

**KARAKTERISASI PROTEIN δ -ENDOTOXIN DARI
Bacillus thuringiensis SUBSPESIES ISRAELENISIS SEROTIPE H-14 SEBAGAI
BIOINSEKTISIDAL**

(Agus Sunarso⁽¹⁾ dan Iwan Sahrial Hamid⁽²⁾)
Bagian Parasitologi⁽¹⁾, Bagian Ilmu Kedokteran Dasar Vetriner⁽²⁾
FKH Universitas Airlangga Surabaya

ABSTRAK

Isolasi dan identifikasi *Bacillus thuringiensis subspecies israelensis serotipe H-14* bertujuan untuk memberikan informasi ilmiah tentang fraksi protein δ -endotoksin yang mampu berfungsi sebagai insektisida pada stadium larva dan dewasa dari beberapa spesies lalat.

Isolat bakteri *Bacillus thuringiensis subspecies israelensis serotipe H-14* dengan kode industri Bt. PS201L1 NRRL B-18750 dalam bentuk *sheat* kristal kering diperoleh dari *Koppert Canada Limited*. Bakteri selanjutnya perlu dibangkitkan aktivitasnya dan ditumbuhkan pada medium pertumbuhan. Koloni yang tumbuh kemudian diisolasi dan diperiksa di bawah mikroskop untuk memastikan bentuk bakteri. Untuk mengetahui aktifitas fungsional bakteri dilakukan uji biokimiawi dengan TSIA, SIM, Sitrat, Urease, MR/VP, Gula-gula, Glukosa, Laktosa, Maltosa, Manosa, Sukrosa, Dulsitol, Dekstrose, Raminose, Ratinose, Arabinose, Inulin, Salisin. Isolasi dan identifikasi protein bakteri dilakukan dengan mengambil dari koloni yang tumbuh pada medium biakan dan dimasukkan ke PBS, selanjutnya disentrifugasi dan substrat siap untuk diseparasi berdasarkan berat molekulnya dengan SDS-PAGE. Demikian pula dengan toksin yang disekresikan diambil dari medium cair, kemudian dilakukan presipitasi dengan Ammonium Sulfat jenuh sama banyak selama 24 jam pada suhu 4^o C.

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini ditemukan berat molekul protein dari *whole* bakteri *Bacillus thuringiensis subspecies israelinsis* sebesar 103, 90, 78 dan 57 kDa dan berat molekul protein hasil presipitasi sebesar 103, 90, 78, 57, 53, 44, dan 33 kDa. Berat molekul protein tunggal δ -endotoksin sebesar 103 kDa yang diduga mempunyai aktifitas sebagai insektisidal alami.

Kata kunci : Isolasi, identifikasi, *Bacillus thuringiensis subspecies israelensis serotipe H-14*, protein δ -endotoksin, SDS-PAGE, berat molekul protein.

RINGKASAN

Judul : KARAKTERISASI PROTEIN δ -ENDOTOXIN DARI *Bacillus thuringiensis* SUBSPESIES ISRAELENSIS SEROTIPE H-14 SEBAGAI BIOINSEKTISIDAL

Ketua Peneliti : Agus Sunarso

Anggota Peneliti : Iwan Sabrial Hamid

Tahun / Halaman : 2006 / 16

Saat ini mulai dikembangkan insektisida yang berasal dari toksin bakteri atau pemanfaatan bakteri itu sendiri sebagai biopredator baik pada stadium larva maupun dewasa dari serangga. Salah satu alternatif adalah pemanfaatan *Bacillus thuringiensis* yang digunakan untuk kontrol parasit dalam hal ini adalah lalat.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan profil dan protein δ -Endotoksin dari *Bacillus thuringiensis subspecies Israelensis serotipe* H-14 melalui elektroforesis dengan SDS-PAGE sehingga dapat ditemukan dan diketahui protein spesifik δ -endotoksin. Mendapatkan informasi data untuk identifikasi *Bacillus thuringiensis subspecies Israelensis serotipe* H-14 dan karakterisasi protein δ -Endotoksin yang selanjutnya bisa digunakan penelitian lebih lanjut untuk produksi toksin yang bisa digunakan untuk insektisida alami pada berbagai macam diptera pada umumnya dan khususnya lalat.

Isolat bakteri *Bacillus thuringiensis spp. Israelensis serotipe* H-14 dengan kode industri . PS201L1 NRRL B-18750 dalam bentuk *sheat* kristal kering diperoleh dari *Koppert Canada Limited*. Bakteri selanjutnya perlu dibangkitkan aktivitasnya dan ditumbuhkan pada medium pertumbuhan. Koloni yang tumbuh kemudian diisolasi dan diperiksa di bawah mikroskop untuk memastikan bentuk bakteri. Untuk mengetahui aktifitas fungsional bakteri dilakukan uji biokimiawi dengan TSIA, SIM, Sitrat, Urease, MR/VP, Gula-gula, Glukosa, Laktosa, Maltosa, Manosa, Sukrosa, Dulsitol, Dekstrose, Raminose, Ratinose, Arabinose, Inulin, Salisin.

Isolasi dan identifikasi protein bakteri dilakukan dengan mengambil dari koloni yang tumbuh pada medium biakan dan dimasukkan ke PBS, selanjutnya disentrifugasi dan substrat siap untuk diseparasi berdasarkan berat molekulnya dengan SDS-PAGE. Demikian

pula dengan toksin yang disekresikan diambil dari medium cair, kemudian dilakukan presipitasi dengan Ammonium Sulfat jenuh sama banyak selama 24 jam pada suhu 4⁰ C.

Karakterisasi protein dilakukan dengan elektroforesis protein dengan SDS-PAGE. Setelah pita-pita protein terlihat maka reaksi dihentikan dengan menambahkan asam asetat 10%. Hasil gel yang telah tampak pita-pita proteinnya disimpan dalam larutan gliserol 10% dan siap untuk didokumentasikan. Penghitungan berat molekul dilakukan dengan membandingkan standart marker. Purifikasi pada kolom kromatografi dengan menggunakan matrik sephadex G75. Kemudian dilakukan elektroforesis untuk mendapatkan fraksi protein tunggal dengan hasil berat molekul δ -endotoksin.

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini ditemukan berat molekul protein dari *whole* bakteri *Bacillus thuringiensis subspecies israelinsis* sebesar 103, 90, 78 dan 57 kDa dan berat molekul protein hasil presipitasi sebesar 103, 90, 78, 57, 53, 44, dan 33 kDa. Berat molekul protein tunggal δ -endotoksin sebesar 103 kDa yang diduga mempunyai aktifitas insektisidal alami.

(Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, dibiayai oleh Proyek DIPA dengan Nomer Kontrak 545 / JO3.2 / PG / 2006 , Tanggal Kontrak 24 Mei 2006)