WARTA PPKS 1999, Vol. 7(1): 31-39

KARAKTERISASI VIRUS *β NUDAURELIA* PADA ULAT PEMAKAN DAUN KELAPA SAWIT *SETOTHOSEA ASIGNA* VAN EECKE (LEPIDOPTERA : LIMACODIDAE)

Sudharto Prawirosukarto

ABSTRAK

Dalam upaya pemanfaatan virus untuk mengendalikan populasi ulat pemakan daun kelapa sawit (UPDKS) Setothosea asigna *van Eecke (Lepidoptera : Limacodidae) di Indonesia, khususnya di Sumatera Utara, telah dilakukan beberapa kegiatan penelitian terhadap virus* β Nudaurelia *yang merupakan penyebab utama penyakit pada UPDKS tersebut, meliputi identifikasi sifat fisiko-kimianya, pengembangan metode diagnosis dan pengujian patogenisitasnya di laboratorium. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa partikel virus tersebut berbentuk segi delapan simitris (icosahedra), tanpa selubung (ampelop), berdiameter sekitar 35 nm, dan mempunyai densitas apung pada gradian cesium chloride sebesar 1,275. Kapsid virus tersusun oleh satu jenis protein dengan berat molekul sebesar 55.000 daltons. Asam nukleat virus berupa satu molekul RNA rantai tunggal dengan ukuran sekitar 6,2 kilobase. Metode* Enzyme linked immunosorbent assay *(ELISA) dengan menggunakan antibodi poliklonal terbukti dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan virus* β Nudaurelia *sampai dengan 2,6 ng partikel virus di dalam 100 µl cairan tubuh UPDKS* S. asigna. *Hasil pengamatan di laboratorium menunjukkan bahwa UPDKS* S. asigna *yang diinfeksi dengan virus tersebut akan mati dalam waktu 2- 11 hari, semakin muda UPDKS yang terinfeksi virus* β Nudaurelia *maka akan semakin cepat mengalami kematian.*

Kata kunci : Lepidoptera, Limacodidae, *Setothosea asigna*, *β Nudaurelia*, ELISA

PENDAHULUAN

Perkebunan kelapa sawit *Elaeis guineensis* Jacq. di Indonesia, khususnya di Sumatera Utara, sering diserang oleh ulat pemakan daun kelapa sawit (UPDKS) dari keluarga Limacodidae, ordo Lepidoptera, terutama *Setothosea asigna* van Eecke (9). Selama stadia larva diketahui bahwa UPDKS *S. asigna* dapat menghabiskan 300-500 cm^2 helaian daun kelapa sawit atau sekitar 3-5 anak daun (3). Hasil percobaan pengaruh kehilangan daun terhadap produksi, menunjukkan bahwa kehilangan daun sebesar 50% pada tanaman kelapa sawit yang berumur 1, 2 dan 8 tahun, mengakibatkan penurunan produksi kelapa sawit berturut-turut sebesar < 4%, 12-24% dan 30-40% (8, 12).

Penggunaan larutan ulat yang sakit untuk pengendalian hayati terhadap hama tersebut telah dicoba dilakukan pada tahun 1951 (6). Pada 1985, dijumpainya wabah alami penyakit virus pada UPDKS *S. asigna* di kebun Sei Kopas, PT Perkebunan Nusantara IV, kemudian ulat yang mati karena virus tersebut dikumpulkan dan disimpan di dalam kotak pendingin pada suhu -20°C. Selanjutnya dibuat suspensi virus dengan cara menggiling ulat api yang mati karena virus dan disaring dengan kain kelambu. Suspensi

virus tersebut ternyata dapat digunakan untuk membunuh UPDKS *S. asigna* yang semula sehat, dan diketahui bahwa penyebab kematian ulat tersebut adalah virus *β Nudaurelia* (4). Dalam upaya pemanfaatan virus *β Nudaurelia* untuk mengendalikan populasi UPDKS *S. asigna*, maka telah dilakukan beberapa kegiatan penelitian terhadap virus penyebab penyakit tersebut, yang meliputi identifikasi terhadap sifat fisiko-kimianya, pengembangan metode diagnosis dan uji patogenisitasnya di laboratorium.

BAHAN DAN METODE

Sifat fisiko-kimia virus

Identifikasi terhadap sifat fisiko-kimia virus tersebut dilakukan di laboratorium *Pathologie Comparee*, Universitas Montpellier II, Prancis. Partikel virus yang terkandung di dalam cairan tubuh bangkai ulat sakit dipurifikasi dengan menggunakan metode ultrasentrifugasi pada gradian densitas *renografine* 20%-76% (berat/berat). Bentuk dan ukuran partikel virus diamati di bawah mikroskop elektron transmisi dengan menggunakan metode kontras negatif asam fosfotungstik 1%, pH 7,0 dari Brenner dan Horne (2). Densitas apung virus ditentukan dengan ultrasentrifugasi pada gradian *cesium chloride* 15%-45% (berat/berat), serta dihitung berdasarkan indeks refraksi yang diukur dengan refraktometer ABBE pada suhu 25°C (1).

Analisis protein dari kapsid virus dilakukan dengan teknik elektrofores pada gel *Polyacrylamide-SDS* sesuai dengan metode Laemmli (7). Jenis asam nukleat virus ditentukan dengan menggunakan uji *diphenylamine* (5) dan uji *orcinol* (10). Setelah dilakukan ekstraksi asam nukleat virus dengan menggunakan metode fenol-kloroform, selanjutnya ukuran asam nukleat dianalisis dengan elektrofores pada gel agarose yang telah didenaturasi.

Metode diagnosis

Dalam upaya untuk mendeteksi keberadaan virus pada cairan tubuh ulat sakit maka dikembangkan teknik ELISA dengan menggunakan antibodi poliklonal. Antibodi tersebut dibuat pada kelinci dengan menggunakan virus murni sebagai antigen. Teknik ELISA yang digunakan adalah teknik tidak langsung sesuai dengan protokol dari Sanchez-Vizcaino dan Cambra-Alvarez (11). Pada teknik tersebut digunakan anti *IgG* kelinci yang telah dikonjugasi dengan enzim peroksidase, serta *2,2'-Azino-D-3-ethylbenzothiazoline* (ABTS) sebagai substrat enzim tersebut. Hal tersebut juga dilakukan di laboratorium *Pathologie Comparee*, Universitas Montpellier II, Prancis.

Patogenisitas

Pengujian patogenisitas virus tersebut dilakukan di laboratorium Proteksi Tanaman, Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS). Ulat sehat yang digunakan untuk percobaan ini dikumpulkan dari kawasan tanaman kelapa sawit muda yang tidak dijumpai adanya penyakit virus *β Nudaurelia*. Untuk menduga hal tersebut, dilakukan uji ELISA terhadap 10 contoh, masing-masing terdiri atas 10 ulat. Apabila semua hasil test negatif, maka langsung dilakukan pengutipan ulat dengan menggunakan pinset, dikumpulkan dan dimasukkan ke da-

lam kurungan kasa atau kantong plastik besar yang berisi daun kelapa sawit. Selanjutnya ulat sehat tersebut dibawa ke laboratorium dan dipelihara dalam kantong plastik berukuran 20x30 cm^2, berisi dua helaian daun kelapa sawit yang digulung dan dijepit bersama dengan staples. Dalam tiap kantong plastik dimasukkan 10 ekor ulat api, kemudian kantong plastik digembungkan dan diikat dengan karet. Setiap hari, kantong plastik dibuka untuk membersihkan kotoran ulat dan penggantian udara. Tiga hari sekali dilakukan penggantian helaian daun dan kantong plastik.

Infeksi virus terhadap ulat api sehat dilakukan melalui kontaminasi bahan makanan. Helaian daun kelapa sawit disemprot dengan larutan virus, dibiarkan sampai kering angin, kemudian diberikan sebagai makanan ulat api selama 3 hari. Selanjutnya, helaian daun diganti dengan helaian daun segar, tanpa perlakuan.

Dalam percobaan ini dilakukan infeksi virus terhadap UPDKS *S. asigna* instar 2-3 ; 4-5 ; 6-7 dan 7-8, masing-masing dibuat 5 ulangan dan setiap ulangan terdiri atas 10 ekor ulat. Dosis virus yang dicoba untuk semua instar ulat tersebut adalah 4 ; 2 ; 1 ; 0,5 dan 0g (kontrol) ulat mati karena virus per liter air suling. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap, terdiri atas 5 perlakuan dan 5 ulangan, untuk masing-masing instar ulat. Kontrol diletakkan pada ruangan lain yang berjarak sekitar 500 m dari ruangan yang digunakan untuk memelihara ulat yang diperlakukan dengan virus. Hal ini dimaksudkan untuk menghindari terjadinya kontaminasi virus pada kontrol.

Pengamatan terhadap jumlah ulat yang mati dilakukan setiap hari. Percobaan dihentikan apabila semua ulat mati setelah perlakuan dengan virus. Apabila dijumpai ulat yang berkepompong, maka dilakukan pengamatan juga terhadap jumlah ulat yang berkepompong. Selanjutnya kepompong ditempatkan di dalam kotak plastik, berukuran 25x25x25 cm, dan diisi dengan tanah lembab, kemudian diamati jumlah kepompong yang menjadi kupu-kupu. Kupu-kupu yang diperoleh kemudian dipasang-pasangkan di dalam kurungan kasa yang berisi helaian daun kelapa sawit serta kapas yang dibasahi dengan madu. Selanjutnya diamati jumlah telur yang dihasilkan per induk, serta persentase penetasan telur. Untuk mengetahui keberadaan virus pada tubuh ulat, kepompong atau kupu yang mati, dilakukan uji ELISA.

HASIL PERCOBAAN

Sifat fisiko-kimia virus

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa partikel virus tersebut berbentuk segi delapan simitris (*icosahedra*), tanpa selubung (ampelop), berdiameter sekitar 35 nm, dan mempunyai densitas apung pada gradian *cesium chloride* sebesar 1,275. Kapsid virus tersusun oleh satu jenis protein dengan berat molekul sebesar 55.000 daltons. Asam nukleat virus berupa satu molekul RNA rantai tunggal dengan ukuran sekitar 6,2 kilobase.

Metode diagnosis

Metode ELISA dengan menggunakan antibodi poliklonal terbukti dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan virus sampai 2,6 ng partikel virus di dalam 100 µl cairan tubuh UPDKS *S. asigna*.

Patogenisitas

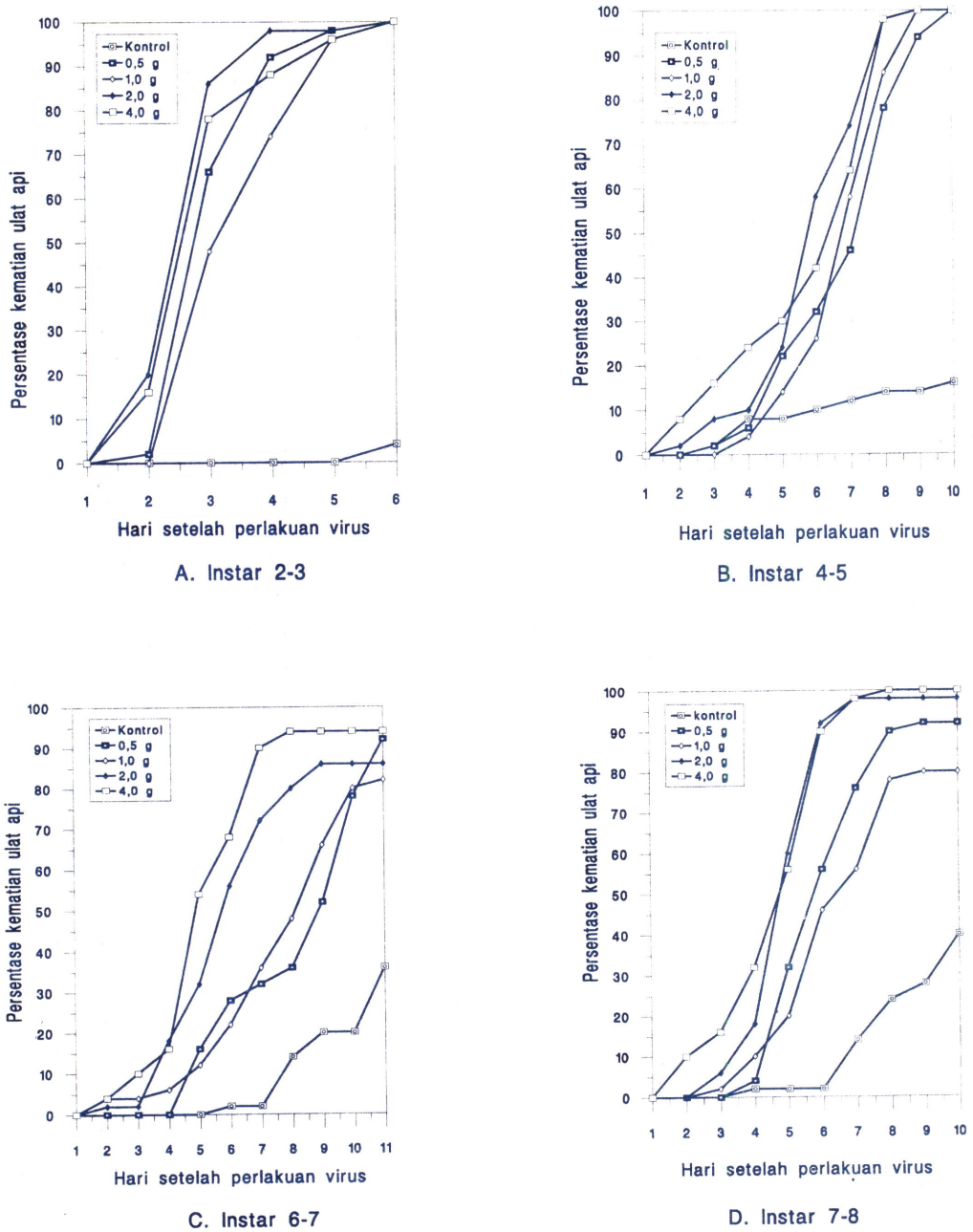
Hasil pengamatan terhadap persentase kematian ulat api *S. asigna* setelah perlakuan dengan suspensi virus menunjukkan bahwa ulat api instar 2-3 dan 4-5 semuanya mati, masing-masing pada 6 dan 10 hari setelah perlakuan, sedangkan kematian ulat api pada kontrol tidak lebih dari 4% untuk instar 2-3 dan 16% untuk instar 4-5. Perlakuan virus pada ulat api instar 6-7 dan 7-8 tidak mengakibatkan kematian total, kecuali perlakuan dengan 4 g ulat sakit per liter air suling pada ulat instar 7-8 (Tabel 1 dan Gambar 1). Sebagian ulat mampu berkepompong (Gambar 2A dan 2B) dan beberapa dari kepompong tersebut dapat menjadi kupu (Gambar 3A dan 3B), tetapi tidak menghasilkan telur.

Hasil uji ELISA terhadap ulat yang mati menunjukkan bahwa persentase seropositif lebih tinggi pada ulat yang diperlakukan dengan virus dibandingkan kontrol, kecuali pada ulat instar 6-7. Hampir semua kepompong yang mati ternyata seropositif, kecuali pada kontrol dan ulat instar 7-8 yang diperlakukan dengan 0,5 g ulat mati karena virus/liter air suling. Kupu kebanyakan juga seropositif, walaupun beberapa kupu yang diperoleh dari ulat instar 6-7 tanpa perlakuan (kontrol) dan ulat instar 6-7 serta 7-8 yang disemprot dengan dosis 1 g ulat mati karena virus/liter air suling menunjukkan hasil uji negatif (Tabel 2).

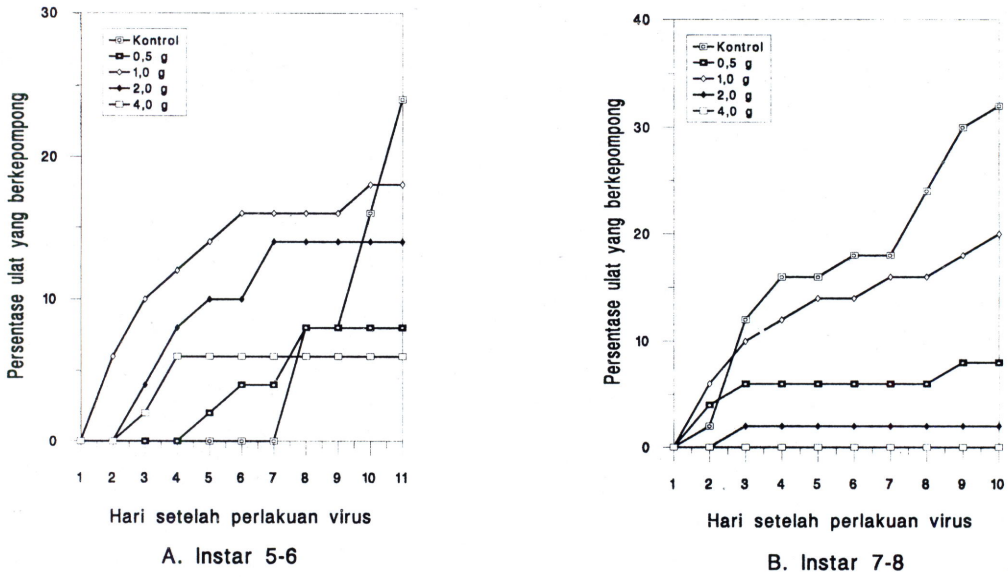
Tabel 1. Rata-rata persentase kematian ulat *S. asigna* setelah perlakuan dengan virus *β Nudaurelia* di laboratorium

Instar ulat *S. asigna*	Dosis *) virus	Hari setelah perlakuan dengan virus *β-Nudaurelia*									
		2		4		6		8		10	
		%M	SNK	%M	SNK	%M	SNK	%M	SNK	%M	SNK
2-3	Kontrol	0,0	a	0,0	a	4,0	a	-	-	-	-
	0,5	2,0	a	92,0	b	100,0	b	-	-	-	-
	1,0	0,0	a	74,0	b	100,0	b	-	-	-	-
	2,0	20,0	b	98,0	b	100,0	b	-	-	-	-
	4,0	16,0	b	88,0	b	100,0	b	-	-	-	-
4-5	Kontrol	0,0	a	8,0	a	10,0	a	14,0	a	16,0	a
	0,5	0,0	a	6,0	a	32,0	abc	78,0	b	100,0	b
	1,0	0,0	a	4,0	a	26,0	ab	86,0	bc	100,0	b
	2,0	2,0	a	10,0	a	58,0	c	98,0	c	100,0	b
	4,0	8,0	a	24,0	a	42,0	bc	98,0	c	100,0	b
6-7	Kontrol	0,0	a	0,0	a	2,0	a	14,0	a	20,0	a
	0,5	0,0	a	0,0	a	28,0	ab	36,0	a	78,0	b
	1,0	4,0	a	6,0	a	22,0	ab	48,0	ab	80,0	b
	2,0	2,0	a	18,0	a	56,0	bc	80,0	bc	86,0	b
	4,0	4,0	a	16,0	a	68,0	c	94,0	c	94,0	b
7-8	Kontrol	0,0	a	2,0	a	2,0	a	24,0	a	40,0	a
	0,5	0,0	a	4,0	a	56,0	b	90,0	b	92,0	b
	1,0	0,0	a	10,0	a	46,0	b	78,0	b	80,0	b
	2,0	0,0	a	18,0	ab	92,0	c	98,0	b	98,0	b
	4,0	10,0	b	32,0	b	90,0	c	100,0	b	100,0	b

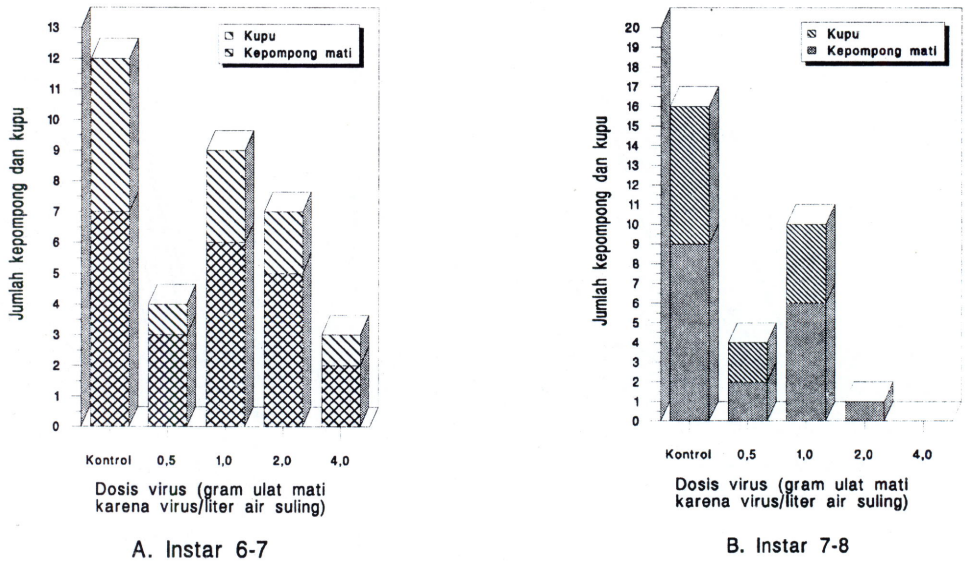
*) = gram ulat mati kerena virus per liter air suling
%M = persentase kematian ulat (%)
SNK = uji *Student-Newman-Keuls* 5% (huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata)



Gambar 1. Rata-rata persentase kematian ulat api *S. asigna* setelah perlakuan dengan virus β *Nudaurelia* di laboratorium



Gambar 2. Rata-rata persentase ulat api *S. asigna* yang berkepompong setelah perlakuan dengan virus *β Nudaurelia*



Gambar 3. Jumlah kepompong dan kupu *S. asigna* setelah perlakuan dengan virus *β Nudaurelia*

Tabel 2. Hasil uji ELISA terhadap ulat, kepompong dan kupu *S. asigna* yang mati setelah perlakuan dengan virus β *Nudaurelia*

Instar saat perlakuan	Dosis*) virus	Contoh	Jumlah contoh (%)	Hasil uji ELISA			
				Positif		Negatif	
				Jumlah	%	Jumlah	%
L2-3	0,0 (Kontrol)	Ulat.	2 (4)	0,0	0,0	2,0	100,0
		Kepompong.	0 (0)	0,0	0,0	0,0	0,0
		Kupu.	0 (0)	0,0	0,0	0,0	0,0
	0,5	Ulat.	50 (100)	5,0	10,0	45,0	90,0
		Kepompong.	0 (0)	0,0	0,0	0,0	0,0
		Kupu.	0 (0)	0,0	0,0	0,0	0,0
	1,0	Ulat.	50 (100)	17,0	34,0	33,0	66,0
		Kepompong.	0 (0)	0,0	0,0	0,0	0,0
		Kupu.	0 (0)	0,0	0,0	0,0	0,0
	2,0	Ulat.	50 (100)	37,0	74,0	13,0	26,0
		Kepompong.	0 (0)	0,0	0,0	0,0	0,0
		Kupu.	0 (0)	0,0	0,0	0,0	0,0
	4,0	Ulat.	50 (100)	22,0	44,0	28,0	56,0
		Kepompong.	0 (0)	0,0	0,0	0,0	0,0
		Kupu.	0 (0)	0,0	0,0	0,0	0,0
L4-5	0,0 (Kontrol)	Ulat.	8 (16)	2,0	25,0	6,0	75,0
		Kepompong.	0 (0)	0,0	0,0	0,0	0,0
		Kupu.	0 (0)	0,0	0,0	0,0	0,0
	0,5	Ulat.	50 (100)	46,0	92,0	4,0	8,0
		Kepompong.	0 (0)	0,0	0,0	0,0	0,0
		Kupu.	0 (0)	0,0	0,0	0,0	0,0
	1,0	Ulat.	50 (100)	50,0	100,0	0,0	0,0
		Kepompong.	0 (0)	0,0	0,0	0,0	0,0
		Kupu.	0 (0)	0,0	0,0	0,0	0,0
	2,0	Ulat.	50 (100)	50,0	100,0	0,0	0,0
		Kepompong.	0 (0)	0,0	0,0	0,0	0,0
		Kupu.	0 (0)	0,0	0,0	0,0	0,0
	4,0	Ulat.	50 (100)	41,0	82,0	9,0	18,0
		Kepompong.	0 (0)	0,0	0,0	0,0	0,0
		Kupu.	0 (0)	0,0	0,0	0,0	0,0
L6-7	0,0 (Kontrol)	Ulat.	18 (36)	11,0	61,1	7,0	38,9
		Kepompong.	7 (14)	7,0	100,0	0,0	0,0
		Kupu.	5 (10)	2,0	40,0	3,0	60,0
	0,5	Ulat.	46 (92)	43,0	93,5	3,0	6,5
		Kepompong.	3 (6)	3,0	100,0	0,0	0,0
		Kupu.	1 (2)	1,0	100,0	0,0	0,0
	1,0	Ulat.	41 (82)	29,0	70,7	12,0	29,3
		Kepompong.	6 (12)	6,0	100,0	0,0	0,0
		Kupu.	3 (6)	1,0	33,3	2,0	66,7
	2,0	Ulat.	43 (86)	24,0	55,8	19,0	54,2
		Kepompong.	5 (10)	5,0	100,0	0,0	0,0
		Kupu.	2 (4)	2,0	100,0	0,0	0,0
	4,0	Ulat.	47 (94)	43,0	91,5	4,0	8,5
		Kepompong.	2 (4)	2,0	100,0	0,0	0,0
		Kupu.	1 (2)	1,0	100,0	0,0	0,0
L7-8	0,0 (Kontrol)	Ulat.	20 (40)	13,0	65,0	7,0	35,0
		Kepompong.	9 (18)	5,0	55,5	4,0	44,5
		Kupu.	7 (14)	7,0	100,0	0,0	0,0
	0,5	Ulat.	46 (92)	44,0	95,6	2,0	4,4
		Kepompong.	2 (4)	0,0	0,0	2,0	100,0
		Kupu.	2 (4)	2,0	100,0	0,0	0,0
	1,0	Ulat.	40 (80)	40,0	100,0	0,0	0,0
		Kepompong.	6 (12)	6,0	100,0	0,0	0,0
		Kupu.	4 (8)	3,0	75,0	1,0	25,0
	2,0	Ulat.	49 (98)	49,0	100,0	0,0	0,0
		Kepompong.	1 (2)	1,0	100,0	0,0	0,0
		Kupu.	0 (0)	0,0	0,0	0,0	0,0
	4,0	Ulat.	50 (100)	50,0	100,0	0,0	0,0
		Kepompong.	0 (0)	0,0	0,0	0,0	0,0
		Kupu.	0 (0)	0,0	0,0	0,0	0,0

* g ulat mati karena virus per liter air suling

PEMBAHASAN

Sifat fisiko-kimia virus *β Nudaurelia* yang dijumpai pada UPDKS *S. asigna* tersebut ternyata hampir sama dengan virus *β Nudaurelia* (Tetraviridae) yang ditemukan pada jenis serangga lain. Selanjutnya, teknik ELISA ternyata dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan virus *β Nudaurelia* dalam cairan tubuh UPDKS *S. asigna*, dengan tingkat kepekaan sampai dengan 2,6 ng partikel virus dalam 100 µl cairan tubuh ulat sakit. Mengingat kemudahan di dalam pelaksanaan teknik tersebut di lapangan, maka teknik ini sesuai untuk diterapkan sebagai suatu metode diagnosis terhadap virus dimaksud. Teknik tersebut akan besar manfaatnya untuk mengontrol kualitas dari bahan virus (ulat mati karena virus) yang dikumpulkan dari kebun kelapa sawit, serta untuk mendeteksi terjadinya wabah virus tersebut di perkebunan kelapa sawit.

Hasil pengamatan terhadap jumlah ulat api yang mati setelah perlakuan dengan virus, secara keseluruhan menunjukkan bahwa virus tersebut berpengaruh nyata terhadap kematian ulat api. Namun demikian, tidak terdapat perbedaan yang nyata antara tingkatan dosis yang diuji. Pada ulat api instar 2-3, persentase kematian ulat api mencapai 100% dalam waktu 6 hari setelah perlakuan untuk semua dosis yang dicoba. Sementara pada kontrol kematian ulat api hanya mencapai 4%. Walaupun demikian, hasil uji ELISA terhadap ulat yang mati tersebut, menunjukkan bahwa sebagian besar negatif. Hal ini kemungkinan disebabkan jumlah virus yang ada di tubuh ulat mati tersebut terlalu sedikit, sehingga di bawah kemampuan uji ELISA untuk mendeteksinya. Hal ini bisa saja terjadi mengingat ulat instar 2-3 tersebut terlalu peka dan terlalu cepat mati, sehingga virus yang masuk ke dalam tubuh ulat tidak cukup waktu untuk memperbanyak diri secara maksimum.

Perlakuan virus juga mampu mengakibatkan kematian 100% pada ulat instar 4-5. Walaupun waktu yang dibutuhkan sedikit lebih lama (10 hari), tetapi hasil uji ELISA menunjukkan bahwa hampir semua ulat yang mati ternyata seropositif. Hal ini menunjukkan bahwa proses infeksi dan perbanyakan virus di dalam ulat instar 4-5 berlangsung lebih baik dibandingkan pada ulat instar 2-3.

Sebaliknya, perlakuan virus pada ulat api instar 6-7 ternyata tidak dapat mengakibatkan kematian 100%. Sebagian ulat berkepompong dan selanjutnya menjadi kupu. Walaupun, jumlah ulat yang mati jauh lebih banyak dibandingkan pada kontrol, demikian juga ulat yang berkepompong jauh lebih sedikit dibandingkan kontrol. Akan tetapi, kalau dilihat dari waktu mulainya ulat berkepompong, maka ada kecenderungan bahwa perlakuan virus, khususnya dengan dosis 1 g ulat mati karena virus/liter air suling, dapat mempercepat waktu berkepompong. Hal ini kemungkinan merupakan upaya ulat api tersebut untuk menyelamatkan dirinya dan keturunannya. Walaupun, semua kupu betina yang keluar ternyata tidak menghasilkan telur. Menurut hasil uji ELISA, sebagian besar kepompong dan kupu menunjukkan reaksi positif, yang berarti masih dijumpai adanya partikel virus di dalam tubuhnya. Ada kemungkinan bahwa virus tersebut dapat berpengaruh terhadap perkembangan kepompong serta kesuburan kupu. Namun hal ini perlu diteliti lebih

jauh dengan menggunakan jumlah contoh yang lebih banyak.

Pengaruh perlakuan virus pada ulat api instar 7-8, tidak jauh berbeda dengan yang terjadi pada instar 6-7, tetapi waktu mulainya berkepompong tidak berbeda antara ulat yang diperlakukan dengan virus dan kontrol.

KESIMPULAN

Virus *β Nudaurelia* yang menjadi penyebab penyakit pada UPDKS *S. asigna* asal kebun S. Kopas, PTPN IV, berbentuk segi delapan simitris (*icosahedra*), tanpa selubung (ampelop), berdiameter sekitar 35 nm, dan mempunyai densitas apung pada gradian *cesium chloride* sebesar 1,275. Kapsid virus tersusun oleh satu jenis protein dengan berat molekul sebesar 55.000 daltons. Asam nukleat virus berupa satu molekul RNA rantai tunggal dengan ukuran sekitar 6,2 kilobase.

Teknik ELISA dengan menggunakan antibodi poliklonal sesuai untuk diterapkan sebagai metode diagnosis virus *β Nudaurelia* pada UPDKS *S. asigna* di perkebunan kelapa sawit.

Perlakuan virus *β Nudaurelia* ternyata dapat memberikan pengaruh yang nyata terhadap kematian UPDKS *S. asigna* instar 2-3 ; 4-5 ; 6-7 ; 7-8 dan tidak dijumpai perbedaan yang nyata antara tingkatan dosis yang diuji : 4 g ; 2 g ; 1 g dan 0,5 g ulat mati karena virus/liter air suling. Ulat mengalami kematian pada 2-11 hari setelah perlakuan dengan virus, semakin muda ulat ternyata semakin cepat proses kematiannya.

Berdasarkan hasil uji ELISA, ternyata virus *β Nudaurelia* dapat bertahan sampai pada stadia kepompong dan kupu dari *S. asigna*.

DAFTAR PUSTAKA

1. ANDERSON N.G. and ANDERSON N.L. 1976. Handbook of biochemistry and molecular biology. Vol. I physical and chemical data. G.D. FASMAN Ed., CRC Press, Cleveland (Ohio). pp. 419-423.
2. BRENNER S. and HORNE R.W. 1959. A negatif staining method for high resolution electron microscopy of viruses. *Biochim. Biophys. Acta,* 34, 103-110.
3. DESMIER DE CHENON, R. 1982. Field guide for coconut and oil palm pests and diseases and plantation sanitary protection. Dir. Gen. of Estate, Spec. Team for the Ext. Ass. Proj., Jakarta, April 1982. 195 p.
4. DESMIER DE CHENON, R., D. MARIAU, P. MONSARRAT, G. FEDIERE and A. SIPAYUNG. 1988. Recherches sur les agents entomopathogènes d'origin virale. Oléaginaux, 43, 107-117.
5. GILES, K. W. and MYERS A. 1965. An improved Diphenylamine method for the estimation of desoxyribonucleic acid. *Nature, London, 206.* 93.
6. KALSHOVEN, L.G.E. 1981. Pests of crop in Indonesia. Revised by Van der Laan, P.A. ; Rothschild, G.H.L. Jakarta. PT. Ichtiar Baru, Van Hoeve, Jakarta. 701 p.
7. LAEMMLI, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, London, *227.* 680-685.
8. LIAU, S.S. and A. AHMAD. 1993. Defoliation and crop loss in young oil palms. 1993 PORIM Int. Palm Oil congr. Update and Vision (Agriculture). pp. 408-425.
9. LUBIS, A.U. 1992. Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) di Indonesia. Pusat Penelitian Perkebunan Marihat-Bandar Kuala, P. Siantar, Sumatera Utara, Indonesia. 435 p.
10. MEJBAUM, W.Z. 1959. Ueber die bestimung kleiner pentosemengen insbesonder in derivaten der adenylsaüre. Z. Physiol. Chem., 258. 117-120.
11. SANCHES-VIZCAINO, J.M. and CAMBRA-ALVAREZ, M. 1987. Technique immuno-enzymatiques ELISA en pathologie animale et végétale. 2e ed., Serie technique no. 7. Office Int. des Epizooties-Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. 71p.
12. WOOD, B.J., R.H.V. CORLEY and K.H. GOH. 1972. Studies on the effect of pest damage on oil palm yield. *In* Advanced in oil palm cultivation (R.L. WASTRIE and D.A. EARP eds.). The Incorp. Soc. of Plant., K. Lumpur. pp. 360-379.