



Identifikasi berbasis karakter molekuler *Nucleopolyhedrovirus* pada larva *Helicoverpa armigera* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae) asal Bogor, Jawa Barat

Identification based on molecular character of *Nucleopolyhedrovirus*
in *Helicoverpa armigera* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae) larvae
from Bogor, West Java

R. Yayi Munara Kusumah*, Trendy Hartanto, Fitrianingrum Kurniawati

Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, IPB University
Jalan Kamper, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680, Indonesia

(diterima Februari 2022, disetujui Juli 2022)

ABSTRAK

Nucleopolyhedrovirus (NPV) merupakan agens pengendali hayati potensial yang direkomendasikan untuk mengendalikan larva penggerek tongkol jagung (*Helicoverpa armigera* Huber). Karakter NPV dapat dipelajari dengan menggunakan berbagai metode deteksi dan identifikasi. Salah satu teknik untuk mempelajari karakter NPV adalah *polymerase chain reaction* (PCR) dilanjutkan dengan analisis hasil peruntukan nukleotida dan asam amino. Karakter molekuler NPV pada larva *H. armigera* yang terinfeksi di pertanaman jagung di Desa Cibeureum, Kecamatan Dramaga, Kabupaten Bogor menggunakan sekuen gen parsial DNA polimerase perlu dilakukan. Metode yang dilakukan dalam mempelajari karakter NPV ini terdiri atas isolasi DNA menggunakan metode CTAB yang dimodifikasi, amplifikasi gen parsial DNA polimerase menggunakan *HearNPVF1* dan *HearNPVR1*, dan analisis tingkat homologi runutan nukleotida dan asam amino dibanding negara lain dan hubungan kekerabatan (filogeni). Amplifikasi PCR menggunakan primer spesifik berhasil dilakukan dengan pita DNA gen parsial DNA polimerase *HearNPV* berukuran sekitar 1.200 pb. Analisis filogeni juga berhasil dilakukan dan menunjukkan bahwa terdapat hubungan kekerabatan yang tinggi antara isolat *HearNPV* asal Indonesia (Bogor, Jawa Barat) dan isolat NPV yang menginfeksi *Helicoverpa* dari negara lain, seperti Spanyol, Australia, Belanda, India, Brasil, Rusia, dan Cina dengan nilai homologi nukleotida dan asam amino 99%. Isolat *HearNPV* asal Bogor berada dalam grup yang sama dengan NPV yang menyerang Genus *Helicoverpa* dari negara lain, sedangkan NPV dari genus yang lain berada dalam grup yang terpisah berdasarkan analisis filogenetik menggunakan *software* Mega 7.

Kata kunci: DNA polimerase, identifikasi, *polymerase chain reaction*, runutan

ABSTRACT

Nucleopolyhedrovirus (NPV) is a potential biological control agent recommended to control corn cob borer larvae (*Helicoverpa armigera* Huber). NPV characters can be studied using various detection and identification methods. One technique to study the character of NPV is *polymerase chain reaction* (PCR) followed by analysis of the results of nucleotide and amino acid sequences. The molecular character of NPV in infected *H. armigera* larvae in corn plantations in Cibeureum Village, Dramaga District, Bogor Regency using DNA polymerase partial gene sequences needs to be done. The methods used to study the character of the NPV consisted of DNA isolation using a modified CTAB method, partial gene amplification of DNA polymerase using *HearNPVF1* and *HearNPVR1*, and analysis of the level of homology of nucleotide and amino acid sequences compared to other countries and phylogeny. PCR amplification using specific primers was successfully carried out with

*Penulis korespondensi: R. Yayi Munara Kusumah. Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, IPB University
Jalan Kamper Kampus IPB Dramaga-Bogor, Jawa Barat 16680, Tel: 0251-8629364/0251-8629362, Email: yayiku@apps.ipb.ac.id

the HearNPV DNA polymerase partial gene DNA band measuring about 1,200 bp. Phylogenetic analysis was also successfully carried out and showed that there was a high relationship between HearNPV isolates from Indonesia (Bogor, West Java) and NPV isolates that infect *Helicoverpa* from other countries such as: Spain, Australia, the Netherlands, India, Brazil, Russia, and China with nucleotide and amino acid homology values of 99%. HearNPV isolates from Bogor were in the same group as NPVs that attacked the Genus *Helicoverpa* from other countries, while NPVs from other genera were in separate groups based on phylogenetic analysis using Mega 7 software.

Key words: DNA polymerase, identification, polymerase chain reaction, sequencing

PENDAHULUAN

Penggunaan insektisida sintetik spektrum luas sering mengakibatkan tingginya tingkat resistensi hama. Salah satu metode pengendalian yang lebih ramah lingkungan dan tidak menimbulkan resistensi hama, yaitu pengendalian hayati menggunakan patogen serangga *nucleopolyhedrovirus* (NPV) yang efektif dan aman bagi serangga musuh alami, penyerbuk, dan organisme non-target lainnya. Menurut Grzywacz et al. 2011) NPV termasuk dalam Famili Baculoviridae yang menginfeksi lebih dari 400 spesies serangga dan menyebabkan *epizootic* pada larva Lepidoptera.

NPV mampu menyerang larva *Helicoverpa armigera* Huber dan sering disebut sebagai HearNPV. Kelebihan HearNPV sebagai agens hayati karena efektif membunuh larva instar 1 sampai 3 dengan mortalitas 99% selama 4–6 hari (Black et al. 2022). Larva yang terinfeksi NPV menjadi kurang aktif dan nafsu makannya berkurang, serta memiliki gejala berupa perubahan warna secara bertahap pada bagian tubuh, tubuh menjadi lunak, mudah hancur, dan berair. Beberapa aplikasi dan pengujian lapangan telah dilakukan di berbagai negara, seperti Australia, Pakistan, India, dan Arab Saudi (Abid et al. 2020; DPI&F 2005; Nawaz; et al. 2019; Tanuja et al. 2019)

Informasi mengenai karakter molekuler HearNPV dapat diketahui dengan menggunakan metode *polymerase chain reaction* (PCR). Menurut Handoyo & Rudiretna 2001) PCR mampu mengamplifikasi segmen DNA sampai jutaan kali dalam waktu yang pendek. Amplifikasi menggunakan primer oligonukleotida yang didesain berdasarkan sekuen DNA polimerase NPV pada Lepidoptera untuk mengetahui *strain* NPV pada *H. armigera* perlu dilakukan. Data mengenai urutan gen NPV yang menginfeksi larva *H. armigera* di pertanaman jagung Desa Cibeureum, Kecamatan Dramaga, Kabupaten Bogor, Provinsi

Jawa Barat belum pernah dilaporkan di *GenBank* sehingga studi yang bertujuan untuk mengetahui karakter molekuler NPV pada larva *H. armigera* dengan menggunakan sekuen gen parsial DNA polimerase perlu dilakukan.

BAHAN DAN METODE

Perbanyakkan NPV

Isolat HearNPV yang akan digunakan untuk perbanyakkan diperoleh dari larva *H. armigera* yang terinfeksi di pertanaman jagung di Desa Cibeureum, Kecamatan Dramaga, Kabupaten Bogor. Perbanyakkan NPV dilakukan di Laboratorium Patologi Serangga, Departemen Proteksi Tanaman, IPB University. Dua sampai empat individu larva *H. armigera* yang sudah siap digunakan untuk perbanyakkan, diberikan pakan berupa jagung muda yang sudah diinokulasi NPV dengan cara mencelupkan pakan ke dalam larutan NPV yang kemudian dikering anginkan. Larva dipelihara di dalam wadah plastik dan setiap wadah diisi dengan satu individu larva yang diberi pakan secukupnya. Wadah dibersihkan setiap hari dan pakan diganti jika sudah habis. Pengamatan dilakukan setiap hari hingga larva mati. Larva mati yang bergejala warna tubuh hitam pekat, lunak, dan berair diambil dan disimpan ke dalam tabung mikro 1,5 ml, lalu disimpan dalam *freezer* -20 °C sampai digunakan untuk pengujian selanjutnya.

Isolasi NPV

Larva yang terinfeksi NPV yang disimpan dalam *freezer* -20 °C selanjutnya diproses untuk ekstraksi DNA dengan menambahkan *buffer sodium dodecyl sulfate* (SDS) 0,1% (1 g SDS, 1 l akuades), digerus sampai halus menggunakan mortar steril. Bufer SDS 0,1% ditambahkan secukupnya sampai hasil gerusan awal berbentuk suspensi kental. Setelah homogen, bufer SDS 0,1%

ditambahkan kembali hingga mencapai keenceran suspensi yang mudah dituangkan dari satu tabung ke tabung lainnya. Penggerusan dilakukan hingga diperoleh suspensi polihedra yang homogen. Proses selanjutnya ialah sentrifugasi suspensi polihedra NPV dalam tabung mikro 1,5 ml selama 1 menit dengan kecepatan 2.500 g. Supernatan kemudian diambil dan peletnya dibuang. Sentrifugasi dilakukan kembali pada supernatan yang didapat sebelumnya dengan kecepatan 5.500 g selama 20 menit. Selanjutnya endapan yang dihasilkan diresuspensikan dengan menambah akuabides dan disentrifugasi kembali seperti tahap sebelumnya hingga mendapatkan endapan atau pelet yang relatif murni (Cheng 1998).

Pemurnian polihedra *Hear*NPV

Isolasi polihedra NPV selanjutnya mengikuti metode Grzywacz et al. (2011) dengan cara membuat gradien sukrosa yang secara kontinu pada tabung mikro 2 ml, yang kemudian dilakukan sentrifugasi menggunakan kecepatan 13.000 g selama 99 menit. Selanjutnya dihasilkan pita yang berwarna putih, yang kemudian diambil dengan menggunakan pipet pasteur dan ditambah beberapa tetes akuabides. Supernatan kemudian disentrifugasi kembali pada 7.000 g selama 20 menit. Pelet yang terbentuk diambil dan diresuspensi dengan *aquabidest*. Polihedra yang berhasil dimurnikan kemudian diamati menggunakan mikroskop *compound*.

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan dengan metode Doyle & Doyle (1990) menggunakan bufer *cetyltrimethyl ammonium bromide* (CTAB) yang telah dimodifikasi pada bagian inkubasi pada suhu 65 °C selama 2 jam. Sampel yang diekstrak terdiri atas ulat yang terinfeksi NPV sebanyak 0,1 g, serta pelet polihedra hasil purifikasi sebanyak 50 µl dan 100 µl. Sampel ulat digerus dengan bantuan nitrogen cair hingga halus menggunakan mortar dan pistil. Masing-masing sampel yang telah digerus, dimasukkan ke dalam tabung mikro 1,5 ml lalu ditambahkan 500 µl buffer CTAB (20 mM EDTA, 0,1 M Tris-HCl pH 8,0, 1,4 M NaCl, 2% CTAB, ditambah 1% merkaptoetanol sebelum digunakan). Sampel berupa pelet polihedra dimasukkan ke dalam tabung mikro 1,5 ml kemudian ditambahkan 500 µl bufer CTAB lalu digerus, dan diinkubasi

selama 2 jam pada suhu 60 °C dan setiap 10 menit, tabung dibolak-balik, lalu sampel diinkubasi selama 3 menit pada suhu 28 °C dan ditambahkan *chloroform-isoamylalcohol* (24:1) sebanyak 500 µl, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 11.000 g selama 20 menit. Supernatan yang berada di permukaan paling atas diambil sebanyak 1/2 volume larutan tersebut tanpa menyentuh pelet kemudian ditambahkan 1/10 sodium asetat dan 2/3 isopropanol dari volume larutan yang diambil. Supernatan kemudian diinkubasi selama satu malam pada suhu -20 °C. Supernatan yang telah diinkubasi kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang secara perlahan lalu ditambahkan etanol 80% sebanyak 500 µl ke dalam tabung, kemudian tabung disentrifugasi kembali dengan kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit. Endapan yang terbentuk kemudian dikeringkan dengan cara tabung diletakkan terbalik secara perlahan di atas kertas tisu selama 2 jam. Pelet yang sudah kering lalu disuspensikan dengan TE *buffer* pH 8 sebanyak 50 µl dan disimpan pada suhu -20 °C.

Amplifikasi DNA *Hear*NPV menggunakan PCR

Amplifikasi DNA polimerase menggunakan primer *Hear*NPVF1 5'- CGG TAA TCG ACA ACA TCG -3' dan *Hear*NPVR1 5'- CAA ATC GAT GGG TAG CAC -3' dengan target amplifikasi DNA polimerase ±1.200 pb. Setiap reaksi amplifikasi menggunakan DNA *Hear*NPV (±40 ng/µl) ditambahkan dengan master mix PCR yang terdiri atas 12,5 µl Go taq green master mix PCR (Promega), 1 µl primer *Hear*NPVF1, 1 µl primer *Hear*NPVR1, dan 8,5 µl ddH₂O. Amplifikasi DNA terdiri atas predenaturasi pada suhu 94 °C selama 4 menit, kemudian dilanjutkan dengan 30x siklus yang terdiri atas denaturasi 94 °C selama 1 menit, penempelan pada suhu 50 °C selama 1 menit, elongasi pada suhu 72 °C selama 2 menit. Setelah 30 siklus dilanjutkan dengan pascaelongasi pada suhu 72 °C selama 10 menit. Proses amplifikasi selesai kemudian dilanjutkan dengan elektroforesis dan visualisasi DNA dengan UV-*transilluminator*.

Analisis pengurutan DNA, asam amino, dan homologi

Hasil PCR kemudian dikirim ke perusahaan sekuensing komersial di Singapura. Hasil pengurutan nukleotida kemudian diolah menggunakan

software Bioedit v. 7.2.6 untuk dilakukan analisis penyejajaran nukleotida, dan untuk analisis kesamaan asam amino dilakukan dengan web. expassy.org/translate/.

Analisis filogeni *Hear*NPV

Konstruksi pohon filogenetik dilakukan menggunakan pendekatan *Neighbor-Joining* dengan *Bootstrap* 1.000x dengan software MEGA 7 (Tamura et al. 2011).

HASIL

Sumber isolat NPV

Larva *Helicoverpa armigera* sehat yang ditemukan di pertanaman jagung diambil sebanyak-banyaknya dan dipelihara di laboratorium untuk memperbanyak isolat NPV. NPV berhasil diperbanyak dan dipelihara di laboratorium. Larva yang telah mati berwarna coklat keputih-putihan dan memiliki tekstur tubuh yang lembek, dan disertai dengan keluarnya cairan yang berwarna coklat susu dengan bau yang menyengat (Gambar 1).

Polihedra *Hear*NPV murni

Hasil pemurnian polihedra *Hear*NPV terlihat dengan terbentuknya endapan berwarna kecoklatan yang merupakan kumpulan polihedra (Gambar 2a). Endapan tersebut berbentuk butiran kecil dan terlihat pada mikroskop *compound* dengan perbesaran 40x (Gambar 2b). Polihedra *Hear*NPV berbentuk tidak teratur (*irregular*) dengan diameter 0,5–2,5 µm.

Hasil amplifikasi DNA *Hear*NPV

Amplifikasi dengan PCR menggunakan primer spesifik pada keempat sampel menunjukkan hasil



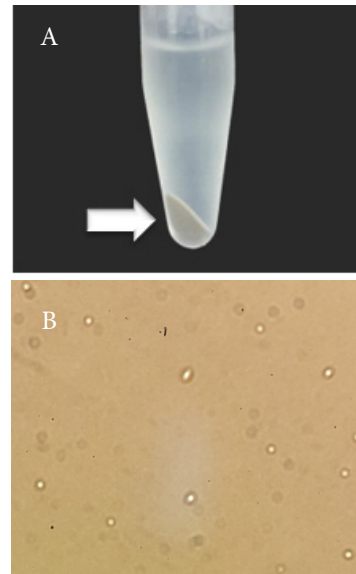
Gambar 1. Larva *Helicoverpa armigera* terinfeksi NPV.

Figure 1. *Helicoverpa armigera* larva infected with NPV.

yang positif. Hasil amplifikasi ditunjukkan dengan adanya pita DNA dengan ukuran sesuai dengan target yang diharapkan, yaitu ±1.200 pb (Gambar 3).

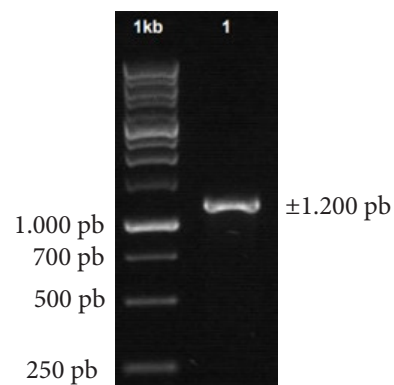
Analisis penyejajaran runutan nukleotida dan asam amino

Analisis penyejajaran yang telah dilakukan dengan software Bioedit dan web.expassy.org/



Gambar 2. Endapan polihedra *Hear*NPV (A) dan bentuk polihedra di bawah mikroskop cahaya (400x) (B).

Figure 2. Pellet of *Hear*NPV polyhedra (A) and polyhedra under a light microscope (400x) (B).



Gambar 3. Hasil visualisasi DNA *Hear*NPV pada media agar menggunakan UV-transiluminator: Marker 1 kb (Thermoscientific, US), 1 (*Hear*NPV isolat Bogor, Jawa Barat).

Figure 3. Visualization of *Hear*NPV DNA on agar media using UV-transilluminator: Marker 1 kb (Thermoscientific, US), 1 (*Hear*NPV isolate Bogor, West Java).

translate/ menunjukkan bahwa isolat *Hear*NPV Bogor memiliki persentase kemiripan paling tinggi dengan isolat NPV dari larva Genus *Helicoverpa*, dengan nilai *max identity* 99% dan *query cover* 99%, sedangkan isolat NPV yang menyerang genus lain, seperti *Spodoptera*, *Agrotis*, *Chrysodeixis*, dan *Buzura* menunjukkan persentase kemiripan lebih rendah dibandingkan dengan Genus *Helicoverpa* (*max identity* ≤ 80% dan *query cover* ≤ 48%) (Tabel 1). Kemiripan 99% isolat *Hear*NPV asal Bogor dengan negara lain menunjukkan bahwa isolat *Hear*NPV asal Bogor merupakan spesies

yang sama dengan isolat *Hear*NPV dari negara lain. Analisis penyejajaran runutan asam amino menunjukkan bahwa isolat *Hear*NPV Bogor memiliki persentase kemiripan dengan isolat NPV dari larva Genus *Helicoverpa* negara lain dengan *max identity* 99% dan *query cover* 100%, sedangkan isolat NPV yang menyerang genus lain, seperti *Spodoptera*, *Agrotis*, *Chrysodeixis*, dan *Buzura* menunjukkan persentase kemiripan yang lebih rendah dibandingkan dengan Genus *Helicoverpa*, (*max identity* ≤ 57% dan *query cover* 100%) (Tabel 2).

Tabel 1. Hasil BLAST DNA polimerase menggunakan urutan nukleotida (www.ncbi.nlm.nih.gov) antara sampel *Hear*NPV Indonesia dan negara lain

Table 1. BLAST DNA polymerase result using nucleotide sequences (www.ncbi.nlm.nih.gov) between Indonesian and other *Hear*NPV samples

Kode akses (Accession code)	Spesies	Max/total score	Query cover	Identity
KJ701033.1	<i>Helicoverpa armigera</i> NPV Navarra, Spain	1965/1965	99%	99%
KJ922128.1	<i>Helicoverpa armigera</i> NPV Queensland, Australia	1949/1949	99%	99%
AF271059.2	<i>Helicoverpa armigera</i> NPV Wageningen, Netherlands	1932/1932	99%	99%
KT013224.1	<i>Helicoverpa armigera</i> NPV Karnataka, India	1932/1932	99%	99%
KM596835.1	<i>Helicoverpa zea</i> NPV Brasilia, Brazil	1960/1960	99%	99%
KJ004000.1	<i>Helicoverpa zea</i> NPV Koltsovo, Russia	1960/1960	99%	99%
AF325155.1	<i>Spodoptera litura</i> NPV Guangzhou, China	165/165	17%	80%
AF215639.1	<i>Spodoptera littoralis</i> NPV Victoria, Canada	156/156	20%	76%
DQ123841.1	<i>Agrotis segetum</i> NPV Poznan, Poland	80.6/80.6	11%	75%
HG425348.1	<i>Spodoptera exigua</i> NPV Tours, France	123/286	48%	72%
AY864330.1	<i>Chrysodeixis chalcites</i> NPV Wageningen, Netherlands	134/134	45%	67%
KM986882.1	<i>Buzura suppressaria</i> NPV Guangxi, China	75.2/75.2	41%	66%

Tabel 2. Hasil BLAST DNA polimerase menggunakan urutan asam amino (www.ncbi.nlm.nih.gov) antara sampel *Hear*NPV Indonesia dan negara lain

Table 2. BLAST DNA polymerase results using amino acid sequences (www.ncbi.nlm.nih.gov) between Indonesian *Hear*NPV samples and other countries

Kode akses (Accession code)	Spesies	Max/total score	Query cover	Identity
AIG63247.1	<i>Helicoverpa armigera</i> NPV Queensland, Australia	737/737	100%	99%
AJP07219.1	<i>Helicoverpa armigera</i> NPV Navarra, Spain	736/736	100%	99%
NP_203622.1	<i>Helicoverpa armigera</i> NPV Zhejiang, China	733/733	100%	99%
AAG53810.1	<i>Helicoverpa armigera</i> NPV Wageningen, Netherlands	733/733	100%	99%
AAA58700.1	<i>Helicoverpa zea</i> NPV Parkville, Australia	737/737	100%	99%
AAL56214.1	<i>Helicoverpa zea</i> NPV Wageningen, Netherlands	737/737	100%	99%
YP_002332794.1	<i>Spodoptera litura</i> NPV Beijing, China	405/405	100%	57%
CDG72433.1	<i>Spodoptera exigua</i> MNPV Tours, France	400/400	100%	57%
YP_529770.1	<i>Agrotis segetum</i> NPV Poznan, Poland	396/396	100%	55%
AGE61618.1	<i>Chrysodeixis chalcites</i> NPV Navarra, Spain	395/395	100%	55%
AAF61904.1	<i>Spodoptera littoralis</i> NPV Victoria, Canada	374/374	100%	53%
YP_009001835.1	<i>Buzura suppressaria</i> NPV Hubei, China	374/374	100%	52%

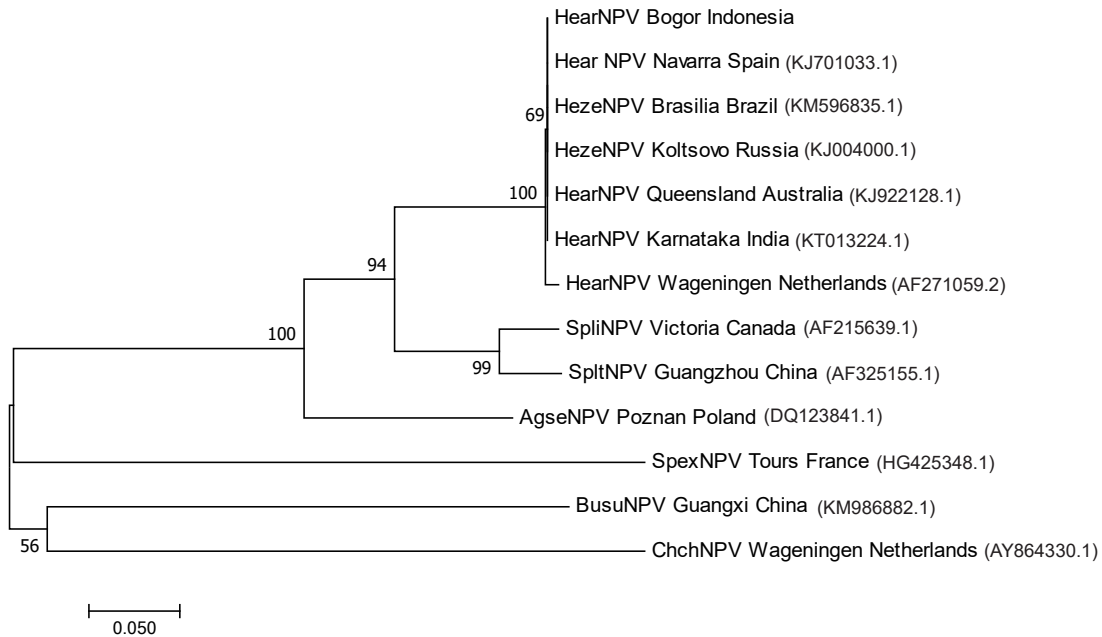
Konstruksi pohon filogenetik *Hear*NPV

Hasil konstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa isolat *Hear*NPV Bogor berada pada grup yang sama dengan NPV yang menyerang Genus *Helicoverpa* asal Spanyol, Brazil, Rusia, Australia, India, dan Belanda (Gambar 4). Konstruksi pohon filogenetik berdasarkan asam amino menunjukkan bahwa isolat *Hear*NPV Bogor berada pada grup yang

sama dengan NPV yang menyerang Genus *Helicoverpa* asal Australia, Belanda, China, dan Spanyol (Gambar 5).

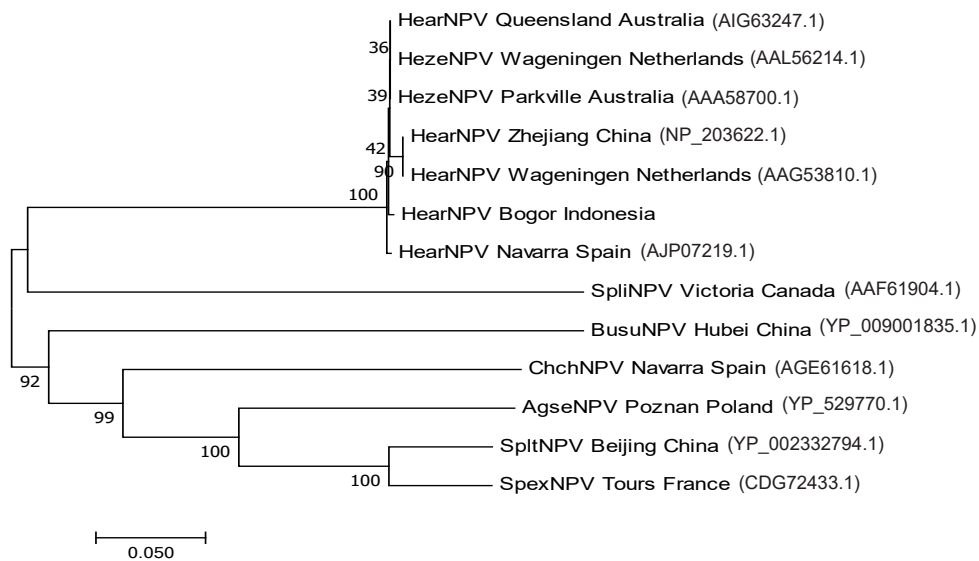
PEMBAHASAN

Tingkat resistensi *H. armigera* yang berbeda terhadap berbagai insektisida telah dilaporkan di



Gambar 3. Pohon filogeni urutan nukleotida DNA *Hear*NPV diolah menggunakan software MEGA 7 berdasarkan sekuen DNA polimerase dengan metode *neighbor-joining* (*bootstrap* 1000x)

Figure 3. *Phylogeny of HearNPV DNA nucleotide sequence using MEGA 7 software based on DNA polymerase sequences using the neighbor-joining method. (1000x bootstrap).*



Gambar 4. Pohon filogeni urutan asam amino DNA *Hear*NPV diolah menggunakan software MEGA 7 berdasarkan sekuen DNA polimerase dengan metode *neighbor-joining* (*bootstrap* 1000x)

Figure 4. *Phylogeny of HearNPV DNA amino acid sequence using MEGA 7 software based on DNA polymerase sequences using the neighbor-joining method. (1000x bootstrap).*

seluruh dunia (Damalas & Eleftherohorinos 2011). Oleh karena itu, pengelolaan jangka panjang hama ini dengan pengurangan risiko insektisida membutuhkan waktu dan kesungguhan berbagai pihak yang terlibat. *HearNPV* merupakan salah satu entomopatogen yang sangat ideal karena sangat spesifik inang sehingga aman bagi populasi serangga berguna, seperti predator dan parasitoid dari *H. armigera*. Selain itu, aplikasi *HearNPV* dapat dikombinasikan dengan insektisida kimia Spinosad dan memberikan hasil yang efektif (Nawaz et al. 2019).

NPV dapat dideteksi dan diidentifikasi dengan PCR dan peruntutan nukleotida dan asam amino. Hasil yang lebih sensitif dapat diperoleh dengan menggunakan metode PCR, dibandingkan dengan pengamatan morfologi. Metode PCR yang dilanjutkan dengan analisis sekuen DNA dapat menunjukkan perbedaan tidak hanya antar spesies, tetapi juga perbedaan dalam spesies (Cassedy et al. 2021). Analisis homologi sekuen parsial gen DNA polimerase dilakukan dengan menggunakan aplikasi BLAST, sedangkan analisis filogenetik dilakukan dengan menggunakan aplikasi Mega X.

Hubungan kekerabatan dari suatu spesies dapat diketahui dari hasil analisis menggunakan *basic local alignment search tool* (BLAST) yang didahului dengan proses analisis penyejajaran runutan nukleotida dan asam amino menggunakan *software* tertentu. NPV yang berasal dari satu spesies yang sama, tetapi lokasi geografisnya berbeda dapat memiliki keragaman genetik. Menurut Elrod & Stansfield 2007) besarnya tingkat keragaman dalam suatu spesies NPV dapat dipengaruhi oleh jumlah individu, penyebaran geografis, dan sistem genetiknya. Beberapa literatur menyatakan bahwa spesies satu identik dengan spesies yang lain jika memiliki kemiripan atau homologi > 73% atau di atas 89%. Menurut Li et al. (2009) suatu spesies dapat dinyatakan identik secara genetika dengan spesies lain ketika persentase kemiripan atau homologinya > 73% dan King et al. (2012) berpendapat bahwa suatu virus dapat dikelompokkan dalam kelompok yang sama apabila persentase kemiripannya di atas 89%.

Pada penelitian ini hasil analisis homologinya tidak sampai 100%, hanya 99%. Salah satu hal yang menyebabkan hal ini dapat terjadi adalah adanya mutasi diam (*silent mutation*), yaitu

perubahan suatu pasang basa dalam gen yang menyebabkan perubahan suatu kode genetik, tetapi tidak menyebabkan perubahan asam amino yang dikode (Stansfield et al. 2003).

KESIMPULAN

Runutan nukleotida dan asam amino *HearNPV* isolat Bogor, Jawa Barat dengan negara lain menunjukkan persentase homologi sebesar 99%, yang berarti bahwa isolat *HearNPV* Bogor merupakan spesies yang sama dengan isolat *HearNPV* dari negara lain. Berdasarkan konstruksi pohon filogenetik diketahui bahwa isolat *HearNPV* asal Bogor masuk dalam grup yang sama dengan NPV yang menyerang Genus *Helicoverpa* dari negara lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Abid AD, Saeed S, Zaka SM, Shahzad S, Ali M, Iqbal M, Iqbal N, Jamal ZA. 2020 Field evaluation of nucleopolyhedrosis virus and some biorational insecticides against *Helicoverpa armigera* Hubner (Noctuidae: Lepidoptera). *Saudi Journal of Biological Sciences* 27:2106–2110. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.06.025>.
- Black JL, Lorenz GM, Cato AJ, Bateman NR, Seiter NJ. 2022. Efficacy of *Helicoverpa armigera* Nucleopolyhedrovirus on soybean for control of *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) in Arkansas Agriculture. *Insects* 13:1–12. DOI: <https://doi.org/10.3390/insects13010091>.
- Cassedy AA. Parle-McDermott, O’Kennedy R. 2021. Virus detection: a review of the current and emerging molecular and immunological methods. *Frontiers in Molecular Biosciences* 8:637559. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.637559>.
- Cheng XW. 1998. *Characterization of Two Nuclearpolyhedrosis Viruses From Thysanoplusia orichalcea (L.) (Lepidoptera: Noctuidae) from Indonesia*. Disertasi. Clemson: Clemson University.
- Damalas CA, Eleftherohorinos IG. 2011. Pesticide exposure, safety issues, and riskassessment indicators. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 8:1402–1419. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph8051402>.

- [DPI&F] Department of Primary Industries and Fisheries. 2005. Using NPV to Manage *Helicoverpa* in Field Crops. The DPI&F Entomology team. Tersedia pada: https://www.daf.qld.gov.au/___data/assets/pdf_file/0007/76876/Insects-NPV-to-manage-helicoverpa.pdf [diakses 21 Desember 2021].
- Doyle JJ, Doyle JL. 1990. A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. *Focus* 12:13–15.
- Elrod SL, Stansfield WD. 2007. *Genetika*. Damaringtyas, penerjemah. Jakarta: Erlangga.
- Grzywacz D, Rabindra RJ, Brown M, Jones KA, Parnell M. 2011. The *Helicoverpa armigera* NPV production manual. FAO. Tersedia pada: www.fao.org/docs/eims/upload/agrotech/2011/hanpvmanual-pt1.pdf. [diakses 15 Juli 2017].
- Handoyo D, Rudiretna A. 2001. Prinsip umum dan pelaksanaan polymerase chain reaction (PCR). *Unitas* 9:17–29.
- Jose J, Jalali SK, Shivalingaswamy TM, Kumar NKK, Bhatnagar R, Bandyopadhyay. 2013. Molecular characterization of nucleopolyhedrovirus of three Lepidopteran pest using late expression factor-8 gene. *Indian Journal of Virology* 24:59–65. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13337-013-0126-3>.
- King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ. 2012. *Virus Taxonomy Classification and Nomenclature of Viruses Ninth Report of the International Comitte on Taxonomy of Viruses*. San Diego: Academic press.
- Li YP, Yang BS, Wang H, Zia RX, Wang L, Zhang ZH, Qil L, Liu YQ. 2009. Mitochondrial DNA analysis reveals a low nucleotide diversity of *Caligula japonica* in China. *African Journal of Biotechnology* 8:2707–2712.
- Nawaz A, Ali H, Sufyan M, Gogi MD, Arif MJ, Ranjha MH, Arshid M, WaseemM, Mustafa T, Qasim M, Rizwan M, Zaynab M, Khan KA, Ghramh HA. 2019. Comparative bio-efficacy of nuclear polyhedrosis virus (NPV) and Spinosad against American bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner). *Revista Brasileira de Entomologia* 63:277–282. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2019.09.001>.
- Stansfield WD, Colome JS, Cano RJ. 2003. *Biologi Molekuler dan Sel*. Penerjemah, Fahmi V. Jakarta: Erlangga.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* 28:2731–2739. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msr121>.
- Tanuja S, R Muthuraj and G Sivakumar. 2019. Isolation and characterization of Ha NPV associated with *Helicoverpa armigera* insect pest. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 8:3044–3046.