

SELEKSI WERENG BATANG PADI COKLAT, *NILAPARVATA LUGENS* STAL. (HOMOPTERA: DELPHACIDAE) DENGAN INSEKTISIDA KARBAMAT MIPC DAN BPMC

*Carbonate Insecticides of MIPC and BPMC Selection on Rice
Brown Planthopper (Homoptera: Delphacidae)*

Nugroho Susetya Putra¹, Edhi Martono¹ dan Sukarti Moeljopawiro²

*Program Studi Bioteknologi
Program Pascasarjana Universitas Gadjah Mada*

ABSTRACT

Carbamate insecticides was used in great amount on paddy fields in Indonesia and other countries to control Rice Brown Planthopper (RBPH). The great quantity combined with high frequency induced the development of RBPH resistance.

This research was intended to know the resistance development of RBPH under continuous exposure of RBPH. Both biological and biochemical assays showed that the continuous exposure could not change the RBPH resistance level significantly, although the resistance ratio found vary between generations.

It was assumed that instead of resistance the tolerance levels at any generations were different. It was also noted that RBPH exposed to MIPC showed difference responses, which might be due to different chemical structures of the two compounds.

Keywords: *carbamate insecticides – Rice Brown Planthopper – resistance*

PENGANTAR

Wereng batang padi coklat, *Nilaparvata lugens* Stal. (Homoptera: *Delphacidae*) merupakan salah satu hama utama pada tanaman padi, dan tanaman lain yang termasuk ke dalam genus *Oryza*. Wereng yang tersebar di India, Asia Tenggara dan Asia Timur ini dapat menyebabkan kerusakan langsung berupa menguningnya rumpun padi seperti terbakar (*hopperburn*), dan tidak langsung dengan cara penyebaran penyakit Kerdil.

Insektisida karbamat merupakan salah satu jenis insektisida yang banyak digunakan oleh petani di lapangan, terutama apabila populasi

1) Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

2) Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

wereng coklat di atas ambang ekonomi. Namun pemaparan yang tidak tepat (baik dosis maupun waktu) di lapangan memicu dampak negatif, salah satunya adalah munculnya populasi wereng coklat resisten. Kemunculan wereng coklat resisten ini dikuatirkan akan mendorong pemakaian insektisida yang lebih intensif, yang akhirnya berdampak pada penurunan kualitas lingkungan.

Masalah yang kemudian muncul adalah tentang cara pengelolaan resistensi di lapangan. Satu hal yang menjadi titik tolak pengembangan metode pengelolaan resistensi di lapangan adalah tersedianya data tentang kasus-kasus resistensi. Dari data ini barulah dapat disusun strategi pengelolaan yang tepat. Namun justru minimnya data itulah yang menjadi kendala di Indonesia, sehingga pengembangan metode pengelolaan belum dapat dilakukan secara optimal.

Oleh karena itu, maka dianggap perlu untuk melakukan penelitian yang berhubungan dengan perkembangan resistensi satu jenis serangga hama terhadap satu atau lebih jenis insektisida. Wereng coklat termasuk serangga yang mempunyai daya reproduksi tinggi, sehingga diduga cepat mengembangkan resistensi terhadap insektisida, khususnya karbamat yang dipaparkan di lapangan. Penelitian Chung dan Sun (1983) menyimpulkan bahwa wereng coklat di Taiwan telah mengalami resistensi terhadap insektisida malation dan MIPC. Sementara di Indonesia, Sutrisno (1987) melaporkan bahwa wereng coklat di beberapa daerah telah mengalami resistensi terhadap insektisida karbamat dan organofosfat.

Tujuan penelitian adalah untuk mendapatkan data tentang perkembangan resistensi pada wereng coklat yang dipapar dengan insektisida karbamat MIPC dan BPMC yang meliputi (1) tingkat resistensi; (2) aktivitas enzim esterase, dan (3) ketidakpekaan asetilkolinesterase dari satu generasi ke generasi berikutnya.

CARA PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di dua tempat, yaitu Laboratorium Entomologi, Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada untuk pembiakan massal wereng coklat dan pengujian biologi, serta Laboratorium Biokimia, Pusat Antar Universitas (PAU) Bioteknologi Universitas Gadjah Mada untuk pengujian biokimia.

Bahan penelitian meliputi bahan untuk pengujian biologi dan

Universitas Gadjah Mada; insektisida karbamat MIPC dan BPMC teknis; benih padi IR 64 yang ditumbuhkan menjadi bibit untuk pakan wereng coklat, tanah untuk media tanam bibit padi, substrat Asetiltiokolinioidida untuk menguji aktivitas asetilkolinesterase, substrat p-naftil asetat untuk menguji aktivitas esterase dan bufer homogenisasi.

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah mikropipet berbagai ukuran, sentrifus, pembaca *microplate*, dan alat elektroforetik.

Penelitian diawali dengan pembiakan massal wereng coklat menggunakan metode Sugimoto (1977) yang dimodifikasi. pembiakan dilakukan di Laboratorium Entomologi Dasar Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Wereng coklat dibiakkan di dalam sangkar berkasa dengan pakan bibit padi IR 64 umur satu minggu. Pergantian pakan dilakukan satu minggu sekali.

Penentuan konsentrasi insektisida yang akan digunakan dalam seleksi dilakukan dengan mencelupkan wereng coklat uji ke dalam satu seri konsentrasi insektisida MIPC dan BPMC yaitu berkisar antara satu sampai 100 ppm. Konsentrasi insektisida yang dipilih adalah konsentrasi yang dapat membunuh lima sampai 95 persen wereng coklat uji (Matsumura, 1976).

Selanjutnya, seleksi dilakukan terhadap wereng coklat uji dengan insektisida MIPC dan BPMC, masing-masing dengan konsentrasi 30 ppm dan 250 ppm, yaitu konsentrasi yang membunuh 95 persen wereng coklat uji menggunakan metode celup dari Devonshire dan Rice (1988). Wereng coklat yang tetap hidup dibiakkan kembali dengan pakan padi.

Keturunan dari wereng coklat yang diseleksi diuji mortalitasnya dengan cara mencelupkan wereng coklat ke dalam lima konsentrasi insektisida MIPC dan BPMC yang terseleksi melalui uji penentuan konsentrasi. Data mortalitas dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak PC-Probit.

Uji biokimia dilakukan menggunakan metode Small (1998) dengan terlebih membuat homogenat dari sampel wereng coklat hasil seleksi pada tiap-tiap generasi dengan cara menggerus seekor wereng coklat di dalam tabung *ependorf* yang berisi aquades. Homogenat tersebut kemudian digunakan dalam uji aktivitas esterase dan penghambatan aktivitas asetilkolinesterase.

Uji ketidakpekaan asetilkolinesterase dilakukan dengan memasukkan 25 μ l homogenat ke dalam surnuran *microplate* yang sudah diisi 135 μ l bufer fosfat Triton 1% dan 10 μ l *Dithiobis-2, Nitrobenoic Acid*

campuran 25 µl substrat *Acetylthiocholiniodid* (AsChI) 0,01 M dan 20 µl insektisida. Pada homogenat kontrol, hanya ditambahkan substrat, tanpa insektisida. Reaksi ditunggu selama 45 menit, dan hasilnya dibaca dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 405 nm. Angka hasil pembacaan dari fraksi terhambat dibagi dengan angka pada fraksi kontrol dikalikan 100 persen. Frekuensi angka yang dihasilkan dikelompokkan ke dalam sepuluh kelompok, yang selanjutnya digambarkan dalam bentuk histogram.

Uji aktivitas esterase dilakukan dengan memasukkan masing-masing 20 µl homogenat ke dalam sumuran yang diperlakukan dan kontrol. Kemudian ke dalam masing-masing sumuran dimasukkan 200 µl substrat β-naftil asetat (dalam pelarut aseton). Setelah diinkubasikan selama 10 menit, ke dalam tiap sumuran dimasukkan larutan pewarna *Fast Blue B* (mengandung SDS lima persen) sebanyak 50 µl. Hasil reaksi dibaca dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 549 nm. Angka hasil pembacaan dari fraksi homogenat wereng coklat dibagi dengan angka pada fraksi kontrol (aquades). Frekuensi angka yang dihasilkan dikelompokkan ke dalam sepuluh kelompok, yang selanjutnya digambarkan dalam bentuk histogram.

Uji elektroforetik *native* - PAGE dilakukan untuk melihat aktivitas esterase secara kualitatif. Uji dilakukan dengan cara melarikan homogenat wereng coklat pada gel akrilamida yang diberi arus 150 volt. Gel hasil elektroforesis diwarnai dengan campuran bufer fosfat 0,1 M, β-naftil asetat dan *Fast Blue*. Setelah proses pewarnaan selesai, gel dimasukkan ke dalam larutan asam asetat untuk menghentikan proses pewarnaan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil seleksi yang dilakukan pada empat generasi wereng coklat dengan insektisida MIPC dan BPMC tidak menunjukkan adanya kenaikan atau penurunan rasio resistensi secara nyata. Namun demikian pada masing-masing generasi terdapat variasi nilai rasio resistensi (Tabel 1).

Tabel 1. Perkembangan resistensi koloni wereng coklat yang dipapar dengan insektisida MIPC dibandingkan dengan koloni kontrol (tanpa paparan)

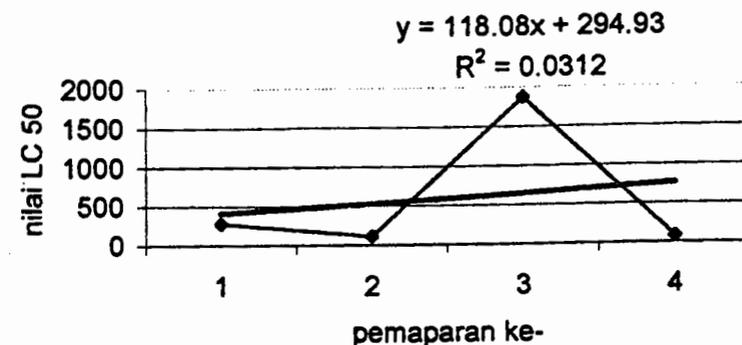
Kolono/Pemaparan ke-	Jumlah Serangga uji (n)	LC ₅₀ (ppm)	RR (Rasio resistensi)
Kontrol	300	32,36	1
MIPC-1	300	280,70	8,67
MIPC-2	150	115,40	3,57
MIPC-3	150	1877,45	58,02
MIPC-4	300	86,9	2,69

Keterangan: Rasio Resistensi (RR) diperoleh dengan cara membagi nilai LC₅₀ koloni yang dipapar dengan nilai LC₅₀ koloni kontrol (tidak dipapar). Kode MIPC-1 sampai dengan MIPC-4 menunjukkan generasi koloni wereng coklat yang dipapar dengan insektisida MIPC, yaitu generasi 1 sampai dengan 4.

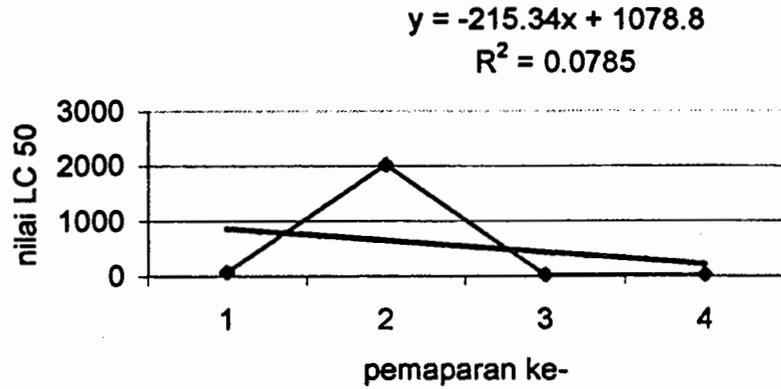
Tabel 2. Perkembangan resistensi koloni wereng coklat yang dipapar dengan insektisida BPMC dibandingkan dengan koloni kontrol (tanpa paparan)

Kolono/Pemaparan ke-	Jumlah Serangga uji (n)	LC ₅₀ (ppm)	RR (Rasio resistensi)
Kontrol	316	105,12	1
BPMC-1	300	78,66	0,75
BPMC-2	264	2027,91	19,29
BPMC-3	150	27,83	0,26
BPMC-4	237	27,45	0,26

Keterangan: Rasio Resistensi (RR) diperoleh dengan cara membagi nilai LC₅₀ koloni yang dipapar dengan nilai LC₅₀ koloni kontrol (tidak dipapar). Kode BPMC-1 sampai dengan BPMC-4 menunjukkan generasi koloni wereng coklat yang dipapar dengan insektisida BPMC, yaitu generasi 1 sampai dengan 4.



Gambar 1. Grafik kecenderungan rasio resistensi (RR) pada koloni wereng coklat yang dipapar dengan insektisida MIPC

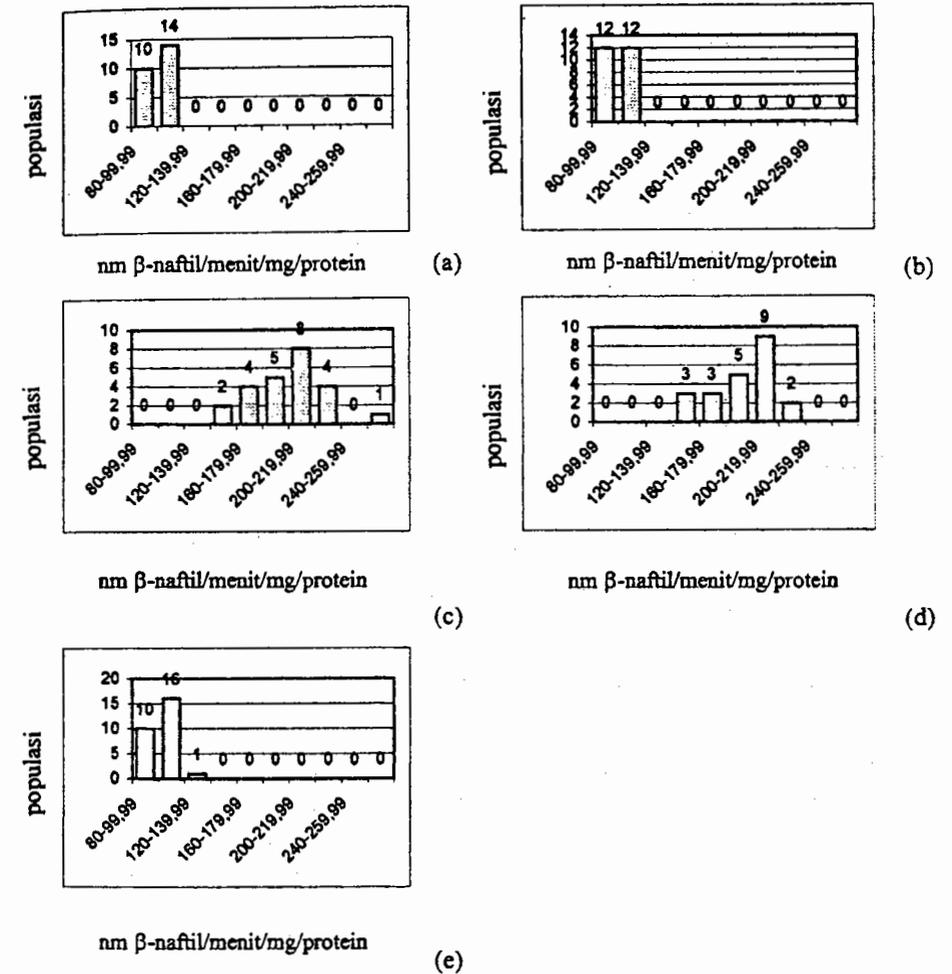


Gambar 2. Grafik kecenderungan rasio resistensi (RR) pada koloni wereng coklat yang dipapar dengan insektisida BPMC, berdasarkan nilai LC₅₀.

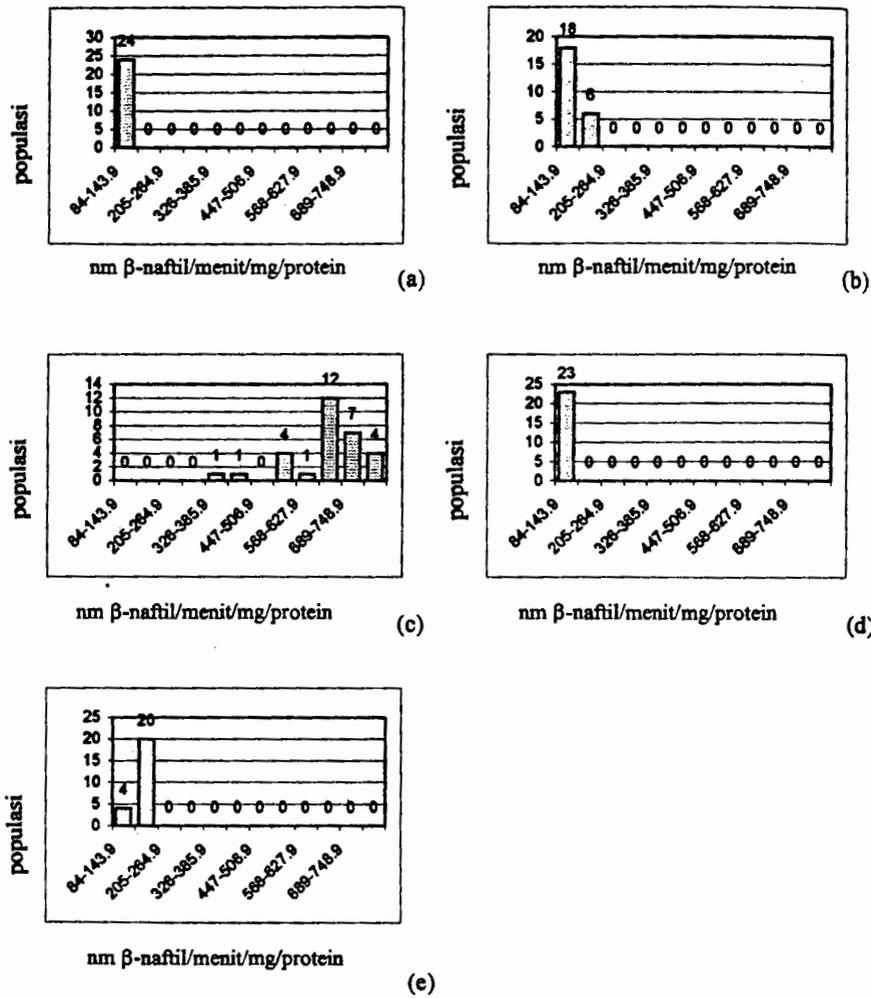
Gambar 1 menunjukkan bahwa pemaparan insektisida MIPC pada empat generasi secara berturut-turut menyebabkan kecenderungan kenaikan nilai rasio resistensi, meskipun kecil (ditunjukkan oleh nilai $b = 1,029$ pada persamaan $Y = 5,273x - 1,029$). Memang pada pemaparan kedua, nilai rasio resistensi melonjak sampai 8,67, dan pada pemaparan ketiga naik sampai 58,02 (Tabel 1). Gambar 2 menunjukkan kecenderungan penurunan nilai rasio resistensi, meskipun kecil. Meskipun cenderung naik, namun pada pemaparan kedua ditunjukkan bahwa nilai rasio resistensi melonjak sampai 19,29 (Tabel 2). Hasil uji elektroforetik juga tidak menunjukkan adanya perbedaan antar generasi yang diperlakukan, baik dengan insektisida MIPC maupun BPMC.

Menurut Georghiou dan Taylor (1977), faktor yang mempengaruhi perkembangan resisten terdiri dari (1) faktor genetik, misalnya frekuensi alel resisten (R) (2) faktor biologi, misalnya waktu satu siklus hidup, dan (3) faktor operasional, misalnya jenis insektisida yang dipaparkan, dan frekuensi pemaparan. Populasi wereng coklat diperlakukan dalam kondisi terisolasi dari pengaruh luar. Oleh karena itu, dalam penelitian ini, faktor seperti migrasi, dan *refugia* dianggap tidak berperan dalam pembentukan individu resisten. Satu faktor, yaitu pemaparan dengan konsentrasi tinggi selama empat generasi dianggap merupakan satu-satunya faktor yang berperan penting dalam perkembangan resistensi pada populasi tersebut. Selain itu, faktor jerlis insektisida dianggap turut berperan dalam menentukan perkembangan resistensi pada wereng coklat. Hal ini dapat ditunjukkan pada Tabel 1 dan 2 di atas yang masing-masing menunjukkan perkembangan resistensi pada

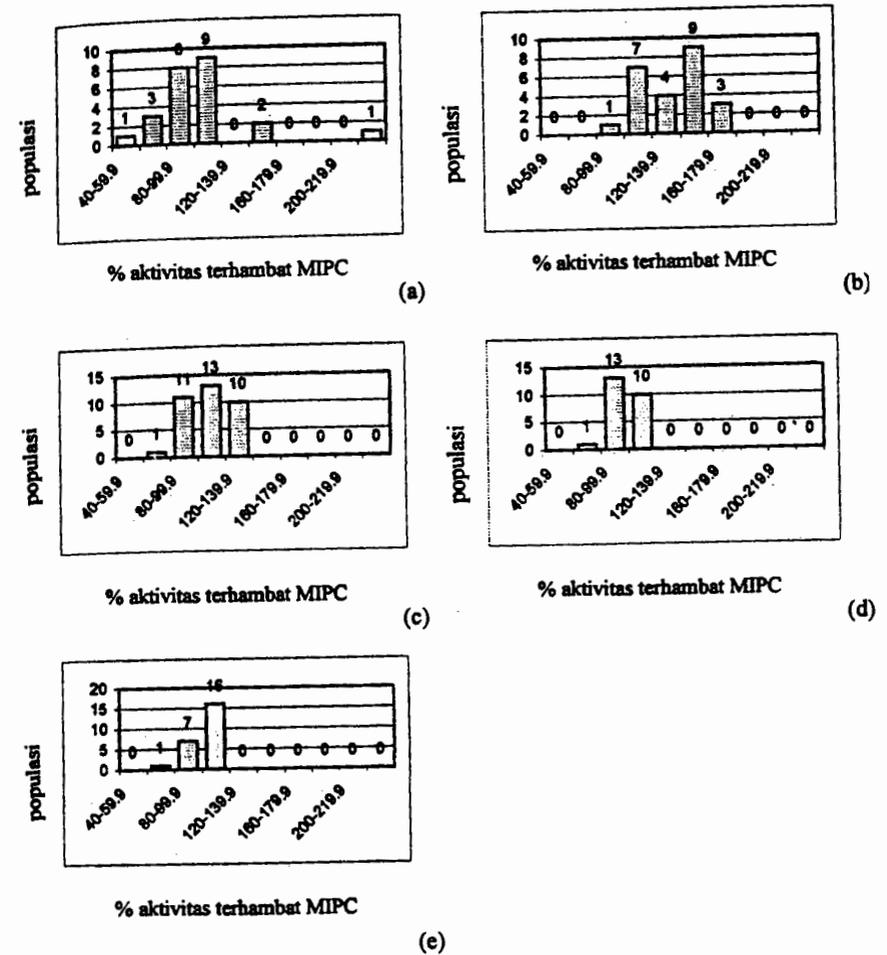
nilai rasio resistensi (RR) pada tiap-tiap generasi pada koloni wereng coklat yang dipapar baik dengan insektisida MIPC maupun BPMC. Hal ini tampak jelas pada pengujian aktivitas esterase dan ketidakpekaan asetilkolinesterase dari generasi ke generasi berikutnya yang tidak mengikuti suatu kecenderungan (*trend*) (Gambar 3, 4, 5, dan 6).



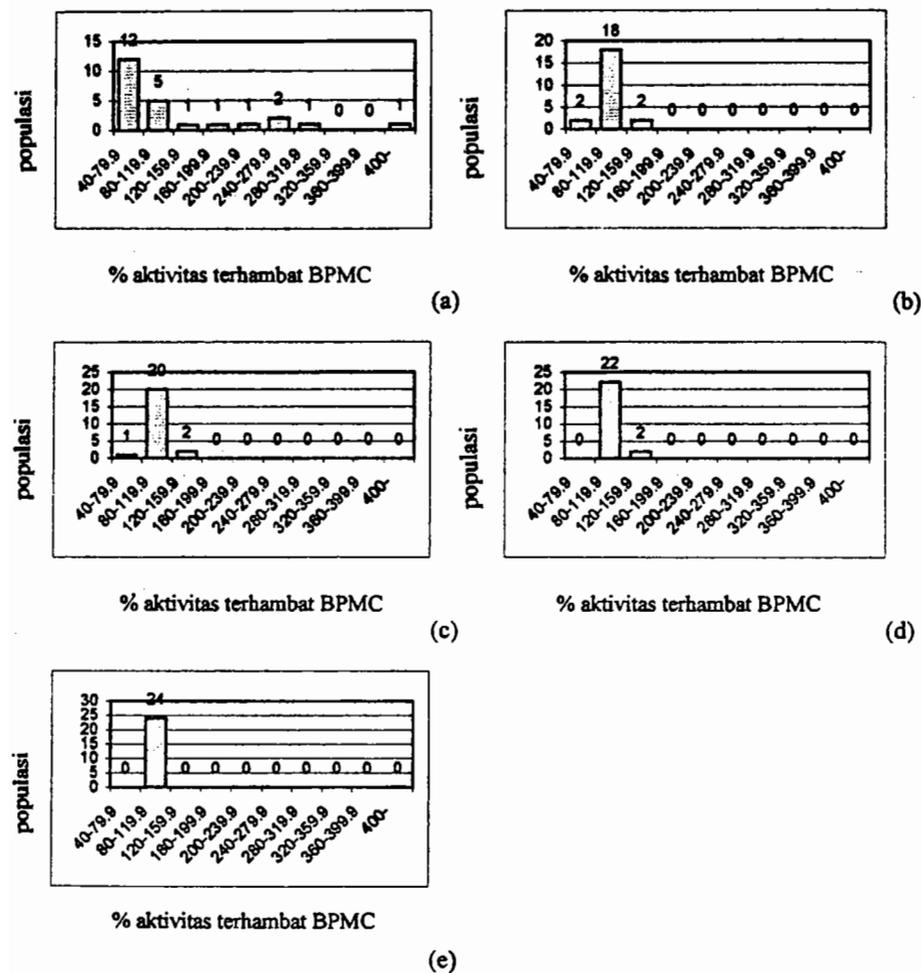
Gambar 3. Aktivitas enzim esterase pada koloni wereng coklat yang dipapar dengan insektisida MIPC. (a) perlakuan kontrol (tanpa pemaparan); (b) pemaparan pertama; (c) pemaparan kedua; (d) pemaparan ketiga, (e) pemaparan keempat.



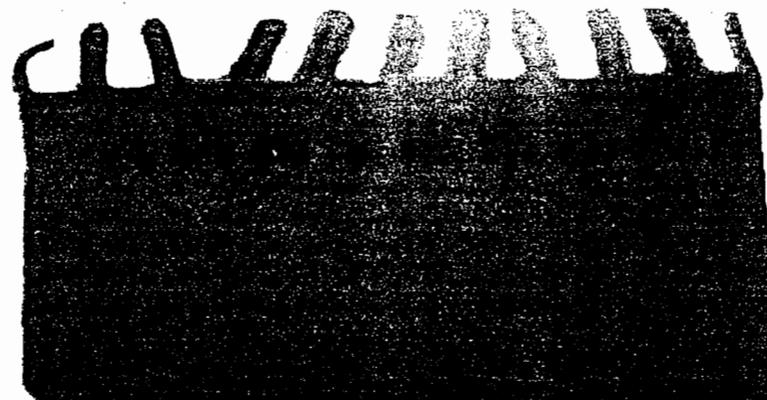
Gambar 4. Aktivitas enzim esterase pada koloni wereng coklat yang dipapar dengan insektisida BPMC. (a) perlakuan kontrol (tanpa pemaparan); (b) pemaparan pertama; (c) pemaparan kedua; (d) pemaparan ketiga, (e) pemaparan keempat.



Gambar 5. Ketidakpekaan asetilkolinesterase pada koloni wereng coklat yang dipapar dengan insektisida MIPC. (a) perlakuan kontrol (tanpa pemaparan); (b) pemaparan pertama; (c) pemaparan kedua; (d) pemaparan ketiga, (e) pemaparan keempat.

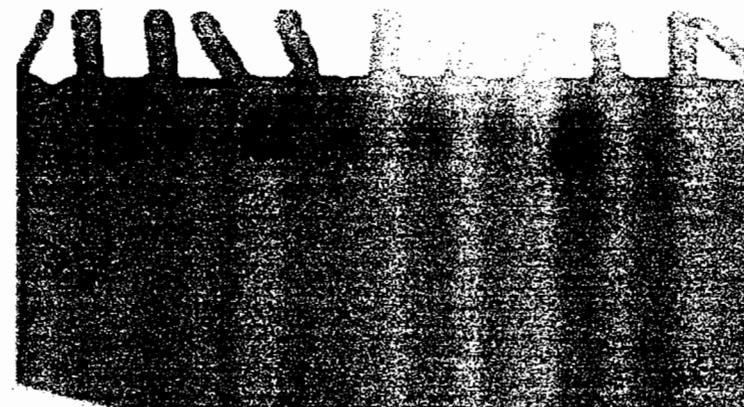


Gambar 6. Ketidakpekaan asetilkolinesterase pada koloni wereng coklat yang dipapar dengan insektisida BPMC. (a) perlakuan kontrol (tanpa pemaparan); (b) pemaparan pertama; (c) pemaparan kedua; (d) pemaparan ketiga, (e) pemaparan keempat.



K₁ K₂ M₁ M₁₁ M₁₂ M₂ M₂₁ M₂₂ M₃ M₃₁ M₃₂ M₄ M₄₁ M₄₂

Gambar 7. Hasil elektroforesis *native*-PAGE koloni yang dipapar dengan insektisida MIPC. *k* perlakuan kontrol dan *M* adalah homogenat yang diperlakukan dengan insektisida MIPC, angka M1 sampai M4 menunjukkan empat generasi wereng coklat yang dipapar; angka *subscript* 1 dan 2 menunjukkan ulangan 1 dan 2.



K₁ K₂ B₁ B₁₁ B₁₂ B₂ B₂₁ B₂₂ B₃ B₃₁ B₃₂ B₄ B₄₁ B₄₂

Gambar 8. Hasil elektroforesis *native*-PAGE koloni yang dipapar dengan insektisida BPMC. *k* perlakuan kontrol dan *M* adalah homogenat yang diperlakukan dengan insektisida BPMC, angka M1 sampai M4 menunjukkan empat generasi wereng coklat yang dipapar; angka *subscript* 1 dan 2 menunjukkan ulangan 1 dan 2.

Sementara itu, uji hayati menggunakan insektisida BPMC menunjukkan bahwa kecenderungan tersebut justru makin turun pada generasi berikutnya.

Penurunan nilai rasio resistensi pada koloni yang dipapar dengan insektisida BPMC dapat diterangkan sebagai berikut. Pemaparan per generasi dilakukan terhadap 50 sampai 100 ekor wereng coklat instar V yang diperoleh dari tiga kotak pembiakan yang berbeda. Meskipun perlakuan pembiakan, termasuk pemberian pakan, pada ketiga kotak tersebut sama, namun tetap terdapat perbedaan fitness dari wereng coklat yang dibiakkan pada masing-masing kotak tersebut. Hal ini berkaitan dengan tanggapan tanaman inang terhadap media tanam yang mungkin beragam, sehingga diduga mempengaruhi tanggapan koloni wereng coklat yang dibiakkan terhadap inang tersebut. Perbedaan tanggapan ini diduga dapat menyebabkan perbedaan fitness pada masing-masing koloni yang dibiakkan.

Pemaparan yang dilakukan terhadap 50 sampai 100 ekor wereng coklat (per perlakuan konsentrasi dengan ulangan tiga kali) diduga ditanggapi secara beragam oleh masing-masing individu yang berasal dari tiga tempat asal pembiakan. Hal ini menyebabkan keragaman data mortalitas yang dihasilkan dari pemaparan.

Hal ketiga yang diduga menyebabkan nilai rasio resistensi koloni yang dipapar oleh insektisida BPMC menurun pada generasi yang lebih lanjut adalah jumlah wereng coklat yang dipapar, yaitu sejumlah 50 sampai 100 ekor. Apabila BPMC dipaparkan dengan konsentrasi yang dapat membunuh 95 persen serangga uji hanya menyisakan 5 persen individu yang hidup, maka tidak dapat dijamin bahwa 5 persen individu ini mempunyai gen resisten yang lebih "tahan" dibandingkan tetuanya, karena alasan keragaman asal koloni.

Dengan demikian, penghitungan rasio resistensi yang didapatkan dari pemaparan selama empat generasi menghasilkan data rasio resistensi yang beragam dan kecenderungannya menurun.

Sementara itu, dari pengujian terhadap populasi wereng coklat dengan insektisida MIPC dan BPMC juga terlihat bahwa tanggapan wereng coklat terhadap kedua insektisida tersebut berbeda. Hal tersebut dapat dijelaskan sebagai berikut. MIPC (isoprokarb) dan BPMC mempunyai struktur kimia yang mirip. Namun tetap terdapat perbedaan, yaitu terletak pada adanya gugus metil isopropil pada MIPC dan butil-fenil pada BPMC. Secara teoritik, perbedaan struktur kimia ini dapat menyebabkan perbedaan pengaruh pada serangga yang

bahkan dapat terjadi pada beberapa insektisida yang mempunyai gugus fungsional yang sama (dalam hal ini dicontohkan gugus halogen). Hal ini dibuktikan bahwa senyawa sianopiretroid yang mempunyai gugus fungsional -CN lebih sulit dirombak dibandingkan dengan senyawa sianopiretroid. Oleh karena itu, meskipun senyawa MIPC dan BPMC termasuk ke dalam golongan insektisida karbamat, namun perbedaan gugus fungsional ini juga akan menyebabkan perbedaan tanggapan wereng coklat.

KESIMPULAN

1. Pemaparan insektisida karbamat (MIPC dan BPMC) pada empat generasi wereng coklat belum mampu menghasilkan perubahan resistensi yang signifikan, namun pada keempat generasi tersebut terdapat variasi nilai rasio resistensi.
2. Uji biokimia terhadap wereng coklat selama empat generasi tidak menunjukkan kecenderungan perubahan aktivitas esterase dan ketidakpekaan asetilkolinesterase.

DAFTAR PUSTAKA

- Chung, Teh-Chi dan Chih-Ning Sun. 1983. Malathion and MIPC Resistance in *Mlaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae). *J. Econ. Entomol.* 76: 1-5.
- Devonshire, A.L. dan Rice, A.D., 1988. Aphid Bioassay Techniques dalam Minks, A.K. & Harrewijn, P. (editor): *Aphids Their Biology, Natural Enemies and Control*. Volume B. Elsevier, Amsterdam, h: 119 - 128.
- Georghiou, G.P. dan C.E. Taylor. 1977. Genetic and Biological Influences in the Evolution of Insecticide Resistance. *J. Econ. Entomol.* 70: 653-658.
- Matsumura, F., 1976. *Toxicology of Insecticides*. Plenum Press, New York, 503 h + viii.
- Sheppard, D.C., 1995. Oxidative Metabolic Resistance to Cyanophyretroids in the Hom. Fly (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.* 88(6): 1531-1535.
- Small, G.J., 1998. Biochemical Assays for Insecticide Resistance Mechanism. *Diktat Praktikum dalam Workshop Entomologi Molekuler*. Pusat Kedokteran Tropik. Yogyakarta, 9-20 Februari 1998. 13 h.
- Sugimoto, A., 1977. A Methods of Mass-Rearing Rice Green Leafhoppers dalam *The Rice Brown Planthopper, Food and Fertilizer Technology Centre for the Asian and Pasific Region*. 5-9 Oct. 1976, Tokyo, 249-256.
- Sutrisno, 1987. Resistensi Wereng Coklat, *Mlaparvata lugens* Stal. pada Tanaman