

DOSIS SUBLETAL *S/NPV* DAN PENGARUHNYA TERHADAP TRANSMISI VERTIKAL PADA LARVA *Spodoptera litura* F.

IG.A.A. INDRAYANI¹, T. HADIASTONO², dan G. MUDJIONO²

¹ Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat

² Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya

RINGKASAN

Ketergantungan pada insektisida kimia dalam pengendalian serangga hama kapas merupakan salah satu alasan pemanfaatan patogen serangga, khususnya *S/NPV* untuk mengendalikan larva *S. litura*. Meskipun secara teknis agen pengendalian ini cukup potensial mengendalikan hama sasaran, tetapi pemanfaatannya secara luas masih menghadapi banyak kendala, salah satunya adalah terbatasnya produk komersial yang menyebabkan aplikasi kurang optimal. Fenomena transmisi vertikal *S/NPV* pada generasi hama berikutnya cukup berpotensi mengendalikan inangnya secara langsung. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Hama Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat Malang, mulai April hingga Agustus 2002. Tujuannya adalah untuk memperoleh informasi mengenai pengaruh dosis subletal *S/NPV* pada perkembangan larva *S. litura* dan potensinya dalam mentransmisikan infeksi *S/NPV* pada generasi berikutnya (F1). Penelitian disusun secara faktorial dengan rancangan acak kelompok (RAK) yang terdiri atas dua faktor. Faktor pertama adalah instar larva *S. litura* terdiri atas dua taraf, yaitu: (1) instar ketiga, dan (2) instar kelima. Faktor kedua adalah dosis subletal *S/NPV* terdiri atas tiga taraf, yaitu 5000; 50 000; dan 500 000 PIB/larva. Sebagai pembandingan perlakuan digunakan kontrol (tanpa perlakuan *S/NPV*), dan setiap perlakuan diulang empat kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengaruh dosis subletal *S/NPV* pada larva *S. litura* instar ketiga dan kelima, selain menyebabkan mortalitas larva, juga mengurangi bobot pupa dan jumlah telur. Larva instar ketiga lebih peka terhadap infeksi *S/NPV* yang menyebabkan pupanya memiliki bobot terendah, yaitu 211.5 mg pada taraf dosis 50 000 PIB/larva. Rendahnya bobot pupa berkorelasi positif dengan menurunnya jumlah telur imago, yaitu hanya mencapai 30% (502 butir) dari jumlah telur pada kontrol. Peningkatan taraf dosis subletal meningkatkan persentase telur terkontaminasi polihedra, yaitu tertinggi 24% pada taraf dosis 500 000 PIB/larva, dan juga menurunkan daya tetas telur. Sterilisasi berpotensi menghambat transmisi vertikal *S/NPV* pada generasi berikutnya (F1), sehingga menurunkan persentase mortalitas larva neonate F1. Tanpa sterilisasi pada telur, mortalitas larva neonate F1 mencapai $\pm 20\%$, tetapi dengan sterilisasi menyebabkan mortalitas larva rendah yaitu $\pm 5\%$.

Kata kunci : Dosis subletal, entomopatogen *S/NPV*, transmisi vertikal, *S. litura*, instar, mortalitas, pupa, neonate, epizootik, kapas

ABSTRACT

Sublethal dose of S/NPV and its effects on vertical transmission on larvae of Spodoptera litura

One reason of the use of entomopathogen is to reduce chemical insecticides application on cotton pest insect control. *S/NPV* is one of the effective entomopathogen to control *S. litura* larvae. Technically, this biological agent is effective to control the insect pest, however it is not used widely because of its limited commercial product. Solving this problem is needed such as searching for another information about killing potential of *S/NPV* to the next generation of the insect pest, especially to anticipate the less frequency of its application. Therefore, infection through vertical transmission is one of the solutions. The research was conducted at the Laboratory of Entomology of Indonesian Tobacco and Fibre Crops Research Institute (ITOFCRI), Malang, from April to August 2003. The aim of the study was to get information about sublethal doses of *S/NPV* and its effect to *S. litura* larvae development and vertical transmission potency to the next larval generation (F1) of the insect pest. This study was arranged in factorial by using Randomized Block Design

with 2 factors: (1) instar of larvae (third and fifth instar), (2) sublethal doses of *S/NPV* (5 000; 50 000; and 500 000 PIB/larvae) and one control (untreated) as a comparison to treatments. The result showed that the effect of sublethal doses of *S/NPV* on the third and fifth instars of *S. litura* larvae was not only caused mortality, but also less pupal weight and egg numbers. The third instar of larvae was more susceptible to *S/NPV* infection which caused lowest weight of pupae ca. 211.5 mg at 50 000 PIB/larva level of dose. There was positive correlation between less pupal weight and decreased of egg numbers which only 30% (502 eggs) of that in control. Increasing sublethal dose of *S/NPV* would increase polyhedra-contaminated eggs by 24% at 500 000 PIB/larvae and decrease the egg hatch. Egg surface sterilization would obstruct vertical transmission of *S/NPV* to their new generation of larvae (F1), so it decreases the percentage of neonate larval mortality from 20% to 5% when untreated and treated surface egg sterilization, respectively.

Key words : Sublethal dose, entomopathogenic *S/NPV*, vertical transmission, *S. litura*, instar, mortality, pupae, neonate, epizootic, cotton

PENDAHULUAN

Spodoptera litura F. merupakan salah satu serangga hama pemakan daun yang memiliki kisaran tanaman inang cukup luas, seperti tanaman sayuran, palawija, dan beberapa tanaman perkebunan, misalnya tembakau dan kapas. Pada tanaman tembakau cerutu yang mengutamakan keutuhan daun, kerusakan sekecil apapun akibat serangan *S. litura* berpotensi menurunkan kualitas daun. Pada kedelai, salah satu penyebab kegagalan panen adalah karena serangan berat ulat grayak ini. Meskipun bukan sebagai hama utama tanaman kapas, tetapi serangan berat yang terjadi sewaktu-waktu juga dapat mengakibatkan menurunnya produktivitas kapas. Pengendalian hama ini dengan insektisida kimia secara intensif dan dalam kurun waktu cukup lama telah menimbulkan berbagai masalah, terutama meningkatnya ketahanan (resistensi) larva *S. litura* terhadap beberapa insektisida kimia (SRI-HADIYANI *et al.*, 1999) dan juga menyebabkan pencemaran lingkungan. Diperlukan upaya untuk mencari alternatif lain pengendalian serangga yang efektif dan ramah lingkungan. Salah satunya adalah pengendalian secara hayati dengan patogen serangga, khususnya nuclear polyhedrosis virus (NPV).

Eksplorasi strain patogen serangga yang potensial dalam pengendalian hama telah dilakukan pada tahun 1988 (INDRAYANI *et al.*, 1989) dan berhasil mengisolasi NPV pada larva *S. litura* (*S/NPV*). Uji efektivitas di laboratorium menunjukkan bahwa *S/NPV* mampu membunuh 80-100% larva *S. litura* instar pertama hingga instar ketiga (KOMOLPITH dan RAMAKHRISNAN, 1978; INDRAYANI *et al.*,

BAHAN DAN METODE

1991). NPV juga efektif menginfeksi larva instar keempat hingga keenam meskipun tidak sampai mati, tetapi terjadi gangguan pertumbuhan dan perkembangan pada larva hidup.

Salah satu kelemahan NPV di lapangan adalah mudah rusak atau dinaktifkan oleh radiasi ultraviolet (UV) sinar matahari (SHAPIRO dan ROBERTSON, 1992) yang mengakibatkan efektivitasnya menurun. Menurut MCLEOD *et al.* (1977), bahwa sinar UV dapat merusak sebagian atau seluruh unit-unit infeksi NPV sehingga larva yang terinfeksi tidak mati (infeksi subletal). Akibatnya, persentase kelulusan hidup (*survival*) larva meningkat dan tetap hidup hingga imago (MYERS dan KUKAN, 1995).

Potensi transmisi *S/NPV* secara vertikal pada generasi larva berikutnya cukup tinggi mengingat infeksi subletal pada stadia larva berpengaruh terhadap proses reproduksi dan fekunditas imago (ROTHMAN dan MYERS, 1994). Larva yang terinfeksi NPV subletal akan membawa sumber infeksi di dalam tubuhnya meskipun konsentrasinya rendah, tetapi cenderung persisten (KUKAN dan MYERS, 1997). Berkaitan dengan infeksi subletal, GOULSON dan GORY (1995) menyatakan bahwa hubungan antara dinamika populasi inang dan epizootik NPV dipengaruhi oleh infeksi subletal NPV. Lebih jauh KUKAN dan MYERS (1999) menyatakan bahwa epizootik NPV di alam berperan penting menjaga keseimbangan inang-patogen serangga.

Perkembangan penelitian transmisi vertikal NPV di luar negeri (Amerika Serikat dan Australia) cukup pesat, terutama terhadap spesies serangga hama Lepidoptera lainnya, seperti *Lymantria dispar*, *Trichoplusiani*, *S. exigua*, dan sebagainya. Penelitian transmisi vertikal terhadap *S. litura* jarang dilakukan karena hama ini bukan merupakan hama penting di kedua negara tersebut. Di Indonesia, hasil-hasil penelitian seperti ini juga masih jarang ditemukan, sehingga dalam upaya mendukung pengembangan pengendalian hayati dengan patogen serangga, penelitian dasar ini perlu dilakukan. Mengingat *S. litura* memiliki cara hidup berkelompok, terutama mulai stadia telur hingga larva instar kedua, maka apabila terjadi kontak antara telur terinfeksi *S/NPV* dan telur sehat menyebabkan semakin banyak larva neonate yang akan terbunuh akibat infeksi *S/NPV*. Kematian pada larva neonate akan menghambat terjadinya ledakan populasi larva yang efektif menyebabkan kerusakan tanaman di lapangan.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh informasi mengenai pengaruh dosis subletal *S/NPV* pada larva *S. litura* dan potensinya dalam mentransmisikan NPV secara vertikal pada generasi berikutnya.

Penelitian dilakukan di laboratorium Hama Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat Malang mulai bulan April hingga Agustus 2002. Beberapa bahan yang digunakan antara lain: isolat *S/NPV*, larva *S. litura*, pakan buatan *S. litura*, vial plastik pemeliharaan larva, dan daun jarak (*Ricinus communis*) muda, larutan madu, kain kasa, slide microscope dan cover glass, serta kapas steril. Sedang alat-alatnya meliputi: penghitung polihedra *S/NPV* (*hemocytometer*), mikroskop untuk pengamatan mikroskopis, blender untuk menyiapkan pakan buatan, dan vortex gene untuk menghomogenkan larutan isolat.

Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak kelompok (RAK) yang disusun secara faktorial terdiri atas dua faktor. Faktor pertama adalah instar larva *S. litura* terdiri atas: (1) instar ketiga, dan (2) instar kelima. Faktor kedua adalah dosis subletal *S/NPV* yaitu dosis lebih rendah dari LC_{50} (LC_{25} - LC_{40}) terdiri atas: (1) 5 000 PIB/larva; (2) 50 000 PIB/larva; dan (3) 500 000 PIB/larva. Setiap perlakuan diulang empat kali. Terdapat satu kontrol (tanpa perlakuan) sebagai pembandingan perlakuan.

Larva uji *S. litura* instar ketiga dan kelima diperoleh dari larva induk yang dikumpulkan dari tanaman jarak di lapangan. Larva induk dipelihara di Insektarium pada suhu ruang (29-30°C) dan kelembaban (RH) 60-70% dengan diberi pakan buatan. Pencegahan kontaminasi patogen yang terbawa dari lapangan dilakukan dengan sterilisasi telur dan larva yang dikumpulkan dari lapangan. Sterilisasi dilakukan dengan cara merendam telur selama 3-5 menit dan larva selama 1-1.5 menit ke dalam 0.2% larutan sodium hipoklorit. Larva untuk induk dipelihara sampai menjadi imago dan bertelur, kemudian larva generasi F1 dipersiapkan sebagai larva uji.

Isolat *S/NPV* yang digunakan merupakan hasil isolasi dari larva *S. litura* pada tanaman kapas. Perbanyakan isolat dilakukan dengan larva inang *S. litura* melalui beberapa tahap yaitu inokulasi, pemurnian, dan standarisasi untuk menghitung konsentrasi polihedral inclusion bodies (PIB) per ml.

Perlakuan diaplikasikan dengan metode kontaminasi permukaan pakan (HUNTER-FUJITA *et al.*, 1997). Daun jarak muda dan segar digunakan sebagai media perlakuan. Daun dipotong-potong persegi $\pm 1 \text{ cm}^2$, kemudian diletakkan di dalam vial plastik yang telah dialasi kertas saring lembab untuk menjaga kesegaran daun. Setiap vial diisi satu lembar daun, kemudian di atasnya diteteskan 10 μl suspensi masing-masing perlakuan dan dibiarkan kering angin.

Masing-masing satu larva uji diinfestasikan pada daun yang telah diperlakukan, dan larva dibiarkan memakan sampai habis daun yang terkontaminasi ($\pm 1-2$ jam). Daun yang telah habis dimakan kemudian diganti dengan sepotong pakan buatan (± 1 cm²). Selanjutnya, larva diinkubasikan selama 10-14 hari sampai stadia imago. Imago jantan dikawinkan dengan imago betina dari perlakuan yang sama dengan perbandingan jantan : betina adalah 1:1.

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah: mortalitas larva (induk), bobot pupa, dan jumlah telur yaitu untuk mengetahui pengaruh dosis subletal S/NPV terhadap perkembangan larva dan reproduksi imago. Sedang untuk mendeterminasi transmisi vertikal S/NPV pada generasi berikutnya (F1), dilakukan pengamatan telur untuk mengetahui ada tidaknya kontaminasi polihedra, daya tetas telur, dan mortalitas larva F1 yang pada saat stadia telur diperlakukan dengan sterilisasi dan tanpa sterilisasi telur. Sterilisasi telur dilakukan dengan cara merendam ± 100 butir telur dari pasangan imago perlakuan ke dalam 0.2% larutan sodium hipoklorit selama 5 menit, kemudian diinkubasikan dalam suhu ruang selama 3-4 hari (masa telur). Sebanyak 25 larva neonate (larva kecil) yang baru menetas digunakan sebagai sampel dan diamati mortalitasnya setiap hari selama 7 hari. Sebagai pembandingan digunakan 25 larva neonate dari 100 butir telur lainnya yang tidak disterilisasi, dan mortalitas 25 larva neonate diamati pula selama 7 hari.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Mortalitas Larva

Interaksi instar larva dan dosis subletal S/NPV menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata terhadap persentase mortalitas larva *S. litura* (Tabel 1). Pengaruh peningkatan taraf dosis subletal S/NPV menyebabkan peningkatan rata-rata persentase mortalitas larva instar ketiga maupun instar kelima. Namun demikian, rata-rata

peningkatan persentase mortalitas larva instar ketiga lebih tinggi dan berbeda nyata dengan rata-rata peningkatan persentase mortalitas larva instar kelima. Pada taraf dosis subletal S/NPV yang sama, rata-rata persentase mortalitas larva instar ketiga lebih tinggi dan berbeda nyata dengan rata-rata persentase mortalitas larva instar kelima. Mortalitas larva instar ketiga pada taraf dosis subletal 500 000 PIB/larva mencapai 40.33%, lebih tinggi dan berbeda nyata dengan mortalitas larva instar kelima yang hanya mencapai 16.25%. Hal ini menunjukkan bahwa kepekaan larva *S. litura* instar ketiga terhadap infeksi S/NPV lebih tinggi dibanding kepekaan larva instar kelima, sekalipun diberikan dosis subletal.

Tingkat kepekaan larva terhadap infeksi S/NPV dipengaruhi beberapa faktor, salah satunya adalah pH (STILES dan PASCHKE, 1980). Kisaran pH usus tengah larva berpengaruh terhadap infeksi S/NPV secara *in vivo*. Pada larva instar akhir (instar keempat hingga keenam), pH usus tengah mengalami peningkatan sejalan dengan bertambahnya umur larva. Usus tengah larva yang memiliki pH lebih tinggi dari 11.5 atau pH yang melebihi pH optimal S/NPV untuk replikasi yaitu pH 9.5-11.5 umumnya kurang efektif menguraikan polihedra untuk melepaskan virion. Bahkan pada pH tersebut polihedra menjadi inaktif sehingga kurang efektif menginfeksi inang. Hal inilah yang sering terjadi pada sebagian besar larva instar akhir, yang menyebabkan kepekaannya terhadap infeksi S/NPV menurun.

Faktor lain yang juga berpengaruh pada kepekaan larva terhadap infeksi S/NPV adalah sinkronisasi antara sisa umur stadia larva menjelang stadia pupa dan masa inkubasi S/NPV di dalam tubuh larva. Sisa umur stadia larva instar ketiga yang lebih lama dibanding masa inkubasi S/NPV di dalam tubuhnya menyebabkan persentase mortalitasnya lebih tinggi dibanding mortalitas larva instar kelima. Pada larva instar kelima, dengan sisa umur stadia larva yang lebih singkat dari masa inkubasi S/NPV menyebabkan lebih banyak larva lolos menjadi pupa. Hal ini menunjukkan bahwa ketepatan instar larva menentukan efektivitas pengendalian.

Tabel 1. Pengaruh interaksi instar larva dan dosis subletal S/NPV terhadap mortalitas larva, bobot pupa, dan jumlah telur
Table 1. Effect of interaction between instar of larvae and sublethal dose of S/NPV on larval mortality, pupal weight and egg numbers

Perlakuan Treatment	Mortalitas larva Larval mortality (%)	Bobot pupa Pupal weight (mg)	Jumlah telur Numbers of egg
Kontrol Control	0.00 a	291.14 b	1 668.75 b
S/NPV	19.18 b	249.06 a	855.05 a
Instar ketiga Third instar	5 000 PIB/larva 11.92 b	283.32 c	953.00 c
	50 000 PIB/larva 27.50 d	211.50 a	633.00 b
	500 000 PIB/larva 40.33 e	205.12 a	502.00 a
Instar kelima Fifth instar	5 000 PIB/larva 7.29 a	277.67 bc	1 067.00 c
	50 000 PIB/larva 11.79 b	260.40 b	1 032.00 c
	500 000 PIB/larva 16.25 c	256.35 b	943.50 c

Keterangan : Angka diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% uji Duncan
Notes : Numbers followed by the same letter in the same column are not significantly different at 5% DMRT

Bobot Pupa

Pengaruh interaksi instar larva dan dosis subletal S/NPV menunjukkan perbedaan nyata terhadap bobot pupa (Tabel 1). Pengaruh infeksi subletal S/NPV menyebabkan bobot pupa dari larva instar ketiga rata-rata lebih rendah dan berbeda nyata dengan bobot pupa dari larva instar kelima, terutama setelah taraf dosis ditingkatkan dari 5 000 menjadi 50 000 dan 500 000 PIB/larva. Peningkatan taraf dosis subletal S/NPV pada larva instar kelima tidak berpengaruh nyata terhadap penurunan bobot pupanya.

Secara morfologis, pupa dari larva yang terinfeksi S/NPV umumnya memiliki ukuran tubuh lebih kecil dibanding pupa yang tidak terinfeksi (pupa sehat). Hal ini disebabkan infeksi S/NPV mempengaruhi sebagian besar proses fisiologis larva, terutama menjelang stadia pupa. BELI dan KANAVAL (1976) menyatakan bahwa bobot pupa *Trichoplusia ni*, *Lymantria dispar*, dan *Pectinophora gossypiella* tidak secara langsung dipengaruhi dosis NPV, tetapi lebih banyak dipengaruhi oleh lama umur stadia larva setelah terinfeksi. Hal ini berkaitan dengan infeksi NPV yang umumnya terjadi pada badan-badan lemak sebagai pusat metabolisme larva, sehingga mengakibatkan gangguan metabolisme. Gangguan metabolisme erat kaitannya dengan adanya perubahan konsentrasi asam-asam amino dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah akibat infeksi NPV (BOCTOR, 1980).

Adanya gangguan pada sistem hormon, terutama hormon yang berhubungan dengan proses ganti kulit (instar), menyebabkan umur larva terinfeksi lebih lama dibanding umur larva sehat, stadia pupa terganggu sehingga berpengaruh juga terhadap bobot pupa (O'REILLY dan MILLER, 1989; BURRAND dan PARK, 1992). Hal tersebut didukung pula oleh pernyataan MILKS *et al.* (1988) bahwa pengaruh infeksi subletal NPV berpotensi memperpanjang umur larva dan menurunkan bobot pupa. Penurunan bobot pupa yang cukup tinggi pada larva instar ketiga sinkron dengan lamanya infeksi S/NPV pada saat stadia larva.

Jumlah Telur

Pengaruh interaksi instar larva dan dosis subletal S/NPV menunjukkan perbedaan nyata terhadap jumlah telur imago terinfeksi (Tabel 1). Peningkatan setiap taraf dosis S/NPV pada larva instar ketiga efektif menurunkan jumlah telur yang berbeda nyata. Sebaliknya pada larva instar kelima, peningkatan taraf dosis S/NPV tidak menyebabkan penurunan jumlah telur imago yang berbeda nyata. Hal tersebut menunjukkan bahwa pengaruh infeksi subletal S/NPV pada larva instar ketiga lebih berpotensi menghambat proses reproduksi imago dibanding pada larva instar kelima. Apabila dihubungkan dengan bobot pupa, maka terlihat adanya korelasi antara kedua parameter

tersebut. Pupa yang bobotnya lebih rendah cenderung menghasilkan telur lebih sedikit dibanding pupa dengan bobot lebih tinggi. Keeratan hubungan tersebut ditunjukkan oleh nilai koefisien korelasi r yang mendekati nilai 1, yaitu $r = 0.997$ ($Y = 0.02 + 1.18x$) yang merupakan ukuran derajat hubungan linier antara bobot pupa dan jumlah telur.

Proses reproduksi serangga, terutama yang berhubungan dengan peletakan telur dipengaruhi beberapa faktor antara lain: perkembangan sel telur (ovarium), pemasakan telur, proses kawin imago, dan kualitas nutrisi larva maupun imago. Infeksi yang dialami larva menunjukkan bahwa kualitas nutrisi yang dikonsumsi rendah disebabkan terkontaminasi S/NPV. Infeksi kemudian mengakibatkan gangguan pertumbuhan larva dan perkembangan stadia berikutnya. Hasil penelitian ini sejalan dengan pernyataan MYERS dan KUKAN (1995), bahwa infeksi NPV menyebabkan gangguan pada proses reproduksi imago, karena terjadi pengurangan sejumlah nutrisi khususnya lemak, protein, dan karbohidrat yang diperlukan dalam proses pembentukan telur dan produksi sperma (KANOST *et al.*, 1990).

Infeksi S/NPV juga menyebabkan gangguan keseimbangan hormon yang mempengaruhi pembentukan dan perkembangan telur pada imago betina. Masa infeksi S/NPV yang lebih singkat pada larva instar kelima berdampak pada rendahnya tingkat gangguan terhadap proses reproduksi imago. Hal ini menyebabkan imago dari larva instar kelima mampu menghasilkan telur lebih banyak. Meskipun secara morfologis imago terinfeksi S/NPV terlihat normal dan sehat, tetapi fekunditas dan fertilitasnya menunjukkan penurunan. Sebagaimana yang dinyatakan ZELAZNY (1977) bahwa fekunditas stadia dewasa kumbang kelapa *Oryctes rhinoceros* yang terinfeksi granulosus virus (GV) lebih rendah dibanding fekunditas kumbang yang tidak terinfeksi. Menurunnya fekunditas imago sangat potensial mengurangi pembentukan populasi larva F1 yang efektif menimbulkan serangan pada tanaman di lapangan.

Telur Terkontaminasi Polihedra

Pengaruh perlakuan S/NPV terhadap persentase telur terkontaminasi menunjukkan perbedaan nyata dengan kontrol (Tabel 2). Rata-rata persentase telur terkontaminasi polihedra pada larva instar ketiga lebih tinggi dan berbeda nyata dengan telur terkontaminasi pada larva instar kelima. Hal tersebut erat hubungannya dengan masa infeksi S/NPV yang lebih lama pada larva instar ketiga sehingga infeksi dapat terjadi pada seluruh organ, serta mengakibatkan produksi polihedra semakin meningkat. Peningkatan jumlah polihedra menyebabkan peluang terbawanya polihedra tersebut hingga stadia imago semakin besar, sehingga jumlah telur yang terkontaminasi juga semakin meningkat.

Tabel 2. Pengaruh instar larva dan dosis subletal S/NPV terhadap telur terkontaminasi polihedra dan daya tetas telur
Table 2. Effect of instar of larvae and sublethal dose of S/NPV on polyhedra-contaminated eggs and egg hatch

Perlakuan Treatment	Telur terkontaminasi polihedra Polyhedra- contaminated eggs (%)	Telur menetas Egg hatch (%)
Kontrol Control	0.00 a	94.48 b
S/NPV	16.33 b	80.97 a
Instar ketiga Third instar	18.75 b	77.82 a
Instar kelima Fifth instar	13.92 a	84.14 b
5 000 PIB/larva	9.38 a	88.31 c
50 000 PIB/larva	15.63 b	77.91 b
500 000 PIB/larva	24.00 c	70.71 a

Keterangan : Angka diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% uji Duncan
Notes : Numbers followed by the same letter in the same column are not significantly different at 5% DMRT

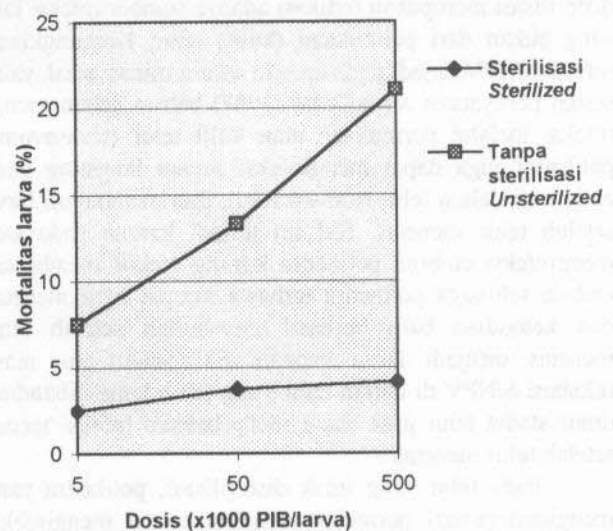
Terkontaminasinya telur oleh polihedra melalui verifikasi secara mikroskopis merupakan indikasi adanya proses transmisi S/NPV secara vertikal dari induk terinfeksi ke generasi larva berikutnya (F1). Meskipun belum jelas diketahui apakah transmisi tersebut terjadi secara transovarial atau transovum, tetapi dengan ditemukannya polihedra pada telur merupakan salah satu petunjuk bahwa S/NPV dapat ditransmisikan secara vertikal. Hal ini sejalan pernyataan ANDREADIS (1987) bahwa transmisi patogen secara vertikal dapat berlangsung baik secara transovarial maupun transovum. Selain itu, EL-NAGAR *et al.* (1985) juga mengungkapkan bahwa NPV ditemukan mengkontaminasi permukaan telur *Spodoptera littoralis*, sehingga kemudian disimpulkan bahwa NPV dapat ditransmisikan secara vertikal pada generasi berikutnya. Fenomena transmisi vertikal ini juga ditemukan pada kelompok telur ngengat gypsy *Lymantria dispar* setelah larva induk diperlakukan dengan LdNPV (MYERS *et al.*, 2000). Kontaminasi polihedra pada permukaan telur kemungkinan terjadi ketika telur melewati ovipositor induknya pada saat keluar dari saluran reproduksi, khususnya menjelang peletakan telur (MURRAY dan ELKINTON, 1990).

Daya Tetas Telur

Persentase telur menetas pada perlakuan S/NPV menunjukkan perbedaan nyata dengan persentase telur menetas pada kontrol (Tabel 2). Pengaruh instar larva dan taraf dosis subletal S/NPV juga berbeda nyata terhadap persentase telur menetas. Infeksi S/NPV pada larva instar ketiga menyebabkan persentase telur menetas lebih rendah dan berbeda nyata dengan persentase telur menetas dari larva instar kelima terinfeksi. Tabel 2 juga menunjukkan bahwa peningkatan taraf dosis subletal S/NPV efektif

menurunkan daya tetas telur, yaitu dari 88.31% menjadi 77.91% hingga 70.71% setelah dosis ditingkatkan dari 5 000 menjadi 50 000 dan 500 000 PIB/larva. Meningkatnya taraf dosis subletal S/NPV yang diikuti dengan menurunnya persentase telur menetas juga sinkron dengan meningkatnya persentase telur terkontaminasi polihedra.

Adanya sebagian telur yang tidak menetas kemungkinan disebabkan pengaruh infeksi S/NPV secara vertikal yang dibawa oleh induknya. Hal ini mengingat tidak ada perlakuan S/NPV secara khusus terhadap telur, terutama untuk mengamati daya tetas telur, sehingga kemungkinan infeksi S/NPV terjadi secara transovarial yaitu infeksi pada embrio yang mengakibatkan kematian embrio sebelum telur menetas. Infeksi transovarial terjadi karena sejumlah virion S/NPV melakukan penetrasi ke dalam telur melalui mikrofil, yaitu lobang alami tempat masuknya spermatozoa yang terdapat pada permukaan telur. Penurunan daya tetas telur juga menunjukkan bahwa infeksi S/NPV pada larva menyebabkan gangguan pada proses reproduksi imago. Seperti pernyataan SANTIAGO-ALVAREZ dan VARGAS-OSUNA (1988) bahwa salah satu pengaruh infeksi subletal S/NPV adalah mengakibatkan penurunan daya tetas telur. Berkaitan dengan pernyataan tersebut, SANTHARAM dan JAYARAY (1989) mengungkapkan bahwa sebagian telur *S. litura* tidak menetas disebabkan pengaruh dosis subletal yang diperlakukan terhadap larva induknya. Dukungan terhadap hasil penelitian tersebut juga ditunjukkan NAIR dan JACOB (1985), bahwa kontaminasi NPV secara transovarial merupakan salah satu penyebab tidak menetasnya telur *Spodoptera mauritia* yang berasal dari imago terinfeksi.



Gambar 1. Mortalitas larva neonate F1 dengan atau tanpa sterilisasi telur
Figure 1. Mortality of neonate larvae of F1 generation with or without surface-egg sterilization

Mortalitas Larva Generasi F1

Rata-rata persentase mortalitas larva generasi F1 dari telur yang mendapat perlakuan sterilisasi lebih rendah dibanding persentase mortalitas larva F1 dari telur yang tidak mendapat perlakuan sterilisasi (Gambar 1). Mortalitas larva F1 pada taraf dosis subletal terendah yaitu 5 000 PIB/larva hanya mencapai 5-10%, baik yang berasal dari telur dengan sterilisasi maupun tanpa sterilisasi. Tetapi setelah taraf dosis ditingkatkan menjadi 50 000 hingga 500 000 PIB/larva, persentase mortalitas larva F1 meningkat menjadi 20-25% pada telur yang tidak disterilisasi. Sedang, mortalitas larva F1 dari telur yang disterilisasi tidak mengalami peningkatan ($\pm 5\%$). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sterilisasi telur dengan menggunakan bahan disinfektan berpotensi menghambat transmisi vertikal *S/NPV* dari induk ke generasi berikutnya melalui kontaminasi permukaan telur. Hal ini disebabkan disinfektan sodium hipoklorit dapat merusak polihedra yang menempel pada permukaan telur, sehingga polihedra menjadi kurang efektif menginfeksi larva F1. Akibatnya, jumlah larva neonate F1 yang hidup semakin banyak, atau larva neonate F1 yang mati semakin berkurang. Sebaliknya, telur yang tidak disterilisasi menyebabkan persentase mortalitas larva neonate F1 meningkat, karena polihedra yang mengkontaminasi permukaan telur secara aktif akan membunuh larva neonate.

Perlakuan sterilisasi telur dengan bahan-bahan disinfektan merupakan salah satu cara untuk mencegah larva neonate terinfeksi patogen, khususnya virus, yang secara umum mengkontaminasi permukaan telur (NAIR dan JACOB, 1985). Terjadinya kematian larva F1 dari telur yang disterilisasi merupakan indikasi adanya sumber infeksi lain yang bukan dari permukaan (kulit) telur. Kemungkinan infeksi *S/NPV* terjadi pada embrio secara transovarial, yaitu sesuai pernyataan ANDREADIS (1987) bahwa selain menginfeksi melalui permukaan atau kulit telur (transovum), polihedra juga dapat menginfeksi secara langsung pada embrio di dalam telur (transovarial), dan membunuh larva setelah telur menetas. Hal ini terjadi karena pada saat menginfeksi embrio, polihedra kurang efektif membunuh embrio sehingga polihedra terbawa sampai telur menetas dan kemudian baru berhasil membunuh setelah telur menetas menjadi larva neonate F1. Selain itu, masa inkubasi *S/NPV* di dalam telur yang lebih lama dibanding umur stadia telur juga dapat menyebabkan infeksi terjadi setelah telur menetas.

Pada telur yang tidak disterilisasi, polihedra yang mengkontaminasi permukaannya berpotensi menginfeksi dan mengakibatkan mortalitas larva F1. Kontak antara polihedra dan larva neonate dapat terjadi pada saat kulit telur (*chorion*) yang membawa polihedra termakan oleh larva neonate ketika keluar dari dalam telur. Hasil penelitian ini didukung oleh GELERNTER dan FEDERICI

(1986) bahwa melalui pengamatan mikroskopis ditemukan lebih dari 20 polihedra pada permukaan setiap butir telur *Spodoptera exigua* dari imago yang terinfeksi *SeNPV*. Setiap polihedra berpeluang membunuh satu larva neonate hingga 80% setelah larva neonate memakan kulit telur seluas $\pm 0.037 \text{ mm}^2$ atau $\pm 5\text{-}6\%$ dari luas keseluruhan kulit telur yaitu 0.644 mm^2 (GELERNTER dan FEDERICI, 1986).

Persentase mortalitas larva F1 tanpa sterilisasi telur dan persentase telur terkontaminasi polihedra menunjukkan sinkronisasi antara keduanya. Meningkatnya persentase mortalitas larva F1 (Gambar 1) disebabkan meningkatnya persentase telur terkontaminasi polihedra (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa larva *S. litura* yang terinfeksi *S/NPV* secara subletal cukup potensial mentransmisikan *S/NPV* secara vertikal. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian sejenis pada larva *Lepidoptera* lain yaitu *Helicoverpa armigera* yang terinfeksi *HaNPV* secara subletal, dan mentransmisikan infeksi tersebut pada larva F1 dengan kematian larva mencapai 21% (KHAIRE dan AJRI, 1986).

Sumber infeksi awal NPV pada populasi inang di alam erat hubungannya dengan transmisi NPV secara vertikal (REGNIERE, 1984; KUKAN dan MYERS, 1997). Hal ini menyebabkan NPV mampu menginfeksi inang pada populasi sangat rendah sekalipun, terutama sumber infeksi yang terbawa sejak stadia telur. Sehubungan dengan transmisi vertikal tersebut, ELKINTON *et al.* (1990) menyatakan bahwa infeksi letal NPV pada larva neonate *L. dispar* berperan penting dalam pembentukan epizootik patogen tersebut di alam. Perkembangan epizootik meningkat apabila populasi inang terinfeksi juga meningkat. Hal ini disebabkan setiap satu larva neonate berpotensi membawa patogen sumber infeksi, minimal untuk menginfeksi individu larva tersebut sehingga senantiasa tersedia sumber infeksi di alam. Transmisi NPV secara vertikal dianggap sebagai salah satu metode penularan NPV yang cukup efektif dan efisien, karena terjadinya infeksi tidak berasal dari tindakan aplikasi pendahuluan (*innoculative inundation*).

Keterkaitan antara transmisi vertikal dan perkembangan epizootik patogen tidak dapat dipisahkan dari mekanisme transmisi secara horizontal, yaitu penularan patogen dari inang sakit ke inang sehat, misalnya melalui sifat kanibalisme inang (CHAPMAN *et al.*, 1999); melalui oviposisi parasitoid serangga hama (LEVIN *et al.*, 1983; BROWN *et al.*, 1989; YOUNG dan YEARIAN, 1990), atau melalui pemangsa predator (SMIRNOFF, 1975). Perkembangan epizootik sangat dipengaruhi oleh adanya infeksi NPV secara primer dan sekunder pada inang. Infeksi primer, terutama infeksi akibat transmisi vertikal menunjukkan ketidak tergantungan terhadap populasi inang (*density-independent mortality factor*). Hal ini disebabkan infeksi hanya terjadi pada individu inang yang membawa sumber infeksi sejak stadia telur. Untuk meningkatkan epizootik, diperlukan adanya infeksi sekunder dengan

sumber infeksi berasal dari bangkai larva yang terinfeksi secara primer. Hal ini menyebabkan NPV berperan sebagai faktor mortalitas yang sangat tergantung pada populasi inang (*density-dependent mortality factor*).

Implikasi transmisi vertikal S/NPV dalam program pengendalian hama terpadu (PHT) pada tanaman kapas diperkirakan berdampak nyata. Hal ini disebabkan peran S/NPV sebagai faktor mortalitas larva *S. litura*, khususnya pada tanaman kapas, senantiasa akan berkelanjutan untuk menjaga keseimbangan populasi inang-patogen. Namun demikian, ada hal penting yang perlu dipertimbangkan, terutama yang berkaitan dengan upaya untuk mempertahankan deposit S/NPV di tanah sebagai reservoir terbesar di alam. Salah satu aktivitas agronomis yang sangat berpotensi menghambat perkembangan epizootik S/NPV adalah pengolahan tanah secara intensif. Pengolahan tanah mengakibatkan deposit S/NPV yang terdapat pada kedalaman tanah 20-30 cm akan muncul ke permukaan tanah pada saat tanah diolah (dibalik). Hal ini kurang menguntungkan bagi S/NPV karena patogen akan terekspos sinar UV secara langsung dan menyebabkan kerusakan, serta akhirnya S/NPV menjadi kurang efektif membunuh inang.

Sinar UV merupakan faktor lingkungan yang paling efektif menyebabkan kerusakan NPV di lapangan. Hal ini menyebabkan penggunaan bahan-bahan pelindung dari radiasi UV (*UV protectant*), misalnya berbagai jenis *optical brighteners*, *carbon black*, atau molases, sangat diperlukan pada aplikasi entomopatogen, khususnya NPV. Tetapi cara lain yang lebih praktis untuk mengurangi pengaruh radiasi UV adalah dengan melakukan aplikasi pada sore hari (setelah jam 15.00).

KESIMPULAN

Pengaruh dosis subletal S/NPV pada larva *S. litura* meningkatkan mortalitas larva, mengurangi bobot pupa dan jumlah telur. Bobot pupa terendah dari larva instar ketiga terinfeksi mencapai 211.5 mg pada taraf dosis 50 000 PIB/larva. Jumlah telur terendah mencapai 502 butir atau $\pm 30\%$ dari jumlah telur imago sehat (kontrol) pada pemberian taraf dosis 500 000 PIB/larva. Makin tinggi taraf dosis yang diberikan, makin meningkat persentase telur yang terkontaminasi polihedra yaitu tertinggi 24% pada taraf dosis 500 000 PIB/larva. Pengaruh infeksi subletal S/NPV juga menurunkan daya tetas telur. Sterilisasi berpotensi menghambat transmisi vertikal S/NPV sehingga menurunkan persentase mortalitas larva neonate F1.

Untuk meningkatkan perkembangan epizootik S/NPV di lapangan, maka pengolahan tanah secara intensif perlu dipertimbangkan kembali mengingat tanah merupakan reservoir terbesar sumber infeksi entomopatogen umumnya, dan S/NPV khususnya, pada musim tanam berikutnya.

DAFTAR PUSTAKA

- ANDREADIS, T.G. 1987. Transmission. In: Epizootiology of Insect Diseases (eds. J.R. Fuxa and Y. Tanada), pp. 159-176.
- BELL, MR. and R.F. KANAVEL. 1976. Effect of dose of cytoplasmic nuclear polyhedrosis virus on infection, mortality, development rate, and larval and pupal weights of the pink bollworm. *J. Invertebr. Pathol.* 28: 121-126.
- BOCTOR, I.Z. 1980. Free amino acids of the hemolymph of the cotton leaf-worm, *Spodoptera littoralis*, late instar larvae, infected with nuclear polyhedrosis virus. *Experientia* 36: 638-639.
- BROWN, J.R., J.R. PHILLIPS, and W.C. YEARIAN. 1989. Transmission of *Heliothis* NPV by *Microplitis croceipes* (Cresson) in *Heliothis virescens*. *J. Invertebr. Pathol.* 54: 141-145.
- BURRAND, J. and E. PARK. 1992. Effect of nuclear polyhedrosis virus infection on the development and pupation of gypsy moth larvae. *J. Invertebr. Pathol.* 60: 171-175.
- CHAPMAN, J.W., T. WILLIAMS, A. ESCRIBANO, P. CABALLERO, R.D. CAVE, and D. GOULSON. 1999. Age-related cannibalism and horizontal transmission of a nuclear polyhedrosis virus in larval *Spodoptera frugiperda*. *Ecol. Entomol.* 24 (3): 268-275.
- ELKINTON, J.S., J.P. BURRAND, K.D. MURRAY, and S.A. WOODS. 1990. Mechanism of transmission of gypsy moth of nuclear polyhedrosis virus. *Proceedings and Abstracts, Vth International Colloquium on Invertebrate Pathology and Microbial Control*, Adelaide, Australia, 20-24 August 1990: 364-367.
- EL-NAGAR, S., M.S.F. TAWFIK and T.A. RAHMAN. 1985. Transmission of nuclear polyhedrosis virus (NPV) disease of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) via egg and pupal exposure to the virus. *Bull. Entomol. Soc. Egypt Econ. Series* 13: 31-38.
- GELERTNER, W.D. and B.A. FEDERICI. 1986. Isolation, identification, biosynthesis, and role in vitellogenesis. *Adv. Insect Physiol.* 27: 49-108.
- GOULSON, D. and J.S. GORY. 1995. Sublethal effects of baculovirus in the cabbage moth, *Mamestra brassicae*. *Biological Control* 5 (3): 361-367.
- HUNTER-FUJITA, F.R., P.F. ENTWISTLE, H.F. EVANS, and N.E. CROOK. 1997. *Insect Viruses and Pest Management*. John Wiley & Sons, pp. 144-148.
- INDRAYANI, I.G.A.A., A.A.A. GOTHAMA and F. MOSCARDI. 1989. Report on survey for pathogens of cotton pests in Indonesia. *Biotrop. Spec. Publ.* 36: 15-151-155.
- INDRAYANI, I.G.A.A., A.A.A. GOTHAMA, dan SUBIYAKTO. 1991. Efektivitas NPV dan *Bacillus thuringiensis* terhadap mortalitas larva *Spodoptera litura* F. pada kapas. *Pemberitaan Penelitian Tanaman Industri* 16 (4): 129-132.

- KANOST, M.R., J.K. KAWOoya, J.H. LAW., R.O. RYAN, M.C. van HEUSDEN and R. ZIEGLER. 1990. Insect haemolymph proteins, pp. 299-396. In: P.D. Evans & V.B. Wigglesworth (eds.), *Advances in Insect Physiology*, Vol. 22, Academic Press, London.
- KHAIRE, V.M. and D.S. AJRI. 1986. Transovarial and transoval transmission of nuclear polyhedrosis virus of *Heliothis armigera* (Hubner). *Current Research Reporter*, Mahatma Phule Agricultural University, 2 (1): 153-154.
- KOMOLPITH, U. and N. RAMAKHRISNAN. 1978. Joint action of a baculovirus of *Spodoptera litura* (Fabricius) and insecticides. *J. Ent. Res.* 2 (1): 15-19.
- KUKAN, B. and J.H. MYERS. 1997. Prevalence and persistence on nuclear polyhedrosis virus in fluctuating populations of forest tent caterpillars (Lepidoptera: Lasiocampidae) in the area of Prince George, British Columbia. *Environ. Entomol.* 26: 882-887.
- KUKAN, B. and J.H. MYERS. 1999. Dynamics of viral disease and population fluctuation in western tent caterpillars (Lepidoptera: Lasiocampidae) in south-western British Columbia Canada. *Environ. Entomol.* 28: 44-52.
- LEVIN, D.B., J.E. LAING, R.P. JAKES and J.E. CORRIGAN. 1983. Transmission of the granulosis virus of *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae) by the parasitoid *Apanteles glomeratus* (Hymenoptera: Braconidae). *Environ. Entomol.* 12: 166-170.
- MCLEOD, P.J., W.C. YEARIAN and S.Y. YOUNG. 1977. Inactivation of *Heliothis baculovirus* by ultraviolet irradiation, dew, and temperature. *J. Invertebr. Pathol.* 30: 237-240.
- MILKS, M.L., I. BURNSTYN and J.H. MYERS. 1988. Influence of larval age on the lethal and sublethal effects of the nucleopolyhedrosis of *Trichoplusia* the cabbage looper. *Biol. Control.* 12: 119-126.
- MURRAY, J.H. and J.S. ELKINTON. 1990. Transmission of nuclear polyhedrosis virus to gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) egg via contaminated substrates. *Environ. Entomol.* 19: 662-665.
- MYERS, J.H. and B. KUKAN. 1995. Changes in the fecundity of tent caterpillars: a correlated character of disease resistance or sublethal effect of disease? *Oecologia* 103: 475-480.
- MYERS, J.H., R. MALAKAR and J.S. CORY. 2000. Sublethal nucleopolyhedrosis virus infection effects on female pupal weight, egg mass size, and vertical transmission in gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae). *Environ. Entomol.* 29 (6): 1268-1272.
- NAIR, K.P.V. and A. JACOB. 1985. Transmission of nuclear polyhedrosis virus of rice swarming caterpillar *Spodoptera mauritia* through egg. *Entomon.* 10 (1): 1-6.
- O'REILLY, D.R. and L.K. MILLER. 1989. A baculovirus blocks insects molting by producing ecdysteroid UDP-glucosyl transferase. *Science* 245: 1110-1112.
- REGNIERE, J. 1984. Vertical transmission of diseases and population dynamics of insects with discrete generations: a model. *J. Theor. Biol.* 107: 287-301.
- ROTHMAN, L.D. and J.H. MYERS. 1994. Nuclear polyhedrosis virus treatment effect on reproductive potential of western tent caterpillar (Lepidoptera: Lasiocampidae). *Environ. Entomol.* 23: 864-869.
- SANTHARAM, G. and S. JAYARAY. 1989. Studies on the transmission of nuclear polyhedrosis virus of *Spodoptera litura* (Fabricius) to its progenies. *J. Biol. Control* 3: 40-43.
- SANTIAGO-ALVAREZ, C. and E. VARGAS-OSUNA. 1988. Reduction of reproductive capacity of *Spodoptera littoralis* males by a nuclear polyhedrosis virus (NPV). *J. Invertebr. Pathol.* 52: 142-146.
- SHAPIRO, M. and J.L. ROBERTSON. 1992. Enhancement of gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) baculovirus activity by optical brighteners. *J. Econ. Entomol.* 85 (4): 1120-1124.
- SMIRNOFF, J.R. 1975. Parasites and predators as vectors of insect viruses. In *Baculovirus for Insect Control: Safety Considerations* (M. Summers *et al.* Eds.), pp. 131-133. Amer. Soc. Microbial. Washington, 186pp.
- SRI-HADIYANI, SOEBANDRIJO, dan A. SALIM. 1999. Resistensi *Spodoptera litura* F. dan *Myzus persicae* (Sulz.) terhadap insektisida kimia pada tembakau besuki na oogst. *Prosiding Semiloka Teknologi Tembakau*, hal 160-164.
- STILES, B. and J.D. PASCHKE. 1980. Midgut pH in different instar of three *Aedes* mosquito species and the relation between pH and susceptibility of larvae to a nuclear polyhedrosis virus. *J. Invertebr. Pathol.* 35: 58-64.
- YOUNG, S.Y. and W.C. YEARIAN. 1990. The influence of canopy location in intercolony transmission of nuclear polyhedrosis virus in larval populations of loblolly pine sawfly (Hymenoptera: Diprionidae). *J. Entomol. Sci.* 25 (4): 535-537.
- ZELAZNY, B. 1977. *Oryctes rhinoceros* populations and behaviour influenced by a baculovirus. *J. Invertebr. Pathol.* 29: 210-213.