

**DETEKSI PENYAKIT PEBRIN DAN *BmNPV* PADA
NGENGAT ULAT SUTERA (*Bombyx mori*. L)**

OLEH :

DEVI NURVAULASARI

M0 111 71 567



PROGRAM STUDI KEHUTANAN

FAKULTAS KEHUTANAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2021

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : Deteksi Penyakit Pebrin dan BmNPV pada Ngengat Ulat
Sutera (*Bombyx mori*. L)
Nama Mahasiswa : Devi Nurvaulasari
Stambuk : M 0 111 71 567

Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Kehutanan
pada
Program Studi Kehutanan
Fakultas Kehutanan
Universitas Hasanuddin

Menyetujui,

Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Dr. Ir. Siti Halimah Larekeng, SP., MP

NIP. 19820209 201504 2 002

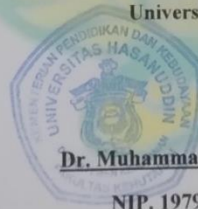
Pembimbing II

Dr. Ir. Siti Nuraeni, M.P

NIP. 19680410 199512 2 001

Mengetahui,

**Ketua Program Studi Kehutanan
Fakultas Kehutanan
Universitas Hasanuddin**



Dr. Muhammad Alif K.S., S.Hut., M.Si

NIP. 19790831 200812 1 002

Tanggal Pengesahan : 06 Juli 2021

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini

Nama : Devi Nurvaulasari
NIM : M011171567
Program Studi : Kelutanan
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

"Deteksi Penyakit Pebrin dan BmNPV Pada Ngengat Ulat Sutera (*Bombyx mori*
L.)"

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain baliwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut

Makassar, Juli 2021



Devi Nurvaulasari

x

ABSTRAK

Devi Nurvaulasari (M0 111 71567) Deteksi Penyakit Pebrin dan BmNPV pada Ngengat Ulat Sutera (*Bombyx mori*. L) di Bawah Bimbingan Dr. Ir.Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P dan Dr. Ir. Siti Nuraeni, M.P

Ulat sutera merupakan jenis serangga penghasil serat sutera dengan beberapa tahapan siklus hidup , salah satunya pada fase ngengat. Masalah yang dihadapi dari deteksi penyakit pebrin dan *BmNPV* pada ngengat yaitu masih belum banyak penelitian yang melakukan deteksi pada ngengat, untuk itu dengan adanya penelitian ini diharapkan dapat membantu memberikan informasi bahwa apakah benar atau tidak pada fase ngengat dapat ditemukan penyakit pebrin maupun *BmNPV* dari bawaan fase telur ataupun pada ngengat langsung, Tujuan dari penelitian ini adalah untuk deteksi dini penyakit *BmNPV* dan Pebrin pada ngengat ulat sutera, Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Januari 2021 sampai dengan Maret 2021 dengan sampel diperoleh dari BPSKL (Balai Perhutanan Sosial dan Kemitraan Lingkungan) wilayah Sulawesi Selatan di Bili-Bili Kabupaten Gowa serta proses pengolahan data dilakukan di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon, Fakultas Kehutanan, Universitas Hasanuddin, Makassar, dengan menggunakan metode molekuler. Adapun analisis penelitian ini dilakukan menggunakan metode analisis deskriptif dengan melihat amplifikasi primer penyakit Pebrin dan *BmNPV* pada fase ngengat ulat sutera. hasil dari deteksi penyakit pebrin dan *BmNPV* dari 2 primer yang digunakan terhadap 12 ngengat yang diteliti menunjukkan tidak ada satu penyakit pun yang terdeteksi penyakit, baik penyakit pebrin maupun penyakit *BmNPV*.

Kata Kunci : Ngengat Ulat Sutera, Penyakit, Pebrin, BmNPV, Molekuler, Plant mini Kit, dan Seleksi Primer

KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur penulis panjatkan atas Kehadirat Allah SWT, karena berkat rahmat dan hidayahnyalah sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Skripsi dengan judul “Deteksi Penyakit Pebrin dan *BmNPV* pada Ngengat Ulat Sutera (*Bombyx mori*. L).

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini banyak kekurangan yang disebabkan keterbatasan penulis. Namun dengan adanya arahan dan bimbingan dari berbagai pihak berupa pengetahuan, dorongan moril dan bantuan materil, maka penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Terkhusus kepada kedua orang tua tercinta, **Ayahanda Muhammad Nur.H** dan **Ibunda Maisah** yang tak henti- hentinya mendoakan serta mendukung baik dalam hal moral maupun materi. **Nurul Ashar, S.So, Desi Nirmalasari, S.Si**, dan **Nurul Ikhsan, S.Pt** saudara- saudara tercinta yang selalu dibanggakan penulis. Terima kasih dukungan dan semangatnya, semoga rahmat dan hidayah Allah SWT selalu tercurah kepada keluarga kita.

Penghargaan yang tulus dan ucapan terima kasih dengan penuh keikhlasan juga penulis ucapkan kepada :

1. Ibu **Dr. Ir. Siti Halimah Larekeng, SP., MP.** dan Ibu **Dr. Ir. Sitti Nuraeni, M.P.** selaku pembimbing I dan pembimbing II yang selalu mengarahkan dan membantu penulis mulai penentuan judul hingga selesainya skripsi ini.
2. Bapak **Dr. Ir. A. Sadapotto, M.P.**, dan Bapak **Iswanto, S.Hut., M.Si** selaku penguji yang telah memberikan masukan dan saran-saran guna penyempurnaan skripsi ini.
3. Kak **Fitriani, S.Hut., Kiki Sulo, Atisa Muslimin**, kak **Ikraeni, S.Hut.**, Kak **Siti Aminah, S.P.**, kak **Yusniar, S.Hut** dan **Nasrah Mawaddah** yang telah bersedia membantu penulis selama melaksanakan penelitian di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon.
4. Ibu **Sahryanti Saad, S.Hut., M.Si., Ph.D** selaku dosen Pembimbing Akademik
5. Seluruh **Dosen Pengajar dan Staf Administrasi** Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin.

6. Teman-teman sepenelitian **Febby Natsha, Annisa Nurislami, S. Hut, Musdalifah, S.Hut, Riskayana, Nurul Musdalifah, S.Hut., Sulastri, Zulfadillah Syam, Iser Purwanti, Nurul Andikasari, S.Hut , Marwah salam, Kadek Ristiani, Misyel Jauwdi, Reski Amalia** dan teman-teman Lab. Biotek dan Pemuliaan Pohon lainnya terima kasih telah membantu dan menemani penulisan di Laboratorium Bioteknologi dan tak henti-hentinya memberikan motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
7. Terima kasih untuk Saudaraku **FRAXINUS 17** dan **Kelas D**, terima kasih atas kerjasamanya, doa dan semangat yang kalian berikan kepada penulis dalam menyelesaikan kuliah di Fakultas Kehutanan, Universitas Hasanuddin.
8. Kak **Fadlan, S.Si** dan kak **Nurfadillah, S.Pd** yang selalu memberikan motivasi serta semangat dalam mengerjakan skripsi.
9. Terima kasih untuk Sahabat-sahabat saya **Nur fadilla, Lisa Arianti, Juarni, A. Mutmainna Mujihah, Hikmana Achmad, Nadhifa Maudika Izza Nisa, Wilda Damayanti, Sartika, Nurul Adhila Fauziyah** dan **Agustina** atas kerjasamanya dan semangat yang kalian berikan.
10. Teman- teman Posko **KKN Gelombang 104** Kabupaten Sinjai, Kecamatan Sinjai Selatan, Kelurahan Sangiasseri (**Winda, Hikmatul Khaeriah, Husnul, Intira, Wahida, Hariana, Yuyun**, dan teman – teman lainnya)

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini, masih banyak terdapat kekurangan yang perlu diperbaiki, untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi penyempurnaan skripsi ini. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pihak-pihak yang membutuhkan dan khususnya kepada penulis sendiri.

Makassar, Juli 2021

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan dan Kegunaan	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Taksonomi Ulat Sutera (<i>Bombyx mori</i> .L.).....	4
2.1.1 Klasifikasi	4
2.1.2 Siklus Hidup	4
2.1.3 Morfologi.....	5
2.2. Penyakit Ulat Sutera	9
2.3. Teknik Molekuler.....	12
III. METODE PENELITIAN.....	14
3.1. Waktu dan Tempat	14
3.2. Alat dan Bahan Penelitian.....	14
3.3. Metode Pelaksanaan Penelitian.....	15
3.3.1 Isolasi DNA	15
3.3.2 Uji Primer dan PCR	16
3.3.3 Elektroforesis	17
3.4. Analisis Data.....	18
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	19
4.1 Amplifikasi Primer Polhe dan BmNPV	19
4.2 Deteksi Penyakit BmNVP dan Pebrin	
4.2.1 Deteksi Penyakit BmNPV Pada Ngengat Ulat Sutera menggunakan primer Polhe.....	20
4.2.2 Deteksi Penyakit Pebrin Pada Ngengat Ulat Sutera menggunakan Primer NBEF.....	21
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	23
5.1. Kesimpulan	23
5.2. Saran	23
DAFTAR PUSTAKA	24

LAMPIRAN28

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Primer yang diseleksi	17
Tabel 2. Jenis Primer dan Jumlah Pita DNA hasil Amplifikasi	19

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Siklus Hidup Ulat Sutera	4
Gambar 2.	Kokon.....	7
Gambar 3.	Kokon lokal dan impor	7
Gambar 4.	Ngengat Ulat Sutera.....	9
Gambar 5.	Patogen Pebrin	10
Gambar 6.	Nukleopolyhedrosis Virus (<i>BmNPV</i>)	12
Gambar 7.	Elektroforesis Hasil Amplifikasi PCR primer POLHE	20
Gambar 8.	Elektroforesis Hasil Amplifikasi PCR primer NBEF	21

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Dokumentasi alat dan bahan yang di gunakan	29
Lampiran 2.	Dokumentasi Beberapa Tahapan Isolasi DNA.....	32
Lampiran 3	Dokumentasi Pada Mesin <i>Polymerase Chain Reaction</i>	33
Lampiran 4.	Dokumentasi Proses Elektroforesis	34

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Ulat sutera (*Bombyx mori* L) adalah sejenis serangga yang mampu menghasilkan serat benang sutera dari salah satu perkembangan hidupnya. Ulat sutera mengalami perubahan bentuk yakni dari telur menjadi larva, larva menjadi pupa, kemudian larva menjadi kupu-kupu (ngelat). Ngekat ini dapat secara langsung dikenali sisik pada sayap-sayap yang lepas seperti debu pada jari-jari seseorang bila seranggaserangga itu dipegang (Hartati, 2015).

Ngekat mengalami beberapa perubahan dalam hidupnya untuk mendapatkan bentuk dewasa. Berawal dari telur, larva, pupa, dan akhirnya menjadi ngekat. Rangkaian peristiwa ini dikenal dengan istilah metamorfosis sempurna dan terjadi dalam waktu kurang lebih satu bulan. Jumlah telur setiap induk berkisar antara 400 sampai 500 butir. Pada umumnya telur-telur menetas setelah 10 hari masa inkubasi. Larva ulat sutera terdiri dari lima instar, instar I sampai instar III disebut ulat kecil dan instar IV dan V disebut ulat besar (Hartati, 2015).

Menurut Ketua Asosiasi Sutera Indonesia (ASSIA) dalam Estetika (2018) menyatakan bahwa Indonesia hanya mampu memenuhi pasokan benang sutera dalam negeri sebesar 5% dari total kebutuhan 900 ton/tahun, sedangkan 95% diimpor dari Cina. Provinsi Sulawesi Selatan merupakan daerah produsen sutera terbesar di Indonesia yaitu sekitar 80 % dari total produksi Indonesia. Terdapat tiga kabupaten utama di Sulawesi Selatan yang menjadi sentra produksi kegiatan persuteraan alam, yaitu kabupaten Enrekang, Soppeng dan Wajo. Provinsi Sulawesi Selatan tercatat sebagai penghasil kepompong ulat sutera terbesar di Indonesia yakni rata-rata mencapai 110.307 kg tiap tahunnya (Rustamdkk, 2017). Namun, kondisi produksi sutera alam terus mengalami penurunan karena pengaruh rendahnya tingkat produksi kokon. Menurut Ridwan (2011); Hardi dkk (2015) penyebab utama anjloknya produksi sutera alam karena adanya gangguan penyakit seperti virus dan bakteri yang menyerang tanaman murbei yang mengakibatkan menurunnya produksi benang, menurunnya produksi benang diakibatkan karena jika ulat yang memakan tanaman murbei yang terserang oleh

virus dan bakteri menyebabkan ulat mati sehingga gagal memproduksi benang sutera.

Terdapat dua jenis penyakit serius yang dapat menyerang ulat sutera maupun ngengat yaitu penyakit pebrin yang disebabkan oleh *Nosema bombycis* dan penyakit *Bombyx mori* Nuklear Polyhedrosis Virus (*BmNPV*) atau penyakit grasserie yang disebabkan oleh virus. Persuteraan alam global selalu dilaporkan adanya serangan penyakit virus *BmNPV* atau yang lebih dikenal sebagai penyakit grasseria. (Jiang and Xia, 2014; Nuraeni dkk, 2018). Penelitian pada deteksi dini dengan adanya dugaan terkait penyakit yang disebabkan oleh *BmNPV* dan Pebrin yang biasa ditemukan hanya difase ulat dan fase telur, bisa saja juga dapat ditemukan pada fase ngengat, sehingga penelitian ini penting untuk dilakukan karena pada deteksi penyakit pebrin dan *BmNPV* pada ngengat belum pernah dilakukan hingga saat ini. Dengan adanya penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bahwa apakah benar atau tidak pada fase ngengat dapat ditemukan penyakit pebrin dan *BmNPV* dari bawaan fase telur ataupun pada ngengat langsung.

1.2. Tujuan dan Kegunaan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk deteksi dini penyakit *BmNPV* dan Pebrin pada ngengat ulat sutera. Adapun kegunaan dari penelitian ini adalah sebagai bahan informasi keberadaan penyakit pada siklus hidup ulat sutera yaitu fase ngengat dengan pendekatan molekuler.

II. TIJAUAN PUSTAKA

2.1. Taksonomi Ulat Sutera *Bombyx mori*. L

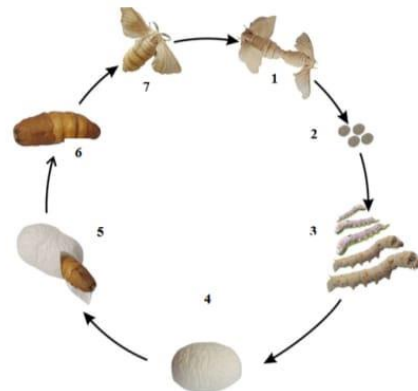
2.1.1. Klasifikasi

Menurut Atmosoedarjo, dkk (2000) taksonomi ulat sutera (*Bombyx mori*. L.) adalah sebagai berikut :

Filum	: Anthropoda
Kelas	: Insecta
Ordo	: Lepidoptera
Famili	: <i>Bombycidae</i>
Genus	: <i>Bombyx</i>
Spesies	: <i>Bombyx mori</i> L

2.1.2. Siklus Hidup

Ulat sutera adalah serangga holometabola yang melewati stadia telur, larva, pupa dan imago. Ulat sutera merupakan serangga berdarah dingin yang sangat tergantung pada kondisi lingkungan seperti suhu dan kelembaban. Toleransi serangga terhadap suhu lingkungan sekitar 1-2 °C dari suhu optimum hidupnya (Triplehorn dan Johnson, 2005; Nuraeni, 2019).



Gambar 1. Siklus Hidup Ulat Sutera (Sulistyo dkk., 2016)

2.1.3. Morfologi

Ulat sutera mengalami perubahan bentuk yakni dari telur menjadi larva, larva menjadi pupa, kemudian larva menjadi kupu- kupu (ngengat). Ngengat ini dapat secara langsung dikenali dengan sisik pada sayap- sayap yang lepas seperti debu pada jari-jari seseorang bila serangga – serangga itu dipegang (Hartati, 2015).

a. Telur

Telur ulat sutera berbentuk kecil, rata, dan elips, dilapisi dengan lapisan keras (kulit telur). Bentuk dan ukurannya sangat kecil. Pada ujung telur terdapat micropyle yaitu tempat sperma memasuki sel telur. Warna dari telur yang baru ditetaskan adalah putih susu atau kuning keruh yang terdiri dari warna chorion (kulit telur), serosa dan kuning telur (komponen dalam isi telur). Setelah hari ke-2 atau ke-3, warna telur mulai berubah, hari ke-6 dan ke-7 25 setelah ditelurkan, warna telur berubah menjadi abu-abu dengan ungu gelap (Hartati, 2015).

Ulat yang baru keluar dari telur kelihatan kecil kehitam- hitaman atau coklat gelap dengan kepala besar, serta badannya masih tertutup rambut. Pada hari kedua, tubuhnya menjadi gemuk, warnanya kehijauan-hijauan dan rambutnya seolah- olah rontok. Setelah itu, ulat akan berhenti makan untuk memasuki masa istirahat dan diakhiri dengan pergantian kulit. Setelah berganti kulit, fase mulai memasuki instar II. Ulat selanjutnya akan memasuki instar III, IV, dan V yang biasanya didahului masa istirahat dan berganti kulit (Andadari, 2013)

Menetasnya ulat sutera dari telurnya disebut penetasan, larva yang baru menetas sepanjang 3 mm, diselimuti oleh rambut-rambut tipis dan berwarna hitam. Selama masa larva, ulat sutera mengalami pergantian kulit sebanyak empat kali. Selama masa pergantian kulit, larva mengalami masa tidur selama kurang lebih 24 jam tanpa makan. Fenomena ini disebut moulting. Selama moulting pertama, ulat sutera memproduksi kulit baru untuk dirinya untuk menggantikan kulit lamanya. Setelah itu, larva kembali makan, tumbuh dan memasuki instar selanjutnya. Instar I hingga instar III biasa disebut ulat kecil, sedangkan instar IV dan V disebut ulat besar. Total periode larva dari penetasan hingga mengokon yaitu 25 hingga 30 hari (Hartati, 2015).

Menurut Champman (1969) telur ulat sutera memiliki permukaan yang halus dan biasanya diselimuti cairan berwarna kemerahan hingga coklat yang berfungsi untuk melekatkan telur pada daun atau ranting. Lama stadia telur akan sangat bergantung pada kondisi iklim atau perlakuan yang diberikan. Apabila suhu tinggi dapat menyebabkan telur menjadi tidak aktif, maka telur dapat menetas setelah 4-10 bulan, bila suhu normal telur akan menetas setelah 9-12 hari (Mujiono, 2000).

b.Larva

Larva ulat sutera berbentuk erusiform, dengan satu kepala yang berkembang baik dan tubuh yang silindrik terdiri dari 13 ruas (3 bagian toraks dan 10 dibagian abdomen). Masing-masing ruas toraks mengandung sepasang tungkai dan ruang abdomen 3-6 dan 10 biasanya mengandung sepasang prolegs. Jenis kelamin pada larva dapat dibedakan melalui perbedaan ciri kelamin sekunder yang ditunjukkan setelah larva mencapai tahap instar IV dan V. larva betina mempunyai sepasang bintik pada bagian ventral abdomen masing-masing disegmen 8 dan 9, sedangkan pada larva jantan mempunyai satu bintik pada bagian tengah segmen 9 disebut bintik heroid (Hartati, 2015).

c.Kokon

Pengokonan dan panen kokon merupakan tahap akhir dalam pemeliharaan ulat sutera. Atmosoedarjo, dkk(2000) menyatakan bahwa suhu dan kelembaban berpengaruh terhadap produksi kokon. Beberapa kualitas kokon ada yang dipengaruhi oleh sumber bibit ulat dan jenis murbei. Pemilihan sumber bibit dan jenis pakan yang sesuai didasarkan pada kualitas kokon yang dihasilkan. Ulat yang siap mengokon harus segera dipisahkan ke tempat pengokonan agar tidak terganggu oleh ulat yang belum siap mengokon, ulat yang sakit pada umumnya tidak akan mencapai tahap pupa sehingga membuat kokon bagian dalam kotor. Apabila waktu panen kokon terlambat maka kokon akan rusak karena sudah berlubang untuk tempat keluarnya ngengat. Andadari (2003) menyatakan bahwa standar kualitas kokon adalah berdasarkan berat kokon, persentase kulit kokon dan persentase kokon cacat.

Berat kokon adalah berat kokon keseluruhan termasuk berat kulit kokon ditambah pupa didalamnya. Jenis bibit dan jenis kelamin serta pemeliharaan berperan terhadap keadaan ini. Selain jenis ulat dan mutu pakan yang diberikan,

berat kokon juga dipengaruhi oleh jenis kelamin pupanya, lingkungan dasar pemeliharaan. Sedangkan berat kulit kokon ditentukan oleh jenis bibit dan jenis kelamin pupanya (Hartati, 2015).

Mengokankan ulat dengan cara manual dilakukan dengan mengambil satu per satu ulat yang sudah matang, kemudian diletakkan pada bagian bawah sarangan. Ulat dibiarkan sampai merayap ke bagian atas sarang, kemudian ulat akan memenuhi seluruh sarang yang dipergunakan. Cara ini dilakukan bila jumlah ulat yang matang baru sekitar 5-10% (Andadari, 2013).

Menurut Atmosoedarjo, dkk (2000) ulat yang siap mengokan harus segera dipisahkan ke tempat pengokonan agar tidak terganggu oleh ulat yang belum siap mengokan, ulat yang sakit pada umumnya tidak akan mencapai tahap pupa sehingga membuat kokon bagian dalam kotor. Apabila waktu panen kokon terlambat maka kokon akan rusak karena sudah berlubang untuk tempat keluarnya ngengat.



Gambar 2. Kokon (Atmosoedarjodkk .,2000)



Gambar 3. Kokon lokal dan impor (Dokumentasi Pribadi)

d. Pupa

Perubahan dari larva menjadi pupa ditandai dengan berhentinya aktivitas makan. Proses pergantian kulit larva menjadi pupa akan terjadi didalam kokon. Pembentukan pupa berlangsung 4–5 hari setelah ulat sutera selesai mengeluarkan serat untuk membentuk kokon, lama masa pupa 9-14 hari. Tahapan imago berlangsung selama 5-7 hari. Pada tahap imago merupakan tahapan yang reproduktif dimana akan terjadi perkawinan, dan betina akan mengeluarkan telur telurnya (Hayani, 2013).

Pada akhir instar V, pergantian kulit biasanya tidak terjadi tetapi tubuhnya berangsur- angsur kelihatan seolah-olah tembus cahaya dan ulat berhenti makan. Ulat seperti ini sudah mulai banyak mengeluarkan serat sutera dan membuat kokon. Ulat yang sudah siap untuk mengokon biasanya disebut ulat besar/ ulat yang sudah matang. Lama masa pupa kurang lebih 11 hari. Pupa jantan ruas ke 9 terdapat tanda titik, sedangkan pupa betina ruas ke 8 terdapat tanda kali (Samsijah dan Andadari, 1992: Andadri, 2013).

Pupa betina dan jantan dengan mudah dapat dibedakan melalui kenampakan morfologinya. Pada betina terdapat sebuah garis silang pada pusat ventral segmen ke-8 dan sebuah genital pada segmen 9. Pada jantan hanya terdapat lubang pada segmen 9 (Hartati, 2015).

e. Imago/ Ngengat

Ngengat merupakan serangga yang memiliki dua pasang sayap dan alat penghisap makanan yang berupa *proboscis* atau belalai yang menggulung (Sutrisno dan Dermawan, 2010 ; Kamaludin, 2013). Ngengat memiliki warna yang lebih redup berbeda dengan jenis kupu-kupu yang memiliki banyak warna dengan sayap yang indah, ngengat hanya memiliki satu warna dengan antena yang tidak pernah membesar pada ujung.

Ngengat mengalami beberapa perubahan dalam hidupnya untuk mendapatkan bentuk dewasa. Berawal dari telur, larva, pupa, dan akhirnya menjadi ngengat. Rangkaian peristiwa ini dikenal dengan istilah metamorfosis sempurna dan terjadi dalam waktu kurang lebih satu bulan. Jumlah telur setiap induk berkisar antara 400 sampai 500 butir. Pada umumnya telur-telur menetas setelah 10 hari masa inkubasi. Larva ulat sutera terdiri dari lima instar, instar I

sampai instar III disebut ulat kecil dan instar IV dan V disebut ulat besar (Hartati, 2015).

Biasanya, waktu keluarnya ngengat terjadi di pagi hari. Ngengat membasahi kulit kokon dengan sekresi alkalin 26 dan merusak kokon, mendorong kokon hingga dapat keluar. Ngengat kemudian melebarkan sayap dan mengeringkannya. Ngengat betina kemudian akan membiarkan kelenjar seksual mengembung untuk memikat ngengat jantan (Hartati, 2015).

Pada tahapan perkawinan ulat sutera, betina akan memproduksi dan mengeluarkan telur-telurnya. Pada ngengat ulat sutera ngengat betina lebih membutuhkan waktu hidup yang lama dibandingkan dengan ngengat jantan hal ini karena pada betina terjadi pembentukan telur. Menurut Atmosoedarjo, dkk(2000) bahwa pertumbuhan ulat sutera sangat berpengaruh pada kondisi iklim dilokasi pemeliharaan, yaitu suhu, kelembaban, kualitas udara, aliran udara, dan cahaya.



Gambar 4. Ngengat Ulat Sutera (Dermawati, 2006)

2.2. Penyakit Ulat Sutera

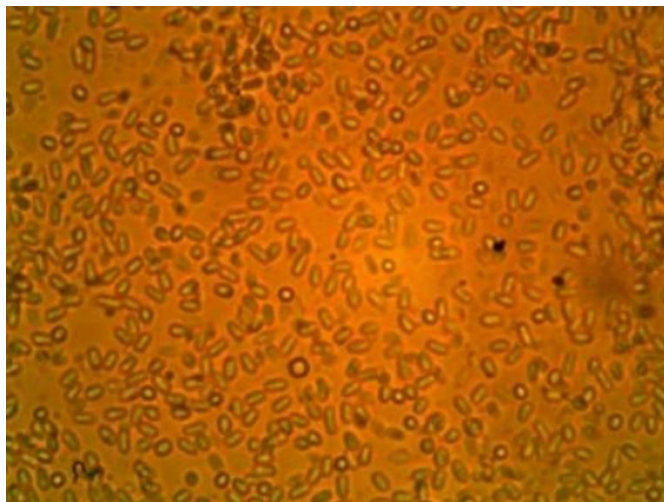
Pada ulat sutera terdapat berbagai penyakit, dimana penyakit ulat sutera menjadi faktor utama dan sangat serius yang dapat berpengaruh pada tahap pengokonan dan menjadi suatu ancaman terbesar yang dihadapi oleh petani. Ada empat kelas atau kelompok penyakit pada persuteraan alam global berdasarkan patogen penyebabnya, yaitu penyakit oleh virus, bakteri, jamur, dan protozoa (Guo-Ping dan Xi-Jie, 2011; Nuraeni, 2019). Pada berbagai penyebab penyakit

tersebut dapat mengagalkan panen kokon pada ulat sutera, terutama pada penyakit yang disebabkan oleh virus seperti penyakit Nuklearpolyhedrosis Virus (NPV), grasserie dan penyakit pebrin, berbagai penyakit inilah merupakan penyakit serius yang sangat berpengaruh pada tahap pengokonan. Hal ini dapat menyebabkan kerugian bagi para petani ulat sutera.

Penyakit ulat sutera dikelompokkan secara langsung berdasarkan pada jenis penyakitnya. Terdapat pula pengelompokkan berdasarkan suatu gejalanya. Secara langsung terdapat pembagiannya yaitu penyakit parasite dan penyakit busuk lunak. Penyakit parasite menurut Babu, dkk (2009) ;Nuraeni (2019) yaitu penyakit pebrin lalat parasitoid dan muskarin pada penyakit parasite ini sangat mudah didiagnosa penyebabnya sedangkan pada penyakit busuk lunak yaitu penyakit NPV dan flacheri tidak mudah dipahami penyebabnya.

a. Penyakit pebrin

Penyakit pebrin atau microsporidiosis adalah salah satu penyakit ulat sutera paling mematikan disetiap sentra pemeliharaan ulat sutera. penyakit ini disebabkan oleh endoparasit, *Nosema bombycis*. Pebrin pertama kali tercatat di Perancis pada tahun 1845 dan kemudian menyebar ke Italia, Spanyol, Suriah, dan Rumania.



Gambar 5. Patogen Pebrin
(BPA Sulawesi Selatan, 2012)

Penyakit pebrin yang menyerang ulat sutera memiliki ciri- ciri yaitu selera makan pada ulat sutera akan hilang yang menjadikan pertumbuhannya dan pergantian kulitnya tidak seragam.

- Pada larva kecil ulat sutera yang terjadi yaitu gejala akut dan pada larva besar memiliki gejala kronis. Adanya gangguan penyakit pebrin pada larva instar pertama yang telah terinfeksi pada fase embrio memiliki ciri- ciri yaitu rambut tidak tumbuh, warna gelap pada larva, dan pertumbuhan lambat.
- Pada Infeksi berat instar pertama menyebabkan instar akan segera mati. Infeksi instar kelima yaitu gejala yang terjadi seperti larva keriput, pada tubuh larva terjadi bercak berwarna karat atau bintik hitam, terutama pada tanduk *caudal* dan *proleg*. Larva sulit ganti kulit dan tidak terjadi pembentukan pupa.
- Pupa ulat sutera memiliki gejala yaitu gerakannya lebih lambat dan terdapat noda hitam tidak teratur pada kutikula.
- Gejala pada ngengat yaitu kokon menjadi lambat keluar karena ketidakmampuan untuk menerobos kulit kokon, Sayap yang terbentuk tidak normal dan sisiknya sangat mudah lepas.
- Selanjutnya gejala pada telur, bentuknya tidak seragam dan banyak telur yang tidak dibuahi dan telur akan mati (Nuraeni, 2019).

b. Penyakit Nukleopolyhedrosis Virus (NPV)

Penyakit pada ulat sutera selain pebrin terdapat juga penyakit NPV. Penyakit NPV tersebut dikenal sebagai penyakit '*joundice*' di Amerika, penyakit '*grasseries*' di Prancis, penyakit '*giallume*' di Italia, penyakit '*gelbuscht*' atau '*fettsucht*' di Austria dan Jerman, penyakit '*noby*' di Jepang (Steinhaus, 1963; Tanada dan Kaya, 1993; Nuraeni, 2019).

Ulat sutera yang terinfeksi *BmNPV* akan mengalami pembengkakan antara segmen, kulitnya berwarna putih susu dan mengkilap, hemolimnya keruh berwarna putih susu. Larva sakit akan berusaha ke tepi rak pemeliharaan. Gejala akan berbeda pada tahap perkembangan, jika terjadi infeksi sebelum ganti kulit maka larvanya tidak dapat ganti kulit. Infeksi yang terjadi setelah ganti kulit maka terjadi pembengkakan pada membrane intersegmental pada instar keempat dan kelima. Pembengkakan pada membrane intersegmental

akan terlihat seperti 'bambu'. Larva yang mudah tertular oleh penyakit ini pada periode terakhir dari instar 5 dan dapat membentuk kokon tetapi akhirnya larva pecah sebelum jadi pupa dalam kokon dan mengeluarkan cairan coklat kehitaman. Cairan ini dapat menjadi sumber kontaminasi pada permukaan kokon. Larva kecil akan mati sekitar tiga sampai empat hari setelah infeksi dan larva besar 4-6 hari setelah terinfeksi (Yup-lian, 1991; Babu, dkk 2009; Nuraeni, 2019).

Daya tahan yang rendah pada setiap fase disebabkan masa inkubasi dari BmNPV ini lebih panjang. Menurut Gothma (1990) ; Nuraeni, dkk (2015) jika masa inkubasi virus lebih lama, maka presentase ulat yang jadi ngengat akan rendah bahkan biasanya ulat yang terinfeksi tidak sampai pada tahapan pengokonan, walaupun terdapat ada yang mengokoni, maka bentuk pupanya mengerut. Jika ada yang sampai menjadi ngengat maka biasanya kondisi ngengatnya abnormal seperti sayap yang rusak dan memendek. Ngengat yang terinfeksi apabila diperiksa dengan menggunakan mikroskop pada bagian reproduksinya akan terdapat berbagai macam partikel virus. Identifikasi NPV menggunakan mikroskop cahaya memiliki bentuk dan ciri jika diamati seksama memperlihatkan bentuk heksagonal atau tetragonal dan sebagian diantaranya sudutnya agak bulat, Nampak bening dan transparan (Nuraeni, 2019).



Gambar 6. Nukleopolyhedrosis Virus (*BmNPV*)
(BPA Sulawesi Selatan, 2012)

2.3. Teknik Molekuler

Teknik molekuler adalah teknik yang digunakan untuk analisis polimorfisme DNA dengan menggunakan sekuens primer tertentu pada tahapan isolasi DNA, penggunaan metode kit digunakan karena metode ini merupakan metode yang lebih murah dari metode lainnya serta dalam satu paket kit telah tersedia bahan yang siap pakai, sehingga meminimalisir waktu pengerjaan tetapi hasil yang diperoleh tergantung jenis sampel yang digunakan.

Secara garis besar isolasi DNA perlu melalui beberapa tahapan yaitu melisis dinding sel dan membran sel, mengeluarkan isi sel, melisis protein membran, protein sitoplasmik dan terakhir adalah proses prepitasi DNA untuk memisahkan DNA dari senyawa lain. Teknik isolasi dan analisis molekuler sangat bervariasi. Terdapat beberapa factor penentu yang mempengaruhi pelaksanaan kerja molekuler diantaranya adalah factor biaya relative mahal dan pengadaan bahan yang terkadang memerlukan waktu lama sehingga menjadi penghambat kegiatan dilaboratorium (Syafaruddin dan Santoso, 2011; Septi dkk, 2014). Menurut Gusmiaty,dkk (2020) ; Gusmiaty, dkk (2021) ekstraksi DNA merupakan suatu langkah awal dalam proses analisis molekuler, isolasi DNA sangat berpengaruh dalam memberikan kualitas yang baik pada suatu DNA.

Metode PCR merupakan metode yang sangat sensitif, sensitivitas tersebut membuatnya dapat digunakan untuk melipatgandakan satu molekul DNA. Metode ini juga sering digunakan untuk memisahkan gen-gen berkopi tunggal dari sekelompok sekuen genom. Keunggulan PCR dikatakan tinggi, hal ini berdasarkan spesifitas, efisiensi, dan keakuratannya. Kelebihan lain metode PCR adalah bahwa reaksi PCR dapat dilakukan dengan menggunakan komponen dalam jumlah sangat sedikit (Yuwono, 2006).

Primer merupakan rantai asam nukleat yang berfungsi sebagai titik awal untuk mensintesis DNA yang diperlukan untuk replica DNA karena enzim-enzim yang mengkatalisis proses ini yaitu DNA polymerase. Selesi primer bertujuan untuk mendapatkan tingkat polimorfik yang tinggi, untuk itu digunakan beberapa jenis primer yang cocok dengan sampel yang diteliti. Seleksi primer dilakukan untuk mencari primer acak yang menghasilkan penanda pita, baik dan jelasnya pita dihasilkan maupun jumlah lokus (primer) yang diperoleh (Gusmiaty, dkk 2021).

Primer yang digunakan berpengaruh terhadap jumlah dan intensitas pita DNA yang dihasilkan. Kegiatan seleksi primer dilakukan untuk mencari primer yang menghasilkan penanda polimorfik, baik dari jelasnya pita polimorfik yang dihasilkan maupun jumlah polimorfik lokus yang diperoleh (Hartati, dkk 2007). Primer yang tidak spesifik dapat menyebabkan teramplifikasinya daerah lain dalam genom yang dijadikan sasaran atau sebaliknya tidak ada daerah genom yang teramplifikasi. Proses penempelan primer pada utas DNA yang sudah terbuka memerlukan suhu optimum, sebab suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan amplifikasi tidak terjadi (Suryanto, 2003).