

## PATOGENESITAS *HELICOVERPA ARMIGERA* POLYHEDROSIS VIRUS SUB KULTUR (HANPV1) TERHADAP *SPODOPTERA LITURA* FABRICIUS

### PATHOGENICITY OF *HELICOVERPA ARMIGERA* POLYHEDROSIS SUB CULTURE VIRUS (HANPV1) ON *SPODOPTERA LITURA* FABRICIUS

<sup>1</sup>Melanie, <sup>2</sup>Mia Miranti Rustama, <sup>3</sup>Hikmat Kasmara, <sup>4</sup>Sonia Asih Sejati, <sup>5</sup>Nurullia Fitriani, <sup>6</sup>Madiah

<sup>1,2,3,4,5,6</sup> Program Studi Biologi Universitas Padjadjaran

Email : <sup>1</sup>melie\_entobio@yahoo.com

**Abstract.** *Helicoverpa armigera* Nuclear Polyhedrosis Virus (HaNPV) is an entomopathogenic virus that could potentially control the population of *S. litura*, known to have a wide host range including *S. litura* as an alternative host. HaNPV which were subcultured in the host of *S. litura* called HaNPV1. Important pathogenicity is important to be investigated as a material consideration in the development of HaNPV1 to control *S.litura*. HaNPV1 in form of powder formulation and water carrier materials infected as a test to instar 3 larvae of *S S.litura*, which aims to view its pathogenicity observed through mortality, time of death, consumption of food, and cellular immune response. The method used was experimental with complete randomized design (CRD/RAL), consisted of two levels ie HaNPV formulations in the water carrier material and the powder form as a comparison and analyzed by Anava ( $P < 0.05$ ). Observations of mortality showed that HaNPV1 in both form of powder and water carrier material caused 100% mortality of *S.litura*, with a mortality rate of larvae - pupa is 90% higher than the mortality of *S.litura* infected by HaNPV1 powder form of 60%. The time of death of *S.litura* infected by HaNPV1 in the water carrier of 6.35 days shorter than the ones infected by HaNPV1 in powder form of 8.75 days. As for the food consumption of larvae infected by HaNPV1 in the water carrier was 0.383 g /larvae/ day higher than the ones infected by HaNPV1 in powder form of 0.356 g/ larvae/ day. HaNPV1 infection was known to successfully weaken the immune response of *S.Litura*, characterized by a decrease in the number of hemocytes in third instar larvae of *S. litura* within 24 hours of post-infection.

**Keywords:** *HaNPV Sub-culture (HaNPV1), Spodoptera litura, pathogenicity, Mortality, immune response*

**Abstrak.** *Helicoverpa armigera* Nuclear Polyhedrosis Virus (HaNPV) merupakan virus entomopatogen yang berpotensi mengendalikan populasi *S. litura*, diketahui memiliki kisaran inang yang luas diantaranya terhadap *S. litura* sebagai inang pengganti. HaNPV yang disubkultur dalam inang *S. litura* disebut HaNPV1. atogenesitas penting diteliti sebagai bahan pertimbangan pengembangan HaNPV1 dalam pengendalian *S.litura*. HaNPV1 yang diinfeksi terhadap larva instar 3 *S.litura*, dalam formulasi berbentuk serbuk dan bahan pembawa air diujikan terhadap larva instar 3 yang bertujuan untuk melihat patogenesitasnya yang teramati melalui mortalitas, waktu kematian, konsumsi makan dan respon imun seluler. Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 2 taraf yaitu formulasi HaNPV dalam dalam bahan pembawa air dan dalam bentuk serbuk sebagai pembandingan, dianalisis dengan Anava ( $P < 0,05$ ). Pengamatan mortalitas memperlihatkan bahwa HaNPV1 berbentuk serbuk dan dalam bahan pembawa air sama-sama menyebabkan 100 % mortalitas *S.litura*, dengan tingkat mortalitas larva - pupa sebesar 90% lebih tinggi

*dari mortalitas S.litura yang diinfeksi HaNPV1 berbentuk serbuk sebesar 60%. Waktu kematian S.litura yang diinfeksi HaNPV1 dalam pembawa air 6,35 hari lebih pendek dari waktu kematian infeksi HaNPV1 dalam bentuk serbuk selama 8,75 hari. Adapun konsumsi makan larva yang terinfeksi HaNPV1 dalam pembawa air sebesar 0,383 gr/ekor/hari lebih tinggi dari infeksi HaNPV1 dalam bentuk serbuk sebesar 0,356 gr/ekor/hari. Infeksi HaNPV1 diketahui berhasil melemahkan respon imunitas S.litura, ditandai dengan penurunan jumlah hemosit pada larva S. litura instar 3 dalam waktu 24 jam pasca infeksi.*

**Kata kunci :** *HaNPVSubkultur (HaNPV1) , Spodoptera litura, Patogenitas, Mortalitas, Respon imunitas*

## 1. Pendahuluan

Tantangan bagi pengembangan komoditas sayuran di Indonesia diantaranya permasalahan kesinambungan produksi dan tuntutan konsumen akan konsistensi kualitas dan keamanan pangan (Narrod et al, 2009). Penggunaan pupuk dan pestisida yang tidak mengacu pada standar pemakaian yang aman memungkinkan dijumpainya residu pada produk sayuran, hal ini memperlemah daya saing produk sayuran Indonesia untuk menembus pasar ekspor. Adapun keberadaan organisme pengganggu tanaman (OPT) senantiasa dihadapi oleh petani di lapangan. Larva *Spodoptera litura* atau ulat grayak merupakan salah satu hama penting pada tanaman sayur-sayuran. Hama *S. litura* bersifat polifag dan mempunyai kisaran inang yang cukup luas sehingga keberadaannya sulit dikendalikan. Sejauh ini penggunaan pestisida sintetis tetap menjadi pilihan utama para petani karena dinilai lebih efektif dan efisien. Disisi lain dampak penggunaan pestisida sintetis menimbulkan permasalahan lain seperti resistensi dan resurgensi hama. Insektisida sintetis juga memiliki beberapa kerugian diantaranya, mencemari lingkungan karena meninggalkan residu pada produk sayuran, mengakibatkan resistensi serta resurgensi pada serangga hama sasaran (Andriani, 2006). Berbagai masalah yang timbul akibat penggunaan pestisida dan insektisida kimia mulai diarahkan pada pengendalian hama yang lebih ramah lingkungan melalui manajemen Pengendalian Hama Terpadu (PHT), diantaranya aplikasi pengendalian hayati menggunakan musuh alami hama maupun agensia hayati patogen hama (Kardinan, 2011). Agensia hayati yang digunakan untuk mengendalikan populasi hama, dapat berupa predator alami, parasitoid dan patogen serangga (entomopatogen). Selama ini agensia hayati entomopatogen yang dikembangkan dalam pengendalian biologis diantaranya bakteri, virus, protozoa, jamur dan rickettsia (Pedigo,1999).

*Helicoverpa armigera* Nuclear Polyhedrosis Virus (HaNPV) merupakan salah satu virus yang berpotensi sebagai agensia pengendali serangga hama (Indrayani dkk., 1993). HaNPV hasil isolasi dari larva *H.armigera*, diketahui memiliki kisaran inang yang relatif luas, diantaranya beberapa serangga hama lainnya seperti *Spodoptera litura*, *Spodoptera exigua*, *Crociodomia pavonana*, dan *Plutella xylostella* yang merupakan serangga dari ordo Lepidoptera (Miranti, 2008; Sugiarto, 2010). Adanya kemampuan tersebut, menyebabkan HaNPV mulai diproduksi untuk penggunaan dalam skala yang lebih luas, dapat dihasilkan dalam waktu yang singkat dan biaya produksi yang rendah. Produksi virus yang paling mudah dilakukan adalah produksi secara *in vivo*, yaitu menggunakan inang utama sebagai media perbanyakan virus (Passarelli dan Miller, 1994). Produksi HaNPV secara *in vivo* ternyata dapat dilakukan pada inang pengganti yaitu larva *Spodoptera litura* dengan hasil produksi virus mencapai  $1,55 \times 10^{11}$  polihedra ml<sup>-1</sup>, lebih banyak daripada bila virus ini diproduksi pada larva *H. armigera*

sebagai inang utama. Selanjutnya HaNPV subkultur hasil produksi ini disebut HaNPV1, diketahui mempunyai beberapa kelebihan, diantaranya mempercepat waktu kematian larva *H. armigera* yang merupakan inang utama menjadi 20% lebih cepat (Miranti dan Wardono, 2009). HaNPV1 juga mampu berpengaruh mortalitas antara 60-100% terhadap beberapa spesies serangga hama yaitu *Crocidolomia pavonana* (Hadi, 2010), *S. litura* (Purba,dkk., 2011), *Plutella xylostella* (Sugiarto,dkk., 2010) dan *Spodoptera exigua* yang didedahkan pada tanaman utama (host plant). Melalui penelitiannya Miranti dkk (2009) mengujikan formulasi virus HaNPV1 dalam bahan pembawa tepung talk dan tepung maizena masing-masing menyebabkan mortalitas 100% pada larva *S.litura*. Bahan pembawa menjadi hal yang penting bagi formulasi virus yang mempertahankan viabilitas virus. Formulasi virus berpotensi dikembangkan menjadi produk yang lebih ekonomis menggunakan bahan pembawa non organik yang dapat diproduksi skala besar dengan efektifitas yang tinggi.

Serangga memiliki mekanisme pertahanan eksternal maupun internal apabila terinfeksi oleh mikroorganisme patogen. Imunitas serangga terhadap infeksi patogen merupakan tantangan tersendiri dalam realitas aplikasi agensia hayati di lapangan. Melalui mekanisme imunitasnya proses kematian serangga hama akan membutuhkan waktu lebih lama dibandingkan insektisida sintetis, hal ini membuat petani lebih memilih insektisida sintetis yang dianggap lebih efektif. Dalam proses survive dari infeksi patogen melalui respon pertahanan alaminya serangga hama justru meningkatkan aktivitas konsumsi makan yang berdampak meningkatkan kerusakan produksi tanaman (Schrank dan Vainstein, 2010). Resistensi pada serangga hama diawali oleh keberhasilan imunitas serangga terhadap cekaman lingkungan yang membuatnya mampu bertahan dan beradaptasi. Sistem imun pada serangga akan melibatkan peran hemosit, yang berperan penting dalam rangkaian respon seluler dan humoral serangga terhadap infeksi patogen yang menyerangnya. Dengan demikian, informasi dasar mengenai patogenesitas agensia hayati dan respon imunitas serangga hama terhadap patogen sangat diperlukan. Patogenesitas tinggi disebabkan oleh virulensi patogen yang melemahkan sistem imun dan kerentanan tinggi dari inang, sebaliknya patogenesitas dapat ditekan apabila sistem imun unggul dan kerentanan inang relatif rendah (Tanada dan Kaaya, 1993). Hal ini digunakan sebagai acuan dalam pertimbangan maupun penilaian terhadap entomopatogen yang akan dikembangkan sebagai agensia hayati pengendali serangga hama saat diaplikasi di lapangan. Berhasilnya upaya pengendalian hayati akan berdampak terhadap dihasilkannya komoditas sayuran dengan konsistensi kualitas dan keamanan pangan maupun lingkungan.

## 2. Metode Penelitian

Larva *S. litura* yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Laboratorium pemeliharaan hewan uji, Prodi Hama dan Penyakit Tumbuhan Faperta Unpad. Sebelum digunakan, larva serangga ini dikarantina selama 24 jam untuk memastikan serangga uji yang digunakan adalah larva serangga yang sehat. Larva *S. litura* instar tiga diberi pakan pipilan jagung manis yang dicampur formulasi virus, sebelumnya larva *S. litura* instar tiga ini tidak diberi makan selama 6-8 jam. Sediaan *HaNPV*<sub>1</sub> diperoleh dari kadaver *S.litura* yang telah mati terinfeksi *HaNPV*.



(A)

(B)

**Gambar 1.** (A) Larva instar 1, 2, 3, 4, 5 *S. litura*, (B) Sediaan *HaNPV*<sub>1</sub> dalam bentuk serbuk (hasil gerusan kadaver *S.litura* terinfeksi *HaNPV*)

### Prosedur

Prosedur penelitian yang dilakukan meliputi Produksi Sediaan *HaNPV*<sub>1</sub>, yang meliputi Isolasi sediaan *HaNPV*<sub>1</sub> yang pembuatannya dengan cara berikut, kadaver larva *S.litura* yang telah mati terinfeksi *HaNPV* digerus menggunakan mortar sampai halus. Selanjutnya homogenat diencerkan dengan 10 ml larutan tris buffer 1 mM, pH 7,6 dan 10 ml SDS 0,1%. Kemudian suspensi ini dibiarkan selama 24 jam dalam lemari pendingin 4°C. Suspensi selanjutnya disaring dengan menggunakan satu lapis kain katun sehingga kotoran tersaring. Suspensi hasil saringan kemudian diencerkan dengan 10 ml larutan tris buffer 1 mM, pH 7,6 dan SDS 0,1% dan disentrifugasi pada 3500 rpm selama 15 menit. Hasil dari proses sentrifugasi tersebut yaitu dihasilkan pelet. Pelet yang dihasilkan kemudian dicuci dua kali dengan 10 ml campuran tris buffer 1 mM, pH 7,6 dan SDS 0,1% (1:1). Selanjutnya, pelet yang dihasilkan dari proses pencucian diresuspensikan dalam NaCl fisiologis 0,85% yang mengandung Na-Azida dengan konsentrasi 0,02%. Selanjutnya Formulasi *HaNPV*<sub>1</sub> dibuat dalam bentuk serbuk, dan dalam bahan pembawa air.

Uji patogenitas *HaNPV*<sub>1</sub> terhadap Larva *S. litura* dilakukan melalui parameter tingkat mortalitas, waktu kematian larva *Slitura*, dan konsumsi makan larva. Uji respon pertahanan parameter yang diukur adalah penghitungan jumlah hemosit menggunakan *haemocytometer* “Improved Neubauer” dan komposisi dari tipe hemosit yang ditemukan dengan pembuatan apusan hemolimf menggunakan larutan Wright’s.

### Analisis Data

Persentase mortalitas larva uji akibat infeksi *HaNPV* dihitung dengan rumus (Miranti, 2001):

$$M = \frac{\sum n}{\sum N} \times 100 \% \quad \text{M adalah mortalitas (\%), n adalah jumlah larva yang mati (ekor), dan N adalah jumlah larva yang diuji}$$

Rata-rata waktu kematian larva uji dihitung dengan persamaan sebagai berikut :

$$W = \frac{\sum W_i \times N_{in}}{n}$$

**W** adalah rata-rata waktu kematian, **W<sub>i</sub>** adalah waktu kematian hewan uji pada hari ke-i infeksi, **N** adalah jumlah hewan mati pada hari ke-i infeksi dan **n** adalah banyaknya hewan uji yang mati

Konsumsi makan diukur berdasarkan berat pakan yang dikonsumsi. Persentase berat dihitung sebagai berikut:

$$K = BA - BS$$

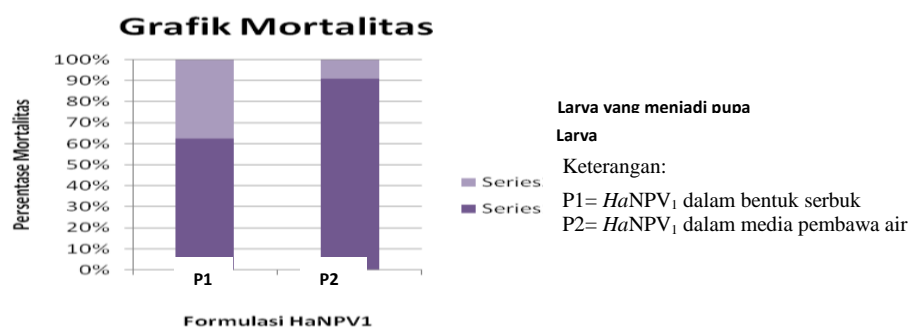
**K** adalah konsumsi makanan (g/ekor/hari), **BA** adalah berat pakan awal (g), dan **BS** adalah berat pakan sisa

Parameter percobaan yang diukur adalah tingkat kematian dan konsumsi makan larva *S. litura* setelah diinfeksi *HaNPV*<sub>1</sub>. Hasil penelitian kemudian dianalisis dengan Analisis Varians (ANOVA), dan bila berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf 5%.

### 3. Hasil dan Pembahasan

#### Pengaruh Infeksi Formulasi *HaNPV*<sub>1</sub> terhadap Mortalitas dan Konsumsi Makan dan Perubahan Jumlah Hemosit Larva *S. litura* Fab.)

Mortalitas merupakan salah satu parameter yang digunakan dalam menentukan patogenesitas agensia hayati yang dipaparkan terhadap serangga sasaran. Nilai mortalitas akan menentukan kekuatan membunuh (*killing power*) dari agensia tersebut. Data mortalitas dicatat untuk larva yang mati, serta larva yang menjadi pupa dan mati. Hasil penelitian menunjukkan formulasi *HaNPV*<sub>1</sub> dalam bentuk serbuk dan media pembawa air masing-masing menyebabkan mortalitas sebesar 100%, nilai tersebut merupakan mortalitas *S. litura* dalam bentuk larva dan pupa (Gambar 2). Seluruh populasi serangga uji mengalami kematian setelah 22 hari pengamatan.

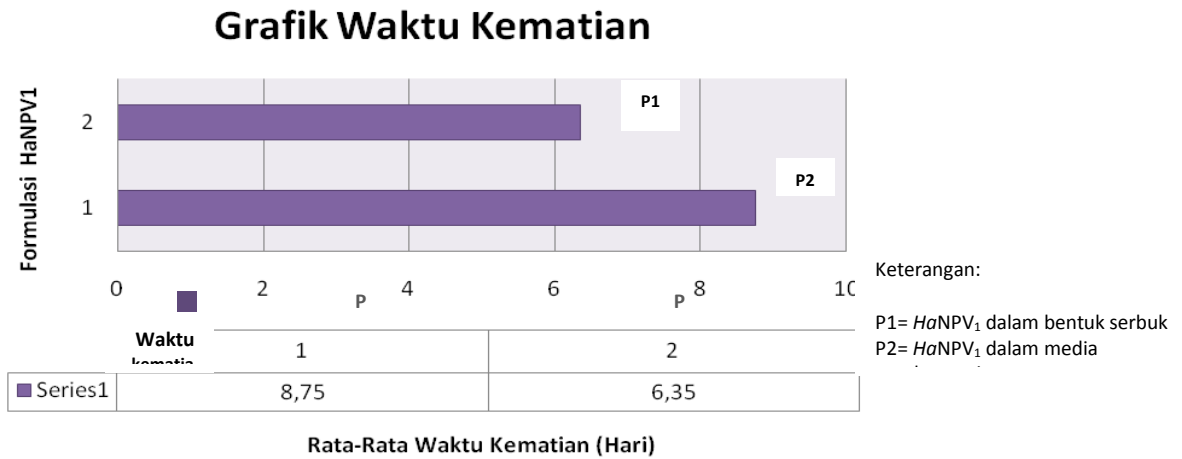


**Gambar 2.** Grafik Mortalitas *Spodoptera litura* yang terinfeksi *HaNPV*<sub>1</sub> dalam bentuk serbuk dan dalam media pembawa air

Gambar 2. menunjukkan bahwa mortalitas larva tertinggi dihasilkan dari penggunaan formulasi *HaNPV*<sub>1</sub> dalam media pembawa air dengan nilai persentase mortalitas 90%. Adapun mortalitas larva terendah dihasilkan dari formulasi *HaNPV*<sub>1</sub> dalam bentuk serbuk dengan nilai 60%. Larva yang lolos hidup dan menjadi pupa tetap mengalami kematian, mortalitas pupa tertinggi dihasilkan dari penggunaan formulasi

*HaNPV*<sub>1</sub> dalam bentuk serbuk senilai 40%, formulasi *HaNPV*<sub>1</sub> dalam bahan pembawa air sebesar 10%.

Waktu kematian merupakan waktu yang ditunjukkan saat serangga uji yang diinfeksi *HaNPV*<sub>1</sub> mengalami kematian. Rata-rata waktu kematian merupakan waktu tercepat yang ditunjukkan oleh serangga uji dari setiap formulasi *HaNPV*<sub>1</sub>. Data hasil pengamatan terhadap kematian *S. litura* dianalisis secara statistik dan menunjukkan hasil yang tidak signifikan ( $P < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa formulasi *HaNPV*<sub>1</sub> dalam bentuk serbuk dan dalam bahan pembawa air memiliki efek yang sama terhadap waktu kematian larva serangga uji

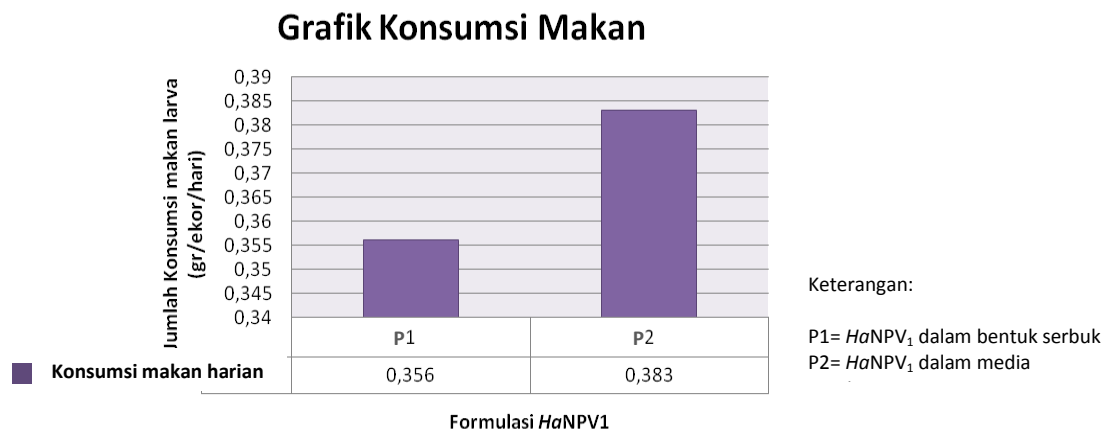


**Gambar 3.** Grafik rata- rata waktu kematian *S. litura* yang diinfeksi *HaNPV*<sub>1</sub> dalam bentuk serbuk dan dalam media pembawa air

Gambar 3 menunjukkan bahwa waktu kematian tercepat dihasilkan dari penggunaan formulasi *HaNPV* dengan bahan pembawa air dengan waktu 6,35 hari dan waktu kematian paling lama dihasilkan dari formulasi *HaNPV* dalam bentuk serbuk yaitu sebesar 8,75 hari.

Pengamatan mengenai konsumsi makan digunakan sebagai parameter untuk mengetahui pengaruh infeksi *HaNPV*<sub>1</sub> terhadap larva *S. litura*. Hal ini karena infeksi *HaNPV*<sub>1</sub> pada larva sasaran memerlukan waktu yang panjang antara 1 – 14 hari. Selama proses infeksi berlangsung larva akan tetap melakukan aktivitas makan. Berdasarkan hal tersebut, maka pengamatan terhadap konsumsi makan perlu dilakukan karena dapat memberikan gambaran patogenisitas mengenai potensi virus dalam mengendalikan populasi *S. litura*.

Hasil analisis statistik terhadap konsumsi makan *S. litura* menunjukkan nilai yang tidak signifikan ( $P < 0,05$ ), yang berarti dari seluruh perlakuan akan memberikan pengaruh yang sama, baik itu *HaNPV*<sub>1</sub> yang diformulasikan dalam bentuk serbuk maupun dalam bahan pembawa air.



**Gambar 4.** Grafik rata-rata konsumsi makan harian Larva *S. litura* yang diinfeksi *HaNPV1* dalam bentuk serbuk dan dalam media pembawa air

Gambar 4. menunjukkan rata-rata konsumsi makan harian dari larva *S. litura* dengan konsumsi makan terbanyak dihasilkan dari formulasi *HaNPV1* dalam air sebesar 0,383gr /ekor/hari, lalu formulasi *HaNPV1* dalam bentuk serbuk sebesar 0,356 gr /ekor/hari, hal ini menunjukkan konsumsi makan meningkat dua kali lipat lebih banyak di dibandingkan dengan larva yang sehat, yaitu sebanyak 0,170 gr/ekor/ hari (Arivoli and Samuel, 2012).

Patogenisasi virus dapat terlihat melalui respon imunitas selular yang ditandai dengan perubahan jumlah dan komposisi hemosit. Berdasarkan hasil uji diketahui dengan infeksi *HaNPV1* pada rentang waktu 3,12 dan 24 jam terjadi peningkatan jumlah hemosit hingga pada jam ke-12, dengan jumlah hemosit tertinggi dengan jumlah  $55.467 \pm 3.029$  sel/mm<sup>3</sup> (Tabel.1). Melalui hasil anava diketahui, *S. litura* yang diberi perlakuan *HaNPV1*  $10^7$  PIB/ml dengan waktu infeksi 3 dan 24 jam menunjukkan perbedaan yang nyata dengan *S. litura* kontrol ( $10^0$  PIB/ml) pada ketiga interval waktu ( $P < 0.05$ ). Pada perlakuan infeksi *HaNPV1*  $10^7$  PIB/ml waktu infeksi 3 dan 24 jam jumlah hemosit menjadi lebih rendah dibandingkan dengan kontrol ( $10^0$  PIB/ml), sedangkan perlakuan *HaNPV1*  $10^7$  PIB/ml waktu infeksi 12 jam tidak menunjukkan perbedaan yang nyata dengan kontrol ( $10^0$  PIB/ml) waktu infeksi 3 dan 24 jam. Pada *S. litura* yang diberi perlakuan *HaNPV1*  $10^8$  PIB/ml waktu infeksi 3 dan 12 jam tidak berbeda nyata dengan kontrol ( $10^0$  PIB/ml) waktu infeksi 3 dan 24 jam tetapi berbeda nyata dengan *S. litura* kontrol ( $10^0$  PIB/ml) dengan waktu infeksi 12 jam. *S. litura* yang diberi perlakuan *HaNPV1*  $10^8$  PIB/ml dengan waktu infeksi 24 jam tidak menunjukkan perbedaan yang nyata dengan kontrol ( $10^0$  PIB/ml) pada ketiga interval waktu, rata-rata jumlah hemosit turun jika dibandingkan kontrol hingga memiliki nilai hemosit terendah dengan jumlah  $12.533 \pm 1.222$  sel/mm<sup>3</sup>, terutama titik penurunan maksimal di waktu infeksi 24 jam.

**Tabel 1.** Pengaruh interaksi konsentrasi *HaNPV*<sub>1</sub> dengan waktu infeksi terhadap jumlah hemosit larva *S. litura*

Waktu Infeksi (W)	Rata-Rata Jumlah Hemosit (sel/mm <sup>3</sup> )			
	Konsentrasi <i>HaNPV</i> <sub>1</sub> PIB/ml			
	0	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>8</sup>
3	25.067 ± 462 <sup>c</sup>	51.733 ± 4.027 <sup>f</sup>	16.267 ± 924 <sup>ab</sup>	<b>19.467 ± 1.848<sup>b</sup></b>
12	31.733 ± 4.688 <sup>d</sup>	55.467 ± 3.029 <sup>f</sup>	27.200 ± 1.600 <sup>c</sup>	<b>24.267 ± 1.848<sup>c</sup></b>
24	<b>24.533 ± 1.222<sup>c</sup></b>	<b>40.000 ± 5.246<sup>e</sup></b>	<b>13.867 ± 1.848<sup>a</sup></b>	<b>12.533 ± 1.222<sup>a</sup></b>

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf kecil yang sama kearah kolom maupun baris adalah tidak berbeda nyata menurut uji Jarak Berganda Duncan ( $p \leq 0,05$ )

#### 4. Pembahasan

*HaNPV* ini merupakan virus patogen serangga yang menyerang membran peritrofik pada daerah usus tengah. Membran peritrofik merupakan struktur yang sangat vital dalam proses pencernaan. Apabila struktur membran peritrofik ini rusak, maka proses pencernaan akan terganggu dan berpengaruh terhadap fisiologi larva serta dapat menyebabkan kematian. Kematian *S. litura* disebabkan oleh infeksi virus melalui oral, polihedra akan masuk ke dalam saluran pencernaan bersama pakan yang dikonsumsi. Proses awal infeksi terjadi pada saluran pencernaan bagian tengah (*midgut*) yang memiliki pH antara 9,5 - 11,5. Polihedra yang membungkus virion akan larut dalam kondisi basa pada saluran pencernaan sehingga partikel-partikel virus dapat keluar. Partikel virus kemudian akan melewati membran peritrofik dari saluran pencernaan larva, selanjutnya virion akan terus masuk ke dalam sel-sel lain dalam tubuh serangga (Flipsen, 1995). Ketika partikel virus menginfeksi sel-sel tubuh, nukleokapsid virus dan materi genetik (DNA) virus dilepaskan. DNA virus masuk ke dalam nukleus sel tubuh dan mengambil alih sistem replikasi DNA dari sel inang. Hal tersebut mengakibatkan kerusakan pada sel-sel kolumnar sehingga sekresi enzim-enzim pencernaan serta penyerapan nutrisi tidak berjalan baik. Kerusakan saluran pencernaan dapat dilihat dari feces larva *S. litura* yang mencair akibat infeksi dari *HaNPV*.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa mortalitas dalam bentuk larva lebih tinggi dibandingkan mortalitas dalam bentuk pupa. Hal ini diduga karena pada umumnya *HaNPV* masuk melalui oral bersama dengan pakan, dan menginfeksi saluran pencernaan pada tubuh larva. Virus ini merupakan patogen yang menyerang membran peritrofik pada daerah usus tengah. Membran peritrofik merupakan struktur yang sangat vital dalam proses pencernaan. Apabila struktur membran peritrofik ini rusak, maka proses pencernaan akan terganggu dan berpengaruh terhadap fisiologi larva serta dapat menyebabkan kematian. Kedua formulasi *HaNPV*<sub>1</sub> pada penelitian menunjukkan nilai mortalitas sebesar 100%. Hal ini membuktikan bahwa *HaNPV*<sub>1</sub> baik yang diformulasikan dalam bentuk serbuk maupun dalam bahan pembawa air, memiliki tingkat efektifitas yang sama terhadap larva serangga uji. Formulasi *HaNPV*<sub>1</sub> bentuk serbuk maupun dalam bahan pembawa air memiliki virulensi dengan efektifitas yang sebanding.



Waktu kematian tercepat dihasilkan dari infeksi formulasi *HaNPV*<sub>1</sub> dengan bahan pembawa air dibandingkan formulasi *HaNPV*<sub>1</sub> dalam bentuk serbuk. Hal ini diduga karena air dalam formulasi *HaNPV*<sub>1</sub> menjaga stabilitas virulensi dari virus, sehingga virus tetap memiliki efektivitas yang tinggi. Formulasi ini menyebabkan mortalitas lebih cepat dibanding perlakuan yang lain karena *HaNPV*<sub>1</sub> dalam air merupakan isolat murni tanpa bahan pembawa, sehingga cairan virus yang tertelan oleh larva hanya mengandung polihedra yang mempercepat kematian ulat. Bila dibandingkan dengan formulasi *HaNPV*<sub>1</sub> dalam bahan pembawa air, formulasi *HaNPV*<sub>1</sub> dalam bentuk serbuk cenderung mengalami kerusakan akibat proses pengeringan tanpa suatu perlindungan, sehingga efektifitasnya dapat menurun dan dapat menyebabkan waktu kematian yang lebih lama. Disisi lain formulasi *HaNPV*<sub>1</sub> dalam bahan pembawa tepung berada pada rentang 6,45 – 8,6 hari diduga akibat proses pencernaan yang terjadi pada tubuh larva merupakan faktor yang yang mengakibatkan variasi waktu kematian larva. Lamanya waktu kematian dapat disebabkan oleh faktor penempatan deposit *HaNPV*<sub>1</sub> pada pakan, sehingga memungkinkan larva menelan virus yang banyak di suatu titik atau bahkan sebaliknya. Semakin banyak virus yang tertelan maka semakin cepat juga waktu kematiannya. Bila virus yang tertelan berjumlah sedikit, *HaNPV*<sub>1</sub> dapat memperbanyak diri di dalam tubuh larva hingga mencapai jumlah yang efektif untuk membunuh larva tersebut. Kebugaran tubuh pun menjadi faktor penentu waktu kematian pada serangga uji. Larva yang memiliki kebugaran yang tinggi akan bertahan melawan serangan virus, dengan mengkonsumsi pakan yang banyak maka asupan energinya dapat digunakan untuk bertahan hidup. Selain itu, titer hormon juga berperan dalam waktu kematian serangga uji. Penghambatan hormon ecdison oleh hormon EGT menyebabkan gangguan pada proses molting yang membuat umur larva yang terinfeksi *HaNPV*<sub>1</sub> lebih lama bila dibandingkan dengan umur larva normal.

Pada penelitian mengenai *HaNPV* subkultur dalam skala laboratorium maupun lapangan sebelumnya, diketahui bahan pembawa yang digunakannya adalah air. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa virus dalam bahan pembawa air efektif menginfeksi larva serangga hama. Pada umumnya *HaNPV* diformulasikan dalam bahan pembawa air, namun produk hayati yang berbentuk cair kurang efektif dalam pengemasan dan cenderung mengalami kontaminasi akibat patogen lain saat penyimpanan. Selain itu, pada aplikasi di lapangan *HaNPV* dalam bahan pembawa air lebih cepat menguap saat terpapar sinar matahari dan tercuci oleh air hujan. Kontaminasi dan paparan sinar ultra violet dapat mengakibatkan *HaNPV* mudah rusak, sehingga efektifitasnya berkurang. Penggunaan *HaNPV* dalam bentuk serbuk akan mempermudah dalam pengemasan dan penyimpanan. Namun perlu dikembangkan pula formulasi dalam bahan pembawa tepung (*wettable powder*) yang kemungkinan besar dapat berfungsi sebagai pengawet dan pelindung sediaan virus merupakan upaya dalam mengurangi kontaminasi saat penyimpanan, serta menjaga kestabilan efektivitas virus saat di lapangan.

Peningkatan konsumsi makan merupakan suatu mekanisme pertahanan tubuh yang dilakukan larva untuk melindungi diri dari infeksi virus. Menurut Fuxa (1994) dalam Miranti dan Wardono (2009), larva yang terinfeksi virus masih tetap menunjukkan aktivitas makan karena energi yang dihasilkan dari aktivitas makan tersebut diperlukan untuk bertahan hidup. Larva dapat mempertahankan diri dengan meningkatkan penggantian sel-sel epitel yang telah terinfeksi, menghambat infeksi tingkat seluler dengan mengurangi konsentrasi virus yang ada di lumen dengan cara

meningkatkan volume lumen dan volume isi usus serta meningkatkan ketebalan membran peritrofik (Sanjaya, 2004). Peningkatan konsumsi makan diduga berkaitan dengan dinamika titer hormon pada tubuh larva serangga. Dalam pertumbuhan dan perkembangan serangga dipengaruhi oleh sistem hormon, salah satunya adalah hormon juvenil. Hormon ini berperan dalam mengatur tahap pertumbuhan larva menuju imago, hormon tersebut juga mempertahankan stadia hidup larva. Saat larva dalam tahap instar tua, titer hormon ini akan menurun secara drastis yang menyebabkan aktivitas makan larva terhenti dan titer hormon ini kemudian digantikan oleh hormon ecdison yang mendukung berlangsungnya proses molting (Simanjuntak, 2007). Pada larva yang terinfeksi *HaNPV* titer juvenil dalam tubuh akan meningkat, serta terjadi penghambatan hormon ecdison oleh hormon Ecdysteroid UDP. Glycosyl Transferase (EGT) yang terbentuk akibat aktivitas virus (O'reilly dan Miller, 1989 dalam Miranti, 2001). Hal inilah yang akan mengganggu proses molting larva yang mengakibatkan larva tidak berhenti makan, sehingga larva akan memiliki kesempatan makan lebih banyak yang berdampak pada meningkatnya konsumsi makan pada larva. Banyaknya konsumsi makan bergantung pada waktu hidup larva. Semakin lama waktu hidup larva, kesempatan larva untuk makan akan semakin banyak, namun banyaknya makanan yang dikonsumsi dibagi dengan lamanya waktu hidup yang panjang akan menyebabkan konsumsi makan yang semakin rendah (Cory *et al.*, dalam Miranti, 2001).

Patogenisasi virus dapat terlihat melalui respon imunitas seluler yang ditandai dengan perubahan jumlah dan komposisi hemosit. Berdasarkan hasil uji diketahui dengan infeksi *HaNPV*<sub>1</sub> terjadi peningkatan jumlah hemosit hingga pada jam ke-12, hal tersebut dikarenakan adanya invasi dan infeksi *HaNPV*<sub>1</sub> pada *S. litura* yang memicu peningkatan aktivitas hemosit. Jumlah hemosit akan meningkat secara nyata apabila terjadi suatu infeksi karena suatu respons dari sistem kekebalan tubuh pada *S. litura* (Van de Braak, 2002). Infeksi *HaNPV*<sub>1</sub> yang terjadi 12 hingga 24 jam menunjukkan jumlah hemosit menurun menjadi lebih rendah saat jam ke-24. Penurunan jumlah sel hemosit dapat menjadi indikator bahwa sistem imunitas *S. litura* menjadi lemah. Infeksi organisme patogen dapat mengurangi jumlah hemosit karena saat terjadi respons seluler hemosit dikerahkan untuk mengeliminir organisme penginfeksi melalui nodulasi enkapsulasi dan pengaktifan seri pertahanan humoral melalui aktivasi prophenoloksidase (Kwang, *et al* 2000 ; Jiang, *et al* 2003). Jumlah total rata-rata hemosit semakin menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi *HaNPV*<sub>1</sub> dan meningkatnya waktu infeksi. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi virus yang diberikan maka respons patogenitasnya semakin cepat, semakin banyak polyhedra yang tertelan, semakin besar peluang terjadinya infeksi. Semakin lama waktu infeksi semakin tinggi intensitas patogenitasnya sehingga banyak hemosit yang lisis. (Arifin dkk, 2011).

## 5. Kesimpulan

Hasil uji patogenitas *HaNPV*<sub>1</sub> terhadap *S. litura* instar 3 diketahui formulasi *HaNPV*<sub>1</sub> serbuk dan dalam media pembawa air sama-sama menyebabkan 100 % mortalitas *S. litura*, dengan tingkat mortalitas larva - pupa sebesar 90% lebih tinggi dari mortalitas *S. litura* yang diinfeksi *HaNPV*<sub>1</sub> berbentuk serbuk sebesar 60%. Waktu kematian *S. litura* yang diinfeksi *HaNPV*<sub>1</sub> dalam pembawa air 6,35 hari lebih pendek dari waktu kematian infeksi *HaNPV*<sub>1</sub> dalam bentuk serbuk selama 8,75 hari. Adapun konsumsi makan larva yang terinfeksi *HaNPV*<sub>1</sub> dalam pembawa air sebesar 0,383 gr/ekor/hari lebih tinggi dari infeksi *HaNPV*<sub>1</sub> dalam bentuk serbuk sebesar 0,356 gr/ekor/hari. Infeksi *HaNPV*<sub>1</sub> diketahui berhasil melemahkan respon imunitas *S. litura*,

ditandai dengan perubahan jumlah hemosit, jumlahnya naik hingga jam ke-12 dan terjadi penurunan jumlah hemosit pada larva *S. litura* instar 3 dalam waktu 24 jam pasca infeksi.

### Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didanai melalui Hibah Penelitian Kompetensi Riset Dosen Tahun Anggaran 2016, melalui Direktorat Penelitian dan Pengabdian Pada Masyarakat Universitas Padjadjaran. Kami ucapkan terimakasih atas dukungannya hingga tuntasnya penelitian ini.

### Daftar Pustaka

- Andriyani, R. 2006, Usaha Pengendalian Pencemaran Lingkungan Akibat Penggunaan Pestisida Pertanian (*Control Of Environmental Pollution Caused By Pesticide In Agricultural Process*), *Jurnal Kesehatan Lingkungan*, 3( 1): 95-106
- Arifin, 2011. Teknik Produksi dan Pemanfaatan Bioinsektisida NPV untuk Pengendalian Ulat Grayak Kedelai. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan. Bogor
- Flipsen, H. 1995. Pathogenesis Induced by (Recombinant) Baculoviruses In Insect. Wageningen. Dutch
- Hadi, R. P. 2010. Efektivitas *Helicoverpa armigera* Nuclear Polyhedrosis Virus (HaNPV) terhadap Mortalitas Populasi Larva *Crocidolomia pavonana* Fabricius yang Didedahkan pada Tanaman Kubis (*Brassica oleracea* var. capitata L)
- Indrayani, I.G.A.A., Subiyakto, dan G. Kartono. 1993. Teknik Perbanyakan *Helicoverpa armigera* Nuclear Polyhedrosis Virus (HaNPV). Prosiding Simposium Patologi Serangga. 12-13 Oktober 1993. UGM-Yogyakarta. 163-170.
- Jiang, H., Wang, Y., and Yu, X. (2003), Prophenoloxidase activating proteinase-2 from hemolymph of *Maduca sexta*, *J. Biochem.*, 278, 3552–3561
- Kardinan, A. 2011. Penggunaan Pestisida Nabati sebagai Kearifan Lokal Dalam Pengendalian Hama Tanaman Menuju Sistem Pertanian Organik. *Jurnal Pengembangan Inovasi Pertanian*, 4(4): 262-278
- Kwang, M.L., Kum, Y.L., Hye, W.C., Tae, H., Kawataba, S., and Bok, L.L. (2000), Activated phenoloxidase from *Tenebrio molitor* larvae enhance the synthesis of melanin by using vitellogenin-like protein in the presence of dopamine, *Eur. J. Biochem.*, 267, 3695–3703
- Miranti, M. dan Wardono N. 2009. Pengaruh Konsentrasi Infeksi *Helicoverpa armigera* Nuclear Polyhedrosis Virus pada Tingkat Kematian, Waktu Kematian, dan Produktivitas Produksi Polyhedra dalam Larva Spodoptera litura F. Sebagai Inang Pengganti. 20(1). *Jurnal Agrikultura* 2009.
- Miranti, M. 2008. Produksi *Helicoverpa armigera* Nuclear Polyhedrosis Virus (HaNPV) Secara *In Vivo* pada Inang Pengganti. Disertasi.
- Miranti, M. 2001. Pengaruh Dosis *Helicoverpa armigera* Nuclear Polyhidrosis Virus (HaNPV) dan Stadia Larva Terhadap Sifat Fisiologis dan Mortalitas Larva *Helicoverpa armigera* (Hubner). Tesis.
- Narrod, C.; Roy, D.; Okello, J.; Avendano, B; Rich, K.; Thorat, A. (2009): Public-private partnerships and collective action in high value fruit dan vegetable supply chains, *Food Policy* 34(2009), p.8-15

- Passarelli, L, dan L.K. Miller. 1994. *In Vivo* dan *In Vitro* Analysis of Recombinant Baculoviruses Lacking a Functional eg 20 gene. *Journal of Virology*. 6S. No.2. 1186-1190. 56
- Pedigo, L. P. 1999. *Entomology dan pest management*, 3rd ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, 691 pp
- Purba, R.G. 2011. Pengaruh berbagai Jenis Insektisida terhadap Intensitas Serangan Ulat Grayak (*Spodoptera litura* F. dan Hasil Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabaccum* L.) Kultivar Nani.
- Sanjaya, Y. 2004. Peranan *Helicoverpa armigera* NPV (*HaNPV*) sebagai agen penyeleksi populasi *Helicoverpa armigera* Hubner (Lepidoptera : Noctuidae). *Jurnal Hayati* II. 4. 125-129
- Schrank, A., H.M. Vainstein, 2010. Review *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. *Journal Toxicon*. 56. 1267-1274
- Simanjuntak, Br. E. C. 2007. Kepekaan Larva *Spodoptera litura* Fabricius terhadap Infeksi *Helicoverpa armigera* Nuclear Polyhedrosis Virus (*HaNPV*).
- Sugiarto, D. B. 2010. Efektifitas *Helicoverpa armigera* Nuclear Polyhidrosis Virus (*HaNPV*) Hasil Subkultur pada *Spodoptera litura* Fabricus Terhadap Mortalitas Ulat Kubis (*Plutella xylostella* Linnaeus).
- Tanada, Y., and Kaya, H. K. (1993), *Insect Pathology*. Academic Press, Inc. California, 319 – 533.
- Van de Braak, K. 2002. *Haemocytic Defence in Black Tiger Shrimp (Penaeus monodon)*. PhD Thesis. Wageningen University. Wageningen.