I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ulat krop *Crocidolomia binotalis* Zell. (Lepidoptera:Pyralidae) merupakan hama penting pada tanaman kubis. Munculnya hama ini pada pertanaman kubis merupakan ancaman yang serius bagi petani. Apabila tidak ada tindakan pengendalian, kerusakan kubis oleh hama tersebut dapat meningkat dan hasil panen dapat menurun baik jumlah maupun kualitasnya. Serangan yang timbul kadang-kadang cukup berat sehingga tanaman kubis tidak membentuk krop dan panen menjadi gagal. Kehilangan hasil kubis dapat mencapai 100% (Finn, 2004).

Sampai saat ini penanganan Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) masih tergantung pada insektisida kimiawi, sehingga dikhawatirkan akan menimbulkan dampak negatif, ekonomis dan ekologis. Teknologi pengendalian OPT yang didasarkan atas konsep pengendalian hama terpadu masih belum merata, sehingga belum dapat diterapkan sepenuhnya (Arifin, 2011). Pengendalian OPT, menggunakan insektisida kimiawi dapat menimbulkan permasalahan baru, diantaranya resistensi dari serangga sasaran, resurgensi, dan penurunan keseimbangan lingkungan. Cara lain yang lebih aman yaitu dengan memanfaatkan musuh alami, salah satu cara yang dikembangkan yaitu dengan memanfaatkan patogen serangga terutama virus (Lacey *et al*. 2001).

Nuclear Polyhedrosis Virus (NPV) merupakan salah satu patogen yang dapat digunakan sebagai sumber bioinsektisida yang termasuk kelompok *Baculovirus* yang efektif menginfeksi serangga hama, terutama stadia larva (Tanada & Kaya, 1993). *Baculovirus* yang ditemukan dari lapangan (pertanaman kubis di Lembang pada tahun 2007) dapat membunuh larva *C. binotalis*. *Baculovirus* tersebut mempunyai tingkat patogenisitas cukup tinggi dimana aplikasi pada hari ketiga dapat menyebabkan mortalitas larva *C. binotalis* sebesar 50%. Namun *Baculovirus* tersebut belum diketahui pasti apakah termasuk GV atau NPV (Uhan, 2007).

NPV mampu mematikan serangga ordo Lepidoptera, Hymenoptera, Coleoptera, Trichoptera, Neuroptera, dan Diptera (Tanada & Kaya, 1993). Selama ini NPV yang telah terbukti untuk mengendalikan larva *Spodoptera litura* adalah

Spodoptera litura Nuclear Polyhedrosis Virus (*Sl*NPV). Uji pendahuluan menunjukkan *Sl*NPV JTM 97C dapat menginfeksi *C. binotalis* sebanyak 19 larva atau 63% dari 30 larva yang diinfeksi mengalami kematian. Namun, NPV mempunyai kelemahan saat diaplikasikan di lapangan. Salah satu kendalanya adalah *Sl*NPV peka terhadap pengaruh sinar matahari sehingga memberikan pengaruh terhadap suhu (Arifin, 2012). Replikasi NPV mulai dihambat pada suhu 35-40^0 C dan pada suhu 23-27^0 C aktivitas virus NPV tidak terganggu (Sajap *et al.* 2007). Namun, kematian larva *S. litura* yang terserang NPV tertinggi sebesar (100%) berlaku pada suhu 30°C (Bakir, 2001) dan sebesar 81,25% pada suhu 20°C (Pachiappan and Narayanaswamy, 2012) yang di uji pada serangga *Diaphania pulverulentalis*.

Selama ini penelitian tentang penggunaan pengaruh suhu terhadap virulensi NPV telah banyak dilakukan terutama pada beberapa jenis hama Lepidoptera seperti *S. litura* (Arifin, 1993), *Helicoverpa armigera* (Priharyanto, 1993), dan *Gypsy moth* atau *Lymantria dispar* (Shapiro *et al*., 1994). Oleh karena itu dilakukan penelitian tentang pengaruh suhu terhadap efektivitas *Sl*NPV JTM 97C pada *C. binotalis* agar diketahui seberapa besar *Sl*NPV JTM 97C dalam mematikan serangga khususnya pada *C. binotalis*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah suhu berpengaruh terhadap infektifitas *Sl*NPV JTM 97C terhadap *C. binotalis* dan apakah suhu 45^0 C dapat menurunkan efektivitas *Sl*NPV JTM 97C terhadap *C. binotalis* daripada suhu 25^0 C.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh berapa suhu awal yang dapat menginaktifkan *Sl*NPV JTM 97C dalam mengendalikan larva *C. binotalis* pada tanaman kubis.

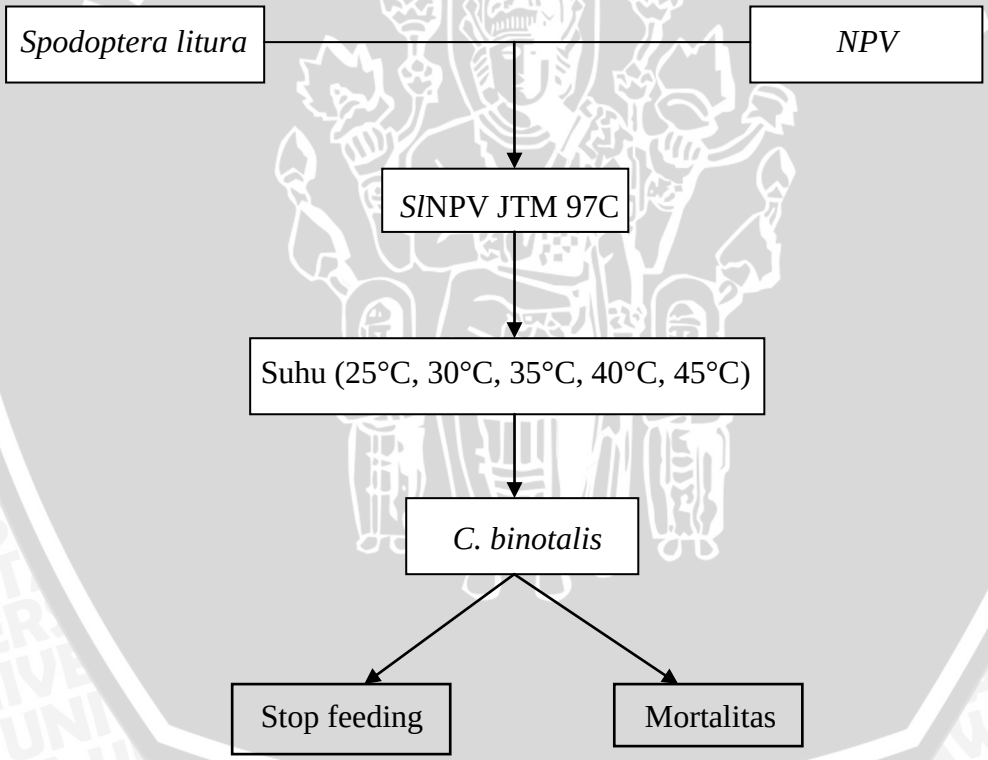
1.4 Hipotesis

Pada suhu yang berbeda terdapat perbedaan infektifitas *Sl*NPV JTM 97C terhadap mortalitas larva *C. binotalis* dan suhu 45^0 C dapat menginaktifkan *Sl*NPV JTM 97C pada *C. binotalis* daripada suhu 25^0 C.

1.5 Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan memberikan informasi tentang pengaruh suhu terhadap infektifitas *Sl*NPV JTM 97C dalam mengendalikan hama *C. binotalis.*

1.6 Kerangka Operasional



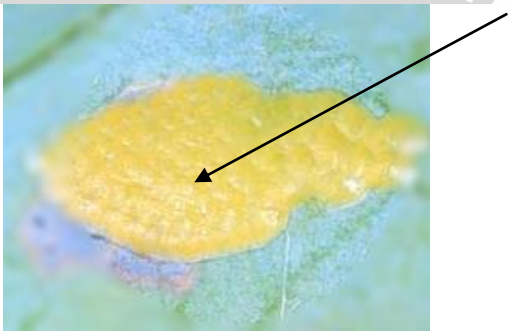
Gambar 1. Kerangka Operasional Penelitian

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bioekologi *C. binotalis*

Ulat krop diklasifikasikan masuk ke dalam Kingdom Animalia, Phylum Arthropoda, Kelas Insecta, Ordo Lepidoptera, Family Pytalidae, Genus Crocidolomia, Spesies *Crocidolomia binotalis* Zell **(**Jumar, 1997**)**.

Telur berukuran 5 mm dan biasanya berkisar antara 10-300 butir dalam satu daun. Telur berwarna hijau cerah dan muda berkamuflase pada daun. Telur biasanya diletakkan pada bagian bawah daun(Ahmad, 2007).



Gambar 2. Telur *C. binotalis*

(Sumber: Sastrosiswojo & Setiawati, 2009)

Kepala larva instar satu berwarna hitam kecoklatan dengan tubuh berwarna hijau. Warna larva bervariasi, umumnya berwarna hijau dengan batas garis dorsal dan lateral berwarna kekuningan tergantung corak daun yang mereka makan Panjang larva sekitar 18 mm. Biasanya larva berada pada bagian bawah daun karena mereka cenderung menghindari cahaya. Jika diganggu agak malas untuk bergerak. Pada hari keempat dan kelima larva akan memakan daun dari bagian bawah dan akan menyebabkan kerusakan yang parah pada daun sebelum ulat bergerak pada pusat tanaman (Purnamasari, 2006).

Pupa terdapat pada kokon yang terbuat dari butiran tanah dan membentuk lonjong dengan stadium 9 hari. Panjang berkisar antara 8.5 sampai 10.5mm dan berbentuk bulat dengan berwarna hijau cerah dan coklat gelap, pupa biasanya diselubungi oleh tanah (Wahyuni, 2006).

Gambar 3. Larva *C. binotalis*
(Sumber: Sastrosiswojo & Setiawati, 2009)

Ngengat jantan umumnya berukuran lebih besar daripada betinanya. Jantan berukuran 20-25 mm dan betina 8-11 mm. Pada betina dan jantan mempunyai warna coklat pada bagian sayap. Jantan pada umumnya mempunyai warna yang lebih cerah. Pada siang hari ngengat akan besembunyi pada bagian tubuh pohon dan aktif pada malam hari (Ahmad, 2007). Ngengat memiliki sayap dengan bintik putih dan sekumpulan sisik berwarna kecoklatan. Ngengat betina dapat hidup selama 16-24 hari (Wahyuni, 2006). Pada waktu siang hari bila ada gangguan imago akan terbang untuk mencari perlindungan. Ngengat bertelur dalam satu kelompok dengan ukuran 2,5 x 3 – 4 x 5 mm. Ngengat betina umurnya dapat mencapai 16 – 24 hari dan menghasilkan 11 – 18 butir telur. Setiap kelompoknya terdiri dari 30 – 80 butir telur (Pracaya, 2001).

Gambar 4. Ngengat *C. binotalis*
(Sumber: Sastrosiswojo & Setiawati, 2009)

2.2 Gejala Serangan *C. binotalis*

Ulat krop kubis *C. binotalis* sering menyerang titik tumbuh sehingga sering disebut ulat jantung kubis. Larva kecil berwarna hijau lebih besar dari larva tritip, jika sudah besar garis-garis coklat, jika diganggu agak malas untuk bergerak. Larva muda bergerombol di permukaan bawah daun kubis dan meninggalkan bercak putih pada daun yang dimakan. Larva instar ketiga sampai kelima memencar dan menyerang pucuk tanaman kubis sehingga menghancurkan titik tumbuh. Akibatnya tanaman mati atau batang kubis membentuk cabang dan beberapa krop yang kecil-kecil. Ulat krop dikenal sebagai hama yang sangat rakus secara berkelompok dapat menghabiskan seluruh daun dan hanya meninggalkan tulang daun saja. Pada populasi tinggi terdapat kotoran berwarna hijau bercampur dengan benang-benang sutera. Ulat krop juga masuk dan memakan krop sehingga tidak dapat dipanen sama sekali. (Ahmad, 2007).

Larva muda memakan daun dan meninggalkan lapisan epidermis yang kemudian berlubang setelah lapisan epidermis kering. Setelah mencapai instar ketiga larva memencar dan menyerang daun bagian lebih dalam menggerek ke dalam krop dan menghancurkan titik tumbuh sehingga tanaman akan segera mati. Ulat ini biasanya ditandai dengan adanya kumpulan kotoran pada daun kubis dan krop menjadi berlubang-lubang yang menyebabkan kualitas hasil panennya menurun. Serangan utama *C. binotalis* yaitu pada bagian dalam yang terlindungi daun hingga mencapai titik tumbuh. Kalau serangan ini ditambah lagi dengan serangan penyebab penyakit, tanaman bisa mati karena bagian dalamnya menjadi busuk meskipun dari luar kelihatannya masih baik (Santosa dan Sartono, 2007).

2.3 Penyebaran *C. binotalis* di Alam

Hama ulat daun kubis dilaporkan berasal dari daerah Mediterranean di Eropa Selatan, yang merupakan sumber berbagai jenis brasika. Hama ini tersebar luas di areal yang ditanami brasika, mulai dari daerah Amerika Utara dan Selatan, Afrika, China, India, Jepang, Asia Tenggara termasuk Indonesia, Selandia Baru, dan Australia. Penyebarannya dapat terjadi tanpa disadari melalui praktek budidaya tanaman. Penyebaran *C. binotalis* di Indonesia diduga ketika kubis

mulai dibudidayakan di dataran tinggi oleh orang orang Belanda yang membawa masuk hama ini dari benua Eropa. Saat ini *C. binotalis* diduga telah terpencar luas di seluruh Nusantara (Susniahti *et al*, 2005).

2.4 Pengendalian *C. binotalis*

Pengendalian yang dapat dilakukan antara lain yaitu dengan melakukan sanitasi kebersihan kebun, yaitu dengan membersihkan kebun dari bahan-bahan organic yang bisa membusuk yang dapat menjadi sarang tempat hama ini bertelur. Melakukan pola tanam dan pengaturan jarak tanam, jangan menanam dua jenis tanaman yang disukai ulat krop berdekatan. Secara biologis, yaitu dengan menggunakan musuh alami dari hama ini, seperti lalat *Sturmiopsis inferens* Townsend, famili Tachinidae, ordo diptera lalat *Sturmia sericariae* Cornalia. Tiga jenis tabuhan dari famili Ichneumonidae, ordo Hymenoptera, yakni *Inareolata*, *atrometus*, Mesochorus. Satu jenis tabuhan dari famili Braconidae, ordo Hymenoptera, yakni *Chelonus* sp. Tabuhan *Trichograma* sp. dari famili Trichogrammatidae, ordo Hymonptera.

Secara mekanis dengan menangkapi langsung hama ini dan di musnahkan. Melakukan pemangkasan agar lingkungan tajuk tidak terlalu rimbun. Melakukan pemangkasan terhadap tanaman yang terserang berat. Dengan menggunakan perangkap yaitu berupa perangkap cahaya. Membuat persemaian di tempat yang tidak terlindung atau mengurangi naungan (Arifin, 2011). Secara kimia, yaitu dengan penggunaan Insektisida alami seperti akar tuba, daun pucung tembakau dan lengkuas dan disemprotkan pada pada daun, batang dan bagian lainnya yang belum terserang.(Triharso, 1996).

2.5 *Nucleopolyhedrovirus (NPV)*

NPV adalah mikroorganisme penyebab penyakit pada serangga. Pengguanaa NPV merupakan suatu upaya pengendalian serangga larva yang efektif dan efisien serta ramah lingkungan sehingga dapat meminimalkan residu pada tanaman. NPV termasuk kelompok *Baculovirus* yang sangat efektif menginfeksi serangga hama, terutama stadia larva. Kelompok ini jenisnya sangat

banyak dan masing-masing sangat spesifik terhadap inang. Meskipun memiliki potensi yang cukup tinggi, keberadaaannya dilapangan secara alamiah dan teknologi pemanfaatannya telah diketahui namun dalam hal ini masih belum dimanfaatkan secara luas dan maksimal. Pengendalian dengan NPV efektif menurunkan kerusakan, dan mengurangi biaya pengendalian hingga 30% (Koswanudin *et al*, 2002).

2.6 Deskripsi NPV

NPV memiliki ciri khas, yaitu berupa *inclusion bodies* yang disebut polihedra. Polihedra berbentuk kristal bersegi banyak dengan ukuran 0,5-15 µm. Gambaran morfologi polihedra tersebut dapat dilihat di bawah mikroskop cahaya perbesaran 600 kali. Di bawah mikroskop elektron perbesaran 18.000 kali, tampak struktur polihedra yang terdiri atas beberapa virion, selubung protein yang membungkus virion untuk menjaga stabilitas virion di lingkungan, dan massa protein yang disebut polihedrin (Tanada dan Kaya, 1993).

Virion berbentuk batang, berukuran 40-70 nm X 250-400 nm, dan berisi nukleokapsid yang mengandung molekul *deoxy-ribonucleic acid* (DNA). Virion yang mengandung satu nucleokapsid disebut *singly-enveloped* NPV, sedangkan yang mengandung beberapa nukleokapsid disebutl *multiply-enveloped* NPV (Payne dan Kelly, 1981). Morfologi polihedra dan virion dapat dilihat di bawah mikroskop elektron dengan pengecatan negatif atau dengan teknik irisan jaringan yang terinfeksi NPV.

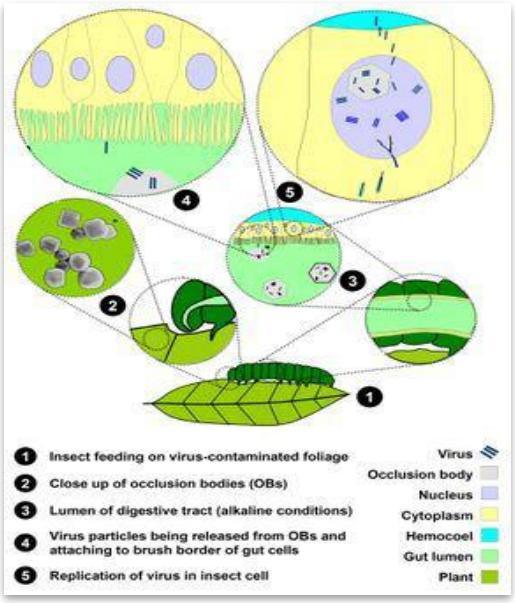
2.7 Gejala dan Infeksi NPV

NPV menginfeksi serangga hama melalui saluran pencernaan. Infeksi NPV terjadi setelah inokulum tertelan bersamaan dengan pakan. Sesudah tertelan oleh inang, NPV akan bereplikasi dan menginfeksi di dalam sel midgut ataupun jaringan lainnya. Organ serangga yang dapat terinfeksi terutama tubuh lemak, epidermis dan sel darah. *Polyhedra Inclusion Body* dalam tubuh larva yang terserang ukurannya bervariasi bergantung pada perkembangan stadium larva, akan tetapi pada beberapa jenis NPV, sebagian besar polihedra memiliki ukuran dan stadium pematangan yang hampir sama (Granados dan Federici 1986).

Tanda dan gejala infeksi oleh NPV pada serangga biasanya belum tampak 2-3 hari setelah NPV tertelan. Bersamaan dengan infeksi NPV, terjadi perubahan warna tubuh dan perilaku larva yang terinfeksi dan hal ini merupakan tanda dan gejala awal infeksi NPV pada larva. Selain itu, akibat infeksi biasanya aktivitas makan berkurang, gerakan menjadi lebih lambat dan akhirnya aktivitas makan berhenti. Perilaku tidak normal pada larva yang terinfeksi NPV adalah larva bermigrasi menuju ke tempat yang lebih tinggi (pucuk tanaman) yang seolah-olah menghindari sumber infeksi dan pada saat mati posisi tubuhnya menggantung dan membentuk huruf "V". Tanda-tanda larva telah terinfeksi NPV adalah warna kulit menjadi coklat kemerahan, gerakannya lambat dan berhenti makan. Waktu mulai infeksi hingga kematian berbeda-beda karena dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain: umur (instar) ulat, suhu lingkungan, dosis virus, virulensi virus dan kandungan nutrisi pakannya. Semakin virulen strain virus, semakin cepat membunuh ulat (2-5 hari). Sebaliknya, jika strain virus yang digunakan kurang virulen kematian larva akan terjadi sekitar 2-3 minggu setelah infeksi (Arifin, 2000).

Untuk membedakan antara larva terkena virus dengan pestisida di lapangan dapat dilihat ciri-ciri dan perbedaan yang ditimbulkan yaitu matinya larva terkena virus cenderung memanjang (mengembang) atau tidak mengkeret sedangkan apabila terkena pestisida cenderung mengkeret. Larva yang mati terkena virus apabila dipijit atau ditusuk akan mudah robek dan mengeluarkan lendir seperti nanah yang berbau busuk sekali, sedangkan larva yang terkena pestisida tidak berbau busuk (Embriani, 2013).

NPV menginfeksi inang melalui dua tahap. Pada tahap pertama NPV menyerang usus tengah, kemudian pada tahap selanjutnya organ tubuh (*hoemocoel*) serta organ-organ tubuh yang lain. Pada infeksi selanjutnya NPV juga menyerang sel darah, trakea, hipodermis dan sel lemak. *Polyhedra Inclusion Body* dalam tubuh larva yang terserang ukuranya bervariasi tergantung pada perkembangan stadium larva, tetapi pada beberapa jenis NPV sebagian *polyhedra* memiliki ukuran dan stadium pematangan yang hampir sama (Bedjo, 2005).



Gambar 5. Siklus hidup NPV dalam tubuh serangga
(Sumber : http://en.wikipedia.org/wiki/Baculovirus)

2.8 Penularan NPV

Penularan adalah proses pelepasan NPV dari inang terinfeksi ke inang baru. Penularan NPV secara langsung terjadi ketika NPV ditularkan dari serangga terinfeksi ke serangga yang rentan infeksi tanpa melalui vektor, sedangkan penularan secara tidak langsung melibatkan satu atau lebih spesies sebagai vektor. Selain penularan secara horizontal (ulat sehat memakan bangkai ulat terinfeksi), juga terjadi penularan secara vertikal, yaitu terbawa pada telur yang dihasilkan oleh serangga betina, dan menginfeksi ulat yang akan menetas. Selain itu, NPV sangat persisten di alam (tanah) dan satu kali penyemprotan sangat potensial menjadi awal pembentukan koloni (*epizootic*) di alam yang efektif mengendalikan inang sepanjang musim secara alami. NPV sangat peka terhadap suhu tinggi karena dapat menurunkan efektivitas. Sebaiknya NPV disimpan di tempat yang agak lembab dan tidak terkena sinar matahari langsung. Penyimpanan di dalam almari es sangat baik, tetapi ditempatkan pada suhu ruang yang kering juga cukup efektif mempertahankan stabilitas dan efektivitas hingga 6 bulan (Arifin, 2000).

2.9 Keunggulan dan Kelemahan

Beberapa keunggulan penggunaan NPV untuk mengendalikan hama tanaman dibandingkan dengan insektisida kimia antara lain efektif mengendalikan hama sasaran, spesifik inang sehingga tidak berdampak negatif terhadap kelangsungan hidup musuh alami dan serangga berguna lainnya serta dihasilkannya inokulum yang dapat mengendalikan populasi hama selanjutnya (Lacey *et al*. 2001). Selain itu, tidak menyebabkan pencemaran lingkungan, efektif menginfeksi ulat yang telah terkena insektisida kimia, tidak menyebabkan peningkatan populasi hama sekunder, dapat mengendalikan ulat instar V-VI, tidak menyebabkan penyakit virus pada tanaman, kompatibel dengan teknik pengendalian yang lain, termasuk insektisida kimia mudah diproduksi dengan teknik sederhana (menggunakan alat semprot standar) berpotensi sebagai pengendali hama jangka panjang, dapat beradaptasi dengan teknologi modifikasi secara genetik (bioteknologi) (Arifin, 2000).

Dalam pemanfaatannya, bioinsektisida *Sl*NPV mempunyai beberapa kelemahan. Hal ini merupakan tantangan yang harus dapat diatasi sehingga keefektifannya dapat dipertahankan. Beberapa kelemahan pada saat diaplikasikan di lapangan antara lain *Sl*NPV peka terhadap pengaruh sinar matahari terutama sinar ultraviolet; kecepatan dalam mematikan inang relatif rendah yaitu 3-9 hari sehingga selama waktu tersebut larva yang telah terinfeksi masih bisa menimbulkan kerusakan walaupun intensitasnya menurun; *Sl*NPV kurang efektif terhadap larva yang berukuran besar; dan penggunaan *Sl*NPV ini memerlukan ketepatan ketepatan waktu aplikasi yaitu pada sore hari pukul 15:00 (Bedjo, 2005).

2.10 Proses Produksi NPV

Umumnya, NPV diperbanyak secara *in vivo* dalam tubuh larva yang menjadi inangnya. NPV dapat juga diperbanyak secara *in vitro* dalam kultur jaringan. Cara *in vitro* lebih unggul bila dibandingkan dengan *in vivo* karena dapat mencegah terjadinya penyimpangan genetik dan kontaminasi, dan menghemat tenaga. Sebaliknya, cara *in vitro* memiliki kelemahan karena membutuhkan

fasilitas fermentasi yang mahal, tidak praktis, dan produktivitasnya rendah. Di antara kedua cara tersebut, cara *in vivo* lebih cocok untuk diterapkan di Indonesia. Hal yang sama juga berlaku di Jepang. Cara *in vitro* telah dicoba di Jepang sejak tahun 1950-an dengan kultur sel ulat sutera, tetapi karena sulit, mahal, dan tidak praktis, cara tersebut ditinggalkan. Saat ini, ada lima produk bioinsektisida NPV yang telah terdaftar di Badan Perlindungan Lingkungan Amerika Serikat dengan nama dagang dan serangga sasaran: Elcar (*Heliothis* spp.), Biotrol-1 (*Orgyia pseudotsugata*), Gyp-Check (*Lymantria dispar*), SAN 404 (*Autographa californica*), dan Neo Check-S (*Neodiprion seftifer*) (Knittel & Fairbrother, 1987). Produksi bioinsektisida NPV dilakukan dalam empat ruang terpisah, yaitu (1) ruang pembuatan dan penyimpanan pakan buatan, (2) ruang dengan unit untuk pembiakan massal serangga dan unit lain untuk pemeliharaan ulat yang akan diinfeksi NPV, (3) ruang perbanyakan NPV, dan (4) ruang *recovery* dan formulasi NPV. Fungsi produksi lainnya, seperti *quality control, bioassay*, dan karakterisasi produk dilakukan di laboratorium (Narayanan, 2004).

2.11 Pengaruh Suhu Terhadap *Sl*NPV

NPV relatif tahan terhadap suhu tinggi. Suspensi NPV pada suhu 65^0 C selama 20 menit tidak menurun aktivitasnya. Aktivitas NPV mulai menurun pada suhu 70^0 C dan menjadi inaktif pada suhu 85^0 C setelah 5 menit. Suhu lapang (45^0 C) tidak berpengaruh terhadap stabilitas NPV. Meskipun demikian, replikasi virus mulai dihambat pada suhu 35-40^0 C. NPV sebaiknya disimpan pada suhu rendah. Aktivitas suspensi NPV yang disimpan pada suhu -20^0 hingga 5^0 C sangat stabil dan tidak menurun setelah 15 tahun. NPV yang disimpan pada suhu kamar (23-27^0 C) mulai inaktif setelah 5 tahun dan menjadi inaktif total setelah 15 tahun. NPV yang disimpan pada suhu 37^0 C selama 4 minggu masih menunjukkan aktivitasnya (Sajap *et al.* 2007).

Pada temperatur 60°C aktivitas virus NPV masih tetap bertahan, sedangkan pada temperatur > 70° C NPV sudah tidak aktif. Pada kisaran temperatur 25-35°C tingkat mortalitas larva yang disebabkan oleh virus NPV lebih tinggi dari pada temperatur 40-45°C, mekanisme di dalam tubuh serangga akan meningkat, yang akan membantu mempercepat proses kematian serangga (Moekasan, 1998).

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi (BALITKABI) yang bertempat di Jl. Raya Kendalpayak km 8, Kabupaten Malang selama 3 bulan mulai bulan Februari sampai April 2014.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah inkubator, haemocytometer, toples plastik untuk wadah pembiakan *C. binotalis*, vial plastik, kain saring, sendok, pinset, pipet mikro, tabung reaksi, sentrifuse, mortar, cawan petri, mikroskop digital, kulkas, timbangan analitik, kuas mini, alat tulis, kertas label, buku agenda, dan kalkulator. Sedangkan bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain isolat *Sl*NPV JTM 97C dari laboratorium HPT Balitkabi, larva *C. binotalis* instar 3 sebagai serangga uji, larva *S. litura* sebagai perbanyakan isolat, daun jarak atau kedelai untuk pakan larva *S. litura*, daun kubis untuk pakan serangga uji, aquades steril, buffer fosfat 1%, kertas tisue, dan kain kasa.

3.3 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan sebanyak lima yaitu:

1. Perlakuan suhu 25°C (S25)
2. Perlakuan suhu 30°C (S30)
3. Perlakuan suhu 35°C (S35)
4. Perlakuan suhu 40°C (S40)
5. Perlakuan suhu 45^0 C (S45)

Setiap perlakuan diulang sebanyak empat kali sehingga terdapat 20 unit percobaan secara keseluruhan. Setiap unit percobaan memerlukan 15 larva. Penempatan perlakuan dapat dilihat pada gambar berikut:

S25U1	S45U4	S35U3	S30U2	S45U2
S30U1	S35U1	S25U2	S45U3	S40U3
S35U2	S45U1	S30U3	S35U4	S25U3
S40U4	S30U4	S40U1	S25U4	S40U2

Gambar 6. Penempatan perlakuan

3.4 Pelaksanaan

3.4.1 Sterilisasi Alat

Sterilisasi adalah suatu proses perlakuan terhadap alat atau bahan agar tidak terdapat mikroorganisme yang dapat mengganggu hasil percobaan. Sterilisasi alat dapat dilakukan dengan menggunakan sinar UVC. Alat yang mendapat perhatian khusus dalam sterilisasi yaitu fial plastik. Fial plastik harus terhindar dari mikroorganisme agar tidak mempengaruhi hasil data. Fial plastik terlebih dahulu direndam dengan larutan NaOCl bercampur air selama 25-30 menit. Setelah itu permukaan bagian dalam dan luar vial plastik digosok-gosong dengan busa sampai bersih. Fial kemudian dijemur di bawah sinar matahari sampai kering. Memastikan bahwa fial plastik telah terhindar dari mikroorganisme, maka fial tersebut disinari di bawah lampu sinar UVC selama 20-25 menit.

3.4.2 Pemeliharaan larva *S. litura* dan *C. binotalis*

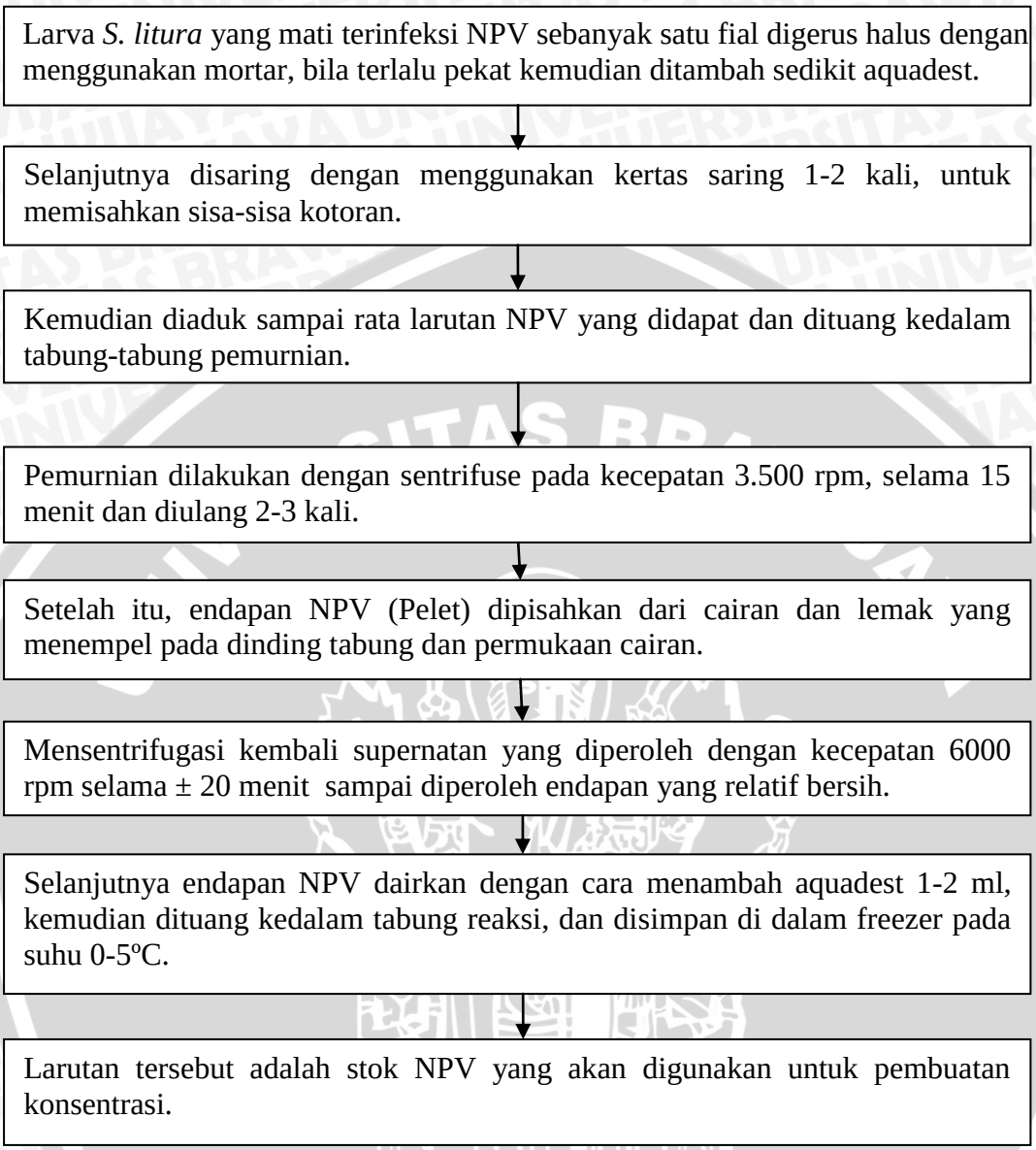
Pemeliharaan larva *S. litura* dilakukan dengan cara mengumpulkan larva dan telur *S. litura* yang diperoleh dari lapang. Selanjutnya dipelihara dengan diberi makan daun jarak untuk larva *S. litura* dan untuk telur *S. litura* dipelihara sampai menjadi larva instar 3 yang seragam digunakan sebagai perbanyakan isolat *Sl*NPV JTM 97C. Pemeliharaan telur dilakukan di dalam toples plastik dengan

diberi daun kedelai ataupun daun jarak, toples ditutup dengan kain kasa pada bagian atasnya.

Pembiakan larva *C. binotalis* dengan cara mengumpulkan larva maupun telur dari lapang. Telur *C. binotalis* dipelihara sampai menjadi larva yang digunakan untuk serangga uji. Larva yang digunakan adalah instar III yang sehat dengan ciri-ciri warna tubuh larva cerah dan tidak lembek, serta larva aktif bergerak. Kemudian larva *C. binotalis* siap untuk diaplikasikan sebagai bahan penelitian.

3.4.3 Perbanyakan Isolat *Sl*NPV JTM 97C

Larva *S. litura* hasil pemeliharaan diberi perlakuan kontaminasi pakan yang teah diberi virus NPV dari laboratorium. Larva yang terinfeksi dikumpulkan dan dibersihkan, kemudian digerus menggunakan mortar dan pistil di dalam buffer 1% untuk mendapatkan suspensi kasar. Suspensi kasar yang diperoleh disentrifugasi dengan sentrifus untuk memurnikan polihedra dan untuk memperoleh suspensi virus yang lebih halus dan lebih bersih dari berbagai macam kotoran ataupun dari sisa jaringan larva. Suspensi kasar disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 2 menit, kemudian supernatan dikumpulkan dan endapannya dibuang. Supernatan disentrifugasi lagi dengan kecepatan 6000 rpm selama 20 menit, kemudian endapannya diambil dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 3000 rpm selama 2 menit. Supernatan disentrifugasi kembali dengan tahapan yang sama seperti sebelumnya sampai diperoleh hasil berupa endapan akhir yang relatif bersih. Endapan akhir tersebut diresuspensi dengan akuades secukupnya. Suspensi yang didapatkan kemudian diencerkan untuk mempermudah penghitungan konsentrasi *Polyhedra Inclusion Bodies* (PIBs). Proses pembuatan isolat dapat dilihat pada gambar diagram di bawah ini:



Gambar 7. Diagram isolasi *Sl*NPV JTM 97C

Pengenceran isolat *Sl*NPV JTM 97C dilakukan sebanyak 5 kali. Tahap pertama menyiapkan 5 tabung reaksi berukuran 15 ml yang sudah diberi label 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, dan 10^{-5}. Selanjutnya diambil 1 ml larutan stok NPV dan diencerkan kedalam 9 ml aquadest pada tabung reaksi berlabel 10^{-1}. Suspensi tersebut dikocok hingga homogen dan diambil 1 ml untuk ditempatkan ke tabung reaksi berlabel 10^{-2}, kemudian ditambahkan aquadest 9 ml ke dalam tabung reaksi yang berlabel 10^{-3} dan dikocok hingga homogen. Pengenceran dilakukan sampai 10^{-5}.

Suspensi hasil pengenceran tersebut diambil dengan pipet tetes dan diteteskan pada hemositometer burker kemudian diamati dan dihitung konsentrasi polihedranya di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali. PIB yang digunakan dengan konsentrasi 4,2 x 10^{12} PIB/ml (Tabel lampiran 14). Hasil penelitian oleh Bedjo (2008) menunjukkan bahwa *Sl*NPV JTM 97C yang diaplikasikan dengan konsentrasi 3 X 10^{9} PIB/ml dicampur dengan bahan pembawa kaolin hingga mencapai berat 100 gram, efektif terhadap ulat grayak instar 3 dengan tingkat kematian 58-100% pada 6 HSA dan 86-100% pada 12 HSA.

Konsentrasi *Polyhedra Inclusion Bodies* (PIBs) menurut Hadioestomo (1993) dihitung dengan menggunakan haemocytometer dengan rumus sebagai berikut:

$$r = \frac{t \; x \; d}{n \; x \; 0{,}25} x \; 10^{6}$$

keterangan:

r : kerapatan PIB (PIBs/ml)

t : jumlah PIB pada kotak yang dihitung (PIB)

d: faktor pengenceran

n : jumlah kotak kecil

(Hadioestomo, 1993)

3.5 Metode Pengujian

Suspensi yang telah dibuat tersebut kemudian di tuang dalam cawan petri yang akan digunakan untuk pencelupan (*dipping*). Daun yang digunakan yaitu daun kubis yang merupakan inang utama dari hama *C. binotalis*. Daun kubis tersebut dipotong dengan ukuran 5 cm x 5 cm kemudian dicelupkan ke dalam suspensi selama kira-kira 5 menit sambil suspensi tersebut diaduk. Setelah proses pencelupan daun kubis dilakukan, maka daun kubis tersebut dikeringanginkan selama 30 detik. Daun kubis yang telah dikeringanginkan diberi perlakuan dengan menggunakan suhu yang berbeda. S25 merupakan perlakuan suhu 25°C , S30

merupakan perlakuan suhu 30°C, S35 merupakan perlakuan suhu 35°C, dan S40 merupakan perlakuan suhu 40°C, serta S45 merupakan perlakuan suhu 45°C Perlakuan suhu tersebut dilakukan dengan cara di inkubator sesuai dengan perlakuan suhunya selama 4 jam.

Setelah diberi perlakuan daun kubis dimasukkan ke dalam fial plastik yang sudah berisi larva *C. binotalis* instar 3. Pada tahap selanjutnya daun kubis yang telah habis dimakan larva uji diganti dengan daun kubis tanpa kontaminasi virus. Kemudian perubahan yang terjadi pada larva uji diamati sesuai parameter pengamatan.

3.6 Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan terbagi menjadi 2, diantaranya:

***Stop feeding* (berhenti makan).** Parameter ini dilakukan untuk mengetahui lama waktu *Sl*NPV JTM 97C mempengaruhi larva *C. binotalis* dalam berhenti makan. Semakin cepat larva berhenti makan maka kemungkinan kematian larva semakin cepat. *Stop feeding* dilakukan pengamatan pada 1 JSI, 2 JSI, 3 JSI, 4 JSI, 6 JSI, 8 JSI, 12 JSI, 14 JSI, 16 JSI, 18 JSI, 20 JSI, 22 JSI, 24 JSI. (JSI=jam setelah inokulasi). Menurut Bedjo (2008), persentase larva *S. litura* berhenti makan dihitung dengan menggunakan rumus:

$$B = \frac{b}{n} x\ 100\%$$

Keterangan:

B = Persentase berhenti makan larva S. litura

b = Jumlah larva *S. litura* uji yang berhenti makan

n = Jumlah larva uji

Mortalitas (kematian larva). Pengamatan kematian larva dilakukan dengan cara menghitung jumlah larva yang mati setelah aplikasi. Pengamatan dilakukan setiap hari sekali sampai larva mengalami kematian atau mengalami perubahan metamorphosis berupa pupa. Menurut Bedjo (2008), persentase mortalitas larva *S. litura* dihitung dengan menggunakan rumus:

$$P = \frac{p}{n} x\ 100\%$$

Keterangan:

P = Persentase kematian larva *S. litura*

p : jumlah larva uji yang mati

n : jumlah larva uji

3.7 Analisis Data

Analisis data hasil percobaan dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan menggunakan uji F pada taraf 5% dan apabila sidik ragam menunjukkan pengaruh nyata pada perlakuan maka dilakukan uji lanjutan dengan Beda Nyata Terkecil (BNT) taraf 5%.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Persentase *Stop Feeding* Larva *C. binotalis*

Pengamatan *stop feeding* dimulai pada 4 jam setelah inokulasi *Sl*NPV JTM 97C dan dilakukan pengamatan setiap 4 jam setelah inokulasi hingga pengamatan berakhir pada 24 jam setelah inokulasi. Hasil analisis menunjukkan bahwa pada pengamatan 4 jam setelah inokulasi masih ada yang belum menunjukkan gejala awal *stop feeding*. Kondisi ini diduga bahwa polihedral yang tertelan melalui pakan belum memberikan efek pada proses pencernaan larva, kondisi ini disebut sebagai proses inkubasi. Proses awal inkubasi ditandai dengan mulai masuknya polihedral ke dalam tubuh larva, memulai replikasi virus hingga larva mulai menunjukkan gejala infeksi. Larva *C.binotalis* yang menunjukkan gejala *stop feeding* dimulai pada 4 jam setelah inokulasi, yaitu pada perlakuan *Sl*NPV JTM 97C yaitu pada suhu 25°C, 30°C, 35°C, dan setiap perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda nyata (Tabel lampiran 1).

Tabel 1. Persentase larva *C.binotalis* yang berhenti makan pada perlakuan suhu

Perlakuan	Hasil persentase stop feeding larva *C.binotalis* (%)					
	Pengamatan pada … (JSI)					
	4	8	12	16	20	24
25°C	21,09^{b}	29,87^{c}	31,67^{c}	31,67^{c}	40,00^{c}	43,33^{c}
30°C	19,47^{b}	27,54^{c}	31,67^{c}	30,52^{c}	38,33^{bc}	38,33^{bc}
35°C	7,87^{b}	14,65^{b}	21,09^{b}	21,09^{b}	23,83^{b}	23,84^{b}
40°C	0,78^{a}	0,78^{a}	4,33^{a}	4,33^{ab}	18,19^{a}	18,19^{a}
45°C	0,78^{a}	0,78^{a}	0,78^{a}	4,33^{a}	7,87^{a}	7,87^{a}

Sumber Data: Data Primer, dianalisis tahun 2014

Keterangan: JSI= jam setelah inokulasi. Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5% uji BNT, sebelum dilakukan analisis data ditransforasi dengan rumus Arcsin = ASIN(SQRT(X/100))).

Pada tabel di atas menunjukkan bahwa jumlah larva *C.binotalis* berhenti makan pada berbagai waktu pengamatan nyata dipengaruhi oleh berbagai perlakuan suhu. Hal ini berarti efektivitas *Sl*NPV JTM 97C waktu berhenti makan dipengaruhi oleh suhu.

Larva *C.binotalis* yang tertular *Sl*NPV JTM 97C mennjukkan gejala berhenti makan seperti apabila larva disentuh tetap diam, gerakan mulai lambat, nafsu makam berkurang dan akhirnya berhenti makan. Menurut Athihah (2011), larva *S. litura* yang sudah tertular *Sl*NPV JTM 97C akan menunjukkan tanda awal gejala berhenti makan seperti ketika larva disentuh akan tetap diam. Sedangkan menurut Bedjo (2005), gejala larva *S. litura* yang berhenti makan diamati dari gerakan larva yang mulai melambat, nafsu makan berkurang dan akhirnya berhenti makan. Hal sesuai yang dialami pada larva *C.binotalis* saat berhenti makan.

Hasil analisis statistik terhadap data larva *C.binotalis* berhenti pada pengamatan 4 JSI sudah menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata antara perlakuan dengan menggunakan suhu (Tabel lampiran 1). Larva *C.binotalis* berhenti makan terlihat pada saat pengamatan 4 JSI pada perlakuan suhu 25°C sebesar 21,09%, 30°C sebesar 19,47%, dan 35°C sebesar 7,87%, tetapi pada perlakuan suhu 40°C dan 45°C belum menunjukkan gejala berhenti makan (Gambar 8). Hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu sangat berpengaruh terhadap efektivitas dari isolat *Sl*NPV JTM 97C.

Pada waktu pengamatan 8 JSI sama seperti waktu pengamatan 4 JSI yaitu dari semua perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ((Tabel lampiran 2) Larva yang menunjukkan gejala berhenti makan yaitu larva dengan perlakuan suhu 25°C sebesar 29,87%, 30°C sebesar 27,54%, dan 35°C sebesar 16,65%. Tetapi, pada suhu 35°C tersebut sudah menunjukkan perbedaan yang nyata dengan suhu 25°C dan 30°C. Sedangkan pada perlakuan suhu 40°C dan 45°C belum juga menunjukkan gejala berhenti makan (Gambar 8). Menurut (Pachiappan and Narayanaswamy, 2012) bahwa pengaruh suhu pada infeksi serangga dengan badan inklusi polyhedral (PIB) mulai terinfeksi pada suhu 35 °C.

Pada waktu pengamatan 12 JSI larva yang menunjukkan gejala berhenti makan yaitu larva pada perlakuan suhu 25°C sebesar 31,67%, 30°C sebesar 31,67%, 35°C sebesar 21,09%, dan 40°C sudah mulai menunjukkan gejala berhenti makan yaitu sebesar 4,33%. Tetapi pada perlakuan 45°C belum menunjukkan gejala mortalitas (Gambar 8). Dari semua perlakuan tersebut pada

hasil analisis yang berbeda nyata (Tabel lampiran 3). Hal ini disebabkan dengan suhu tinggi berpengaruh tehadap waktu berhenti makan pada larva *C.binotalis.*

Sedangkan pada pengamatan 16 JSI sudah menunjukkan gejala berhenti makan pada semua perlakuan. Jumlah larva *C.binotalis* yang berhenti makan pada perlakuan suhu 25°C sebesar 31,67%, 30°C sebesar 30,52%, 35°C sebesar 21,09%, 40°C sebesar 4,33%, dan 45°C 4,33%. Dari kelima perlakuan tersebut menunjukkan perbedaan yang nyata (Tabel lampiran 4). Dimana persentase jumlah larva yang menunjukkan gejala berhenti makan tertinggi yaitu larva pada perlakuan 25°C diikuti 30°C, 35°C, 40°C, dan 45°C. Perlakuan 25°C tidak berbeda nyata dengan 30°C, tetapi 25°C dan 30°C berbeda nyata dengan 35°C. Sedangkan perlakuan 40°C dan 45°C tidak berbeda nyata tetapi 45°C dengan 35°C berbeda nyata.

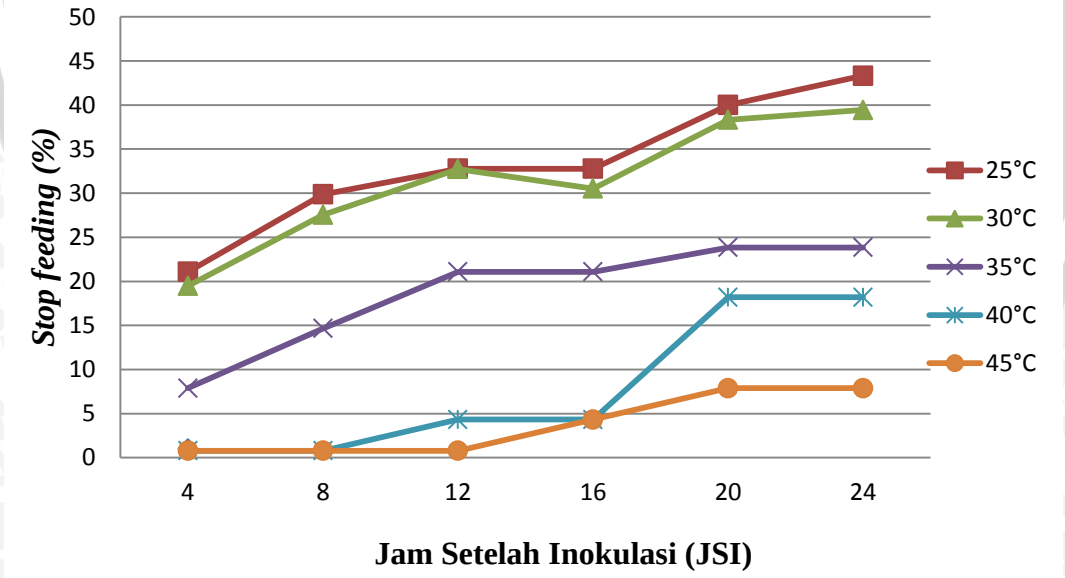
Pada waktu pengamatan 20 JSI sama seperti waktu pengamatan 16 JSI dimana terjadi penambahan jumlah larva yang menunjukkan gejala berhenti makan. Dari semua perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata (Tabel lampiran 5). Pada perlakuan 45°C sebesar 7,87% tidak berbeda nyata dengan dengan perlakuan 40°C sebesar 18,19%. Tetapi 45°C dengan 40°C berbeda nyata dengan 35°C sebesar 23,83%. Sedangkan perlakuan 25°C dengan 30°C tidak berbeda nyata dengan presetase berhenti makan berturut-turut yaitu sebesar 40,00% dan 38,33%. Tetapi 25°C berbeda nyata dengan perlakuan 35°C. Sedangkan pada waktu pengamatan 24 JSI sama seperti waktu pengamatan 20 JSI baik jumlah persentase maupun hasil analisisnya menunjukkan perbedaan yang nyata (Tabel lampiran 6).

Hasil pengamatan stop feeding menunjukkan bahwa perbandingan waktu tercepat yang dibutuhkan *Sl*NPV JTM 97C dengan menggunakan perlakuan suhu yaitu pada waktu 4 JSI adalah perlakuan suhu terendah (25°C), sedangkan pada perlakuan suhu tertinggi (45°C), waktu tercepat yang dibutuhkan untuk larva menunjukkan gejala yaitu pada 16 JSI. Perbedaan lama waktu ini diduga bahwa poliheral virus yang telah di beri perlakuan suhu tertinggi akan mengalami penurunan jumlah PIB. Sehingga berpengaruh terhadap waktu berhenti makan dari larva *C.binotalis* tersebut.

Pada pengamatan terakhir dapat disimpulkan bahwa perlakuan *Sl*NPV JTM 97C dengan menggunakan suhu 25°C mempunyai tingkat persentase *stop feeding* yang lebih cepat. Dapat dikatakan bahwa *Sl*NPV JTM 97C pada suhu 25°C masih mempunyai tingkat efektivitas yang tetap. Persentase tertinggi berikutnya yaitu pengaruh *Sl*NPV JTM 97C pada suhu 30°C persentase mortalitas 38,33%, kemudian diikuti oleh perlakuan dengan menggunakan suhu 35°C besar persentasenya 23,84%. Sedangkan perlakuan *Sl*NPV JTM 97C pada suhu 40°C dan 45°C persentasenya 18,19% dan 7,87%.

Bedjo (2005) menjelaskan bahwa bila terjadi infeksi secara terus-menerus, hal ini akan merusak seluruh jaringan usus dan kondisi di dalam jaringan hemolimfa akan terlihat keruh karena penuh cairan NPV yang merupakan hasil replikasi virion-virion yang baru terbentuk di dalam hemosol (rongga tubuh) dan jaringan lainnya seperti sel epidermis, sel lemak dan trakea.

Hasil analisis *stop feeding* larva *C.binotalis* mengalami peningkatan dengan bertambahnya waktu pengamatan. Hasil pengamatan *stop feeding* disajikan pada grafik dibawah ini:



Gambar 8. Grafik stop feeding larva *C.binotalis*.

Sanjaya, dkk (2010) menjelaskan, mekanisme terjadinya infeksi hingga menyebabkan kematian larva diawali dengan tertelannya polihedra yang masuk

bersama makanan ke dalam tubuh larva, selanjutnya akan tercerna di dalam usus tengah larva. Membran yang membungkus polihedra tersebut akan melarut di dalam usus tengah serangga karena kondisi basa pada daerah tersebut. Tahap selanjutnya, virion akan melakukan fusi dengan membran plasma dan menembus membran peritrofik atau sel-sel epitel usus tengah yang merupakan target primer infeksi NPV. Di dalam sitoplasma, virion akan melepaskan nukleokapsid. Nukleokapsid yang tersisa selanjutnya akan masuk ke dalam nukleus sambil melepaskan DNAnya dan membentuk stroma virogenik. Dalam kondisi inilah, virion tersebut melakukan replikasi atau memperbanyak diri di dalam inti sel inangnya. Selanjutnya inti sel yang telah terinfeksi membesar, kemudian lisis dan mengeluarkan turunan virion baru hasil replikasi virus.

Bedjo (2008) menyimpulkan bahwa semakin cepat waktu yang dibutuhkan dalam *stop feeding*, maka semakin tinggi tingkat efektivitasnya. Hal ini diduga karena perlakuan *Sl*NPV JTM 97C dengan suhu rendah sehingga dimungkinkan struktur polyhedral yang tertelan masuk ke dalam tubuh larva tidak mengalami kerusakan oleh suhu tinggi. Kemungkinan yang kedua adalah perlakuan tersebut tidak mengalami penurunan jumlah PIBs sehingga polihedral semakin cepat terlisis dalam tubuh larva dari pada yang mengalami penurunan PIBs. Dugaan ini diperkuat oleh Knittel & Fairbrother (1887), bahwa semakin tinggi suhu inkubasi maka akan mematikan virus dan memperlambat proses replikasi dari virus tersebut.

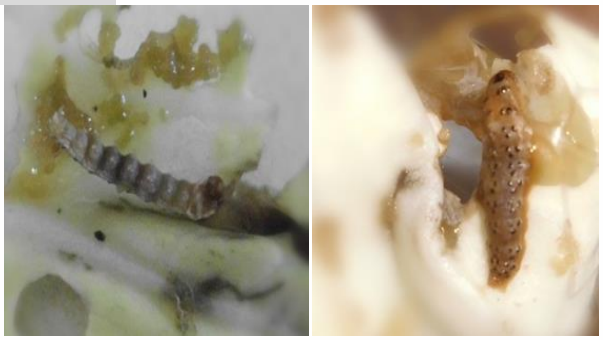
4.2 Persentase Mortalitas Larva *C. binotalis*

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa inokulasi *Sl*NPV JTM 97C dengan konsentrasi 4,2 x 10^{12} PIBs/ml menyebabkan kematian hingga 91,66% pada hari ketujuh dengan perlakuan suhu 25°C. Gejala larva yang terinfeksi *Sl*NPV JTM 97C terlihat bahwa tubuh larva berwarna pucat, larva tidak aktif bergerak, tubuh larva lembek dapat mengeluarkan cairan berwarna coklat susu yang mengandung banyak terdapat polihedra dan aktivitas makan berkurang. Kondisi ini terlihat setelah 24 jam perlakuan.

Gejala infeksi *Sl*NPV JTM 97C pada larva *C. binotalis* akan terlihat setelah hari pertama perlakuan diikuti pada hari berikutnya. Dalam waktu 1 – 2 hari

setelah polihedra tertelan, larva yang terinfeksi akan mengalami gejala abnormal secara morfologis, fisiologis dan perilakunya. Secara morfologis, hemolimfa ulat yang semula jernih berubah keruh, tubuh membengkak akibat replikasi atau perbanyakan partikel-partikel virus NPV, dan integumen larva biasanya menjadi lunak, rapuh, dan mudah sobek. Secara fisiologis, larva tampak berminyak dan terjadi perubahan warna tubuh menjadi pucat kemerahan, terutama di bagian abdomen. Larva cenderung merayap ke pucuk tanaman, berkurangnya kemampuan makan gerakan yang lambat. Apabila tubuh larva pecah maka akan mengeluarkan cairan kental berwarna coklat susu, terdapat banyak polihedra pada tubuh serangga yang terinfeksi *Sl*NPV, kemudian mati dalam keadaan menggantung dengan kaki semunya pada bagian tanaman (Granados & Federici 1986).

(a) (b)



(c) (d)

Gambar 9. Kematian larva *C.binotalis*

Keterangan: 9a) larva *C.binotalis* yang sehat, 9b) larva dewasa sakit, tubuh membengkak dan abdomen berwarna kemerahan, 9c) larva mati menempel diujung daun, 9d) tubuh larva *C.binotalis* yang sudah rusak dan hancur.

Berdasarkan data hasil pengamatan kematian larva *C.binotalis* sudah terjadi saat waktu pengamatan 24 JSI pada masing-masing perlakuan. Hal ini dikarenakan isolat *Sl*NPV JTM 97 C yang digunakan pada penelitian ini memiliki tingkat virulensi yang tinggi sehingga menyebabkan kematian larva *C.binotalis* sudah terjadi pada saat 24 JSI yang biasanya kematian larva akan terjadi 2-9 setelah aplikasi NPV yang diuji pada larva *S.litura* (Arifin, 1991). Begitu juga yang dinyatakan oleh Granados & William (1986) bahwa masa infeksi NPV sampai larva yang terserang mati dipengaruhi oleh banyak faktor diantaranya umur larva, suhu, dan banyaknya PIB yang tertelan. Isolat virus yang lebih virulen dapat mematikan larva dalam 2 – 5 hari, tetapi isolat yang kurang virulen membutuhkan 2 – 3 minggu untuk mematikan inangnya. Hal ini didasarkan oleh laporan Bedjo (2011), yang menyatakan penggunaan isolat *Sl*NPV JTM 97 C yang diaplikasikan di wilayah Kendalpayak pada saat pengamatan 24 JSI menunjukkan kematian larva *S.litura* sebesar 5,99%. Pada penelitian ini menggunakan larva *C.binotalis* yang hasilnya pada 24 JSI sudah menunjukkan kematian larva sebesar 14,96%. Hasil analisis statistik terhadap kematian *C.binotalis* pada setiap pengamatan 24 JSI dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Persentase larva *C.binotalis* yang mengalami kematian pada perlakuan suhu

Perlakuan	Hasil persentase mortalitas larva *C.binotalis* (%)						
	Pengamatan pada … (HSI)						
	1	2	3	4	5	6	7
25°C	14,96^{a}	22,22^{b}	32,56^{c}	50,00^{c}	61,66^{b}	75,00^{d}	91,66^{c}
30°C	11,10^{a}	23,03^{b}	29,77^{bc}	44,43^{c}	52,77^{b}	61,67^{cd}	70,00^{c}
35°C	7,87^{a}	9,49^{a}	19,80^{abc}	29,99^{bc}	39,44^{ab}	46,67^{bc}	55,00^{b}
40°C	4,39^{a}	5,94^{a}	16,58^{ab}	19,80^{ab}	24,00^{a}	27,70^{ab}	28,83^{b}
45°C	4,39^{a}	4,39^{a}	11,42^{a}	16,58^{a}	19,47^{a}	22,70^{a}	25,12^{a}

Keterangan: HSI= hari setelah inokulasi. Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5% uji BNT, sebelum dilakukan analisis data ditransforasi dengan rumus Arcsin = ASIN(SQRT(X/100))).

Hasil pengamatan pada 1 HSI, belum menunjukkan adanya perbedaan yang nyata (Tabel lampiran 7). Pengaruh perlakuan pada suhu 25, 30, 35, 40, dan

45°C yaitu menyebabkan mortalitas pada larva *C.binotalis* berturut-turut sebesar 14,96; 11,10; 11,10; 4,39; da 4,39%.

Pada pengamatan mortalitas 2 HSI, *Sl*NPV JTM 97C pada semua perlakuan sudah menunjukkan gejala mortalitas yang berbeda nyata (Tabel lampiran 8). Perlakuan 25°C sampai perlakuan 45°C telah menunjukkan gejala mortalitas masing-masing berurutan sebesar 22,22; 23,03; 9,49; 5,94; dan 4,39%. Pengamatan dari 1 HSI ke 2 HSI sudah mengalami peningkatan. Hal ini dikarenakan jumlah PIBs yang tertelan dalam perut larva sudah bereaksi. *Polyhedral inclusion body* (PIB) akan terus beriplikasi di dalam tubuh larva sehingga jumlah PIB akan bertambah banyak. Jumlah PIB yang terdapat dalam tubuh larva akan berpengaruh dengan mortalitas larva Bedjo (2005).

Pada pengamatan mortalitas 3 HSI menunjukkan gejala mortalitas yang berbeda nyata (Tabel lampiran 9). Pada perlakuan 45°C sebesar 11,42% menunjukkan adanya gejala mortalitas terendah terhadap *C.binotalis* jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini dikarenakan di dalam perut larva jumlah PIB yang tertelan sedikit akibat dari suhu tinggi sehingga larva belum menunjukkan gejala mortalitas. Sedangkan perlakuan 25°C sampai perlakuan 40°C telah menunjukkan gejala mortalitas masing-masing berurutan sebesar 32,56; 29,77; 19,80; dan 16,58%. Persentase mortalitas tertinggi yaitu pada perlakuan 25°C. Sedangkan terendah terjadi pada perlakuan 45°C. Diduga bahwa polihedral yang masuk kedalam tubuh larva *C.binotalis* telah banyak yang terdegradasi kualitas serta kuantitasnya karena suhu tinggi yang sangat lama.

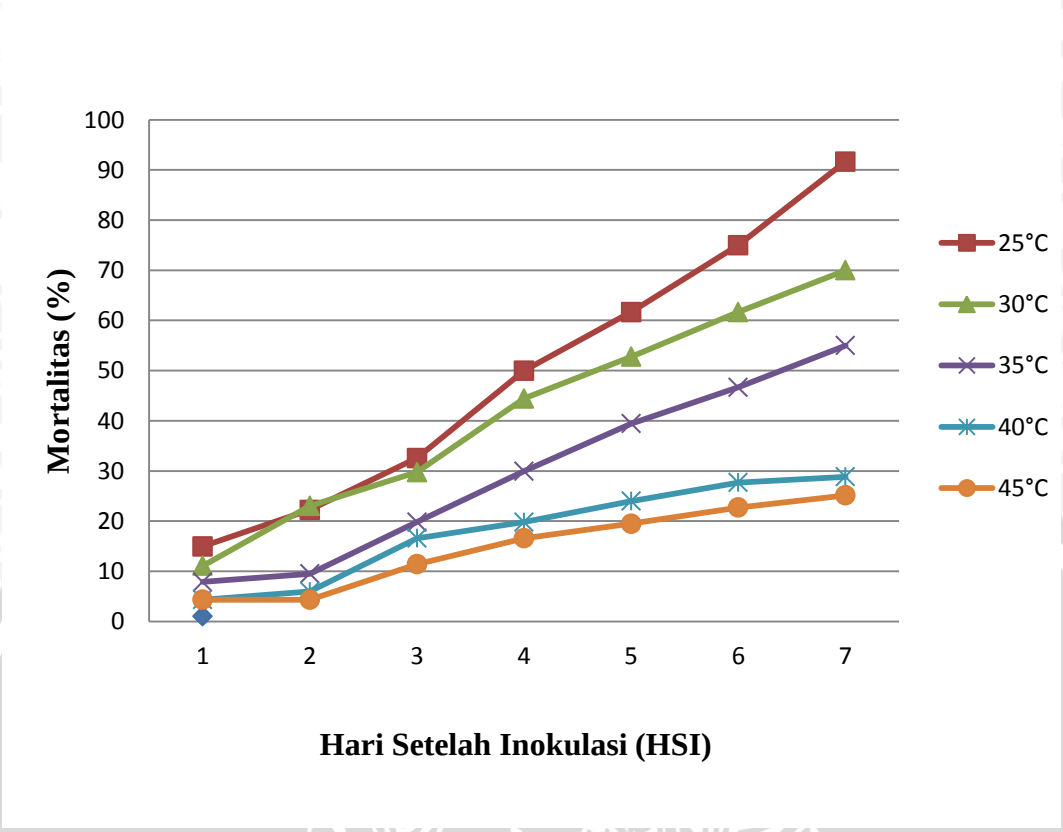
Pengamatan mortalitas 4 HSI secara keseluruhan perlakuan telah menunjukkan adanya mortalitas dengan besar persentase yang beragam. Perlakuan 25°C sampai perlakuan 45°C telah menunjukkan gejala mortalitas masing-masing berurutan sebesar 50,00; 44,43; 29,99; 19,80; dan 16,58% menunjukkan adanya berbeda nyata (Tabel lampiran 10). Perbandingan perlakuan antara 25°C dengan 30°C tidak berbeda nyata, dan 30°C dengan 35°C juga tidak berbeda nyata. Tetapi 25°C dengan 35°C berbeda nyata.

Pada pengamatan mortalitas 5 HSI, perlakuan telah menunjukkan adanya mortalitas dengan besar persentase yang beragam dan hasil analisis yang berbeda nyata (Tabel lampiran 11). Persentase antara pengamatan 4 HSI dengan 5 HSI

tidak jauh berbeda. Tetapi persentase mortalitas bertambah dan hasil analisis pada perlakuan 30°C sebesar 52,77% tidak berbeda nyata dengan 25°C sebesar 61,66% tetapi berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Hubungan *stop feeding* dengan mortalitas dapat dilihat dengan persentase larva *C.binotalis* berhenti makan yang tertinggi adalah pada perlakuan 25°C. Pada pengamatan mortalitas larva yang tertinggi adalah pada perlakuan 25°C. Terdapat hubungan antara persentase *stop feeding* dengan persentase mortalitas larva *C.binotalis*. Hubungan diantara keduanya bersifat berbanding lurus. Semakin cepat larva *C.binotalis* menunjukkan gejala *stop feeding*, maka tingkat mortalitas larva *C.binotalis* juga semakin tinggi. Dugaan tersebut sesuai laporan Bedjo (2012) bahwa kecepatan waktu *stop feeding* akan mengakibatkan tingkat persentase mortalitas larva semakin besar.

Pada pengamatan mortalitas 6 HSI, jumlah mortalitas tertinggi tetap pada perakuan 25°C dengan persentase mencapai 75,00%. Sedangkan perlakuan lainnya yaitu 30°C sampai 45°C telah menunjukkan gejala mortalitas masing-masing berurutan sebesar 61,67; 46,67; 27,70; dan 22,70% menunjukkan adanya hasil analisis yang berbeda nyata (Tabel lampiran 12). Hasil persentase ini semakin bertambah dari pengamatan 5 HSI.

Pengamatan 7 HSI merupakan pengamatan terakhir mortalitas. Sampai hari ke 7 secara keseluruhan perlakuan telah menunjukkan adanya mortalitas dengan besar persentase yang beragam. Perlakuan 25°C sampai 45°C telah menunjukkan gejala mortalitas masing-masing berurutan sebesar 91,67; 70,00; 55,00; 28,83; dan 25,12% menunjukkan adanya berbeda nyata (Tabel lampiran 13). Hasil pengamatan mortalitas disajikan pada grafik dibawah ini:



Gambar 10. Grafik mortalitas larva *C.binotalis*

Berdasarkan hasil pengamatan dapat dilihat bahwa mortalitas larva *C.binotalis* mulai terjadi pada 1 HSI. Pada setiap hari pengamatan mortalitas larva pada perlakuan 25°C sampai 45°C terus meningkat sampai pengamatan ke-7.. Peningkatan mortalitas pada perlakuan 25°C sampai 45°C tersebut mengalami perbedaan. Hal ini disebabkan karena jumlah PIB yang tertelan oleh larva berbeda juga. Perlakuan kontrol suhu 25°C mempunyai jumlah mortalitas yang sangat tinggi yaitu sampai hari ketujuh sebanyak 91,6%. Sedangkan mortalitas terendah yaitu pada perlakuan suhu 45°C sebesar 16,58%. Pengaruh suhu inkubasi yang lebih tinggi pada infeksi NPV larva lepidoptera sangat berpengaruh. Suhu di atas 32 °C akan memperlambat terjadinya infeksi pada larva. Sedangkan pada suhu 40 °C virus NPV tidak berkembang sama sekali dalam tubuh larva yang terinfeksi (Knittel & Fairbrother, 1887).

Replikasi NPV pada serangga dihambat oleh suhu tinggi di atas 35°C. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penghambatan suhu juga mulai terjadi pada suhu 40°C. Virus tidak mati pada suhu 37°C, tetapi mulai menunjukkan

persentase mortalitas yang bertambah pada waktu 96 jam atau 4 HSI. Selain itu pada suhu 37°C jumlah PIB sudah mulai berkurang. Oleh karena itu temperatur yang lebih tinggi replikasi virus sudah mulai terganggu. Virus efektif pada suhu 25°C dengan banyaknya PIBs maka dapat menunjukkan infeksi cukup tinggi. Hal ini sesuai dari hasil penelitian ini dimana mortalitas tertinggi terjadi pada perlakuan suhu 25°C yaitu sebesar 91,6%. Virus terhambat pada suhu yang lebih tinggi karena pertumbuhan sel yang sangat lambat. Replikasi virus memerlukan enzim (misalnya DNase , transcriptase, mRNA) (Knittel & Fairbrother, 1987).

V. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pengaruh suhu awal yang berbeda mempunyai efektivitas yang berbeda pula terhadap *Sl*NPV JTM 97C dalam mengendalikan larva *C.binotalis.* Suhu yang efektif pada *Sl*NPV JTM 97C adalah suhu 25°C dan suhu 30°C dengan persentase mortalitas sebesar 91,6% dan 70,00%. Sedangkan perlakuan suhu 40°C dan 45°C pada *Sl*NPV JTM 97C dengan persentase mortalitas hanya sebesar 28,83% dan 25,12% tidak efektif untuk mengendalikan *C.binotalis*.

5.2 Saran

Perlu dilakukan uji lanjutan aplikasi di lapangan agar diketahui apakah suhu lapang berpengaruh terhadap infektifitas *Sl*NPV JTM 97C, serta uji coba larva lain untuk mengetahui apakah *Sl*NPV JTM 97C efektif untuk semua jenis larva lepidoptera.

DAFTAR PUSTAKA

Ahmad, H. 2007. *Laporan Hama Ulat Krop (Crocidolomia binotalis Zell.) (Lepidoptere : Pyralidae) pada Kubis (Brassica oleracea L.).* Dizited by IPB e-repository copy right. (on line). http://repository.ipb.ac.id/ diunduh pada 19 Desember 2013.

Arifin, M. 1991. *Bioekologi, serangan dan pengendalian hama pemakan daun kedelai*. Lokakarya Pengendalian Hama Terpadu Tanaman Kedelai. Malang, 8-11 Agustus 1991

Arifin, M. 1993. *Perkembangan Penelitian Pengendalian Ulat Grayak Spodoptera litura F. Dengan SlNPV JTM 97C pada Kedelai*. Hal 171-183. Dalam Martono,E., E.Mahrub, N.S. Putra, & Y. Trisetiawati (Ed). Pros. Simposium Patologi Serangga I. Yogyakarta, 12-13 Oktober 1993. PEI Cabang Yogyakarta. Fakultas Pertanian UGM. Program Nasional PHT/BAPPENAS.

Arifin, M. 2000. *Bioinsektisida NPV Untuk Pengendalian Hama Tanaman Pangan, Tanaman Industri, dan Sayuran*. Gelar Teknologi BPTPH lV, Satgas DKI Jakarta, 22 November 2000. 10 p.

Arifin, M. 2011. *Pengendalian Hama dan Penyakit Tanaman Kubis*. Badan Pelaksana Penyuluhan Pertanian Perikanan dan Kehutanan. Lampung Timur.

Arifin, M. 2012. *Bioinsektisida SlNPV JTM 97C untuk Mengendalikan Ulat Grayak Mendukung Swasembada Kedelai*. Jurnal Pengembangan Inovasi Pertanian 5 (1): 22.

Athihah, W.R. 2011. *Uji Virulensi Spodoptera litura Nuclear Polyhedrosis Virus (SlNPV JTM 97C) Isolat Sumatera Selatan Terhadap Spodoptera Litura Fabricus (Lepidoptera: Noctuidae) pada Tanaman Kedelai Glicyn max di Laboratorium. [Skripsi]. Malang. Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. hal.31-35*

Bakir, M.A. 2001. *Spodoptera litura Nukleo Polihidrosis Virus* (*SlNPV JTM 97C*) : Pengaruh Faktor Alam Sekitar dan Perbaikan Aplikasi di Lapangan. Fakultas Kehutanan Universitas Putra Malaysia

Bedjo. 2005. *Potensi, Peluang, dan Tantangan Pemanfaatan Spodoptera Litura Nuclear Polyhedrosis Virus (SlNPV JTM 97C) untuk Pengendalian Spodoptera litura Fabricius pada Tanaman Kedelai*. hal:1-19. Proseding Seminar Hasil Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi (Balitkabi). Malang.

Bedjo. 2008. *Potensi Berbagai Isolat SlNPV JTM 97C Asal Jawa Timur untuk Pengendalian Spodoptera Litura pada Tanaman Kedelai*. Tesis Program Studi Ilmu Tanaman Kekhususan Perlindungan Tanaman. Thesis Universitas Brawijaya. Malang.

Bedjo. 2011. *Keefektifan Beberapa Isolat SlNPV JTM 97C untuk Pengendalian Hama Daun dan Penggerek Polong pada Tanaman Kedelai*. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi. Malang.

Bedjo. 2012. *Peningkatan Efektivitas Helicoverpa Armigera Nuclear Polyhedrosis Virus dengan Beberapa Bahan Pembawa untuk Mengendalikan Hama Polong Kedelai Helicoverpa Armigera (Hubner).* Buletin Palawija 23: 41.

Embriani. 2013. *Teknik Perbanyakan SlNPV JTM 97C Skala Laboratorium*. http://ditjenbun.deptan.go.id/bbp2tpsur/teknik-perbanyakan-SlNPV JTM 97C-skala-laboratorium.html. Diunduh pada 23 Nopember 2013

Finn, L. 2004. *Crocidolomia pavonana*, F. (Lepidoptera:Pyralidae). Hunter Region School of Photography in Newcastle. (on line). *http://www.usyd.edu.au/-macleay/larvae/cram/pavon.html*. diunduh pada 19 Desember 2013

Granados RR, Federici BA. 1986. *The Biologi of Baculovirus*. Volume II. Practikcal Application for Insect Control. Florida: CRC Press

Granados, R.R., William B.K. 1986. *In Vivo Infection and Replication of Baculviruses.* P. 90-104. In The Biology of Baculoviruses. CRC Press: Boca Raton, Florida. Edited by Granados RR, Federici BA

Hadioestomo, R.S. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. PT. Gramedia. Jakarta. Hal 193

Jumar. 1997. *Entomologi Pertanian*. Rineka Cipta. Jakarta.

Knittel,. Fairbrother, 1987. *Effects of Temperature and pH on Survival of Free Nuclear Polyhedrosis Virus of Autographa californica*. American Society for Microbiology.

Koswanudin, D., Arifin M, dan Harnoto. 2002. *Kompatibilitas SlNPV JTM 97C Dengan Ekstrak Biji Mimba Untuk Mengendalikan Ulat Grayak Pada Kedelai*, pp. 343-347. *Dalam* Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman. Bogor, 26-17 Desember 2001.

Lacey, L.A., Frutos, R., Kaya H.K., Vail P. 2001. *Insect Patogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future*?.*Biol Cont* 21: 230-248.

Moekasan, T. 1998. *Insektisida Mikroba Untuk Mengendalikan Ulat Bawang Spodoptera exigua.* Balai Penelitian Tanaman Sayuran. Lembang Bandung. Hal 6.

Narayanan, K. 2004. *Insect Defence: Its Impact on Microbial Cantrol of Insect Pests*. *Current Sci* 86; 6:800-814.

Pachiappan, Narayanaswamy. 2012. *Effect of sunlight and temperature on the Nuclear Polyhedrosis Virus of Mulberry Leaf-Roller, Diaphania pulverulentalis (Hampson).* University of Agricultural Sciences. Bangalore Karnataka India

Payne, C.C., Kelly, D.C. 1981. *Identification of Insect and Mite Viruses*, p. 61-91. *ln* H.D Burges (*Ed*.). Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980. Academic Press, London.

Pracaya, 2001. *Hama dan Penyakit Tanaman*. Penebar Swadaya, Jakarta.

Priharyanto, D. 1993. *Efficacy of The Different HaNPV Strains Againts Cotton Bollworm, Helicoverpa armigera (Hubner).* Hal 144-156. *Dalam* Martono, E.,E. Mahrub, N.S. Putra, & Y. Trisetiawati (Ed). Pros. Simposium Patologi Serangga I. Yogyakarta, 12-13 Oktober 1993. PEI Cabang Yogyakarta. Fakultas Pertanian UGM. Program Nasional PHT/BAPPENAS.

Purnamasari, R.D. 2006. *Keefektifan CRY1B dan CRY1C Bacillus thuringiensis B. terhadap Ptutella xylostella L. (Lepidoptera:Yponomeutidae) dan Crocidolomia pavonana L. (Lepidoptera:Pyralidae).* Program Studi Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, IPB. Bogor.

Sajap, A.S., Bakir, M.A., Kadir, H.A., Samad, N.A. 2007. *Effect of pH, Rearing Temperature and Sunlight on Infectivity of Malaysian Isolate of Nucleopolyhedrovirus to Larvae of Spodoptera litura (Lepidoptera:Noctuidae).* [Abstrak]. Jurnal Tropical Insect Science.27: 108-113.

Sanjaya, Y., Machmudin, D., Kurniawati, N. D. 2010. *Kajian Histologist Infeksi SlNPV JTM 97C terhadap Berat Badan dan Kerusakan Membrane Peritrofik Larva Spodoptera Litura.* Jurnal Bioteknologi 8 (2) : 78-85

Santosa, J., Sartono, S. 2007. *Laporan Penelitian Kajian Insektisida Hayati terhadap Daya Bunuh Ulat Ptutella xylostell dan Crocidolomia binotalis pada Tanaman Kubis Krop*. Balai Penelitian dan Pengembangan, Departemen Pertanian RI. Jakarta. (on line) http://www.deptan.go.id/. diunduh pada 19 Desember 2013.

Sastrosiswojo, S., Setiawati, W. 2009. *Biology and Control of Crocidolomia binotalis in Indonesia.* Lembang Horticultural Research Institute (LEHRI).Bandung

Shapiro, M., D.J. Im, J.R. Adam & J.L. Vauhn. 1994. *Comparative Effectiveness of Limantria Nuclear Polyhedrosis and Cytoplasmic Polyhedrosis Virues Against The Gypsy Mont (Lepidoptera; Lymantriidae*). Jur. Econ. Entomol. 87(1): 72-75.

Susniahti,N., Sumeno,H., dan Sudarjat. 2005. *Bahan Ajar Ilmu Hama Tumbuhan*. Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran. Makasar.

Tambunan, M. 2011. *Laporan Hama Ulat Krop (Crocidolomia binotalis Zell.) (Lepidoptera : Pyralidae) Pada Kubis (Brassica oleracea.Linn.)* (on line). http://marktambunan.blogspot.com/2011/11/laporan-hama-ulat-krop-crocidolomia.html. diunduh pada 19 Desember 2013.

Tanada Y, Kaya H K. 1993. *Insect Pathology*. California: Academic Press.

Triharso. 1996. *Dasar-Dasar Perlindungan Tanaman*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta

Uhan, T.S. 2007. *Efikasi Ekstrak Kasar Baculovirus Crocidolomia pavonana Trhadap Ulat Krop Kubis di Rumah Kaca*. Balai Penelitian Tanaman Sayuran. Lembang Bandung.

Wahyuni, S. 2006. *Perkembangan Hama dan Penyakit Kubis dan Tomat pada Tiga Sistem Budidaya Pertanian di Desa Sukagalih Kecamatan Megamendung Kabupaten Bogor*. Program Studi Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, IPB. Bogor.

Wikipedia. 2014. *Baculovirus*. (http://en.wikipedia.org/wiki/Baculovirus. (Diakses tanggal 30 Mei 2014).

LAMPIRAN

Tabel Lampiran 1. Analisis ragam stop feeding larva *C.binotalis* akibat infeksi *SlNPV JTM 97C* pada 4 JSI

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	Fhitung	Ftabel
Perlakuan	4	2839,68	709,9199	29,28248	6,39
Galat	15	363,6577	24,24384		
Total	19	3203,337			

Tabel Lampiran 2. Analisis ragam stop feeding larva *C.binotalis* akibat infeksi *SlNPV JTM 97C* pada 8 JSI

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	Fhitung	Ftabel
Perlakuan	4	5972,877	1493,219	55,97201	6,39
Galat	15	400,1694	26,67796		
Total	19	6373,047			

Tabel Lampiran 3. Analisis ragam stop feeding larva *C.binotalis* akibat infeksi *SlNPV JTM 97C* pada 12 JSI

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	Fhitung	Ftabel
Perlakuan	4	8702,033	2175,508	103,1589	6,39
Galat	15	316,3337	21,08892		
Total	19	9018,367			

Tabel Lampiran 4. Analisis ragam stop feeding larva *C.binotalis* akibat infeksi *SlNPV JTM 97C* pada 16 JSI

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	Fhitung	Ftabel
Perlakuan	4	7961,048	1990,262	75,12479	6,39
Galat	15	397,3912	26,49275		
Total	19	8358,439			

Tabel Lampiran 5. Analisis ragam stop feeding larva *C.binotalis* akibat infeksi *SlNPV JTM 97C* pada 20 JSI

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	Fhitung	Ftabel
Perlakuan	4	12897,42	3224,355	92,27723	6,39
Galat	15	524,1307	34,94205		
Total	19	13421,55			

Tabel Lampiran 6. Analisis ragam stop feeding larva *C.binotalis* akibat infeksi *SlNPV JTM 97C* pada 24 JSI

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	Fhitung	Ftabel
Perlakuan	4	14061,58	3515,395	109,8509	6,39
Galat	15	480,0229	32,00153		
Total	19	14541,6			

Tabel Lampiran 7. Analisis ragam mortalitas larva *C.binotalis* akibat infeksi *SlNPV JTM 97C* pada 1 HSI

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	Fhitung	Ftabel
Perlakuan	4	1429,22	357,305	5,773251	6,39
Galat	15	928,3461	61,88974		
Total	19	2357,566			

Tabel Lampiran 8. Analisis ragam mortalitas larva *C.binotalis* akibat infeksi *SlNPV JTM 97C* pada 2 HSI

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	Fhitung	Ftabel
Perlakuan	4	3738,062	934,5155	11,81281	6,39
Galat	15	1186,656	79,11037		
Total	19	4924,718			

Tabel Lampiran 9. Analisis ragam mortalitas larva *C.binotalis* akibat infeksi *SlNPV JTM 97C* pada 3 HSI

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	Fhitung	Ftabel
Perlakuan	4	8780,968	2195,242	45,27319	6,39
Galat	15	727,3318	48,48878		
Total	19	9508,3			

Tabel Lampiran 10. Analisis ragam mortalitas larva *C.binotalis* akibat infeksi *SlNPV JTM 97C* pada 4 HSI

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	Fhitung	Ftabel
Perlakuan	4	19326,03	4831,508	81,2783	6,39
Galat	15	891,6601	59,44401		
Total	19	20217,69			

Tabel Lampiran 11. Analisis ragam mortalitas larva *C.binotalis* akibat infeksi *SlNPV JTM 97C* pada 5 HSI

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	Fhitung	Ftabel
Perlakuan	4	29113,99	7278,499	65,26659	6,39
Galat	15	1672,793	111,5195		
Total	19	30786,79			

Tabel Lampiran 12. Analisis ragam mortalitas larva *C.binotalis* akibat infeksi *SlNPV JTM 97C* pada 6 HSI

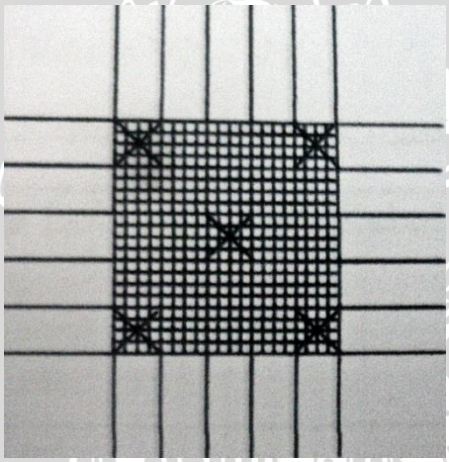
Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	Fhitung	Ftabel
Perlakuan	4	41241,97	10310,49	122,2927	6,39
Galat	15	1264,649	84,30996		
Total	19	42506,62			

Tabel Lampiran 13. Analisis ragam mortalitas larva *C.binotalis* akibat infeksi *SlNPV JTM 97C* pada 7 HSI

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	Fhitung	Ftabel
Perlakuan	4	56927,88	14231,97	559,247	6,39
Galat	15	381,7268	25,44845		
Total	19	57309,61			

Perhitungan PIB *SlNPV JTM 97C*

a. Siapkan mikroskop Binokuler dengan perbesaran optimum 40x.
b. Siapkan Haemocytometer dan larutan *SlNPV JTM 97C* dengan pengenceran paling tinggi (10^5).
c. Pasang Haemocytometer dengan sempurna, kemudian teteskan larutan *SlNPV JTM 97C* yang telah dikocok sebelumnya, dengan menggunakan spet di bagian tengah alur Haemocytometer.
d. Tutup dengan cover, biarkan selama 3-5 menit supaya larutan stabil.
e. Hitung jumlah PIB yang berada di dalam blok pencatat dan hitung rata-rata dari lima blok sampel yang diamati misalnya = t. Seperti pada gambar di bawah ini



Rumus untuk menghitung kerapatan PIB

$$r = \frac{t\ x\ d}{n\ x\ 0{,}25}\ x\ 10^6$$

Keterangan :

r : Kerapatan PIB (PIB/ml)
d : Faktor pengenceran
t : Jumlah PIB pada kotak yang dihitung
n : Jumlah kotak kecil

Tabel Lampiran 14. Kerapatan PIB isolat *SlNPV JTM 97C* Jtm 97c

x	1	2	3	4	5	jumlah	rata-rata
1	15	11	9	11	14	60	12.0
2	5	9	6	6	4	30	6.0
3	5	13	4	1	9	32	6.4
4	10	18	10	10	12	60	12.0
5	17	23	19	10	12	81	16.2
			Jumlah			263	

$$r = \frac{t\ x\ d}{n\ x\ 0.25}\ x\ 10^6 = \frac{263\ x\ 10^5}{25\ x\ 0.25}\ x\ 10^6$$
$$= 4.2\ x\ 10^{12}$$