



# INFEKTIVITAS VIRUS DAN TINGKAT TRANSKRIPSI GEN *pif Spodoptera litura* NUCLEOPOLYHEDROVIRUS (*SpltNPV*) ISOLAT BOGOR

MICHAEL CHRISTIAN



PROGRAM STUDI PENGENDALIAN HAMA TERPADU  
FAKULTAS PERTANIAN  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2024

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa penelitian dengan judul “Infektivitas Virus dan Tingkat Transkripsi Gen *pif Spodoptera litura* Nucleopolyhedrovirus (*SpLitNPV*) Isolat Bogor” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun pada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir usulan penelitian ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, November 2024

*Michael Christian*  
NIM A3503231022

## RINGKASAN

MICHAEL CHRISTIAN. Infektivitas Virus dan Tingkat Transkripsi Gen *pif* *Spodoptera litura* Nucleopolyhedrovirus (*SpltNPV*) Isolat Bogor. Dibimbing oleh YAYI MUNARA KUSUMAH dan KIKIN HAMZAH MUTAQIN.

Ulat grayak (*Spodoptera litura*) merupakan salah satu spesies hama penting yang menyerang banyak jenis komoditas pertanian di Indonesia, antara lain tembakau, kacang tanah, kedelai, talas, dan cabai. Pengendalian ulat grayak dapat dilakukan secara biologis melalui pemanfaatan entomopatogen berupa Nucleopolyhedrovirus. Karakter morfologi dan fisiologi dari NPV dikendalikan oleh informasi genetik yang terdapat di dalam genom virus. Gen *per os infectivity factor* (*pif*) merupakan salah satu gen yang berperan dalam proses infeksi virus pada sel epitel usus halus inang. Informasi lengkap mengenai gen *pif* NPV perlu dilakukan untuk mempelajari faktor virulensi virus yang diperlukan sebagai acuan dalam aplikasi pengendalian hayati hama. Penelitian ini bertujuan menguji infektivitas isolat, memperoleh informasi karakter genetik, dan tingkat transkripsi gen *pif* dari *SpltNPV* asal Bogor.

Pengujian infektivitas isolat *SpltNPV* dilakukan dengan menginokulasikan virus pada lima konsentrasi yang berbeda ( $1 \times 10^5$ ,  $5 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $5 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  POBs/ml) ke larva instar ke-3 pada pakan buatan. Karakterisasi genetik dari tiga gen *pif*, yakni *pif-1*, *pif-2*, dan *pif-3* dilakukan dengan mengamplifikasi sampel DNA dari larva yang terinfeksi NPV menggunakan primer spesifik. Produk PCR disekuensing kemudian sekuens DNA dianalisis dengan program BioEdit, BLAST, MEGA, dan ExPasy untuk memperoleh informasi homologi, filogeni, dan struktur asam amino dari *SpltNPV* isolat Bogor. Pengamatan tingkat transkripsi gen *pif* dilakukan dengan menginokulasi virus dengan konsentrasi  $1 \times 10^6$  POBs/ml pada larva instar ke-3, kemudian mengamplifikasi sampel RNA dari ulat terinfeksi menggunakan teknik *Real-Time Quantitative Reverse Transcription* PCR (RT-qPCR). Data amplifikasi dari qPCR kemudian diolah berdasarkan metode *relative quantification* untuk memperoleh nilai ekspresi relatif dari gen *pif-1*.

Hasil uji infektivitas *SpltNPV* Bogor menunjukkan bahwa konsentrasi tertinggi  $1 \times 10^7$  POBs/ml dan terendah  $1 \times 10^5$  POBs/ml mengakibatkan mortalitas larva *S. litura* berturut-turut sebesar 100 dan 73,3 % pada 14 hari setelah inokulasi (HSI). Analisis probit menunjukkan nilai  $LD_{50}$  dan  $LT_{50}$  terbaik secara berturut-turut sebesar  $8,45 \times 10^4$  POBs/ml dan 5,38 hari. Berdasarkan hasil analisis sekuens, gen *pif-1*, *pif-2*, dan *pif-3* dari isolat Bogor memiliki nilai persentase kemiripan paling tinggi secara berturut-turut sebesar 99,56%, 99,37% dan 100% jika dibandingkan dengan isolat *SpltNPV* KY dan T0 asal Cina. Analisis homologi dan filogeni menunjukkan *SpltNPV* asal Bogor memiliki kekerabatan paling tinggi dengan isolat *SpltNPV* asal Cina dan Jepang. Hasil analisis tingkat transkripsi menunjukkan bahwa gen *pif-1* pada *SpltNPV* Bogor mengalami peningkatan ekspresi pada 49 dan 72 jam setelah inokulasi yang ditandai dengan nilai ekspresi relatif secara berturut-turut sebesar 24,32 dan 28,13 dalam logaritma berbasis 2.

Kata kunci: Baculoviridae, faktor infektivitas, filogeni, kuantifikasi relatif, qPCR



## SUMMARY

MICHAEL CHRISTIAN. Viral Infectivity and Transcription Rate of *pif* Gene of *Spodoptera litura* Nucleopolyhedrovirus from Bogor Isolate. Supervised by YAYI MUNARA KUSUMAH and KIKIN HAMZAH MUTAQIN.

Tobacco cutworm (*Spodoptera litura*) is an important pest species that attacks many types of agricultural commodities in Indonesia, including tobacco, peanuts, soybeans, taro, and chili. Control of armyworms can be done biologically through the utilization of entomopathogens in the form of Nucleopolyhedrovirus. The morphological and physiological characters of NPV are controlled by genetic information contained in the viral genome. The per os infectivity factor (*pif*) gene is one of the genes that plays a role in the process of viral infection of host small intestinal epithelial cells. Complete information on the NPV *pif* gene is necessary to study the virulence factor of the virus which is needed as a reference in pest biological control applications. This study aims to test the infectivity of isolates, obtain information on genetic characters, and transcription levels of the *pif* gene of *Splt*NPV from Bogor.

Infectivity testing of *Splt*NPV isolates was conducted by inoculating five different virus concentrations ( $1 \times 10^5$ ,  $5 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $5 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  POBs/ml) in third instar larvae on artificial feed. Genetic characterization of the three *pif* genes, *pif-1*, *pif-2*, and *pif-3*, was performed by amplifying DNA samples from NPV-infected larvae using specific primers. PCR products were sequenced, and DNA sequences were analyzed with BioEdit, BLAST, MEGA, and ExPasy programs to obtain information on homology, phylogeny, and amino acid structure of *Splt*NPV Bogor isolates. Observation of the transcription level of the *pif* gene was carried out by inoculating the virus with a concentration of  $1 \times 10^6$  POBs/ml in third instar larvae, then amplifying RNA samples from infected caterpillars using the *Real-Time Quantitative Reverse Transcription* PCR (RT-qPCR). Amplification data from qPCR was then processed based on the relative quantification method to obtain the relative expression value of the *pif-1* gene.

The infectivity test results of *Splt*NPV Bogor showed that the highest concentration of  $1 \times 10^7$  POBs/ml and the lowest concentration of  $1 \times 10^5$  POBs/ml resulted in mortality of *S. litura* larvae of 100 and 73,3%, respectively, at 14 days post inoculation (DPI). Probit analysis showed the best LD<sub>50</sub> and LT<sub>50</sub> values of  $8,45 \times 10^4$  POBs/ml and 5,38 days, respectively. Based on the results of sequence analysis, the *pif-1*, *pif-2*, and *pif-3* genes from the Bogor isolate had the highest similarity percentage values of 99,56%, 99,37% and 100%, respectively, when compared to *Splt*NPV KY and T0 isolates from China. Homology and phylogeny analysis showed that *Splt*NPV from Bogor had the highest kinship with *Splt*NPV isolates from China and Japan. Transcription level analysis showed that the *pif-1* gene in Bogor *Splt*NPV had increased expression at 49 and 72 hours after inoculation, characterized by relative expression values of 24,32 and 28,13 in log<sub>2</sub>, respectively.

Keywords: Baculoviridae, infectivity factor, phylogeny, qPCR, relative quantification



- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2024  
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

*Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.*

*Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.*

# **INEKTIVITAS DAN TINGKAT TRANSKRIPSI GEN *pif* *Spodoptera litura* NUCLEOPOLYHEDROVIRUS (*SpltNPV*) ISOLAT BOGOR**

**MICHAEL CHRISTIAN**

Tesis  
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Magister pada  
Program Studi Pengendalian Hama Terpadu

**PROGRAM STUDI PENGENDALIAN HAMA TERPADU  
FAKULTAS PERTANIAN  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2024**

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



**@Hak cipta milik IPB University**

Penguji Luar Komisi pada Ujian Tesis:  
Dr. Sari Nurulita S.P., M.Si.

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Judul Tesis

: Infektivitas Virus dan Tingkat Transkripsi Gen *pif Spodoptera litura* Nucleopolyhedrovirus (*Spl*NPV) Isolat Bogor

Nama  
NIM

: Michael Christian  
: A3503231022

@Hak cipta milik IPB University

Disetujui oleh,

Ketua Komisi Pembimbing:

Dr. Ir. R. Yayi Munara Kusumah, M.Si.



Anggota Pembimbing:

Dr. Ir. Kikin Hamzah Mutaqin, M.Si.



Diketahui oleh,

Ketua Program Studi Pengendalian Hama Terpadu:

Dr. Ir. Giyanto, M.Si.

NIP. 196707091993031002



Dekan Fakultas Pertanian

Prof. Dr. Ir. Suryo Wiyono, M.Sc.Agr.

NIP. 196902121992031003



Tanggal Ujian: 30 Agustus 2024

Tanggal Lulus: 25 NOV 2024



## PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas segala karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul “Infektivitas Virus dan Tingkat Transkripsi Gen *pif* *Spodoptera Litura* Nucleopolyhedrovirus (*SpltNPV*) Isolat Bogor” sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Magister pada Program Studi Pengendalian Hama Terpadu, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing, Bapak Dr. Ir. R. Yayi Munara Kusumah, M.Si. dan Bapak Dr. Ir. Kikin Hamzah Mutaqin, M.Si. yang telah membimbing dan banyak memberi saran. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Ibu Dr. Sari Nurulita S.P. M.Si., selaku penguji luar komisi dan Dr. Ir. Giyanto, M.Si. selaku Ketua Program Studi Pengendalian Hama Terpadu. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ayah Aman, Ibu Siti Aldiety Fathona, Oma Tuti Ningsih, Mendiang Opa Hepi Soebekti tercinta, dan Adik Fransiska Angela Febe, Gabriel Nathanael, Fariishta Bella Avigail, dan Eleanor Crystal Belle yang telah memberikan dukungan, doa, dan kasih sayangnya selama perkuliahan dan penelitian. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Dr. Fitrianingrum Kurniawati, S.P. M.Si., Sobikhin, S.P., dan Fajrin Fahmi S.P. M.Si. yang telah membimbing selama perkuliahan dan penelitian. Penulis juga ingin mengucapkan terima kasih kepada Elsa Renata Dewi, S.P., Ignatius Jonathan, S.Psi., teman-teman dari Laboratorium Patologi Serangga (Dheya Cintya Monica, S.P. M.Si., Tsamara Nurul Fua'da, S.P. M.Si., Muhammad Rafii Pradiefta, S.P. M.Si., Ahmad Anggi Saputra, S.P., Usy Syamsiyatun, S.P., Pajar Bastian, S.P., Diah Ayu Julianti, S.P.), dan Bapak Sukirno dari Balai Pengujian Standar Instrumen Tanaman Pemanis dan Serat yang telah banyak membantu dalam proses penelitian. Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi semua kalangan.

Bogor, November 2024

*Michael Christian*



## DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
1.5 Hipotesis	2
TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Biekologi <i>S. litura</i>	3
2.2 Bioekologi Baculovirus	5
2.3 Regulasi Gen pada <i>SpltNPV</i>	7
2.4 Gen per os infectivity factor (pif)	8
III BAHAN DAN METODE	9
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	9
3.2 Pembuatan Pakan Buatan	9
3.3 Perbanyakkan Serangga Uji	9
3.4 Perbanyakkan dan Purifikasi <i>SpltNPV</i>	9
3.5 Perancangan Primer Gen <i>pif</i> dan <i>act</i> pada <i>SpltNPV</i>	10
3.6 Uji Hayati <i>SpltNPV</i>	10
3.7 Karakterisasi Molekuler Gen <i>pif</i> pada <i>SpltNPV</i>	10
3.8 Analisis Tingkat Transkripsi gen <i>pif</i> pada <i>SpltNPV</i>	12
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	14
4.1 Gejala Infeksi <i>SpltNPV</i> pada <i>S. litura</i>	14
4.2 Infektivitas <i>SpltNPV</i> terhadap Mortalitas <i>S. litura</i>	14
4.3 Amplifikasi Beberapa Gen <i>pif</i> pada <i>SpltNPV</i>	16
4.4 Pengurutan Sekuens Beberapa Gen <i>pif</i> pada <i>SpltNPV</i>	17
4.5 Analisis Hubungan Kekerbatan <i>SpltNPV</i> Isolat Bogor	18
4.6 Analisis Sekuens Asam Amino Beberapa Gen <i>pif</i> pada <i>SpltNPV</i>	21
4.7 Deteksi <i>SpltNPV</i> berdasarkan gen <i>pif-1</i>	25
4.8 Ekspresi gen <i>pif-1</i> pada <i>SpltNPV</i>	27
V SIMPULAN DAN SARAN	29
5.1 Simpulan	29
5.2 Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	36
RIWAYAT HIDUP	40

Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang  
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
2. Dilarang mempublikasikan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

## DAFTAR TABEL

2.1	Kisaran inang virus dari masing-masing genus dalam Baculoviridae	5
3.1	Primer yang digunakan dalam amplifikasi gen <i>SpltNPV</i>	11
3.3	Primer yang digunakan dalam kuantifikasi $C_t$ gen <i>pif-1</i>	13
4.1	Nilai <i>Lethal Dose SpltNPV</i> isolat Bogor terhadap larva <i>Spodoptera litura</i> instar ke-3	16
4.2	Nilai <i>Lethal Time SpltNPV</i> isolat Bogor terhadap larva <i>Spodoptera litura</i> instar ke-3	16
4.3	Hasil analisis BLAST gen <i>pif-1</i> , <i>pif-2</i> , dan <i>pif-3</i> dari <i>SpltNPV</i> Bogor berdasarkan urutan nukleotida dari NCBI ( <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov">www.ncbi.nlm.nih.gov</a> )	17
4.4	Nilai $C_t$ gen target dan referensi dari larva <i>S. litura</i> yang diinokulasikan <i>SpltNPV</i>	26

## DAFTAR GAMBAR

2.1	Morfologi <i>Spodoptera litura</i> pada berbagai stadia. (A) Telur. (B) Larva. (C) Pupa. (D) Imago	3
2.2	Bagan struktur Nucleopolyhedrovirus	6
2.3	Organisasi Genom <i>SpltNPV</i>	7
4.1	Gejala infeksi <i>SpltNPV</i> isolat Bogor pada <i>S. litura</i> . (A) Larva terinfeksi NPV. (B) Larva sehat. (C) Pupa terinfeksi NPV. (D) Pupa sehat. (E) Imago terinfeksi NPV. (F) Imago sehat	14
4.2	Mortalitas kumulatif larva <i>Spodoptera litura</i> instar ke-3 yang terinfeksi <i>SpltNPV</i> isolat Bogor pada beberapa taraf konsentrasi	15
4.3	Visualisasi produk PCR gen <i>pif</i> dari <i>SpltNPV</i> pada gel agarose 1%. (M) marker DNA 100 pb. (1) gen <i>pif-1a</i> . (2) gen <i>pif-1b</i> , (3) gen <i>pif-2</i> , (4) gen <i>pif-3</i>	16
4.4	Homologi urutan nukleotida gen <i>pif-1 SpltNPV</i> berdasarkan analisis matriks identitas.	18
4.5	Homologi urutan nukleotida gen <i>pif-2 SpltNPV</i> berdasarkan analisis matriks identitas.	19
4.6	Homologi urutan nukleotida gen <i>pif-3 SpltNPV</i> berdasarkan analisis matriks identitas.	19
4.7	Pohon filogeni urutan nukleotida gen <i>pif-1 SpltNPV</i> berdasarkan metode <i>Maximum-likelihood</i> (1.000× <i>bootstrap</i> )	20
4.8	Pohon filogeni urutan nukleotida gen <i>pif-2 SpltNPV</i> berdasarkan metode <i>Maximum-likelihood</i> (1.000× <i>bootstrap</i> )	20
4.9	Pohon filogeni urutan nukleotida gen <i>pif-3 SpltNPV</i> berdasarkan metode <i>Maximum-likelihood</i> (1.000× <i>bootstrap</i> )	20
4.10	Penyejajaran sekuens asam amino dari gen <i>pif-1</i> pada <i>SpltNPV</i> Bogor dengan isolat <i>SpltNPV</i> dari berbagai negara: Simbol “—” menunjukkan struktur INM-SM.	23

4.11	Penyejajaran sekuens asam amino dari gen <i>pif-2</i> pada <i>SpltNPV</i> Bogor dengan isolat <i>SpltNPV</i> dari berbagai negara: Simbol “—” menunjukkan struktur INM-SM.	24
4.12	Penyejajaran sekuens asam amino dari gen <i>pif-3</i> pada <i>SpltNPV</i> Bogor dengan isolat <i>SpltNPV</i> dari berbagai negara: Simbol “—” menunjukkan struktur INM-SM.	25
4.13	Deteksi gen <i>pif-1</i> dari <i>SpltNPV</i> pada gel agarose 1% berdasarkan lama waktu inkubasi virus. (M) marker DNA 100 pb. (1) kontrol negatif (larva sehat). (2) 0 jam. (3) 13 jam. (4) 25 jam. (5) 37 jam. (6) 49 jam. (7) 72 jam	26
4.14	Kurva amplifikasi gen <i>pif-1</i> <i>SpltNPV</i> isolat Bogor dan <i>act</i> pada larva <i>Spodoptera litura</i> instar ke-3 terhadap beberapa lama waktu inkubasi virus	26
4.15	Nilai ekspresi relatif gen <i>pif-1</i> <i>SpltNPV</i> isolat Bogor pada larva <i>Spodoptera litura</i> instar ke-3 terhadap beberapa lama waktu inkubasi virus. Kolom grafik yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji tukey pada taraf 5%	28

## DAFTAR LAMPIRAN

1	Persentase kematian larva <i>S. litura</i> akibat inokulasi <i>SpltNPV</i>	37
2	Hasil amplifikasi gen <i>pif-1</i> , <i>pif-2</i> , dan <i>pif-3</i>	37
3	Nilai $C_t$ gen <i>pif-1</i> dan <i>act</i>	38
4	Nilai ekspresi relatif gen <i>pif-1</i>	39