

Aplikasi Metode Sidikjari Protein (SDS-PAGE) untuk Identifikasi Isolat Bakteri Endogenik Indonesia (*Bacillus thuringiensis* Berliner) yang Patogenik terhadap Hama Kubis (*Crocidolomia binotalis* Zell)

Application of Protein Fingerprinting Method on Identification of Indonesian Indigenous Bacterial Isolates (*Bacillus thuringiensis* Berliner) Pathogenic to Cabbage Insect Pest (*Crossidolomia binotalis* Zell)

Christina L. Salaki^{1*}, Langkah Sembiring², Jesmandt Situmorang³, dan Niken Satuti Nur Handayani⁴

¹Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Unsrat, Manado

²Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

³Laboratorium Entomologi, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

⁴Laboratorium Genetika, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

E-mail: Christinasalaki@ymailcom *Penulis untuk korespondensi

Abstract

Indonesian indigenous isolates of *Bacillus thuringiensis* pathogenic to cabbage pest (*Crocidolomia binotalis* Zell.) were chemically characterised and identified based on protein fingerprinting method. Total soluble cellular protein of 10 selected isolates (SLK2.3, SRNG4.2, TKO1, TK9, YPPA1, UG1A, BLPPN8.2, YWKA1, BAU3.2, LPST1) and 2 reference strains (*B. thuringiensis* serovar *kurstaki* ATCC 10792 and *B. thuringiensis* serovar *israelensis* H14) were obtained by breaking cells with sonication. Cell extract were centrifuged at 13,000 rpm for 5 minutes to separate between pellet and supernatant. The proteins were separated by SDS-PAGE electrophoresis method to generate protein fingerprinting profile which were documented in an electronic files. The protein profiles were further analysed qualitatively and quantitatively by using MVSP (*Multivariate Statistical Package*) software to construct a dendrogram. The results of the study showed that protein profiles produced by each of the test strains and reference strains generated a meaningful pattern so that they could be used as a basis to differentiate clearly between *B. thuringiensis* serovar *kurstaki* ATCC 10792 and *B. thuringiensis* serovar *israelensis* H14. Therefore, the pattern of protein fingerprinting could be used to characterise and to identify the isolates clearly. From further analysis it could also be shown that the dendrogram could sharply differentiate and separate between *B. thuringiensis* serovar *kurstaki* ATCC 10792 and *B. thuringiensis* serovar *israelensis* H14. Therefore, it could be concluded that the application of protein fingerprinting profiles is very powerful instrument to unravel diversity of strains belong to *B. thuringiensis* and thus the 10 test isolates were strongly identified to be novel strains of the serovar *kurstaki* albeit the test isolates were genetically also very diverse.

Keywords : Application, protein fingerprinting, SDS-PAGE, identification, *B. thuringiensis*, indigenous Indonesia, *Crocidolomia binotalis*

Abstrak

Isolat bakteri *Bacillus thuringiensis* endogenik Indonesia yang patogenik terhadap hama kubis (*Crocidolomia binotalis* Zell.) dikarakterisasi dan diidentifikasi secara kimiawi dengan metode sidikjari protein. Total protein selular terlarut 10 isolat terpilih (SLK2.3, SRNG4.2, TKO1, TK9, YPPA1, UG1A, BLPPN8.2, YWKA1, BAU3.2, LPST1) dan 2 strain acuan (*B. thuringiensis* serovar *kurstaki* ATCC 10792 dan *B. thuringiensis* serovar *israelensis* H14) diperoleh melalui pemecahan sel dengan sonikasi. Ekstrak sel disentrifugasi dengan kecepatan 13000 rpm selama 5 menit untuk memperoleh supernatant. Protein dipisahkan dengan metode elektroforesis (SDS-PAGE) untuk menghasilkan profil sidikjari protein yang didokumentasikan dalam bentuk file elektronik. Selanjutnya, sidikjari protein dianalisis secara kualitatif maupun secara kuantitatif menggunakan *software* MVSP (*Multivariate Statistical Package*) untuk menghasilkan dendrogram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa profil protein yang dihasilkan oleh tiap-tiap

isolat dan strain acuan memberikan pola yang bermakna sehingga dapat digunakan untuk mengkarakterisasi dan mengidentifikasi isolat secara tegas. Analisis terhadap dendrogram menunjukkan bahwa strain acuan *B. thuringiensis* serovar *kurstaki* HD1 dapat dibedakan secara tegas dan jelas dengan strain acuan *B. thuringiensis* serovar *israelensis* H14. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa aplikasi profil sidikjari protein merupakan instrumen yang sangat ampuh untuk menyingkap keanekaragaman strain anggota *B. thuringiensis* yang disolasi dari habitat alami. Isolat yang diteliti diidentifikasi sebagai strain baru anggota *B. thuringiensis* serovar *kurstaki* karena menunjukkan kemiripan yang tinggi dengan strain acuan *B. thuringiensis* serovar *kurstaki* ATCC 10792 meskipun ke-10 isolat ini juga menunjukkan keanekaragaman genetik yang cukup tinggi.

Kata kunci: Aplikasi, sidikjari protein, SDS-PAGE, identifikasi, *B. thuringiensis*, endogenik Indonesia, *Crocidolomia binotalis*