

Vol. 17, No. 2, Desember 2010

ISSN 0852-0518

JURNAL PENELITIAN MATEMATIKA DAN SAINS



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SURABAYA

Jurnal Lit	Vol. 17	No. 2	Hal 63 - 142	Surabaya Desember 2010	ISSN 0852-0518
---------------	---------	-------	--------------	---------------------------	-------------------

EFEKTIVITAS *SPODOPTERA LITURA* MULTIPLE NUKLEOPOLYHEDROSIS VIRUS (SIMNPV) HASIL PERBANYAKAN PADA SEL LINE UNTUK MENGENDALIKAN LARVA *Spodoptera litura* SKALA GREEN HOUSE DENGAN BERBAGAI WAKTU APLIKASI

Mahanani Tri Asri dan Nur Ducha ✓

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Surabaya
Jl. Ketintang Surabaya (60231)

Abstract: The biological control is the best choice to control plant pest population. SIMNPV is the one kind of the biological control agent which effective to control the *Spodoptera litura* caterpillar. The caterpillar attacked to many kind of agrocultural crops like *Ricinus comunis*, soybean, cotton, and tobacco. The effectiveness SIMNPV reproduce result in cell line of to control the caterpillar in green house in various concentrations. This research conducted to know the effect of virus concentration ($7,1 \times 10^7$ PIBs/ml, $7,1 \times 10^8$ PIBs/ml, and $7,1 \times 10^9$ PIBs/ml) to control the caterpillar (*Spodoptera litura*) death in three application times (the morning: 06.00; day :12.00 and evening: 16.00). The results of the research showed that the virus concentration of $7,1 \times 10^8$ PIBs/ml PIBs/ml effective to control caterpillar population because the caterpillar death reached 80% (biological control standart) and the best time to applicate was evening.

Keywords: SIMNPV effectiveness, *Spodoptera litura*

Pendahuluan

Spodoptera litura sering disebut sebagai ulat grayak atau ulat tentara, merupakan sejenis serangga yang fase ulatnya banyak menyerang tanaman pertanian dan perkebunan seperti jarak, kapas, tembakau, kedelai, dan kacang-kacangan (Sudarmo, 1987; Sison dan Shanower, 1994). Kerugian yang disebabkan ulat ini mencapai 50%. Banyak pestisida/insektisida yang digunakan untuk memberantas hama ini, namun seperti yang telah kita ketahui penggunaan bahan kimia dapat mencemari lingkungan (bila penggunaannya tidak mengikuti aturan), harganya mahal, dan meninggalkan residu pada tanaman budidaya, bahkan serangga ini juga resisten terhadap jenis insektisida tertentu (Soebandrio, *et al.*, 1987).

Selama siklus hidupnya, ulat ini mengalami metamorfosis sempurna, dengan fase-fase telur, larva, kepompong, dan hewan dewasa. Telur biasanya diletakkan di daun, secara bergerombol/

berkelompok. Gerombolan telur ini biasanya diselimuti oleh benang-benang halus pendek yang dihasilkan oleh ujung abdomen serangga betina. Satu kelompok telur dapat berisi 350 butir. Setelah 3-5 hari telur akan menetas. Bila menjelang menetas warnanya coklat kehitaman.

Fase ulat terbagi atas beberapa instar, biasanya ada lima. Warna ulat pada umumnya hijau transparan dengan titik hitam pada bagian abdomennya dan apabila sudah besar warna menjadi hitam kecoklatan dan mempunyai kalung hitam di dekat kepalanya dengan sabuk transversal pada kedua sisi tubuhnya, fase ulat ini dapat berlangsung selama 25 hari.

Selanjutnya memasuki fase kepompong yang dapat berlangsung sampai 11 hari, berwarna coklat-kemerahan dan agak berkilauan, biasanya membenamkan diri pada tanah. Fase selanjutnya adalah fase ngengat sebagai bentuk dewasa. Seekor ngengat betina dapat bertelur sekitar 2000-3000 butir dengan masa peletakan telur 2-6 hari (Subiyakto, *et al.*, 1989).

Banyak cara telah ditempuh untuk mengendalikan ulat ini, seperti cara mekanis, kimia, hayati, kultur teknis/budidaya (Soebandrio, *et al.*, 1987). Dalam tulisan ini akan diuraikan cara pengendalian hayati ulat ini yaitu dengan menggunakan musuh alamiahnya, salah satunya adalah virus *Spodoptera litura Multiple Nucleo Polyhedrosis Virus (SIMNPV)* (Arifin, 1994). *SINPV* adalah salah satu anggota kelompok NPV yang dapat menginfeksi serangga, termasuk salah satu anggota famili *Baculoviridae*, genus *Baculovirus* (O'Reilly, *et al.*, 1992). *SINPV* menyerang inti sel serangga dan membentuk tubuh inklusi yang berbentuk *polyhedra inclusion bodies (PIB)*. Materi genetik virus ini adalah ADN berpilin ganda yang diselubungi oleh nukleokapsid yang tersusun atas protein. Virus ini masih punya selubung terluar yang tersusun atas lipoprotein (Payne & Kelly, 1981). Virus ini mempunyai nukleokapsid lebih dari satu (*multiple nucleocapsid envelope/NME*)

Menurut Falcon (1975) dalam Mangoendihardjo dan Pollet (1991) proses infeksi *SINPV* pada *Spodoptera litura* adalah sebagai berikut :

Partikel virus termakan inang (0 jam), melepaskan partikel-partikel pertamanya ke dalam sitoplasma (4-8 jam), mengalami modifikasi pertama dalam nukleus sel yang terinfeksi (16 jam), pembentukan viroplasma (24 jam), replikasi nukleokapsid (36 jam), replikasi polyhedra (48 jam), pembentukan PIB yang lengkap (72 jam).

Efektifitas penggunaan *SIMNPV* untuk memberantas ulat *Spodoptera litura* tergantung pada beberapa faktor seperti konsentrasi virus, pengaruh radiasi, material genetik yang dikandungnya, serta instar ulat yang diserang. *SIMNPV* yang digunakan dalam penelitian ini telah dikarakterisasi gen polyhedrinnya. Pemotongan material genetik *SIMNPV* dilakukan oleh Wahyuni (2002), dengan tujuan untuk mengetahui susunan nukleotida pada gen polyhedrin sehingga diketahui jenis asam amino penyusun polyhedrin. Hal ini diperlukan karena polyhedrin (senyawa yang ada di polyhedra) merupakan pengenalan virus terhadap sel inang disamping sebagai pelindung virus terhadap kondisi luar yang diinginkan. Hasil dari karakterisasinya antara lain gen polyhedrin mengandung 747 nukleotida yang mengkode 249 asam amino.

Perbanyakan agensia hayati tersebut secara konvensional dilakukan secara *in vivo* yaitu menggunakan inang hidup berupa ulat *S. litura*. Cara pembiakan virus seperti ini kurang efektif karena tergantung pada kelimpahan ulat di lapang, atau

tergantung pada musim yang biasanya banyak ditemukan pada musim penghujan. Selain itu untuk memperbanyak inang di laboratorium membutuhkan persyaratan yang cukup rumit dengan tingkat kegagalan mencapai 70%. Dengan demikian metode ini untuk skala besar seperti untuk perusahaan tidak efektif karena 'kontinuitas' inang dari virus tidak terpenuhi. Untuk itu sekarang telah dikembangkan metode baru yaitu dengan mengkultur sel insekta terutama *S. litura*, sebagai inang untuk virus. Kultur sel insekta mempunyai fungsi bisa digunakan untuk menghasilkan berbagai macam bioproduk seperti produksi bioinsektisida virus (*baculovirus*) dalam skala besar untuk pertanian.

Kultur sel insekta telah berhasil dilakukan pada sel epitel usus larva *S. litura* instar 3,4, dan 5, yaitu telah diperoleh sel primer yang ditumbuhkan pada medium Grace's dengan penambahan fetal bovine serum. Sel primer ini juga dapat digunakan untuk memperbanyak *SpLtMNPV*, selain itu sel ini pola pertumbuhannya juga sudah mulai stabil karena sel ini sudah dapat direkultur sebanyak 10 kali. Sel primer yang mampu direkultur berkali-kali dan memunculkan pola pertumbuhan yang mantap disebut sebagai sel line. Sel line yang terbentuk tersebut juga mampu diinfeksi dengan *SpLtMNPV*. Dengan demikian dalam penelitian ini bertujuan untuk menguji patogenesis *SpLtMNPV* hasil perbanyakan secara *in vitro* dalam kultur sel line terhadap larva *S. litura* instar 3 di laboratorium dengan hasil terbaik pada konsentrasi 10^7 PIBs/ml (Asri & Duchu, 2009). Selanjutnya untuk mengetahui efektifitas *SpLtMNPV* hasil perbanyakan pada sel line juga perlu diaplikasikan di *green house* untuk mengetahui dosis serta waktu aplikasi yang terbaik untuk mengendalikan populasi ulat grayak.

Metode

Alat dan Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi biakan murni virus *SpLtMNPV* yang diperbanyak pada sel line, ulat *Spodoptera litura* instar 3. Pakan alami ulat *Spodoptera litura* berupa tanaman kedelai usia 1,5 bulan, pakan buatan *Spodoptera litura* (dari Balitas Malang dengan komposisi terlampir), agen pensteril (alkohol, formalin), aquades steril, cairan madu untuk pakan kupu-tanaman kedelai usia 1,5 bulan dalam polybag yang diberi media tanah kebun dengan pupuk kompos perbandingan 1: 1.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi peralatan untuk pemeriksaan/penghitungan konsentrasi virus: tabung reaksi (Pyrex, 10x160 mm), mikroskop (cahaya, Nikon) gelas objek, pipet tetes, *haemocytometer*, botol kapsul/botol vial, toples plastik, kuas kecil, gunting dan label, pipet ukur, Erlenmeyer, bekkor glass, toples plastik untuk pemeliharaan imago dan kepompong, kotak kasa pelindung tanaman dan ulat agar ulatnya tidak lepas berukuran 30 x 50 cm, *green house*.

Prosedur

Ulat *Spodoptera litura* dibiakkan dalam botol kultur, pembiakkan dimulai dari ulat instar 4. Ulat dibiarkan sampai menjadi kepompong. Selama pemeliharaan diberi pakan buatan (tepung kacang hijau 42 gr, *wheat germ* 36 gr, *yeast* 42 gr, garam wesson 10 gr, metil para-hidroksi benzoat 1 gr, tepung agar 17 gr, akuades 840 ml, Vitamin mix 9,5 gr, streptomisin 0,2 gr, aureomisin 1 gr, sorbic acid 1 gr dan propionic-phosphoric acid 3 ml) setelah menjadi kepompong dipindah ke botol kultur yang bersih dan dibiarkan menjadi ngengat. Ngengat dikawinkan (jantan dan betina diletakkan dalam botol kultur yang sama dengan rasio jantan dan betina 1 :2). Selama pemeliharaan kupu-kupu diberi makan cairan madu 10-20% (dalam kapas yang digantung). Telur yang dihasilkan kupu-kupu betina dikumpulkan menjadi satu dan diletakkan pada botol kultur yang didalamnya berisi daun Jarak muda (dengan tujuan jika menetas

menjadi ulat, langsung ada makanan). Ulat yang menetas dari telur pada usia sekitar 1 minggu (instar 3) inilah yang akan dipergunakan untuk penelitian. Hal ini dimaksudkan untuk mendapatkan ulat yang relatif homogen dalam hal usia dan genetis.

Setelah ulat mencapai instar 3 (\pm satu minggu, dengan panjang \pm 1 cm) ulat-ulat tersebut diinfeksi dengan biakan virus SpLtMNPV dengan 3 macam konsentrasi ($7,1 \times 10^7$ PIBs/ml, $7,1 \times 10^8$ PIBs/ml, 2×10^9 PIBs/ml, serta kontrol/tanpa pemberian virus) Penginfeksian dilakukan pada pagi hari (pukul 06.00), siang hari (pukul 12.00) dan sore hari (pukul 16.00) (Asri, *et al.*, 2002), selanjutnya diamati jumlah ulat yang mati setiap hari sampai ulatnya mati semua atau membentuk prepupa. Setelah itu diamati hubungan antara konsentrasi virus SIMNPV yang digunakan dengan masa inkubasi ulat *Spodoptera litura* yang prosentase kematiannya 80% (standart pengendalian hayati).

Hasil dan Pembahasan

Hasil Penelitian

Pada penelitian ini digunakan 3 macam konsentrasi virus SpLtMNPV yang diperbanyak dengan menggunakan sel line menginfeksi ulat *Spodoptera litura* instar 3, yaitu $7,1 \times 10^7$ PIBs/ml, $7,1 \times 10^8$ PIBs/ml, dan $7,1 \times 10^9$ PIBs/ml. Mortalitas harian ulat diamati pada sore hari. Setelah semua ulat mati maka prosentase kematian ulat akibat infeksi virus SpLtMNPV pada berbagai konsentrasi yang diinfeksi pada berbagai waktu aplikasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah ulat *S. litura* yang mati terinfeksi SpLtMNPV pada berbagai waktu aplikasi di *green house* pada hari ke-3

Perlakuan/ Dosis SpLtMNPV	Waktu aplikasi	Ulangan			Total	Rata- rata	Prosen- tase (%)	Rata-rata (%) tiap perlakuan
		1	2	3				
$7,1 \times 10^7$ PIBs/ml	Pagi (08.00)	5	4	2	11	3,7	74	84,7
	Siang (12.00)	4	4	4	12	4	80	
	Sore (16.00)	5	5	5	15	5	100	
$7,1 \times 10^8$ PIBs/ml	Pagi (08.00)	4	4	4	12	4	80	86,7
	Siang (12.00)	4	5	3	12	4	80	
	Sore (16.00)	5	5	5	15	5	100	
$7,1 \times 10^{10}$ PIBs/ml	Pagi (08.00)	4	5	5	14	4,7	94	98
	Siang (12.00)	5	5	5	15	5	100	
	Sore (16.00)	5	5	5	15	5	100	

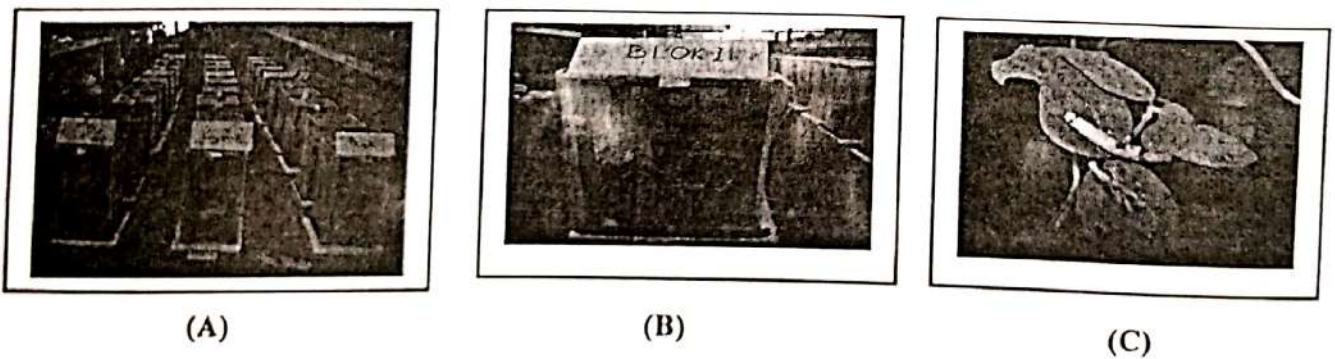
Dari Tabel 1 terlihat bahwa mortalitas larva *S. litura* di tiga dosis yang diterapkan yaitu $7,1 \times 10^7$ PIBs/ml, $7,1 \times 10^8$ PIBs/ml dan $7,1 \times 10^9$ PIBs/ml, sudah menunjukkan dosis efektif karena sudah bisa mematikan hama sasaran lebih dari 80%, kecuali pada dosis $7,1 \times 10^7$ PIBs/ml mortalitas yang diperoleh baru 74%. Sementara itu waktu aplikasi yang baik dari tiga perlakuan yaitu pagi, siang, dan sore diperoleh data semuanya menunjukkan hasil yang bagus karena dapat mematikan hama sasaran lebih dari 80% kecuali pada perlakuan pagi hari di dosis $7,1 \times 10^7$ PIBs/ml, mortalitasnya hanya 74%.

Pembahasan

Dari Tabel 1 terlihat bahwa dosis efektif SpLTMNPV (LD80) diperoleh pada dosis $7,1 \times 10^7$ PIBs/ml dan waktu aplikasi yang bisa diterapkan dengan menghasilkan mortalitas lebih dari 80% dapat dilakukan di siang maupun sore hari. Apabila dilihat dari dosis yang digunakan merupakan kelanjutan dari dosis terbaik yang diperoleh pada waktu uji skala laboratorium yaitu $7,1 \times 10^7$ PIBs/ml yang kemudian ditingkatkan sampai $7,1 \times 10^{10}$ PIBs/ml hal ini disebabkan karena di *green house* kondisi lingkungannya relatif sulit dikendalikan dibandingkan di laboratorium. Berdasarkan hasil penelitian ternyata dosis yang efektif untuk mendapatkan LD 80 masih sama

dengan di laboratorium yaitu $7,1 \times 10^7$ PIBs/ml. Hal ini disebabkan karena kondisi lingkungan di *green house* masih berada pada kondisi yang baik untuk perkembangan virus yaitu kelembaban antara 21,7-72,5%. Sementara itu suhunya berkisar antara 30-36°C. Selain itu apabila dibedakan antara SpLTMNPV *in vivo* dengan *in vitro* ternyata pada skala *green house* menunjukkan dosis yang tidak berbeda yaitu pada SpLTMNPV *in vivo* pada dosis 2×10^7 PIBs/ml dan yang secara *in vitro* pada dosis $7,1 \times 10^7$ PIBs/ml.

Waktu aplikasi yang baik digunakan untuk penyemprotan bioinsektida virus ini hampir bisa dilakukan pada pagi, siang, maupun sore karena mortalitas yang dihasilkan pada ketiga waktu penyemprotan yang berbeda tersebut menunjukkan mortalitas yang lebih dari 80% kecuali pada perlakuan $7,1 \times 10^7$ PIBs/ml yang disemprot pagi hari hanya diperoleh mortalitas sebesar 74%. Hal ini disebabkan karena kondisi *green house* Jurusan Biologi Unesa terlindung oleh pohon yang besar sehingga dengan pengacakan pada setiap blok penelitian intensitas cahaya matahari tidak terlalu berbeda (**Blok I** pagi :505-877 Lux; siang : 765-986 Lux dan Sore : 545-1234 Lux. **Blok II** pagi :585-779 Lux; siang : 683-986 Lux dan Sore : 523-823 Lux. **Blok III** pagi :452-599 Lux; siang : 820-1660 Lux dan Sore : 479-740 Lux).



Gambar 1. Uji patogenesis SpLTMNPV skala *green house*

- Tata letak penelitian skala *green house* untuk mencari dosis efektif dan waktu aplikasi
- Satu unit Penelitian yang tiap kotaknya berisi 5 ekor ulat *S. litura*
- Ulat *S. litura* yang mati teinfeksi SpLTMNPV tubuhnya terlihat pucat dan apabila disentuh mudah hancur

Simpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa dosis *SIMNPV* yang efektif terdapat pada konsentrasi $7,1 \times 10^8$ PIBs/ml karena pada konsentrasi ini mortalitas ulat *Spodoptera litura* telah tercapai 80 % (standar pengendalian hayati). Sementara itu waktu aplikasi yang baik di *green house* adalah siang maupun sore hari

Ucapan Terimakasih

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada DIPA UNESA yang telah mendanai penelitian ini melalui pendanaan penelitian strategis nasional.

Daftar Pustaka

- Arifin, M. (1994). *Pemanfaatan SINPV sebagai Agensia Pengendalian Hayati Ulat Grayak pada Kedelai*. Ballitan. Bogor.
- Asri, M.T, Isnawati, Hidayat, M.T. (2002). *Konsentrasi Virus HaNPV Isolat Yogyakarta yang Efektif untuk Mengendalikan Ulat Helicoverpa armigera* Jurnal UNY. Yogyakarta
- Mangoendihardjo, S. & Pollet, A. (1991). *Insect Viruses and the Possible. Application of NPV for Control of Armyworm Spodoptera litura*. *Risalah Lokakarya Pengendalian Hama Terpadu Tanaman Kedelai*. Departement Pertanian. Balai Penelitian Tanaman Pangan. Malang.
- O. Reilly, D.R., Lois, K.M., Vienc, A.L. (1992). *Bacilovirus Expressions Vektor. A laboratory Manual*. New York: W.H. Freeman and Company.
- Payne, C.C. & Kelly, D.C. (1981). Identification of Insect and with Viruses. In *Microbial Control of Pest and Plant Disease*. Burges, H.D. (Ed). London: Academic Press.
- Sison, M.L. & Shanower, T.G. (1994). Development and Survival of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on Short Duration. Pigeon Pea. *J. Entomol. Soc. of America*. 87 (6) 1749-1753.
- Soebandrio, Gothama, A.A.A., Soebiyakto, Syaibi, A. (1987). *Pengendalian Serangga Hama Kapas*. Ballitas. Malang.
- Sudarmo. (1987). *Tembakau, Pengendalian Hama dan Penyakit*. Yogyakarta: Kanisius.
- Subiyakto, Diwang H.P., Indrayani, I.G.A.A. (1989). *Sebaran Telur Heliothis armigera (Hubner) dalam bagian Tanaman Kapas*. Malang: Departemen Pertanian.
- Wahyuni, E. (2002). *Molecular Analysis of Spodoptera litura. Multiple Nucleopolyhedrosis virus (SplMNPV) from Different Region in Indonesia*. Gadjah Mada University.