Pembahasan

Jenis tanah yang digunakan dalam penelitian ini tidak berpengaruh terhadap toksisitas Cry1Ac pada larva *H. armigera*, dan penambahan tanah sebanyak 1 g ke dalam 120 g pakan tidak mempengaruhi pertumbuhan larva. Tidak adanya perbedaan tersebut mungkin disebabkan karena kedua sampel tanah yang digunakan mempunyai sifat fisik dan kimia yang relatif sama dan berat tanah yang ditambahkan relatif kecil dibandingkan dengan berat pakan (<1%).

Pertumbuhan larva *H. armigera* yang hidup dipengaruhi oleh dosis Cry1Ac yang ada di dalam pakan. Semakin tinggi dosis Cry1Ac semakin besar persentase penghambatan pertumbuhan larva. Larva yang terhambat pertumbuhannya juga mengalami pengunduran dalam proses *moulting* ke instar berikutnya. Jumlah larva yang tidak mampu mencapai instar tiga setelah satu minggu dipelihara semakin banyak dengan semakin tingginya dosis Cry1Ac yang ada di dalam pakan.

Efek penghambatan pertumbuhan larva *H. armigera* oleh Cry1Ac konsisten pada beberapa kali uji dengan dosis yang relatif tinggi (≥ 1.000 ng Cry1Ac/120 g pakan). Namun demikian, pada dosis yang lebih rendah hasil yang diperoleh dengan menggunakan larva yang berbeda cukup bervariasi. Hal ini mungkin disebabkan oleh adanya perbedaan *fitness* antar larva yang digunakan pada suatu pengujian dibandingkan dengan larva yang digunakan pada pengujian lain. Kemungkinan lain karena protein Cry1Ac terdegradasi oleh enzim yang ada dalam usus tengah serangga menjadi asam amino yang mungkin digunakan sebagai sumber energi. Kemungkinan ini didukung oleh beberapa data yang menunjukkan bahwa larva yang hidup dari pakan yang telah diperlakukan dengan Cry1Ac dosis rendah mempunyai berat yang lebih tinggi dibandingkan dengan larva pada perlakuan kontrol.

Degradasi Cry1Ac lebih cepat terjadi apabila toksin tersebut berada di dalam tanah yang mengandung air dibandingkan hanya dalam air saja. Hal ini mempunyai implikasi bahwa waktu pengambilan dan penanganan sampel tanah yang diambil dari lahan bekas ditanami kapas transgenik perlu diperhatikan. Perbedaan cara penanganan dan waktu inkubasi sejak diambil sampai preparasi pakan di laboratorium akan berpengaruh terhadap hasil estimasi jumlah toksin yang ada dalam sampel tersebut.

Larva *H. armigera* peka terhadap Cry1Ac dan penggunaan penghambatan pertumbuhan sebagai parameter pengamatan mampu mendeteksi jumlah Cry1Ac yang lebih rendah dibandingkan kalau menggunakan mortalitas (Trisyono and Chippendale, 2002; Trisyono *et al.*, 2002). Salah satu kelemahan penggunaan penghambatan pertumbuhan sebagai

parameter pengamatan adalah banyaknya jumlah waktu yang harus diluapkan untuk menimbang larva yang masih hidup. Hal ini bisa diminimalkan dengan menggunakan instar sebagai parameter pengamatan. Oleh karena itu, standar yang menunjukkan hubungan antara umur dan berat larva dengan instar perlu dikembangkan lebih lanjut.

Hasil penelitian ini telah mampu menunjukkan bahwa *H. armigera* dapat digunakan sebagai serangga indikator untuk mendeteksi keberadaan dan laju degradasi Cry1Ac dalam tanah. Namun demikian, penyempurnaan metode pengujian hayati yang digunakan dalam penelitian ini masih perlu dilakukan sehingga bisa digunakan untuk mendeteksi dosis Cry1Ac lebih rendah.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

H. armigera peka terhadap Cry1Ac dan penghambatan pertumbuhan larva (berat dan instar) dapat digunakan untuk mengindikasikan adanya Cry1Ac di dalam tanah. Jumlah dan jenis tanah yang diuji tidak mempengaruhi toksisitas Cry1Ac terhadap *H. armigera*. Degradasi Cry1Ac dalam tanah yang diinkubasikan pada ruangan dengan suhu antara 26-29°C dan penyinaran lampu \pm 10 jam/hari mulai terjadi pada hari ke-20.

B. Saran

Metode pengujian hayati perlu disempurnakan sehingga presisi hasil khususnya untuk mendeteksi adanya Cry1Ac pada konsentrasi rendah dapat ditingkatkan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Serafina TRS, SP yang telah membantu dalam pengumpulan data dan Sriyanto yang telah membantu dalam pemeliharaan serangga.

KEPUSTAKAAN

- Adamczyk, Jr., J.J., Hardee, D.D., Adams, L.C., and Summerford, D.V., 2001. *Correlating differences in larval survival and development of bollworm (Lepidoptera: Noctuidae) and fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to differential expression of Cry1Ac Δ -endotoxin in various plants parts among commercial cultivars of transgenic Bacillus thuringiensis cotton*. *J. Econ. Entomol.*, 94: 284-290.
- English, L. and Slatin, S.L., 1992. *Mode of action of delta-endotoxin from Bacillus thuringiensis: a comparison with other bacterial toxins*. *Insect. Biochem. Mol.*, 22: 1-7.
- Erb, S.L., Bouchier, R.S., Frankenhuyzen, K.V., and Smith, S.M., 2001. *Sublethal effects of Bacillus thuringiensis Berliner subsp. kurstaki on Lymantria dispar (Lepidoptera: Lymantriidae) and the tachinid parasitoid Compsilura concinnata (Diptera: Tachinidae)*. *Environ. Entomol.*, 30: 1174-1181.
- Ferro, D.N. and Gelernter, W.D., 1989. *Toxicity of a new strain of Bacillus thuringiensis to the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae)*. *J. Econ. Entomol.*, 82: 750-755.
- Head, G., Surber, J.B., Watson, J.A., Martin, J.W., and Duan, J.J., 2002. *No detection of Cry1Ac protein in soil after multiple years of transgenic Bt cotton (Bollgard) use*. *Environ. Entomol.*, 31: 30-36.

- Herman, R.A., Evans, S.L., Shanahan, D.M., Mihaliak, C.A., Bormett, G.A., Young, D.L., and Buehrer, J., 2002. *Rapid degradation of Cry1D delta-endotoxin in soil. Environ. Entomol.*, 30: 642-644.
- Liu, Y-B., Tabashnik, B.E., Dennehy, T.J., and Patin, A.L., 2001. *Effects of Bt cotton and Cry1Ac toxin on survival and development of pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae). J. Econ. Entomol.*, 94: 1237-1242.
- Palm, C.J., Donegan, K., Harris, D., and Seidler, R.J., 1994. *Quantification in soil of Bacillus thuringiensis var. kurstaki Δ -endotoxin from transgenic plants. Mol. Ecol.*, 3: 145-151.
- Sims, S.R. and Holden, L.R., 1996. *Insect bioassay for determining soil degradation of Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki Cry1Ab protein in corn tissues. Environ. Entomol.*, 25: 659-664.
- Trisyono, A. and Chippendale, G.M., 2002. *Susceptibility of the field-collected populations of the southwestern corn borer to Bacillus thuringiensis. Pest. Manag. Sci.*, 58: 1022-1028.
- Trisyono, Y.A., Sudjono, S., Triman, B., Mahrub, E., and Suputa, 2003. *Susceptibility of Helicoverpa armigera populations in South Sulawesi Indonesia to a Bacillus thuringiensis protein Cry1Ac. J. Insect Sci.* (accepted).
- Trisyono, A. and Whalon, M.E., 1997. *Fitness costs of resistance to Bacillus thuringiensis in Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). J. Econ. Entomol.*, 90: 261-271.
- Trisyono, A. and Whalon, M.E., 1999. *Toxicity of neem applied alone and in combinations with Bacillus thuringiensis to Colorado Potato Beetle. J. Econ. Entomol.*, 92: 1281-1288.
- Trisyono, Y.A., Mahrub, E., Sudjono, S., dan Triman, B., 2001. *Kapas transgenik Bollgard: efek terhadap hama sasaran dan organisme bukan sasaran. Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada.*