

Uji Patologi *Spodoptera exigua* Nucleopolyhedrovirus (*SeNPV*) pada Larva *Spodoptera exigua* Huebner (Lepidoptera: Noctuidae)
(Pathological Assay of *Spodoptera exigua* Nucleopolyhedrovirus (*SeNPV*) on the *Spodoptera exigua* Huebner (Lepidoptera: Noctuidae) Larvae)

Samsudin^{1*} & Teguh Santoso²

¹Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar, Jl. Raya Pakuwon Parungkuda Km. 2 Sukabumi 43357,
E-mail: samsudin.afaqih@gmail.com

²Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor

Memasukkan: Februari 2014, Diterima April 2014

ABSTRACT

Spodoptera exigua nucleopolyhedrovirus (*SeNPV*) is an entomopathogenic virus of *S. exigua* larvae commonly used as bioinsecticide. This research was aimed to 1) study the symptoms of *SeNPV* infection on the *S. exigua* larvae in the laboratory, 2) examine the virulence of *SeNPV* on the 3rd instar of *S. exigua* larvae and (3) find out the optimal concentration of polyhedra and harvesting time. The infection of *SeNPV* on the *S. exigua* larvae was inhibited molting process and disturbing larval growth. The color of infected larvae gradually changed become more dark, and at the end of infection, larvae died with fragile and broken integument. Infected larvae showed reduction in feeding activities. The LC_{50} of *SeNPV* on 3rd instar larvae in the laboratory was estimated 6.65×10^5 POBs/ml. The polyhedra concentration used for virus propagation was 5.88×10^6 POBs/ml. The optimal harvesting time was 5 days after inoculation, where most of the infected larvae had died but the body still intact.

Keywords: Pathology, symptom, virulence, *Spodoptera exigua*, *SeNPV*

ABSTRAK

Spodoptera exigua nucleopolyhedrovirus (*SeNPV*) merupakan virus patogen serangga dari *S. exigua* yang sudah digunakan sebagai bioinsektisida. Penelitian ini bertujuan untuk 1) mempelajari gejala dari infeksi *SeNPV* pada larva *S. exigua* di laboratorium, 2) mengetahui virulensi *SeNPV* pada larva *S. exigua* instar 3, dan (3) memperoleh konsentrasi polihedra dan waktu panen yang optimal. Infeksi *SeNPV* pada larva *S. exigua* menghambat proses ganti kulit dan mengganggu pertumbuhan larva. Warna dari larva yang terinfeksi secara bertahap berubah menjadi lebih gelap, dan pada akhir infeksi larva mati dengan kulit yang rapuh. Larva yang terinfeksi menunjukkan adanya penurunan aktivitas makan. Nilai LC_{50} dari *SeNPV* pada larva instar 3 di laboratorium adalah 6.65×10^5 POB/ml. Konsentrasi polihedra yang digunakan untuk perbanyakan virus adalah 5.88×10^6 POB/ml. Waktu panen yang optimal adalah 5 hari setelah inokulasi, pada saat sebagian besar larva terinfeksi sudah mati tetapi masih utuh.

Kata Kunci: Patologi, gejala, virulensi, *Spodoptera exigua*, *SeNPV*

PENDAHULUAN

Spodoptera exigua Hubner (Lepidoptera: Noctuidae) merupakan hama utama tanaman bawang merah dan bawang daun di Indonesia (Kalshoven 1981; Sastrosiswojo 1994). Pengendalian hama ini bertumpu pada penggunaan insektisida kimia (Rauf 1999), sehingga telah terdeteksi adanya gejala resistensi (Moekasan & Basuki

2007). Untuk mengurangi penggunaan insektisida kimia, saat ini telah ditemukan virus patogen larva *S. exigua* dari Indonesia (Shepard *et al.* 1996). Hasil karakterisasi Samsudin (1999) diketahui bahwa virus tersebut adalah *S. exigua* nucleopolyhedrovirus (*SeNPV*). Di luar negeri *SeNPV* telah digunakan untuk mengendalikan larva *S. exigua* (Bianchi *et al.* 2000; Lasa *et al.* 2007b, 2007c).

Pengembangan *SeNPV* menjadi bioinsektisida

memerlukan teknologi produksi massal yang efektif mampu mempertahankan kemurnian virus. Menurut Elvira *et al.* (2010) efisiensi dan efektivitas dalam perbanyakan massal merupakan kunci utama produksi virus secara komersial. Teknologi perbanyakan massal NPV yang efisien dilakukan secara *in vivo* menggunakan serangga inangnya (Jokubowska & Ziemnicka 2005). Masalah teknis dalam perbanyakan *in vivo* adalah adanya kontaminasi mikroba saprofit (Hunter-Fujita *et al.* 1998; Lasa *et al.* 2008). Akibat adanya kontaminan dapat menurunkan kinerja NPV (Lasa *et al.* 2008), mengurangi produksi partikel virus dan menimbulkan bau busuk (Grzywacz *et al.* 2000). Untuk memastikan gejala infeksi NPV harus dilakukan pengamatan terhadap gejala spesifik (*symptoms*) pada serangga inang yang terinfeksi virus (Kitajima 1989).

Faktor utama yang menentukan keefektifan NPV di lapangan adalah konsentrasi polihedra (Felix *et al.* 2000; Lasa *et al.* 2007a) dan tingkat virulensinya (Takatsuka *et al.* 2007). Sementara itu kuantitas polihedra dan virulensi virus dipengaruhi oleh proses perbanyakan dan waktu pemanenannya. Grzywacz *et al.* (1998) menyatakan bahwa waktu pemanenan sangat menentukan produksi partikel virus per larva. Menurut Takatsuka *et al.* (2007) partikel virus yang dipanen dari larva yang masih hidup kurang infeksi dibandingkan dengan yang dipanen dari larva yang telah mati. Ignofo & Shapiro (1978) menyatakan bahwa *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus (*HaNPV*) yang dihasilkan dari larva inang yang telah mati, 7 - 9 kali lebih virulen daripada yang berasal dari inang yang masih hidup. Shapiro & Bell (1981) melaporkan bahwa *Lymantria dispar* nucleopolyhedron virus (*LpNPV*) dari inang yang sudah mati 7 kali lipat lebih virulen dibandingkan yang berasal dari inang yang masih hidup.

Penelitian ini bertujuan untuk: 1) mempelajari gejala dari infeksi *SeNPV* pada larva *S. exigua* di laboratorium, 2) mengetahui virulensi *SeNPV* pada larva *S. exigua* instar 3, dan (3) memperoleh konsentrasi polihedra dan waktu panen yang optimal.

BAHAN DAN CARA KERJA

Larva *S. exigua* dikoleksi dari lahan pertanian bawang daun di Cipanas, Cianjur, Jawa Barat, kemudian dipelihara pada pakan buatan di laboratorium. Pupa yang diperoleh dimasukkan ke dalam wadah plastik dengan tinggi 15 cm dan diameter 14 cm untuk dipelihara sampai menjadi serangga dewasa. Pada bagian pinggir wadah plastik tersebut dilapisi kertas HVS sebagai tempat peneluran dan dimasukkan juga ke dalamnya larutan madu dalam kapas untuk pakan imago. Telur dipanen dan ditempatkan pada wadah plastik terpisah yang diberi pakan buatan dan dibiarkan sampai menetas. Setelah berganti kulit menjadi instar 2, larva dipindahkan secara individual ke dalam wadah plastik yang telah diisi dengan pakan buatan.

SeNPV yang digunakan adalah isolat Indonesia hasil perbanyakan di laboratorium Lembaga Pertanian Sehat (LPS) Bogor. Metode penyiapan dan pemurnian partikel virus mengikuti metode Samsudin (1999). Kurang lebih 10 gram larva *S. exigua* yang mati terinfeksi *SeNPV* (*cadaver*) digerus dalam 0.1% *sodium dodecyl sulfat* (SDS) dengan rasio 1 gram larva per 10 ml SDS kemudian diblender selama 3 menit. Campuran tersebut disaring dengan saringan teh kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3.500 rpm selama 30 menit. Pelet yang dihasilkan dicampur kembali dengan 0.1 % SDS dan disentrifugasi lagi dengan kecepatan 5.000 rpm selama 1 jam dalam 35-60% (w/v) *continuous sucrose gradient* pada suhu 5°C. Lapisan polihedra murni yang terlihat pada larutan gradien sukrosa diambil dan disuspensikan dalam air steril serta disimpan di dalam refrigerator suhu -20°C sebagai suspensi "stock".

Konsentrasi *SeNPV* yang digunakan adalah $1,13 \times 10^8$ *polyhedra occlusion bodies* per mililiter (POB/ml), berdasarkan nilai LC_{90} hasil penelitian Samsudin (1999). Aplikasi virus dilakukan dengan cara diteteskan pada permukaan pakan buatan (Hunter-Fujita *et al.* 1998). Setelah diberi perlakuan dimasukan ke dalam masing-masing wadah tersebut

1 ekor larva instar 3. Masing-masing perlakuan menggunakan 30 ekor larva dan diulang sebanyak 4 kali. Variabel yang diamati adalah pertumbuhan, perubahan warna dan tekstur tubuh serangga uji serta bobot feses yang dihasilkan. Pengamatan dilakukan sampai semua serangga uji mati atau menjadi pupa.

Penelitian dilakukan di laboratorium menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan masing-masing perlakuan menggunakan 30 ekor larva instar 3 dan diulang 4 kali. Stock virus hasil pemurnian diambil sebanyak 1 ml kemudian diencerkan dalam 9 ml aquades steril (pengenceran 10^{-1}) dan diaduk secara merata, kemudian dibuat seri pengenceran persepuluhan sebanyak 7 kali sehingga diperoleh suspensi dengan tingkat pengenceran: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} dan 10^{-7} . Virus pada pengenceran 10^{-4} dihitung dengan *Improved Neubauer Haemocytometer* di bawah mikroskop cahaya perbesaran 400 kali. Perlakuan konsentrasi yang digunakan adalah: $1,13 \times (10^4 - 10^{10})$ POB/ml dan kontrol.

Perlakuan menggunakan metode kontaminasi pakan (Hunter-Fujita *et al.* 1998). Suspensi virus sesuai pengenceran diteteskan dengan menggunakan pipet kecil di atas permukaan pakan buatan (masing-masing 10 ml) dalam wadah plastik. Setelah diberi perlakuan dimasukkan ke dalam masing-masing wadah tersebut 1 ekor larva instar 3. Variabel yang diamati adalah jumlah serangga uji yang mati terinfeksi *SeNPV* (mortalitas) sampai semua serangga uji pada kontrol menjadi pupa. Persentase mortalitas dikoreksi berdasarkan rumus Abbott (1925). Virulensi *SeNPV* ditentukan berdasarkan konsentrasi polihedra yang mematikan 50% populasi serangga uji (LC_{50}) dengan menggunakan probit analisis.

Perlakuan untuk menentukan konsentrasi polihedra dan waktu pemanenan *SeNPV* di laboratorium menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan metode kontaminasi pakan (Hunter-Fujita *et al.* 1998). Konsentrasi *SeNPV* yang digunakan adalah: $5,88 \times (10^9, 10^8, 10^7, 10^6, 10^5$ dan $10^4)$ POB/ml dan kontrol, yang diaplikasikan

dengan cara meneteskan suspensi virus ke atas permukaan pakan buatan. Setelah diberi perlakuan dimasukkan ke dalam masing-masing wadah tersebut 1 ekor larva instar 3. Masing-masing perlakuan menggunakan 30 ekor larva dan diulang sebanyak 3 kali. Pengamatan dilakukan setiap hari sampai semua serangga uji pada kontrol menjadi pupa. Larva yang mati terinfeksi *SeNPV* dipanen, dimasukan ke dalam tabung reaksi dan diencerkan dengan 10 ml aquades, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3.500 rpm selama 30 menit. Pelet diencerkan kembali dengan aquades dan dihitung di bawah mikroskop cahaya perbesaran 400x menggunakan *Improved Neubauer Haemocytometer*. Variabel yang diamati adalah jumlah polihedra per larva, mortalitas, dan waktu kematian serangga uji.

HASIL

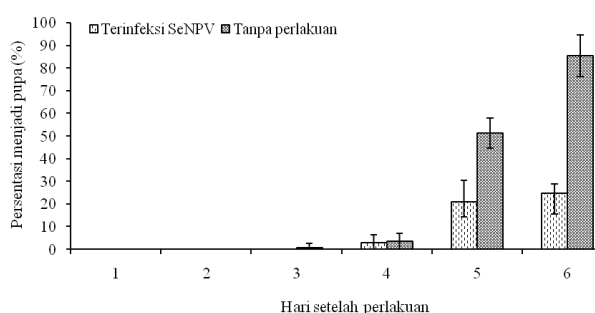
Gejala Infeksi *SeNPV* pada Larva *S. exigua* di Laboratorium

Hasil pengamatan terhadap pertumbuhan serangga uji menunjukkan bahwa pada hari ke-2 setelah infeksi, larva yang terinfeksi *SeNPV* masih mengalami proses ganti kulit menjadi instar 4 dan pada hari ke-4 menjadi instar 5. Tetapi kemudian pada hari ke-5 tidak mengalami ganti kulit menjadi prapupa. Sedangkan larva yang sehat (kontrol) pada hari ke-5 sebagian besar berganti kulit menjadi prapupa yang kemudian pada hari ke-6 menjadi pupa (Tabel 1). Akumulasi jumlah larva instar 3 sehat (kontrol) yang tumbuh menjadi pupa pada hari ke-6 setelah perlakuan mencapai 85,40% berbeda jauh dengan yang terinfeksi *SeNPV* yang hanya 24,65% (Gambar 1).

Larva yang terinfeksi *SeNPV* mengalami perubahan warna tubuh menjadi lebih gelap dibandingkan dengan yang sehat (Gambar 2). Pada akhir infeksi tubuh larva menjadi rapuh dan hancur dengan mengeluarkan cairan yang berisi partikel virus. Pengamatan lanjutan pada pupa yang berhasil tumbuh dari larva yang diinfeksi *SeNPV* menunjukkan adanya perubahan warna

Tabel 1. Deskripsi gejala infeksi *SeNPV* pada larva instar 3 di laboratorium

Hari ke-	Variabel			
	Pertumbuhan		Aktifitas makan	
	Terinfeksi <i>SeNPV</i>	Sehat (kontrol)	Terinfeksi <i>SeNPV</i>	Sehat (kontrol)
1	instar 3	instar 3	aktif	aktif
2	instar 4	instar 4	aktif	aktif
3	instar 4	instar 4	pasif	aktif
4	instar 5	instar 5	pasif	pasif
5	instar 5	pra pupa	mati	pasif
6	instar 5	Pupa	-	-

**Gambar 1.** Pengaruh infeksi *SeNPV* terhadap pertumbuhan larva menjadi pupa.**Gambar 2.** Perbedaan warna tubuh larva (A) sehat, dan (B) terinfeksi *SeNPV*.

tubuh pupa menjadi kehitaman dengan tekstur tubuh rapuh dan mengeluarkan cairan (hemolimfa) yang berwarna keruh.

Larva yang terinfeksi *SeNPV* menjadi kurang aktif dan kehilangan nafsu makan mulai pada hari ke-3 setelah perlakuan (Tabel 1). Pada awalnya terlihat bahwa larva yang terinfeksi *SeNPV* mengeluarkan feses relatif lebih banyak daripada larva sehat. Tetapi kemudian menurun drastis setelah hari ke-2, sedangkan larva yang sehat justru cenderung meningkat (Gambar 3).

Virulensi *SeNPV* terhadap Larva Instar 3 di Laboratorium

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi polihedra *SeNPV* semakin tinggi persentasi mortalitas (Tabel 2). Akumulasi rata-rata persentasi mortalitas larva pada hari ke-6 setelah perlakuan *SeNPV* konsentrasi $1,13 \times (10^{10} - 10^4)$ POB/ml, berturut-turut sebagai berikut: 100% , 97.11%, 85.59%, 73.83 %, 63.91%, 50.52% dan 29.85%. Hasil perlakuan konsentrasi $1,13 \times 10^{10}$ dan $1,13 \times 10^9$ POB/ml menunjukkan tidak berbeda nyata. Hasil perhitungan menggunakan metode probit analisis diperoleh persamaan regresi: $Y = 0,57 x + 1,68$ dan nilai LC_{50} pada konsentrasi $6,65 \times 10^5$ POB/ml (Gambar 4).

Penentuan Konsentrasi Polihedra dan Waktu Panen

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kematian larva instar 3 yang diinfeksi *SeNPV* dengan konsentrasi $5,88 \times (10^9, 10^8, 10^7, 10^6, 10^5 \text{ dan } 10^4)$ POB/ml berturut-turut : $97,67 \pm 2,52$; $81,90 \pm 3,29$; $73,33 \pm 5,77$; $64,26 \pm 7,38$; $41,11 \pm 8,39$; dan $18,89 \pm 1,92$. Nilai LT_{50} dicapai mulai perlakuan $5,88 \times 10^6$ POB/ml dengan nilai berturut-turut: 5,59; 4,47; 4,29 dan 3,61 hari setelah perlakuan (HSP). Sedangkan perlakuan $5,88 \times 10^4$ dan $5,88 \times 10^5$ POB/ml total mortalitas kurang dari 50% (Tabel 3).

Hasil penelitian terhadap waktu pemanenan polihedra diketahui, bahwa pemanenan virus yang optimum dilakukan pada saat 5 hari setelah perlakuan (HSP). Hasil pemanenan pada 5 HSP diperoleh jumlah rata-rata polihedra per larva tertinggi pada semua perlakuan konsentrasi polihedra yang digunakan (Tabel 4). Hal itu disebabkan karena rata-rata ukuran tubuh serangga inang yang mati pada hari ke-5 paling besar, dan dapat dipanen dalam keadaan utuh.

PEMBAHASAN

Gejala Infeksi *SeNPV* pada Larva di Laboratorium

Larva yang terinfeksi virus tidak dapat berganti kulit sehingga tidak dapat tumbuh menjadi prapupa

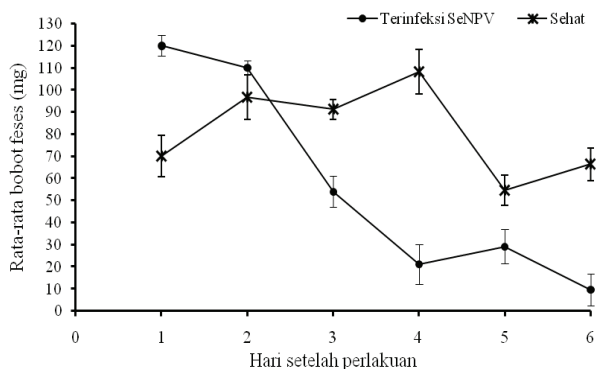
Tabel 2. Mortalitas larva instar 3 pada pengamatan hari ke-6 setelah perlakuan *SeNPV* pada beberapa konsentrasi.

Ulangan	Mortalitas larva setelah perlakuan konsentrasi (1,13 x ..POB/ml) (%)						
	10 ¹⁰	10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁴
1	100	95,14	89,64	76,12	66,63	57,13	28,64
2	100	100	83,91	71,92	59,52	56,00	32,00
3	100	95,62	86,93	73,93	65,24	47,83	30,44
4	100	97,67	81,90	73,33	64,46	41,11	28,33
Rataan*	100a	97,11a	85,60b	73,83c	63,96d	50,52e	29,85f
SD	0	2,22	3,40	1,75	3,09	7,52	1,71

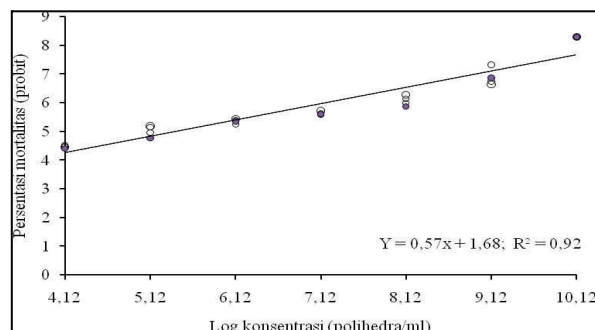
*Rataan yang diikuti oleh huruf yang sama tidak menunjukkan beda nyata (Uji Duncan, $\alpha = 0,05$).

Tabel 3. Akumulasi mortalitas larva, nilai LT₅₀ dan produksi polihedra pada pengamatan hari ke-6 setelah perlakuan.

Konsentrasi polihedra (5,88 x ..POB/ml)	Mortalitas (%)*	LT ₅₀ (HSP)	Rata-rata produksi per larva (POB)	Produksi per 100 larva (POB)
10 ⁴	18,89 ± 1,92	-	6,85 x 10 ⁷	1,71 x 10 ⁹
10 ⁵	41,11 ± 8,39	-	7,67 x 10 ⁷	2,83 x 10 ⁹
10 ⁶	64,26 ± 7,38	5,59	1,03 x 10 ⁸	1,16 x 10 ¹⁰
10 ⁷	73,33 ± 5,77	4,47	7,33 x 10 ⁷	5,02 x 10 ⁹
10 ⁸	81,90 ± 3,29	4,29	6,54 x 10 ⁷	5,42 x 10 ⁹
10 ⁹	97,67 ± 2,52	3,61	7,43 x 10 ⁷	7,68 x 10 ⁹



Gambar 3. Pengaruh infeksi *SeNPV* terhadap bobot feses yang dikeluarkan larva.



Gambar 4. Persamaan regresi hubungan konsentrasi polihedra (x) dengan mortalitas larva instar 3 (y) di laboratorium.

dan pupa. Hal ini disebabkan adanya fungsi gen ecdysteroidglucosyl-transferase (*egt*) yang dimiliki oleh NPV (Toprak *et al.* 2005; Etebari *et al.* 2007) yang berfungsi menonaktifkan hormon ecdysteroid serangga inang (O'Reilly & Miller 1989; Bianchi *et al.* 2000; Barret *et al. dalam* Koul & Dhaliwal 2002.). Regulasi hormonal yang mengatur proses ekdisi dari larva yang terinfeksi NPV dihambat oleh adanya ekspresi dari gen *egt* tersebut (Etebari *et al.* 2007). Maka dari itu stadia larva dari serangga

yang terinfeksi virus akan semakin panjang (Barret *et al. dalam* Koul & Dhaliwal 2002).

Warna tubuh larva yang terinfeksi virus mengalami perubahan mulai hari ke-3 setelah perlakuan. Tanada & Kaya (1993) dan Koul & Dhaliwal (2002) menyatakan bahwa sebagian besar larva yang terinfeksi NPV tidak menunjukkan gejala (*symptom*) sampai 2 hari setelah virus tersebut termakan. Terjadi perubahan warna tubuh larva secara gradual pada hari ke-3 yang cenderung semakin

Tabel 4. Produksi polihedra berdasarkan konsentrasi inokulum dan waktu panen.

Konsentrasi perlakuan (5,88 x ...POB/ml)	Waktu panen (HSI)	Akumulasi Mortalitas (%)	Hasil/larva (POB)	Hasil per 100 larva (POB)
10 ⁴	3	0	0	0
	4	4,17 ± 7,22	2,73 x 10 ⁷	1,14 x 10 ⁸
	5	15,56 ± 5,09	1,25 x 10 ⁸	1,42 x 10 ⁹
	6	18,89 ± 1,92	5,32 x 10 ⁷	1,77 x 10 ⁸
10 ⁵	3	0	0	0
	4	20,74 ± 1,28	4,25 x 10 ⁷	8,81 x 10 ⁸
	5	31,11 ± 8,39	1,70 x 10 ⁸	1,78 x 10 ⁹
	6	41,11 ± 8,39	1,76 x 10 ⁷	1,76 x 10 ⁸
10 ⁶	3	0	0	0
	4	13,70 ± 5,48	5,50 x 10 ⁷	7,54 x 10 ⁸
	5	60,93 ± 6,44	2,28 x 10 ⁸	1,08 x 10 ¹⁰
	6	64,26 ± 7,38	2,45 x 10 ⁷	8,16 x 10 ⁷
10 ⁷	3	13,33 ± 5,77	1,75 x 10 ⁶	2,33 x 10 ⁷
	4	46,67 ± 5,77	5,00 x 10 ⁷	1,67 x 10 ⁹
	5	66,67 ± 5,77	1,65 x 10 ⁸	3,30 x 10 ⁹
	6	73,33 ± 5,77	5,00 x 10 ⁶	3,33 x 10 ⁷
10 ⁸	3	22,86 ± 4,95	2,13 x 10 ⁶	4,87 x 10 ⁷
	4	39,52 ± 0,83	4,50 x 10 ⁷	7,50 x 10 ⁸
	5	70,48 ± 4,31	1,48 x 10 ⁸	4,58 x 10 ⁹
	6	81,90 ± 3,29	3,21 x 10 ⁶	3,67 x 10 ⁷
10 ⁹	3	16,67 ± 5,77	1,40 x 10 ⁷	2,33 x 10 ⁸
	4	63,33 ± 5,77	5,00 x 10 ⁷	2,33 x 10 ⁹
	5	93,33 ± 2,89	1,70 x 10 ⁸	5,10 x 10 ⁹
	6	97,67 ± 2,52	2,75 x 10 ⁶	1,19 x 10 ⁷

cerah dan mengkilap (*glossiness*) dan kemudian pada hari ke-4 berubah menjadi bertambah gelap (*darkness*). Pada hari ke-6 setelah perlakuan terlihat bahwa integumen dari larva yang terinfeksi menjadi rapuh (Gambar 2). Poinar & Thomas (1984), Kitajima (1989), Tanada & Kaya (1993) dan Toprak *et al.* (2005) menyatakan bahwa gejala infeksi virus pada serangga akan menunjukkan adanya perubahan secara gradual dalam warna integumen yang semakin bertambah gelap, *milkiness* dan *glossiness*. Kutikula larva yang terinfeksi NPV menipis dan menjadi rapuh akibat kinerja gen *cathepsin* dan *kitinase* yang terdapat

dalam genom baculovirus (Toprak *et al.* 2005). Menurut Kalmakoff & Ward (2003) gen tersebut membantu baculovirus dalam merusak matrik peritrofik untuk memulai infeksi awal.

Larva yang terinfeksi *SeNPV* cenderung mengalami penurunan aktivitas makan. Kecenderungan tersebut berkaitan dengan proses pertumbuhan larva, yang akan cenderung aktif makan setelah ganti kulit (*molting*) kemudian menurun aktifitas makannya menjelang ganti kulit. Adam & McClintock *dalam* Adam & Bonami (1991) menyatakan bahwa salah satu gejala larva yang terinfeksi NPV adalah kehilangan nafsu makan

(*loss of appetite*). Menurut Tanada & Kaya (1993) larva yang terinfeksi virus biasanya menjadi kurang aktif dan kehilangan nafsu makan tetapi mungkin masih terus makan sampai beberapa hari sebelum mati. Sedangkan menurut Barrett *et al.* dalam Koul & Dhaliwal (2002) larva terinfeksi pada mulanya makan normal, tetapi kemudian berangsur-angsur berkurang. Toprak *et al.* (2005) menyatakan bahwa larva yang terinfeksi NPV menjadi pasif disebabkan infeksi pada sistem syaraf pusat dan sel-sel otot.

Terjadinya perubahan pada morfologi, pertumbuhan dan perilaku larva *S. exigua* akibat infeksi SeNPV tidak lepas dari adanya gangguan pada fisiologi dan metabolisme serangga inangnya. Akibat terjadinya infeksi, maka penggunaan oksigen akan meningkat secara drastis, yang mengindikasikan adanya percepatan metabolisme sel inang, dan protein hemolimfa akan mengalami fluktuasi sesuai dengan intensitas infeksi, yang kemudian akan menurun sejalan dengan perkembangan infeksi (Tanada & Kaya 1993). Penurunan protein hemolimfa total disebabkan terjadinya penurunan sintesis protein (Etebari *et al.* 2007). Boctor (1980) menyatakan bahwa asam amino total dari ulat pemakan daun kapas *Spodoptera littoralis* menurun akibat terinfeksi virus, akan tetapi asam amino utamanya seperti prolin, lisin, asam aspartat dan histidin justru meningkat di dalam hemolimfa.

Virulensi SeNPV terhadap Larva Instar 3 di Laboratorium

Hasil pengujian di laboratorium diketahui bahwa SeNPV isolat lokal sangat virulen terhadap larva, yaitu dengan pengenceran 1 juta kali dari suspensi virus murninya efektif mematikan larva instar 3 lebih dari 50% populasi serangga uji. Sedangkan di lapangan nilai LC_{50} SeNPV ini lebih besar, sebagaimana yang dilaporkan oleh Israwan (1998) yaitu $3,0 \times 10^9$ POB/liter atau setara $3,0 \times 10^6$ POB/ml. Hal ini disebabkan adanya pengaruh beberapa faktor lingkungan

yang dapat menurunkan virulensi SeNPV, antara lain: sinar UV dari matahari (Mishra 1998; Koul & Dhaliwal 2002; McIntosh *et al.* 2004; Mondragon *et al.* 2007; Mehrvar *et al.* 2008) dan temperatur (Takatsuka *et al.* 2007). Di samping faktor lingkungan tersebut, menurut Lasa *et al.* (2007c) struktur stadia dan kerentanan serangga inang di lapangan juga lebih bervariasi. Sethuraman & Narayanan (2010) menyatakan bahwa persentase mortalitas larva akan meningkat dengan peningkatan konsentrasi POB, tetapi berkorelasi negatif dengan peningkatan umur serangga.

Penentuan Konsentrasi Polihedra dan Waktu Panen

Waktu kematian inang yang terinfeksi virus berbanding lurus dengan stadia, semakin besar stadia larva, semakin lama waktu kematiannya (Escribano *et al.* 1999; Takatsuka & Kunimi 2002). Rata-rata produksi polihedra per larva ditentukan oleh ukuran serangga inang saat mati, bukan ditentukan oleh konsentrasi polihedra yang digunakan. Dari hasil penelitian ini diketahui bahwa rata-rata produksi polihedra per larva dan persentase produksi tertinggi dihasilkan dari perlakuan konsentrasi $5,88 \times 10^6$ POB/ml atau pengenceran 100.000 kali, yaitu : $1,03 \times 10^8$ POB per larva dan $1,16 \times 10^{10}$ POB per 100 larva. Sedangkan perlakuan konsentrasi $5,88 \times (10^7 - 10^9)$ POB/ml, meskipun rata-rata mortalitasnya lebih besar dari perlakuan konsentrasi $5,88 \times 10^6$ POB/ml, akan tetapi total produksi per 100 larvanya lebih kecil (Tabel 3). Hal itu disebabkan oleh proporsi ukuran serangga inang yang mati terinfeksi SeNPV pada konsentrasi $5,88 \times (10^7 - 10^9)$ POB/ml lebih banyak yang berukuran kecil. Semakin tinggi konsentrasi polihedra yang digunakan semakin cepat kematian serangga inang atau semakin kecil nilai LT_{50} . Semakin kecil nilai LT_{50} berarti semakin besar proporsi serangga inang yang mati berukuran kecil. Gupta *et al.* (2007) menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi polihedra yang digunakan akan meningkatkan mortalitas serangga inang, tetapi polihedra yang dihasilkan per larva akan menurun.

Hasil penelitian terhadap waktu pemanenan polihedra diketahui, bahwa pemanenan virus yang optimum dilakukan pada saat 5 hari setelah perlakuan (HSP). Hasil pemanenan pada 5 HSP diperoleh jumlah rata-rata polihedra per larva tertinggi pada semua perlakuan konsentrasi polihedra yang digunakan (Tabel 4). Hal itu disebabkan karena rata-rata ukuran tubuh serangga inang yang mati pada hari ke-5 paling besar, dan dapat dipanen dalam keadaan utuh. Grzywacz *et al.* (1998), Kumar *et al.* (2005) dan (Gupta *et al.* 2007) telah merekomendasikan agar pemanenan polihedra dilakukan ketika serangga inang telah mati (*cadaver*), tetapi sebelum hancur. Koul & Dhaliwal (2002) menyatakan bahwa penentuan waktu pemanenan polihedra sangat penting, sebab serangga yang terinfeksi virus seluruh selnya akan lisis dan kutikulanya menjadi rapuh, sehingga apabila telat memanennya akan kehilangan hasil akibat tubuh serangga terdisintegrasi.

KESIMPULAN

Infeksi *SeNPV* menghambat proses ganti kulit larva *S. exigua*. Larva yang terinfeksi virus mengalami perubahan warna secara gradual dari cerah dan mengkilap pada awal infeksi, kemudian pada akhir infeksi menjadi gelap. Tanda yang khas dari infeksi *SeNPV* adalah larva mati dengan integumen rapuh dan hancur dengan mengeluarkan cairan. UGB yang terinfeksi *SeNPV* menjadi kurang aktif dan kehilangan nafsu makan.

LC_{50} *SeNPV* terhadap larva instar 3 di laboratorium adalah $6,65 \times 10^5$ POB/ml. Sementara itu untuk keperluan perbanyakan massal di laboratorium dengan memperhatikan tingkat mortalitas, LT_{50} , produksi polihedra per larva, dan proporsi mortalitas larva, konsentrasi inokulum yang digunakan adalah $5,88 \times 10^6$ POB/ml. Waktu pemanenan yang optimum adalah 5 hari setelah inokulasi, yaitu pada saat itu sebagian besar serangga yang terinfeksi telah mati dan belum hancur.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbott, WS. 1925. A method of computing the effectiveness of insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265-267.
- Adams, JR. & TJ. McClintock. 1991. Baculoviridae. nuclear polyhedrosis virus. Part I Nuclear polyhedrosis of insects. In Adam, JR. & JR. Bonami (Eds.) *Atlas of Invertebrate Viruses*. CRC Press: Boca Raton, Florida. 87-204.
- Adams, JR. & JR. Bonami. 1991. *Atlas of Invertebrate Viruses*. CRC Press: Boca Raton, Florida.
- Barret, JW., M. Primavera, A. Retnakaran, B. Arif, & SR. Palli. 2002. Aspects of nucleopolyhedrovirus pathogenesis in lepidopteran larvae In Koul, O. & GS. Dhaliwal. *Microbial Biopesticides*. Taylor & Francis. London and New York. 205- 238.
- Bianchi, FJJA., I. Snoeiijing, W. Van der Werf, RMW. Mans, PH. Smits, & JM. Vlak. 2000. Biological activity of *SeMNPV*, *AcMNPV*, and three *AcMNPV* deletion mutants against *Spodoptera exigua* larva (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Invertebr. Pathol.* 75: 28-35.
- Boctor, IZ. 1980. Free amino acids of the haemolymph of the cotton leaf-worm *Spodoptera littoralis* biosduval full-grown larvae, infected with nuclear polyhedrosis virus. *Experimentia*. 36: 638-639.
- Elvira, S., N. Gorria, D. Munoz, T. Williams, & P. Caballero. 2010. A simplified low-cost diet for rearing *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) and its effect on *S. exigua* nucleopolyhedrovirus production. *J. Econ. Entomol.* 103 (1): 17-24.
- Escribano, A., T. Williams, D. Goulson, RD. Cave, JW. Chapman, & P. Caballero. 1999. Selection of a nucleopolyhedrovirus for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae): structural, genetic, and biological comparison of four

- isolates from the Americas. *J. Econ. Entomol.* 92(5):1079-1085.
- Etebari, K., L. Matindoost, SZ. Mirhoseini, & MW. Turnbull. 2007. The effect of *BmNPV* infection on protein metabolism in silkworm (*Bombyx mori*) larva. *ISJ.* 4: 13-17.
- larvae (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Invert. Pathol.* 75(1): 28-35.
- Grzywacz, D., KA.Jones, G. Moawad, & A. Cherry. 1998. The in vivo production of *Spodoptera littoralis* nuclear polyhedrosis virus. *J. Virol. Meth.* 71(1): 115-122.
- Grzywacz, D., RJ. Rabindra, M. Brown, KA. Jones, & M. Parnell. 2000. The *Helicoverpa armigera* production manual. <http://www.fao.org/docs/eims/upload/agrotech/>.
- Gupta, RK., JC. Raina, & MD. Monobrullah. 2007. Optimization of *in vivo* production of nucleopolyhedrovirus in homologous host larvae of *Helicoverpa armigera*. *J. Entomol.* 4: 279-288.
- Hunter-Fujita, FR., RF. Entwistle, HF. Evans, & NE. Crook. 1998. *Insect Viruses and Pest Management*. John Wiley & Sons, Inc., 605 Third Avenue, New York, USA.
- Ignofu, CM. & M. Shapiro. 1978. Characteristics of baculovirus preparations processed from living and dead larvae. *J. Econ. Entomol.* 71: 186-188.
- Israwan, ID. 1998. Kajian dan Penggunaan SeNPV untuk Pengendalian *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) di Pertanaman Bawang Merah. [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Jokubowska, A., JM. Vlak, & J. Ziemnicka. 2005. Characterization of a nucleopolyhedrovirus isolated from the laboratory rearing of the beet armyworm *Spodoptera exigua* (Hbn.) in Poland. *J. Plant Protect. Res.* 45(4): 279-286.
- Kalmakoff, Ward. 2003. Baculoviruses. Univerdity of Otago, Dunedin, New Zealand. <http://www.microbiologybytes.com/virology>.
- Kalshoven, LGE. 1981. *The Pests of Crops in Indonesie* (Revised and Translated by van der Laan PA). PT Ichtiar Baru-Van Hoeve. Jakarta.
- Kitajima, EW. 1989. Classification, identification and characterization of insect viruses. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 84;3:9-15.
- Koul, O. & GS. Dhaliwal. 2002. *Microbial Biopesticides*. Taylor & Francis. London and New York.
- Kumar, CMS., N. Sathiah, & RJ. Rabindra. 2005. Optimizing the time of harvest of nucleopolyhedrovirus infected *Spodoptera litura* (Fabricius) larvae under in vivo production systems. *Current Sci.* 88(10): 1682-1684.
- Lasa, R., P. Caballero, & T. William. 2007a. Juvenile hormone analogs greatly increase the production of a nucleopolyhedrovirus. *Biol. Cont.* 41: 389-396.
- Lasa, R., C. Ruiz-Portero, MD. Alcazar, JE. Belda, P. Caballero, & T. William. 2007b. Efficacy of optical brightener formulations of *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus (SeMNPV) as a biological in greenhouse of Southern Spain. *Biol. Cont.* 40: 89-96.
- Lasa, R., I. Pagola, I. Ibanez, JE. Belida, T. William, & P. Caballero 2007c. Efficacy of *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus as a biological insecticide for beet armyworm control in greenhouse of Southern Spain. *Biocont. Sci. Tech.* 17(3): 221-232.
- Lasa, R., T. William, & P. Caballero. 2008. Insecticidal properties and microbial contaminants in *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus (Baculoviridae) formulation stored at different temperatures. *J. Econ. Entomol.* 101(1): 42-49.
- McIntosh, AH., JJ. Grasela, L. Lua, & SC. Braunagel. 2004. Demonstration of the effects of fluorescent proteins in baculoviruses

- exposed to ultraviolet light inactivation. *J. Insect Sci.* 4: 21-31.
- Mehrvar, A., R.J. Rabindra, K. Veenakumari, & GB. Narabench. 2008. Evaluation of adjuvants for increased of *Hean*NPV against *Helicoverpa armigera* (Hubner) using suntest machine. *J. Biol. Sci.* 1-8.
- Mishra, S. 1998. Baculoviruses as biopesticides. http://www.ias.ac.in/currsci/nov25_1998/articles18.htm.
- Moekasan, TK. & RS. Basuki. 2007. Status resistensi *Spodoptera exigua* Hubn. pada tanaman bawang merah asal Kabupaten Cirebon, Brebes, dan Tegal terhadap insektisida yang umum digunakan petani di daerah tersebut. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura. <http://hortikultura.litbang.deptan.go.id/>.
- Mondragon, G., S. Pineda, A. Martinez, & AM. Martinez. 2007. Optical brightener Tinopal C1101 as an ultraviolet protectant for a nucleopolyhedrovirus. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* 72(3): 543-547.
- O'Reilly, DR. & LK. Miller. 1989. A baculovirus bloks insect molting by producing ecdysteroid UDP-glucosyltransferase. *Sci.* 24(5): 1110-1112.
- Pionar, OG Jr. & GM. Thomas. 1984. *Laboratory Guide to Insect Pathogens and Parasites*. Plenum Press, New York.
- Rauf, A. 1999. Dinamika populasi *Spodoptera exigua* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) pada tanaman bawang merah di dataran rendah. *Bul. HPT.* 11(2): 39-47.
- Samsudin. 1999. Karakterisasi Virus Patogen dari Ulat Bawang *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) Isolat Indonesia. [Tesis]. Institut Pertanian Bogor.
- Sastrosiswojo, S. 1994. Development, implementation and adoption of integrated pest management for major vegetable pests in Indonesia. Lembang Horticultural Research Institute. Lembang-Bandung.
- Sethuraman, V. & K. Narayanan. 2010. Biology activity of nucleopolyhedrovirus isolated from *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Pyralidae) in India. *Asian J. Exp. Biol. Sci.* 1 (2): 325-330.
- Shapiro, M. & RA. Bell. 1981. Biological activity of *Lymantria dispar* nuclear polyhedrosis virus from living and virus killed larvae. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 74: 27-28.
- Shepard, EF., BM. Shepard, & A. Rauf. 1996. Virus of *Spodoptera exigua*. *Palawijal Vegetable IPM Newsletter* 1(1): 2-3.
- Tanada, Y. & HK. Kaya. 1993. *Insect Pathology*. Academic Press. San Diego. California.
- Takatsuka, J. & Y. Kunimi. 2002. Lethal effects of *Spodoptera exigua* nucleopolyhedrovirus isolated in Shiga Prefecture, Japan, on larvae of the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Appl. Entomol. Zool.* 37(1): 93-101.
- Takatsuka, J., S. Okuno, T. Ishii, M. Nakai, & Y. Kunimi. 2007. Productivity and quality of polyhedral occlusion bodies of nucleopolyhedrovirus harvested from *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Appl. Entomol. Zool.* 42(1): 21-26.
- Toprak, U., S. Bayram, & MO. Gurkan. 2005. Gross pathology of *Spli*NPVs and alterations in *Spodoptera littoralis* Bois. (Lepidoptera: Noctuidae) morphology due to baculoviral infection. *Tarim Bilimleri Dergisi* 11(1): 65-71.