

**DETEKSI KRISTAL PROTEIN δ -endotoksin *Bacillus thuringiensis*
subspesies *israelensis* serotipe H-14 (Bt-8750)
DENGAN METODE SDS-PAGE
DAN IMUNOBLOTING**

Fifin Kurnia Sari

ABSTRAK

Bacillus thuringiensis subspesies *israelensis* serotipe H-14 adalah bakteri tanah, Gram positif, dan bersifat fakultatif anaerob. *Bacillus thuringiensis* subspesies *israelensis* (Bti) serotipe H-14 merupakan bakteri yang menghasilkan protein kristal dalam *inclusion body* saat bersporulasi. Protein kristal yang bersifat insektisida ini disebut δ -endotoksin dengan berat molekul 74-134 kDa. Bakteri ini juga menghasilkan dua tipe toksin. Tipe pertama adalah jenis *cry* (*crystal*) toksin yang berfungsi membedakan klasifikasi *Bacillus thuringiensis* dan tipe kedua adalah *cyt* (*cytolytic*) toksin yang berperan memperbanyak dan meningkatkan efektifitas toksin *cry* dalam membunuh insekta.

Bacillus thuringiensis subspesies *israelensis* serotipe H-14 didapatkan dalam bentuk kering beku, kemudian diaktifkan pada medium pertumbuhan untuk mengaktifkan kembali dan berkembang biak. Setelah berkembang biak, dilakukan identifikasi dengan pewarnaan Gram, spora, uji biokimia dan uji gula-gula. Deteksi protein bakteri adalah langkah selanjutnya untuk mendapatkan sampel yang digunakan untuk elektroforesis dengan SDS-PAGE 12%. Hasil dari SDS-PAGE perlu dimurnikan (purifikasi) untuk mendapatkan kristal protein tunggal yang akan digunakan untuk penyuntikan imunisasi pada kelinci. Imunisasi pada kelinci dilakukan untuk mendapatkan antibodi poliklonal yang akan digunakan untuk imunoblotting.

Hasil dari penelitian *Bacillus thuringiensis* subspesies *israelensis* serotipe H-14 adalah bersifat Gram positif, berspora, mempunyai berat molekul 114 kDa, 108 kDa, 98 kDa, 83 kDa, 72 kDa pada elektroforesis dengan SDS-PAGE dan setelah dimurnikan (dipurifikasi) mempunyai berat molekul tunggal yaitu 108 kDa.

RINGKASAN

Bacillus thuringiensis adalah bakteri berbentuk batang Gram positif, bersifat fakultatif anaerob, dan mempunyai spora. *Bacillus thuringiensis* mempunyai banyak subspecies yang berbeda, dan tiap subspecies mempunyai kemampuan insektisida tertentu pada jenis serangga yang berbeda. Diantaranya adalah Bti, Bti ini banyak terdapat di tanah dan rawa-rawa. Bti ini menghasilkan suatu kristal protein yang mempunyai aktifitas sebagai insektisida atau mempunyai toksin yang dikenal dengan δ -endotoksin dengan berat molekul 73-134 kDa. Toksin tersebut disintesis pada saat sel bakteri mengalami sporulasi. Pada saat larva nyamuk dan lalat memakan spora dari Bti, maka akan terjadi sporulasi dengan pecahnya spora sehingga mengaktifkan kristal protein yang mengandung δ -endotoksin dan toksin tersebut akan membuat pori-pori pada dinding saluran pencernaan Bti, sehingga keseimbangan ion terganggu dan terjadi septicemia. Bti mati karena pada dinding saluran pencernaan sudah rusak, sehingga Bti berhenti makan. Toksin ini hanya bekerja pada pH lambung basa atau diatas 7. Berat molekul yang mempunyai kemampuan sebagai insektisidal adalah antara 60-70 kDa, sehingga yang berat molekulnya lebih dari 60-70 kDa dipecah oleh enzim protease yang ada pada saluran pencernaan larva menjadi 65 kDa. Hasil penelitian dengan metode SDS-PAGE adalah 114 kDa, 108 kDa, 98 kDa, 83 kDa dan 72 kDa dan setelah di murnikan (purifikasi) didapatkan protein tunggal yaitu 108 kDa. Protein tunggal tersebut disuntikan pada kelinci untuk

mendapatkan antibodi anti δ -endooksin, yang akan digunakan untuk metode imunoblotting. Hasil dari imunoblotting adalah 108 kDa.

