



Karakterisasi sekuen DNA gen mtCO-1 hama penggerek pucuk (*Hypsipyla* sp.) pada tanaman mahoni (*Swietenia macrophylla* King) di Kabupaten Minahasa dan Kota Tomohon Provinsi Sulawesi Utara

Characterization of mtCO-1 gene from top borer (*Hypsipyla* sp.) on Mahogany (*Swietenia macrophylla* King) In Minahasa Regency and Tomohon City, North Sulawesi Province

Jusuf Manueke^{1*}, Jefry Sembiring², Dantje Tarore¹

¹Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Sam Ratulangi
Jalan Kampus Unsrat, Kleak Bahu, Manado 85115.

²Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Musamus Merauke
Jalan Kamizaun Mopah Lamah Merauke, Papua 99611

(diterima Mei 2019 dan disetujui Februari 2020)

ABSTRAK

Hypsiphyla sp. termasuk Ordo Lepidoptera, Famili Pyralidae. Serangga ini merupakan salah satu hama penting pada tanaman Mahoni (*Swietenia macrophylla* King.). Tujuan penelitian adalah mengetahui profil gen CO1 hama penggerek pucuk (*Hypsipyla* sp.) pada tanaman *S. macrophylla* di Kabupaten Minahasa dan Kota Tomohon, Provinsi Sulawesi Utara. Metode yang digunakan adalah metode deskriptif, yaitu ekstraksi atau purifikasi *double strands* DNA (dsDNA) total, amplifikasi gen CO1 dengan metode PCR, visualisasi hasil PCR dengan *atomic electrophoresis qiagen*, dan sekuensing. Data hasil sekuensing, yaitu konstruksi pohon filogeni dideskripsikan menurut *cluster* yang menggambarkan data molekuler setiap sampel. Hasil analisis perbedaan genetik antara *Hypsipyla* sp. asal Minahasa Utara dan Tomohon dengan *H. robusta*, yaitu 3,8%–4,4%. *Hypsipyla* sp. asal Minahasa Utara dan Tomohon dengan *H. grandella*, yaitu 9,0%–9,3%. Berdasarkan hasil analisis tersebut dapat diketahui bahwa kekerabatan *Hypsipyla* sp. di Kabupaten Minahasa Utara dan Kota Tomohon lebih dekat kepada *H. robusta* daripada *H. grandella*. Hasil analisis *cluster* *Hypsipyla* sp. di Kabupaten Minahasa Utara dan Kota Tomohon yang dipetakan dalam konstruksi pohon filogeni menunjukkan bahwa *Hypsipyla* sp. di Kabupaten Minahasa Utara dan Kota Tomohon Provinsi Sulawesi Utara sudah berada atau membentuk *clade* terpisah dengan *clade* *H. robusta* dan *H. grandella* yang ada di GenBank.

Key words: Gen CO1, *Hypsipyla* sp., *Swietenia macrophylla*

ABSTRACT

Hypsiphyla sp. include the Order Lepidoptera, Family Pyralidae. These insects is one of the important pests on mahogany plants (*Swietenia macrophylla* King.). This pest has been found to attack *S. macrophylla* plants in North Sulawesi, especially in the area of mahogany plant centers namely North Minahasa Regency and Tomohon City. The aim of the study was to determine the CO1 gen profile of mahogany shoots borer (*Hypsipyla* sp.) on mahogany plant (*Swietenia macrophylla*) in Minahasa Regency and Tomohon City, North Sulawesi Province. The method used is descriptive method, consists of extraction or purification of total double strands DNA (dsDNA), amplification of CO1 gene by PCR method, visualization of PCR results with atomic electrophoresis qiagen, and sequencing. The

*Penulis korespondensi: Jusuf Manueke. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Sam Ratulangi
Jalan Kampus Unsrat Kleak Bahu, Manado 85115. Tel: 0431-862786, Faks: 0431-862786, Email: jusufmanueke58@gmail.com

sequenced data that is the construction of the phylogeny tree are described according to clusters which give the morphometric character of each sample. The results of the analysis of genetic differences between *Hypsipyla* sp. origin of North Minahasa and Tomohon namely 3.8%–4.4%. *Hypsipyla* sp. origin of North Minahasa and Tomohon with *H. grandella* namely 9.0%–9.3%. Based on the results of this analysis it can be seen that the kinship of *Hypsipyla* sp. in North Minahasa Regency and Tomohon City it is closer to *H. robusta* than *H. grandella*. Results of cluster analysis of *Hypsipyla* sp. in North Minahasa Regency and Tomohon City, North Sulawesi Province compared to *H. robusta* and *H. grandella* in the GenBank mapped in the phylogeny tree construction indicate that *Hypsipyla* sp. in North Minahasa Regency and Tomohon City, North Sulawesi Province already exists or forms a separate clade with *H. robusta* and *H. grandella* clades in GenBank.

Key words: CO1 gen, *Hypsipyla* sp., *Swietenia macrophylla*

PENDAHULUAN

Hypsiphyla ssp. termasuk Ordo Lepidoptera, Famili Pyralidae. Serangga ini merupakan salah satu hama penting pada tanaman mahoni (*Swietenia macrophylla*). Serangga ini menyerang pucuk tanaman mahoni sehingga disebut penggerek pucuk tanaman mahoni. Stadium yang menyerang tanaman adalah stadium larva. Imago betina meletakkan telur pada permukaan daun muda atau yang dipilihnya sehingga saat menetas larva muda sudah berada disekitar/dekat atau pada pucuk, dan langsung memakan bagian pucuk pohon yang lunak kemudian setelah berganti kulit larva instar-2 menggerek pucuk tersebut (Griffiths 1993; Mohamadas 2010; Sembiring 2016).

Dua spesies dari genus *Hypsipyla* yang merupakan hama utama perusak pucuk pada beberapa anggota Famili Meliaceae terutama tanaman mahoni adalah *Hypsipyla grandella* (Zeller) and *Hypsipyla robusta* (Moore). *H. grandella* merupakan serangga asli dari US (Southern Florida), Mexico, Caribbean, dan South America. Serangga ini pertama kali ditemukan oleh Zeller pada tahun 1848 (Howard & Merida 2019). *H. robusta* berasal atau serangga asli dari Afrika, yaitu West and East Africa, kemudian menyebar ke Asia dan Pasifik. Serangga ini pertama kali dideskripsikan oleh Moor pada tahun 1886 (Griffiths 2001).

Menurut Hauxwell et al. (2001) imago *H. robusta* berwarna coklat keabu-abuan dengan lebar sayap sekitar 23–45 mm. Sayap depan berwarna abu-abu hingga coklat dengan nuansa merah karat pada bagian bawah sayap. Bagian tengah sayap ada bintik-bintik putih dan hitam menuju ujung sayap. Vena sayap yang khas dilapis dengan warna hitam. Sayap belakang

hialin bernuansa putih dengan margin berwarna gelap. Sementara itu, imago *H. grandella* berwarna keabu-abuan (*gray coloration*), sayap depan berwarna abu-abu kecoklatan, pangkal sayap depan berwarna coklat kekuningan, sayap belakang berwarna putih transparan.

Hasil survei Manueke et al. (2014) menunjukkan bahwa tanaman mahoni di Sulawesi Utara khususnya di Minahasa, Tomohon, dan Talaud telah diserang oleh hama penggerek pucuk *Hypsipyla* sp. Penelitian mengenai taksonomi serangga ini belum pernah dilakukan, apakah *H. grandella* atau *H. robusta*, ataupun spesies lain yang menyerang tanaman Mahoni di Sulawesi Utara. Oleh karena itu, penelitian mengenai ekologi dan identifikasi, cara pencegahan dan pengendalian hama tersebut perlu dilakukan untuk mengatasi masalah yang ditimbulkan. Identifikasi spesies genus *Hypsipyla* yang menyerang tanaman mahoni di Sulawesi Utara harus dilakukan untuk menunjang pengendalian hama tersebut karena data taksonomi serangga merupakan persyaratan utama dalam menentukan cara mengendalikan suatu jenis hama.

Menurut Iskandar (2006), terdapat beberapa kelemahan di dalam penanganan hama penggerek pucuk mahoni (*Hypsipyla* sp.) sebagai eksotik spesies. Keadaan geografis Indonesia yang merupakan negara kepulauan menjadikan kondisi ini sulit untuk mengontrol distribusi dan transportasi tumbuhan dan hewan antar pulau. Kelemahan lain adalah kurangnya informasi mengenai spesies asing, terbatasnya sumberdaya manusia yang memiliki pengetahuan mengenai invasif spesies, rendahnya koordinasi di antara institusi, dan belum berkembangnya program pada level nasional dalam menangani invasif spesies di hutan. Tahun 1998 telah terjadi kerusakan tanaman mahoni

umur dua sampai lima tahun sebesar 40% akibat serangan hama *Hypsipyla* sp. (Rachmatsjah & Wylie 2001; Husaini et al. 2006; Sembiring et al. 2016). Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui profil gen CO1 hama penggerek pucuk (*Hypsipyla* sp.) pada tanaman mahoni (*S. macrophylla*) di Kabupaten Minahasa dan Kota Tomohon, Provinsi Sulawesi Utara.

BAHAN DAN METODE

Metode yang digunakan dalam penelitian adalah metode deskriptif. Penelitian eksperimental laboratorium terdiri atas pengambilan dan preservasi sampel serangga, pengamatan morfometri, dan ekstraksi atau purifikasi *double strands* DNA (dsDNA) total, amplifikasi gen CO1 dengan metode PCR, visualisasi hasil PCR dengan *automatic electrophoresis qiagen*, dan sekuensing. Analisis data hasil sekuensing menggunakan *Crustal W* dalam program MEGA 4.0 (Tamura et al. 2007). Data yang dianalisis adalah konfirmasi hasil sekuensing dengan program *basic local alignment search tool* (BLAST).

Pengambilan sampel

Pengambilan sampel serangga *Hypsipyla* sp. dan preservasi sampel dilaksanakan dari bulan April–Mei 2016. Lokasi pengambilan sampel serangga *Hypsipyla* sp. dilakukan di areal per-tanaman mahoni di Kabupaten Minahasa Utara dan Kota Tomohon. Sebelum diekstraksi, larva *Hypsipyla* dipreservasi dengan etanol pro analisis 95%. Preservasi sampel dilaksanakan di Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Sam Ratulangi Manado.

Pengamatan morfometri

Pengamatan morfometri dilakukan dengan mengamati ciri morfologi *Hypsiphyla* sp. yang ditemukan di Kabupaten Minahasa dan Minahasa Utara. Hal-hal yang diamati adalah warna, ukuran, dan ciri-ciri morfologi lainnya dari larva dan imago

Ekstraksi dan purifikasi dsDNA total

Ekstraksi dan purifikasi dsDNA total dilaksanakan di Laboratorium Biologi, Fakultas

Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi Manado pada bulan Juni 2016. Ekstraksi dan purifikasi dsDNA total dari *Hypsipyla* sp. menggunakan prosedur DNeasy Blood & Tissue Kit dan KIT Analytik Jena untuk mendapatkan hasil ekstraksi maksimal. Tahapan pekerjaan ekstraksi dan purifikasi dsDNA total meliputi *lisis, binding, washing, dan elution*.

Analisis kemurnian dan konsentrasi dsDNA total

Analisis kemurnian dan konsentrasi dsDNA total dilaksanakan di Laboratorium Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Sam Ratulangi Manado pada bulan Juni 2016. Hasil ekstraksi dsDNA total selanjutnya dianalisis konsentrasi dan kemurnian dengan menggunakan alat nanospektrofotometer. Kemurnian DNA dapat dilihat dengan nilai rasio A260/A280 antara 1,8–2,0 nm. Apabila <1,8 berarti terkontaminasi dengan protein dan atau komponen cemaran *derivate* protein yang mempengaruhi molekul DNA, dan jika >2,0 berarti terkontaminasi dengan RNA (Protokol Kit).

Amplifikasi gen target dengan metode PCR

Amplifikasi gen target dengan metode PCR dilaksanakan di Laboratorium Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Sam Ratulangi Manado pada bulan Juni 2016. Proses PCR menggunakan Top Tag Master KIT Qiagen dan primer CO1. *Forward* LCO 1490: 5'GGTCAACAAATCATA AAGATATTGG3' dan *reverse* HCO 2198: 5'TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA3' (Griffiths 1993), dengan kondisi PCR denaturasi awal 72 °C selama 50 detik kemudian denaturasi berikut 94 °C selama 30 detik. *Annealing* 49 °C selama 40 detik, *extension* 72 °C selama 50 detik, *final extension* 72 °C selama 5 menit. Jumlah siklus sebanyak 35 kali. Visualisasi produk PCR dengan *automatic electrophoresis qiaxel* dengan menggunakan KIT DNA *screening Qiagen* (*Qiaxel*). Prosedur kerja disesuaikan dengan protokol KIT.

Analisis sekuens (sekuensing) DNA

Analisis sekuens (sekuensing) DNA dilaksa- nakan di Eijkman Institute Jakarta pada Juni–Juli 2015. Sekuensing dilakukan

untuk mengetahui sekuens gen yang kita inginkan. Kit dan primer yang digunakan sama dengan kit dan primer yang digunakan pada proses amplifikasi, yaitu Top Tag Master KIT Qiagen dan primer CO1. *Forward* LCO 1490: 5'GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG3' dan *reverse* HCO 2198: 5'TAAACTTCAGGGTGAC CAAAAAATCA3'.

Analisis data

Analisis data hasil sekuensing DNA dilaksanakan di Laboratorium Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Sam Ratulangi Manado dari bulan Agustus–September 2016. Sekuens nukleotida gen *Hypsipyla* disepadankan (*alignent*) menggunakan Crustal W dalam program MEGA 4.0 (Tamura et al. 2007). Data yang dianalisis adalah konfirmasi hasil *sekuensing* dengan program *basic local lignment search tool* (BLAST). Hasil sekuens *Hypsipyla* sp. pada tanaman mahoni di Kabupaten Minahasa Utara dan Kota Tomohon dibandingkan dengan spesies genus *Hypsipyla* lain yang diunduh dari GenBank. Adapun parameter sekuens yang dianalisis meliputi daerah polimorfik (*polimorfic site*), jarak/perbedaan genetik (*genetic distance*), dan pohon asal-usul (*phylogenetic tree*). Jarak genetik dihitung dengan metode *Kimura 2 parameter*. Berdasarkan pohon filogeni tersebut dapat diketahui jarak genetik antar spesies, lebih jauh dapat diketahui pola evolusi makhluk hidup (Tamura & Kumar 2004).

HASIL

Hasil pengamatan morfometri terhadap imago *Hypsipyla* sp. di Kabupaten Minahasa Utara menunjukkan bahwa ukuran tubuh berkisar 26–32 mm, rentang sayap 48–53 mm. Tubuh imago

berwarna coklat kehitaman dengan spot-spot berwarna coklat muda keputihan. Sayap depan berwarna coklat kekuningan dengan margin sayap berwarna coklat kekuningan. Sayap belakang berwarna putih kekuningan dengan margin sayap berwarna kuning kecoklatan. Larva instar terakhir (instar-4) memiliki panjang $\pm 22,5$ (kisaran 22,3–22,8) mm, berwarna abu-abu kehijauan, dengan bintik-bintik hitam berjejer 4 pada permukaan tubuh. Pupa berwarna putih kehijauan, dengan panjang $\pm 18,4$ mm (kisaran 18,1–18,7) mm (Gambar 1).

Hasil analisis sekuens menunjukkan bahwa telah terjadi perbedaan genetik antara sampel *Hypsipyla* sp. yang ada di Kabupaten Minahasa dan Kota Tomohon Provinsi Sulawesi Utara dengan *H. grandella* dan *H. robusta* yang sudah terdata dalam GenBank. Hasil analisis perbedaan genetik (*genetic distance*) antara *Hypsipyla* sp. asal Minahasa Utara 1 dan Minahasa Utara 2 dengan *H. robusta* / KF403647, *H. robusta* / AY062910, *H. robusta* / KF400848, yaitu 3,8%, 4,1%, 4,3%, dan 4,0%, 4,3%, 4,4%. *Hypsipyla* sp. asal Tomohon 1 dan Tomohon 2 dengan *H. robusta* / KF403647, *H. robusta* / AY062910, *H. robusta* / KF400848, yaitu 3,8%, 4,1%, 4,1%, dan 3,8%, 4,1%, 4,3%. *Hypsipyla* sp. asal Minahasa Utara 1 dengan *Hypsipyla* sp. asal Minahasa Utara 2, Tomohon 1, dan Tomohon 2, yaitu 0,6%, 0,3%, dan 0,2%. *Hypsipyla* sp. asal Minahasa Utara 1, Minahasa Utara 2, Tomohon 1, dan Tomohon 2 dengan *H. grandella* / KJ557580, yaitu 9,0%, 9,3%, 9,2%, dan 9,0%. *H. grandella* / KJ557580 dengan *H. robusta* / KF403647, *H. robusta* / AY062910, dan *H. robusta* / KF400848, yaitu 9,3%, 9,2%, dan 9,0%. Berdasarkan hasil analisis tersebut dapat diketahui bahwa kekerabatan *Hypsipyla* sp. di Kabupaten Minahasa Utara dan Kota Tomohon lebih dekat kepada *H. robusta* daripada *H. grandella* (Tabel 1).



Gambar 1. *Hypsipyla* sp. pada tanaman mahoni di Kabupaten Minahasa Utara, Provinsi Sulawesi Utara. A: larva; B: pupa; C: imago.

Hasil analisis *cluster* terhadap sampel serangga *Hypsipyla* sp. di Kabupaten Minahasa Utara dan Kota Tomohon, Provinsi Sulawesi Utara dibandingkan dengan *H. robusta* dan *H. grandella* yang ada di GenBank yang dipetakan dalam konstruksi pohon filogeni, dan menunjukkan bahwa *Hypsipyla* sp. di Kabupaten Mihasa Utara dan Kota Tomohon Provinsi Sulawesi Utara sudah berada atau membentuk *clade* terpisah dengan *clade* *H. robusta* dan *H. grandella* yang ada di GenBank (Gambar 2).

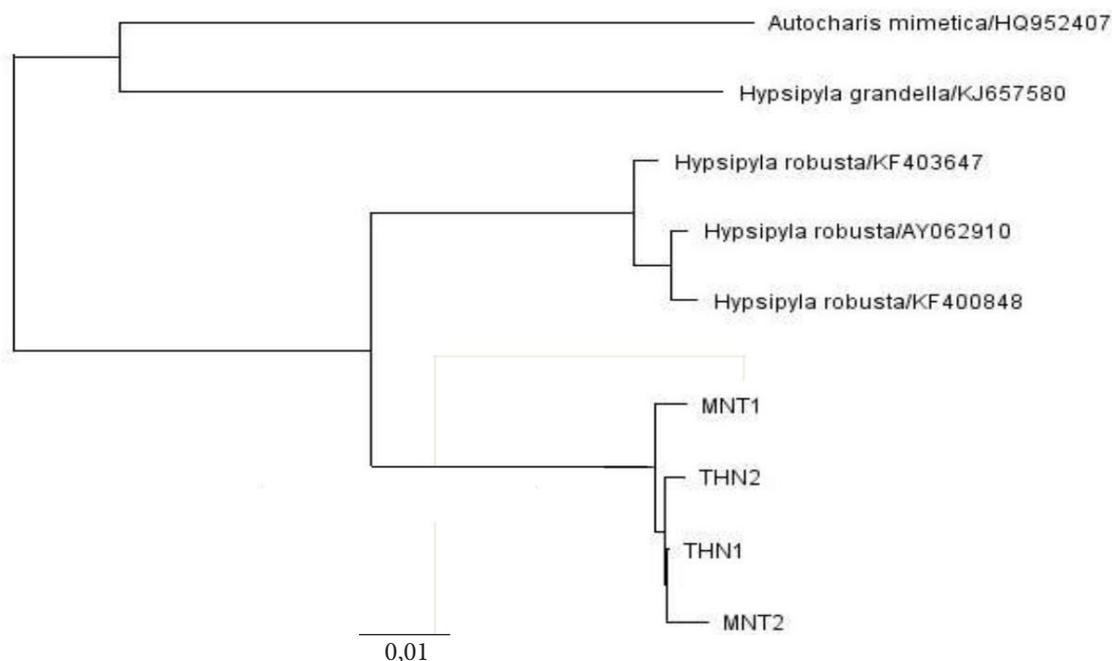
PEMBAHASAN

Perbedaan genetik antara sampel *Hypsipyla* sp. di Kabupaten Minahasa Utara dan Kota Tomohon Provinsi Sulawesi Utara yang dibandingkan dengan *H. robusta* dan *H. grandella* yang sudah terdata di GenBank hampir sama dengan perbedaan genetik antara *H. robusta* dan *H. grandella*, yaitu 9,0%–9,3% dengan 9,7%–9,8%. Hal ini mengindikasikan bahwa *Hypsipyla* sp. di Kabupaten Minahasa Utara dan Kota Tomohon

Tabel 1. Perbedaan genetik (*genetic distance*) *Hypsipyla* sp. di Kabupaten Minahasa Utara dan Kota Tomohon Provinsi Sulawesi Utara dengan *Hypsipyla* spp. yang sudah terdata di GenBank

No.	Sampel	1	2	3	4	5	6	7	8
1	Hr / KF403647	0							
2	Hr / AY062910	0,8	0						
3	Hr / KF400848	0,5	0,3	0					
4	Hs.MNT1	3,8	4,1	4,3	0				
5	Hs.MNT2	4,0	4,3	4,4	1,6	0			
6	Hs.THN1	3,8	4,1	4,1	0,3	0,3	0		
7	Hs.THN2	3,8	4,1	4,3	0,5	0,5	0,2	0	
8	Hg / KJ5575680	9,7	9,8	9,8	9,0	9,3	9,2	9,0	0

Hr: *Hypsipyla robusta*; Hs: *Hypsipyla* sp.; MNT1: Minahasa Utara 1; MNT2: Minahasa Utara 2; THN1: Tomohon 1; THN2: Tomohon 2; Hg: *Hypsipyla grandella*.



Gambar 2. Konstruksi pohon filogeni *Hypsipyla* sp. di Kabupaten Minahasa dan Kota Tomohon Provinsi Sulawesi Utara dibandingkan dengan *Hypsipyla* spp. yang sudah terdata di GenBank. MNT1: Minahasa Utara 1; MNT2: Minahasa Utara 2; THN1: Tomohon 1; THN2: Tomohon 2. Kontruksi filogenetik menggunakan metode jarak (*distance method*) dan analisis *bootstrap* (1.000 kali) dalam *software* MEGA 4.0.

telah terjadi perubahan genetik. Perubahan genetik pada suatu organisme dapat disebabkan oleh proses evolusi biologi melalui perubahan basa nukleotida pada organisme tersebut di alam. Hal ini dikuatkan dengan hasil analisis *cluster* terhadap sampel *Hypsipyla* sp. di Kabupaten Minahasa Utara dan Kota Tomohon Provinsi Sulawesi Utara yang dipetakan dalam konstruksi pohon filogeni sudah berada atau membentuk *clade* yang berbeda dengan *H. robusta* dan *H. grandella* yang sudah terdata di GenBank.

Terjadinya spesiasi atau perubahan genetik pada *Hypsipyla* sp. di Kabupaten Minahasa Utara dan Kota Tomohon Provinsi Sulawesi Utara dapat disebabkan oleh beberapa hal sebagai berikut: 1) Serangga ini sudah terisolir jauh dari populasi aslinya; 2) Adanya *barier* pemisah antara populasi asalnya, yaitu lautan, benua, dan gunung; 3) Lingkungan atau habitat hidup yang berbeda dengan populasi asal; 4) Substansi kimia dan pencemaran di alam.

Menurut Boughey (1973), perubahan basa nukleotida terjadi dalam proses transformasi genetik melalui *system transformasi element* melalui induk (*P- Element Transformation System*) yang berlangsung dalam perkawinan induk jantan dan betina (*hybridisasi*) dan mutasi. Perkawinan antar individu yang memiliki genetik yang berbeda (*genetic intraspecific relationship*) menghasilkan keturunan yang memiliki sifat genetik *hybrid*. Perubahan genetik dapat juga disebabkan oleh adanya faktor lingkungan fisik yang ekstrim, seperti suhu tinggi dan adanya bahan kimia yang dapat menyebabkan pemutusan ikatan atau perubahan urutan basa nukleotida. Transformasi genetik terjadi dalam proses transkripsi dan translasi yang berlangsung dalam tubuh organisme selama proses evolusi biologi di alam (Tamura et al. 2007). Hal ini diperkuat dengan adanya perbedaan morfologi sampel *Hypsipyla* sp. yang ditemukan di Kabupaten Minahasa Utara (Gambar 1), dibandingkan dengan morfologi *H. robusta* yang deskripsikan oleh Hauxwell et al. (2011). Perbedaan meliputi warna dan panjang tubuh larva, pupa, dan imago.

Gilbert (2011) menyatakan bahwa ekspresi genetik pada organisme merupakan hasil dari transformasi genetik yang terjadi selama proses transkripsi genetik. Transkripsi adalah proses

penyalinan kode-kode genetik yang ada pada urutan DNA menjadi molekul RNA dan merupakan proses yang mengawali ekspresi sifat-sifat genetik yang nantinya akan muncul sebagai fenotipe. Menurut Manueke (2012), pewarisan atau penurunan sifat genetik terjadi dalam suatu sistem biologi organisme yang disebut sistem transformasi genetik yang memungkinkan terjadinya perubahan genetik pada suatu organisme. Perubahan sifat genetik dapat terjadi karena adanya perkawinan antar individu dalam populasi dan mutasi gen. Perubahan genetik bergantung pada waktu lamanya pemisahan kelompok individu dengan populasi asal dan faktor lingkungan fisik serta makanan.

Boughey (1973) dan Shoonhoven et al. (1998) menyatakan bahwa terdapat tiga teori atau hipotesis terjadinya spesiasi pada serangga, yaitu 1) Teori spesiasi *allopatrik* (teori geografi spesiasi), yaitu kelompok individu dari satu populasi terpisah dengan populasi asal karena adanya penghalang (*barier*), seperti sungai, danau, atau laut dalam waktu yang lama. Dalam kondisi seperti ini maka terjadi mekanisme evolusi reproduktif pada organisme yang terpisah dari populasi asalnya; 2) Teori spesiasi *parapatrik*, yaitu spesiasi pada kelompok individu yang terpisah dari populasinya karena berpindah pada habitat baru meskipun tidak ada penghalang fisik. Spesiasi seperti ini terjadi karena adanya inang atau pakan yang baru. Penghuni pada habitat baru akan menghasilkan penghalang ke aliran gen (*gene flow*) antara populasi di dalam habitat baru. Spesiasi *parapatrik* biasa dijumpai terjadi pada organisme yang tidak bersayap atau organisme yang pergerakannya lambat; 3) Teori spesiasi *sympatrik*, yaitu spesiasi yang terjadi jika isolasi reproduktif terjadi pada kisaran suatu populasi sebelum setiap diferensiasi dari dua spesies terdeteksi atau dua kelompok individu dari satu populasi menempati dua inang yang berbeda. Spesiasi seperti ini biasanya terjadi pada parasit atau parasitoid yang memiliki inang khusus.

Selanjutnya Tamura & Kumar (2004) dan Manueke et al. (2015) menyatakan bahwa keragaman genetik mengacu pada variasi gen di dalam spesies yang meliputi variasi genetik antara individu dalam populasi suatu organisme. Variasi atau perubahan genetik baru terbentuk

dari populasi suatu organisme jika sudah terpisah cukup lama dari populasi asal yang dibatasi oleh barier alam, seperti pulau, gunung atau lautan. Disamping itu, perbedaan jenis makanan dan mutasi gen akibat faktor lingkungan fisik yang ekstrim dan polusi udara akibat substansi bahan kimia di alam turut memberi andil dalam perubahan genetik individu dalam populasi suatu spesies organisme.

Perlu dilakukan penelitian lanjutan dan mendalam mengenai morfologi *Hypsipyla* sp. yang menyerang tanaman Mahoni di Sulawesi Utara. Hal ini dilakukan untuk memastikan apakah *Hypsipyla* sp. di Sulawesi Utara sudah merupakan spesies baru.

KESIMPULAN

Perbedaan genetik (*genetic distance*) antara *Hypsipyla* sp. asal Minahasa Utara 1 dan Minahasa Utara 2 dengan *H. robusta* / KF403647, *H. robusta* / AY062910, *H. robusta* / KF400848, yaitu 3,8%, 4,1%, 4,3%, dan 4,0%, 4,3%, 4,4%. *Hypsipyla* sp. Asal Tomohon 1 dan Tomohon 2 dengan *H. robusta* / KF403647, *H. robusta* / AY062910, *H. robusta* / KF400848, yaitu 3,8%, 4,1%, 4,1% dan 3,8%, 4,1%, 4,3%. *Hypsipyla* sp. asal Minahasa Utara 1 dengan *Hypsipyla* sp. asal Minahasa Utara 2, Tomohon 1, dan Tomohon 2, yaitu 0,6%, 0,3%, dan 0,2%. *Hypsipyla* sp. asal Minahasa Utara 1, Minahasa Utara 2, Tomohon 1, dan Tomohon 2 dengan *H. grandella* / KJ557580, yaitu 9,0%, 9,3%, 9,2%, dan 9,0%. *H. grandella* / KJ557580 dengan *H. robusta* / KF403647, *H. robusta* / AY062910, dan *H. robusta* / KF400848, yaitu 9,3%, 9,2%, dan 9,0%. Hasil analisis *cluster* yang dipetakan dalam konstruksi pohon filogeni menunjukkan bahwa *Hypsipyla* sp. di Kabupaten Minahasa Utara dan Kota Tomohon Provinsi Sulawesi Utara sudah berada pada *cluster* yang berbeda dengan *H. robusta* dan *H. grandella* yang sudah terdata di GenBank.

DAFTAR PUSTAKA

Boughey AS. 1973. *Ecology of Population*, 2nd edition. New York: The Macmillan Company.

- Gilbert L. 2011. *Insect Molecular Biology and Biochemistry*, 1st edition. Academic Press-Elsevier B.V. All Rights Reserved. Department of Biology University of North Carolina Chapel Hill, NC.
- Griffiths MW. 1993. Discussion summary taxonomy, biology and ecology of *Hypsipyla* spp. Tersedia di: <http://aciar.gov.au/files/node/2259/pr97chapter2pdf>. [diakses 26 Mei 2019].
- Griffiths MW. 2001. The biology and ecology of *Hypsipyla* shoot borers. Di dalam: Floyd RB, Hauxwell C (Eds.), *Hypsipyla Shoot Borers in Meliaceae: Proceedings of an International Workshop, Kandy, (Sri Lanka, 20–23 August 1996)*. hlm. 74–80. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research.
- Hauxwell C, Vargas C, Frimpong EO. 2001. *Entomopathogens for control of Hypsipyla robusta*. Di dalam: Floyd RB, Hauxwell C (Eds.), *Proceedings of an International Workshop Held at Kandy, (Sri Lanka 20–23 August 1996)*. hlm. 3–6. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research.
- Howard F, Merida M. 2019. Mahogany shoot borer, *Hypsipyla grandella* (Zeller) (Insecta: Lepidoptera: Pyralidae: Phycitinae). *EDIS* 2005: 1–10. doi: <https://journals.flvc.org/edis/article/view/114879>.
- Husaini E, Kasno N, Heneda O, Rachmatsjah. 2006. *Pengantar Hama Hutan di Indonesia*. Bogor: Institute Pertanian Bogor.
- Iskandar S. 2006. To against the forest invasive species in Indonesia, a review. Country paper. Di dalam: *Presented to The Workshop on Development of a Strategy for The Asia-Pacific Forest Invasive Species Network, (Dehradun, India, 16 April 2006)*. Dehradun: Forest and Nature Conservation Research and Development Center Ministry of Forestry, Republic of Indonesia.
- Manueke J. 2012. *Studi Preferensi, Karakter Morfologi, dan Profil DNA Sitophilus spp. (Coleoptera; Curculionidae) Pada Komoditas Pascapanen*. Disertasi. Manado: Universitas Sam Ratulangi.
- Manueke J, Sembiring J, Tulung M. 2014. *Laporan Hasil Survei Hama Penggerek Pucuk Tanaman Mahoni Hypsipyla sp. di Provinsi Sulawesi Utara*. Manado: Universitas Sam Ratulangi.
- Manueke J, Tulung M, Pelealu J, Pinontoan OR. 2015. DNA profile of *Sitophilus oryzae* and *S. zeamais* in rice and corn kernels. *International Journal of ChemTech Research* 7:2193–2202.

- Mohanadas O, Varma RV. 2001. Ecology and possible control of the mahogany shoot borer *Hypsipyla robustain* Kerala, India. Di dalam: Floyd RB, Hauxwell C (Eds.), *Proceedings of an International Workshop held at Kandy, (Sri Lanka, 20–23 August 1996)*. hlm. 164–165. Sri Lanka: ACIAR Proceedings.
- Rachmatsjah O, Wylie FR. 2001. *Hypsipyla* shoot borers of Meliaceae in Indonesia. Di dalam: Floyd RB, Hauxwell C (Eds.), *Proceedings of an International Workshop held at Kandy, (Sri Lanka, 20–23 August 1996)*. hlm. 31–32. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra (ACIAR).
- Schoonhoven LM, Jermy T, van Loon JAA. 1998. *Insect–Plant Biology. From Physiology To Evolution*. New York: Chaman & Hall. doi: <https://doi.org/10.1007/978-1-4899-3200-6>.
- Sembiring J. 2016. *Penggerek Pucuk Tanaman Mahoni Hypsipyla sp. (Lepidoptera: Pyralidae) pada Tanaman Meliaceae di Sulawesi Utara*. Disertasi. Manado: Universitas Sam Ratulang.
- Sembiring J, Maramis RTD, Warouw J, Tulung M. 2016. The bioecology study of shoots driller pest (Moore) (Lepidoptera, Pyralidae) on five Meliaceae plants in North Sulawesi. *International Journal of Chem Tech Research* 9:38–46.
- Tamura K, Kumar S. 2004. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining. *PNAS* 110:11030–11035. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0404206101>.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. 2007. *MEGA 4.0: Molecular Evolutionary Gene Analysis (MEGA) Software Versi 4.0*. *Molecular Biology and Evolution* 10.1093/molbev/msm092. doi: <https://doi.org/10.1093/molbev/msm092>.