

ISOLASI RNA VIRUS ENTOMOPATOGEN DARI ULAT API *SETOTHOSEA ASIGNA*

Donnarina Simanjuntak dan Sedyo Hartono¹

Abstrak - *Setothosea asigna* hingga sekarang masih menjadi hama mayor yang menyerang daun kelapa sawit. Virus entomopatogen merupakan mikroorganisme yang selama ini efektif untuk mengendalikan ulat api *S. asigna* secara biologi dan ramah lingkungan. Akan tetapi perbanyakan virus tersebut sampai saat ini masih dilakukan secara konvensional dan kurang aplikatif. Oleh sebab itu, diperlukan formulasi baru virus entomopatogen yang efektif dan aplikatif. Pada penelitian ini telah disiapkan dua bentuk formulasi, yaitu tepung dan cair. Dalam formulasi tepung terkandung $2,19 \times 10^5$ polihedra/ml, sedangkan dalam formulasi cair terkandung $2,33 \times 10^5$ polihedra/ml. Dalam penelitian ini, virus entomopatogen yang digunakan dikumpulkan dari kebun kelapa sawit yang berlokasi di daerah Bah Jambi, kabupaten Simalungun, Sumatera Utara dan setelah melalui hasil amplifikasi DNA memiliki fragmen asam nukleat berukuran 250 bp. Hasil uji lapangan yang dilakukan di Kebun Sawit Rakyat di Kecamatan Kubu, Balam Riau, menunjukkan bahwa keempat perlakuan formulasi virus, yaitu 20 gram dan 50 gram formulasi tepung serta 50 ml dan 100 ml formulasi cair masing-masing memiliki nilai mortalitas larva *S. asigna* sebesar 67,67%; 69,33%, 71,33%, dan 75,67% pada 9 hari setelah aplikasi. Dari hasil ini menunjukkan bahwa formulasi baru virus entomopatogen berpotensi mengendalikan larva *S. asigna* di lapangan.

Kata kunci: isolasi, RNA, *Setothosea asigna*, virus, entomopatogen, formulasi, efikasi.

PENDAHULUAN

Ulat api *Setothosea asigna* (Lepidoptera: Limacodidae) merupakan salah satu hama yang statusnya sangat merugikan pada tanaman kelapa sawit di Indonesia (Lubis 2008; Prawirosukarto *et al.* 2008; Susanto *et al.* 2010). Pola makan yang sangat rakus, stadia larva yang panjang (± 2 bulan), dan siklus hidup yang sangat singkat (± 3 bulan) menyebabkan hama ini dikenal sebagai hama yang harus dikendalikan oleh para pekebun. Serangannya yang sangat berat mampu menyebabkan tanaman kelapa sawit tidak dapat menghasilkan tandan buah selama dua sampai tiga tahun (Susanto *et al.*, 2012).

Pengendalian hama secara terpadu (PHT) merupakan cara untuk mengendalikan hama dengan menggunakan prinsip pelestarian lingkungan serta perlindungan terhadap musuh alami hama.

Pemanfaatan agen biokontrol merupakan salah satu pengendalian yang terdapat dalam prinsip PHT. Virus entomopatogen dari famili Tetraviridae adalah jenis virus spesifik inang yang hanya menginfeksi larva ulat api *Setothosea asigna* (Simanjuntak & Susanto, 2011). Virus ini merupakan salah satu mikroorganisme yang selama ini digunakan untuk pengendalian biologi *S. asigna*. Melalui hasil penelitian terdahulu, virus entomopatogen tersebut dikenal efektif mengendalikan hama pada stadium larva (Pusat Penelitian Kelapa Sawit, 2003). Sugiharti *et al.*, (2010) dalam penelitiannya juga mendapatkan *Thosea asigna virus* (TaV) yaitu virus entomopatogen yang didapat dari daerah kebun kelapa sawit yang endemik larva *Setothosea asigna*.

Setiap tahunnya permintaan pekebun akan virus entomopatogen tidak sesuai dengan ketersediaan stok virus saat ini, disebabkan karena perbanyakan virus yang dilakukan selama ini masih secara konvensional dan kurang aplikatif. Diperlukan formulasi virus yang efisien dan aplikatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi ulang DNA virus entomopatogen koleksi PPKS serta menguji formulasinya dalam bentuk tepung dan cair terhadap populasi ulat api *S. asigna* di kebun.

Penulis yang tidak disertai dengan catatan kaki instansi adalah peneliti pada Pusat Penelitian Kelapa Sawit

Donnarina Simanjuntak(✉)
Pusat Penelitian Kelapa Sawit
Jl. Brigjen Katamso No. 51 Medan, Indonesia
Email: simanjuntakdonna@yahoo.com
¹Departemen Hama & Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian,
Universitas Gadjah Mada (UGM), Yogyakarta

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Virus entomopatogen yang digunakan dalam penelitian ini merupakan koleksi Pusat Penelitian Kelapa Sawit yang terdapat dalam bentuk ulat api *S. asigna* yang menunjukkan gejala sakit *milky disease* (terinfeksi virus). Ekstraksi RNA hingga amplifikasi DNA dilakukan di Laboratorium Hama & Penyakit Tumbuhan, Faperta, UGM, Yogyakarta sejak Oktober hingga November 2017.

Metode

a. Ekstraksi RNA dan sintesis cDNA

Ekstraksi RNA total *Thosea asigna* menggunakan GeneAid Total RNA Extraction Kit

1. Sampel ulat api dibedah, organ dalam (gut) diambil.
2. Kemudian gut dimasukkan ke dalam *tube* ekstraksi 1.5 ml, ditambahkan 400 ul RB Buffer dan 4 ul B-mercaptoethanol, kemudian digerus menggunakan micropestle.
3. Setelah sampel digerus, dilakukan inkubasi pada suhu ruang selama 3 menit.
4. Filter *Column* diletakkan dalam *tube* 2 ml.
5. Selanjutnya lysate dimasukkan ke dalam filter *column* dan disentrifugasi dengan kecepatan 1.000 g selama 30 detik.
6. Cairan filtrat yang didapatkan dimasukkan ke dalam *tube* 1.5 ml baru dan ditambah 400 ul ethanol 70%.
7. RB *Column* diletakkan dalam *tube* 2 ml.
8. Filtrat yang telah ditambah ethanol dimasukkan ke dalam RB *Column* dan disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 g selama 1 menit.
9. Cairan yang diperoleh di *tube* 2 ml dibuang, RB *Column* diletakkan kembali pada *tube* 2 ml.
10. Tambahkan 400 ul buffer W1 ke dalam RB *Column* dan disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 g selama 30 detik.
11. Cairan yang diperoleh di *tube* 2 ml dibuang, dan RB *Column* diletakkan kembali pada *tube* 2 ml.

12. Tambahkan 600 ul wash buffer ke dalam RB *Column* dan disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 g selama 30 detik.
13. Cairan yang diperoleh di *tube* 2 ml dibuang, dan RB *Column* diletakkan kembali pada *tube* 2 ml.
14. Langkah nomor 12 diulang 2x.
15. Kemudian RB *Column* disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 3 menit agar kering.
16. Pindahkan RB *Column* pada *tube* 1.5 ml baru dan ditambahkan 50 ul DNase-free water, selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 30 detik.
17. Hasil ekstraksi disimpan di suhu -20°C.

Pembuatan complementary DNA menggunakan cDNA *synthesis kit* (Thermo Scientific) dengan Random Primer (poly d(N)). PCR menggunakan Ready-to Go PCR bead (GE Health care) mengikuti prosedur dari pabrikan. Amplifikasi fragmen DNA kemudian di-*running* dengan mesin elektroforesis dalam bentuk gel. Hasil elektroforesis kemudian divisualisasi dengan mesin *UV transilluminator* dalam ruang gelap.

b. Pembuatan formulasi Virus

Pembuatan formulasi *virus entomopatogen* dilakukan sejak bulan November hingga Desember 2017. Kegiatan dilakukan dalam kondisi aseptik di Laboratorium Hama & Penyakit Tanaman, PPKS Unit Usaha Marihat, Sumatra Utara.

Bahan dan Alat

Formulasi virus yang dikerjakan terdiri atas dua jenis yaitu tepung dan cair. Bahan-bahan yang dibutuhkan, antara lain suspensi virus yang berasal dari tubuh larva *Setothosea asigna* yang menunjukkan gejala terinfeksi virus (tubuh larva mengkerut dan berlendir mengeluarkan cairan berwarna putih keruh seperti susu/ *milky disease*), *aquades* steril, talkum, ekstrak bengkuang, ekstrak sari kunyit, dan tetes tebu. Selain bahan, alat yang digunakan adalah spatula, kotak plastik berukuran 20 cm x 25 cm, tampah/wadah pengering, saringan, gelas ukur 500 ml, mortar, dan kotak asap (*laminar flow*).

Metode

Pada pembuatan formulasi tepung, semua bahan yaitu tubuh larva *Setothosea asigna* yang bergejala penyakit virus ditambahkan dengan aquades steril kemudian digerus dan diambil cairan hasil gerusannya menggunakan saringan kemudian ditambahkan satu per satu dengan talkum, ekstrak bengkuang, ekstrak sari kunyit, dan sari tetes tebu. Setelah semua bahan tercampur dengan rata, adonan dikering-anginkan dalam bentuk melebar di atas tampah. Sementara dalam pembuatan formulasi cair, semua bahan (tubuh larva *Setothosea asigna* yang bergejala sakit virus, aquades steril, ekstrak bengkuang, ekstrak sari kunyit, dan tetes tebu dicampur menjadi satu kemudian disaring 3 kali hingga didapatkan hasil saringan terakhir. Setelah itu disimpan dalam ruang tertutup \pm suhu 27°C dalam kemasan botol.

c. Pengujian keefektifan formulasi virus entomopatogen di lapangan

Formulasi virus yang telah dibuat (tepung maupun cair) diuji efektivitasnya terhadap populasi ulat api *Setothosea asigna* di kebun kelapa sawit rakyat yang sedang endemik ulat api *S. asigna* yaitu di kecamatan Kubu, Balam Riau. Parameter pengamatan yang digunakan adalah persentase mortalitas larva ulat api pada 9 HSA (hari setelah aplikasi).

Lokasi pengujian dibebaskan dari perlakuan insektisida beberapa waktu sebelum perlakuan insektisida maupun selama perlakuan insektisida.

Metode pengujian percobaan lapangan

Pengujian disusun dalam rancangan acak kelompok dengan 3 ulangan. Pada setiap ulangan terdapat 4 perlakuan formulasi virus (tepung ataupun cair), 1 perlakuan ekstrak ulat api yang terinfeksi virus, 1 perlakuan deltametrin (pembanding kimia), dan 1 kontrol. Setiap perlakuan dan kontrol disemprotkan pada tanaman kelapa sawit contoh.

Cara perlakuan formulasi virus maupun insektisida kimia

Aplikasi dilakukan dengan menyemprotkan larutan semprot pada dosis yang diuji. Masing-masing dosis suspensi virus yang diuji disemprotkan pada daun tanaman kelapa sawit secara merata hingga basah mengembun. Penyemprotan tiap jenis perlakuan dilakukan dengan cara aplikasi *fogging*, alat yang digunakan adalah pulsfog K-22-Bio dengan volume semprot 5 liter/ha. Sebagai perlakuan kontrol, daun tanaman kelapa sawit disemprot menggunakan air tanpa insektisida ataupun virus. Perlakuan yang diuji pada dosis adalah 50 ml virus formulasi cair/5 L/ha, 100 ml virus formulasi cair/5 L/ha, 20 gr virus formulasi tepung/5 L/ha, 50 gr virus formulasi tepung/5 L/ha, ekstrak 100 ml ulat api terinfeksi virus/5 L/ha, 100 ml deltametrin/ 5 L/ha, dan kontrol.

Waktu aplikasi perlakuan

Aplikasi perlakuan virus maupun deltametrin dilakukan sekali selama percobaan dan pada malam hari. Setiap perlakuan disemprotkan pada tanaman kelapa sawit contoh dengan luasan masing-masing 0,5 ha dan diulang pada 3 petak (3 ulangan). Sebelum dilakukan *fogging*, sehari sebelumnya telah dilakukan penghitungan populasi ulat *Setothosea asigna* yang masih hidup pada tanaman kelapa sawit contoh, yaitu tiap 0,5 ha diambil 3 tanaman contoh @2 pelepah. Setelah *fogging*, pada 9 HSA dilakukan kembali penghitungan sisa ulat yang masih hidup pada tanaman contoh kemudian dihitung nilai mortalitas masing-masing perlakuan uji.

d. Analisis Data

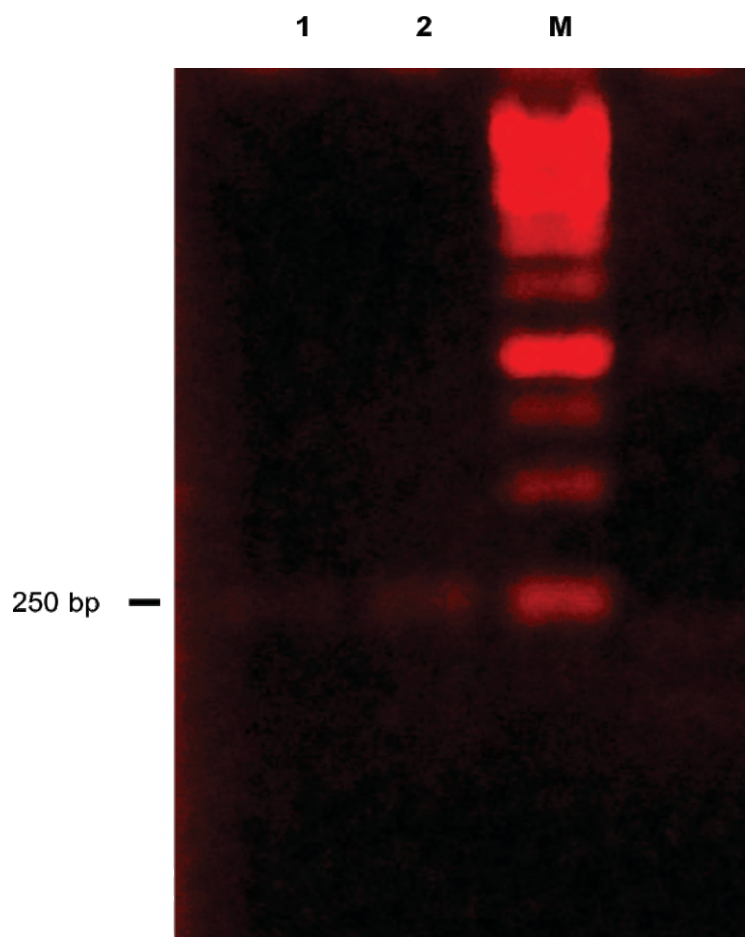
Data yang diperoleh dianalisis menggunakan bantuan perangkat lunak SAS 9.0. Jika terdapat signifikansi data dilanjutkan dengan uji Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*) pada taraf 5% untuk mengetahui perbedaan tingkat efikasi antar perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Amplifikasi DNA

Dari Gambar 1 menunjukkan bahwa lajur 1 dan lajur 2 memiliki kesamaan ukuran fragmen asam nukleat dengan lajur M (*marker*) yaitu 250 bp (*basepair*). Lajur 1 dan lajur 2 adalah sampel ulat api *S. asigna* yang merupakan koleksi

laboratorium Proteksi Tanaman PPKS yang positif mengandung *virus entomopatogen*. Dari hasil amplifikasi DNA didapatkan informasi yaitu *virus entomopatogen* milik PPKS memiliki ukuran fragmen asam nukleat 250 bp.



Gambar 1. Hasil RT-PCR menggunakan primer TaV-G1 dan TaV-G2 divisualisasi dalam agarose gel 1 %. Lajur 1: sampel ulat api (kode PPKS-1); Lajur 2: sampel ulat api (kode PPKS-2); dan lajur M: 1 kb DNA ladder

Formulasi Tepung dan Cair

Formulasi tepung virus entomopatogen dibuat dengan cara dikering-anginkan. Cara ini lebih aman dibanding jika menggunakan oven yang dapat menimbulkan peluang rusaknya selubung protein virus entomopatogen. Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan formulasi virus dalam bentuk tepung adalah 200 gr ulat api *S. asigna* yang terinfeksi virus, 500 gr talkum, 150 gr ekstrak kunyit, dan 150 ml ekstrak bengkuang sebagai pelindung dari

sinar ultra violet. Proses dikering-anginkan memakan waktu dua minggu pada suhu ruang 27°C.

Pada proses pembuatan formulasi virus berbentuk cair, bahan-bahan yang dipakai adalah 500 gr ulat api *S. asigna* yang terinfeksi virus, 250 ml tetes tebu, 150 ml ekstrak bengkuang, dan 100 ml *aquades* steril. Setelah semua bahan tercampur dengan rata, disaring sebanyak dua kali dan hasil saringan terakhir disimpan dalam botol plastik tertutup pada suhu -30°C.



Gambar 2. Formulasi virus entomopatogen dalam bentuk tepung (a, b) dan cair (c)

Tabel 1. Jumlah badan polihedral virus dalam tiap jenis formulasi
 Table 1. The number of virus polyhedral bodies in each formulation

| Formulasi tepung | | | Formulasi cair | | |
|-------------------------|----------|--------------------------------------|-------------------------|----------|--------------------------------------|
| Perlakuan | Ulangan. | Jumlah polihedral/gr | Perlakuan | Ulangan. | Jumlah polihedral/ml |
| Dalam lemari es (-20°C) | 1 | $2,16 \times 10^5$ | Dalam lemari es (-20°C) | 1 | $2,44 \times 10^5$ |
| | 2 | $1,88 \times 10^5$ | | 2 | $1,88 \times 10^5$ |
| | 3 | $2,52 \times 10^5$ | | 3 | $2,84 \times 10^5$ |
| | 4 | $2,68 \times 10^5$ | | 4 | $2,36 \times 10^5$ |
| | 5 | $2,32 \times 10^5$ | | 5 | $1,84 \times 10^5$ |
| | 6 | $2,48 \times 10^5$ | | 6 | $2,88 \times 10^5$ |
| | 7 | $1,72 \times 10^5$ | | 7 | $2,16 \times 10^5$ |
| | 8 | $1,56 \times 10^5$ | | 8 | $2,28 \times 10^5$ |
| | 9 | $2,08 \times 10^5$ | | 9 | $1,68 \times 10^5$ |
| | 10 | $2,56 \times 10^5$ | | 10 | $2,92 \times 10^5$ |
| Rerata | | $2,19 \times 10^5$ | Rerata | | $2,33 \times 10^5$ |

Pada Tabel 1, dari 10 ulangan formulasi virus dalam bentuk cair memiliki jumlah polihedral lebih banyak, yaitu $2,33 \times 10^5$ per ml dibanding formulasi tepung. Penghitungan jumlah polihedral dilakukan untuk memastikan keberadaan ada tidaknya virus dalam tiap jenis formulasi sehingga pengujian berikutnya dapat dilanjutkan.

Pengujian Formulasi di Kebun Kelapa Sawit

Formulasi virus yang telah dibuat dalam bentuk tepung maupun cair diuji keefektifannya terhadap populasi ulat api *S. asigna* di lapangan. Pengujian dilakukan dengan cara aplikasi *fogging* menggunakan 7 macam perlakuan (Tabel 2 terlampir).

Dari sekian banyak fogger yang ada di pasaran, pulsfog K-22-Bio sudah sering direkomendasikan untuk aplikasi *fogging* jenis pestisida yang berbahan mikrobiologi seperti virus, bakteri maupun cendawan karena *fogger* ini terdiri atas tiga tabung, yaitu tabung pertama berisi bahan bakar, tabung kedua dan ketiga berisi suspensi virus dan air sebagai pembawa virus ke udara sehingga panas mesin *fogger* tidak berpengaruh negatif (mematikan) terhadap virus.

Hasil ini didukung dengan hasil uji DMRT mortalitas larva *S. asigna* pada hari ke 9 HSA yang menunjukkan bahwa perlakuan T1, T2, T3, T4, dan T5 yang merupakan perlakuan virus sangat berbeda nyata dengan kontrol yang sama sekali tidak menggunakan aplikasi virus. Begitu juga dengan perlakuan T6 yang merupakan aplikasi deltametrin hasilnya juga efektif terhadap mortalitas larva *S. asigna* (Tabel 2).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Sinaga *et al.* (2015) penggunaan insektisida deltametrin terhadap ulat api *S. asigna* merupakan teknik pengendalian yang paling efektif diantara pengendalian lainnya yaitu dengan nilai mortalitas

100% pada 4 HSA dan dengan waktu kematian tercepat dibanding pengendalian dengan biologi. Akan tetapi, banyak hasil riset memaparkan jika penggunaan aplikasi kimia untuk pengendalian hama sebaiknya dilakukan sebagai langkah alternatif terakhir karena aplikasi kimia secara terus-menerus dapat menyebabkan terjadinya resurgensi hama yaitu populasi hama menurun dengan cepat dan secara tiba-tiba justru meningkat lebih tinggi dari populasi sebelumnya karena sifat dari insektisida ini berspektrum luas yang juga membunuh musuh alami dari hama. Selain itu dampak lain dari aplikasi kimia secara terus-menerus adalah terjadinya resistensi hama yaitu terjadinya kekebalan pada tubuh hama terhadap satu/dua jenis bahan kimia tertentu yang digunakan secara terus-menerus. Sementara pengendalian hama secara biologi meskipun terkesan lebih lambat akan tetapi hasilnya berkelanjutan dan tidak membuat populasi musuh alami menjadi menurun karena pengendalian biologi memiliki sifat pengendalian yang tepat sasaran (hanya tertuju pada hama utamanya) tanpa mengakibatkan kematian serangga lain yang bukan sasarannya (Tarigan *et al.*, 2013; Silitonga *et al.*, 2013).

Tabel 2. Mortalitas (%) larva *Setothosea asigna* pada 9 HSA.

Table 2. Mortality (%) of *Setothosea asigna* larvae at 9 days after application.

| Perlakuan | Ulangan | | | Total | Rerata |
|-----------|---------|----|-----|-------|---------|
| | I | II | III | | |
| T0 | 20 | 15 | 24 | 59 | 19,67 b |
| T1 | 70 | 75 | 69 | 214 | 71,33 a |
| T2 | 76 | 79 | 72 | 227 | 75,67 a |
| T3 | 63 | 71 | 69 | 203 | 67,67 a |
| T4 | 68 | 73 | 67 | 208 | 69,33 a |
| T5 | 74 | 69 | 75 | 218 | 72,67 a |
| T6 | 79 | 87 | 85 | 251 | 83,67 a |

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak beda nyata pada uji DMRT taraf 5 %.

T0 : kontrol (hanya air dan tanpa *fogging* virus)
T1 : 50 ml formulasi cair
T2 : 100 ml formulasi cair
T3 : 20 gr formulasi tepung

T4 : 50 gr formulasi tepung
T5 : ekstrak 100 ml ulat api terinfeksi virus
T6 : 100 ml deltametrin

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil amplifikasi DNA larva ulat api sakit yang merupakan koleksi PPKS asal kebun Bah Jambi, Sumatera Utara positif mengandung virus entomopatogen dengan panjang fragmen asam nukleat 250 bp. Sementara dari hasil uji lapangan larva ulat api sakit yang telah dibuat dalam bentuk formulasi tepung dan cair yaitu pada dosis 20 gr; 50 gr; 50 ml; dan 100 ml memiliki nilai mortalitas larva sebesar 67,67% hingga 75,67%.

Dengan adanya hasil pengujian di lapangan, terdapat peluang yang cukup potensial untuk pengembangan virus entomopatogen dalam bentuk formulasi agar memudahkan petani kelapa sawit dalam mengendalikan ulat api *S. asigna*.

DAFTAR PUSTAKA

- Lubis, A. U. 2008. Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) di Indonesia. Edisi kedua. Pusat Penelitian Kelapa Sawit. Marihat, Pematang Siantar, Sumatera Utara.
- Prawirosukarto, S., A. Susanto, R.Y. Purba, dan B. Drajat, 2008. Teknologi Pengendalian Hama dan Penyakit pada Kelapa Sawit: Siap Pakai dan Ramah Lingkungan. Pusat Penelitian Kelapa Sawit, P. Siantar.
- Pusat Penelitian Kelapa Sawit. 2003. Teknologi pengendalian hama terpadu (PHT) untuk komoditas kelapa sawit. Marihat, Pematang Siantar, Sumatera Utara.
- Silitonga, D. E., Darma Bakti, dan Marheni. 2013. Penggunaan Suspensi Baculovirus Terhadap *Oryctes rhinoceros* L. (Coleoptera: Scarabaeidae) Di Laboratorium. Jurnal Online Agroekoteknologi Vol. 1(4). ISSN No. 2337-6597. Universitas Sumatera Utara.
- Simanjuntak, D. dan A. Susanto. 2011. Re-propagasi *nucleo polyhedral virus* (NPV)-*Setothosea asigna*. Jurnal Penelitian Kelapa Sawit. Vol 19(2): 83 – 90. Pusat Penelitian Kelapa Sawit Press: Medan.
- Sinaga, M., S. Oemry, dan Lisnawita. 2015. Efektifitas Beberapa Teknik Pengendalian *Setothosea asigna* pada Fase Vegetatif Kelapa Sawit di Rumah Kaca. Jurnal Online Agroekoteknologi. Vol. 3(2): 634-641. ISSN No. 2337-6597. Universitas Sumatera Utara.
- Sugiharti, M., C. T. Ono, S. Ito, K. Asano, Y. Sahara, Pujiastuti, and H. Bando. 2010. Isolation of the *Thosea asigna virus* (TaV) from the epizootic *Setothosea asigna* larvae collected in South Sumatra and a study on its pathogenicity to Limacodidae larvae in Japan. Journal of Insect Biotechnology and Serology 79, 117-124. Japan: Hokkaido University.
- Susanto, A., R.Y. Purba, dan A. E. Prasetyo. 2010. Hama dan Penyakit Kelapa Sawit Volume 1. Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS), Medan.
- Susanto, A., A. E. Prasetyo, D. Simanjuntak, T. A. P. Rozziansha, H. Priwiratama, Sudharto, R. D. Chenon, A. Sipayung, T. W. P. Agustinus, dan R. Y. Purba. EWS: Ulat api, ulat kantung, ulat bulu. 2012. Seri Kelapa Sawit Populer volume 09. Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS) Press, Medan.
- Tarigan, B., Syahrial, dan M. U. Tarigan. 2013. Uji Efektifitas *Beauveria bassiana* dan *Bacillus thuringiensis* Terhadap Ulat Api (*Setothosea asigna* Eeck, Lepidoptera, Limacodidae) Di Laboratorium. Jurnal Online Agroekoteknologi Vol. 1(4). ISSN No. 2337-6597. Universitas Sumatera Utara.

