



Identifikasi molekuler lepidopteran predator Coccidae pada tanaman kopi di Sukabumi

Molecular identification of predatory Lepidoptera of Coccidae on coffee plants in Sukabumi

Arlia Dwi Hapsari^{1,2*}, Sugeng Santoso³, R. Yayi Munara Kusumah³

¹Program Studi Entomologi, Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, IPB University
Jalan Kamper, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680, Indonesia

²Balai Pengujian Standar Instrumen Tanaman Industri dan Penyegar, Kementerian Pertanian
Jalan Raya Pakuwon-Parungkuda Km. 2, Parungkuda, Sukabumi 43357, Indonesia

³Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, IPB University
Jalan Kamper, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680, Indonesia

(diterima Januari 2024, disetujui Juli 2024)

ABSTRAK

Ngengat predator yang diduga berpotensi sebagai agens pengendali hayati kututempurung (Coccidae) ditemukan di Sukabumi, Jawa Barat. Kututempurung merupakan hama pada tanaman kopi (*Coffea* spp.). Namun demikian, informasi nama spesies ngengat predator tersebut belum pernah dilaporkan di Indonesia. Literatur untuk melakukan identifikasi secara morfologi spesies ngengat predator ini terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan mengetahui spesies predator melalui identifikasi secara molekuler. Predator diambil dari pertanaman kopi yang terserang kututempurung di Sukabumi, Jawa Barat. Identifikasi sampel dengan teknik PCR terhadap gen COI mitokondria dilakukan di laboratorium. Dari hasil pengolahan data *sekuensing*, diperoleh sekuens DNA dengan panjang fragmen 629 pb. Sekuens DNA sampel predator memiliki kemiripan dengan spesies *Autoba rubra* Hampson, dengan tingkat homologi 95,67% (GenBank) dan 95,37% (BOLD Systems). Berdasarkan analisis filogeni, sampel juga berkerabat dekat dengan *Mataeomera* spp. Hasil penjajaran sekuens DNA menunjukkan bahwa sampel dan empat *voucher* spesies *A. rubra* yang ada di *database* GenBank memiliki variasi sebesar 7,58%. Berdasarkan hasil identifikasi secara molekuler, dapat disimpulkan bahwa ngengat predator yang memangsa kututempurung pada tanaman kopi di Sukabumi memiliki kemiripan paling dekat dengan spesies *A. rubra*.

Kata kunci: *Autoba rubra*, COI, filogeni, kututempurung, sekuens DNA

ABSTRACT

A predatory Lepidoptera that has the potential to be a biological control agents of the soft scale insect (Coccidae) on coffee plants (*Coffea* spp.) was found in Sukabumi, West Java. However, information regarding the species name of predatory lepidoptera has never been reported in Indonesia. Literature for morphological identification of this predatory Lepidoptera species is limited. Therefore, this study was conducted to identify predator species molecularly. Predators were collected from coffee plantations that were infested by soft scale in Sukabumi, West Java. Identification using the PCR procedures of mitochondrial COI gene was carried out in the laboratory. The results show that the sample DNA sequences (629 bp) has a similarity level of 95.67% (GenBank) and 95.37% (BOLD Systems) to the *Autoba rubra* Hampson species. Based on phylogeny analysis, the sample is also

*Penulis korespondensi: Arlia Dwi Hapsari. Program Studi Entomologi, Fakultas Pertanian, IPB University
Jalan Kamper Kampus IPB Dramaga-Bogor, Jawa Barat 16680, Tel: 0251-8629364/0251-8629362, Email: arliadh@gmail.com

closely related to *Mataeomera* spp. The DNA sequences alignment variation of sample and four species voucher *A. rubra* in the GenBank database was 7.58%. Therefore, it can be concluded that the predatory Lepidoptera preying on soft scale insects on coffee plants in Sukabumi are most closely related to *A. rubra*.

Key words: *Autoba rubra*, COI, DNA sequences, phylogeny, soft scale

PENDAHULUAN

Kututempurung (Coccidae), menurut Waller et al. (2007), merupakan salah satu organisme pengganggu tanaman (OPT) yang sering ditemukan pada pertanaman kopi di Indonesia. Secara global, kehilangan hasil (termasuk biaya pengendalian) akibat kututempurung diperkirakan US\$ 5 juta per tahun (Rutherford & Phiri 2006). Oleh karena itu, populasi kututempurung perlu dimonitor dan dikendalikan.

Sehubungan dengan pengendaliannya, kututempurung memiliki beberapa musuh alami dari golongan predator, parasitoid, dan cendawan yang berpengaruh terhadap dinamika populasinya (Rosado et al. 2014; Mani et al. 2008). Predator kututempurung yang banyak dilaporkan dan diteliti merupakan kumbang predator dari Famili Coccinellidae, di antaranya *Azya luteipes* Mulsant (Nais & Busoli 2012), *Diomus lupusapudoves* Vandenberg (Iverson et al. 2022), dan *Chilocorus politus* Mulsant (Santosa et al. 2006). Berbeda dengan sebelumnya, predator kututempurung pada penelitian ini merupakan larva Lepidoptera yang imagonya berupa ngengat.

Pada bulan Oktober 2021, telah ditemukan larva predator pada pertanaman kopi di lingkungan kebun percobaan Balai Pengujian Standar Instrumen Tanaman Industri dan Penyegar (BPSI-TRI), Sukabumi, Jawa Barat. Berdasarkan pengamatan awal, predator diduga memiliki kemampuan pemangsa yang cukup baik terhadap kututempurung. Populasi kututempurung terutama *Coccus* sp. yang pada saat itu melimpah, berkurang lebih dari setengah dalam waktu dua hari. Untuk mempelajari potensi pengendalian predator, diperlukan informasi penting di antaranya identitas taksonomi.

Di Lampung, ngengat predator dilaporkan memangsa kututempurung *Coccus viridis* (Green) (Hemiptera: Coccidae) pada tanaman kopi (Indriyati & Susilo 2015). Predator tersebut memiliki tingkat pemangsa 97 ± 11 kutu/larva dalam waktu 6 hari

di laboratorium. Larva predator di Lampung diidentifikasi sebagai Genus *Eublemma* melalui karakter morfologi menggunakan kunci identifikasi Beardsley (1982). Dalam catatan Kalshoven (1981), disebutkan bahwa beberapa spesies dari Genus *Eublemma*, bersama dengan *Catoblemma* dan *Autoba*, menjadi predator kututempurung di Indonesia. Ngengat predator di Sukabumi yang diamati sangat mirip secara tampilan luar dengan predator di Lampung, berdasarkan gambar yang tersedia. Namun demikian, untuk menentukan dan memastikan spesies predator secara morfologi masih terkendala oleh keterbatasan literatur.

Teknologi molekuler telah digunakan untuk identifikasi taksonomi serangga (Hoy 2003). Dibanding morfologi, hasil yang diperoleh melalui metode molekuler lebih akurat (Oyston et al. 2022). Selain itu, metode molekuler memiliki keunggulan, di antaranya dapat digunakan untuk genom yang tidak diketahui, efisien, dan sangat sensitif karena mampu mendeteksi variasi intra spesies (Hadrys et al. 1992, Cassidy et al. 2021). Identifikasi secara molekuler untuk spesies predator ini belum pernah dilakukan sebelumnya di Indonesia. Oleh karena itu, penelitian bertujuan untuk mengetahui spesies ngengat predator melalui identifikasi molekuler, sehubungan potensi pengendaliannya terhadap kututempurung pada tanaman kopi.

BAHAN DAN METODE

Predator diperoleh dari pertanaman kopi yang terserang kututempurung di kebun BPSI-TRI, Sukabumi, Jawa Barat (6° 50' 42,29" LS, 106° 45' 10,3" BT). Kegiatan sampling predator dilaksanakan pada bulan Desember 2022. Sampel berupa individu larva instar akhir predator sebanyak tiga sampel. Masing-masing sampel diambil menggunakan pinset, dimasukkan wadah plastik yang ditutup kain kasa dan diberi label. Identifikasi molekuler untuk mengetahui spesies predator dilakukan di Laboratorium Virologi

Tumbuhan, Departemen Proteksi Tanaman, IPB University, Bogor, segera setelah sampel diambil dari lapangan. Identifikasi molekuler terhadap masing-masing sampel meliputi tahap ekstraksi DNA, amplifikasi dengan PCR, elektroforesis, visualisasi, *sekuensing* DNA dan analisis data. Imago dan larva predator yang digunakan untuk pengambilan gambar merupakan individu-individu hasil *rearing* di rumah kaca BPSI-TRI, Sukabumi, hingga bulan Februari 2023.

Ekstraksi DNA

Metode ekstraksi DNA merujuk pada Doyle & Doyle (1990) dengan modifikasi. Sampel DNA berasal dari larva segar utuh instar akhir predator yang telah dipisahkan dari penutup/cangkangnya. Ekstraksi diawali dengan menyiapkan larutan *buffer* 125 µl *cetyl trimethylammonium bromide* (CTAB) (2% CTAB; 1,4 M NaCl; 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl; pH 8,0) dan 1,25 µl 0,2% *2-mercaptoethanol*, dalam *tube* plastik 1,5 ml. Larva dimasukkan di dalam larutan *buffer* dan digerus menggunakan mikropistil sampai benar-benar halus. Selanjutnya, dilakukan proses homogenisasi dengan *vortex mixer* selama 10 detik dan inkubasi pada suhu 65 °C di *drybath* selama 30 menit (setiap 10 menit sekali, di-*vortex* selama 10 detik). Larutan kemudian ditambahkan 125 µl kloroform-isoamil alkohol (CIAA) (24:1), dikocok manual selama 3 menit, diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit dan disentrifugasi dengan kecepatan 8.000 rpm selama 10 menit. Supernatan (lapisan teratas) yang terbentuk, dipindah ke *tube* baru menggunakan pipet sambil dicatat volumenya, kemudian ditambahkan CH₃COOKNa sebanyak 1/10 total volume supernatan dan juga isopropanol bersuhu -20 °C sebanyak 2/3 total volume. *Tube* ditutup, dimasukkan ke dalam botol kaca dan dituangi nitrogen cair hingga membeku, kemudian dibiarkan selama 30–45 menit hingga kembali pada suhu ruang. Larutan kemudian disentrifugasi pada 8.000 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang, menyisakan pelet DNA (gumpalan kecil seperti awan) berwarna putih di dalam *tube*. Selanjutnya, pelet dibilas dengan cara menambahkan 500 µl etanol 80% dan disentrifugasi pada 8.000 rpm selama 2 menit. Setelah itu, cairan dibuang dan pelet dikeringkan dengan cara membalik *tube* di atas cawan petri yang dialasi *tissue* dan

ditempatkan di bawah AC bersuhu 20 °C selama 1 jam. Pelet kemudian diresuspensi dengan menambahkan 30 µl larutan *buffer* TE (10 mM Tris-HCl; 1 mM EDTA; pH 7,4), di-*vortex* selama 5 detik, dan diinkubasi pada suhu ruang selama 1 jam. Sampel DNA hasil ekstraksi (*DNA template*) kemudian disimpan di dalam *freezer* bersuhu -20 °C, sebelum proses selanjutnya.

Amplifikasi

Target amplifikasi DNA pada penelitian ini merupakan fragmen *mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I* (COI) 710 pb merujuk Folmer et al. (1994), yang diperoleh dengan bantuan primer universal LCO1490 *forward* (urutan oligonukleotida 5' – GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTGG – 3') dan HCO2198 *reverse* (urutan oligonukleotida 5' – TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA – 3'). Amplifikasi menggunakan mesin GeneAmp PCR System 9700, dengan pengaturan sebagai berikut: tahap pradenaturasi pada suhu 94 °C (5 menit) dan diikuti tahapan siklus, yang meliputi denaturasi pada suhu 94 °C (1 menit), *annealing* pada suhu 52 °C (30 detik) dan pemanjangan pada suhu 72 °C (1 menit 30 detik), sebanyak 35 siklus, dilanjutkan tahap pasca-pemanjangan pada suhu 72 °C (10 menit) dan diakhiri proses pendinginan hingga suhu 4 °C. Dalam proses amplifikasi, digunakan sampel PCR dengan volume 25 µl, terdiri dari: 12,5 µl DreamTag Green PCR Master Mix; 1 µl primer *forward*; 1 µl primer *reverse*; 1,5 µl MgCl₂; 8 µl ddH₂O; dan 1 µl *DNA template*.

Elektroforesis dan visualisasi

Hasil amplifikasi (PCR) dilanjutkan dengan proses elektroforesis dan divisualisasi untuk mengetahui keberhasilannya. Media yang digunakan, yaitu gel agarosa 1% dalam 1×TBE *buffer* (80 mM Tris-borat, 1 mM EDTA). Pertama, disiapkan cetakan gel dan dipasang sisir kecil (untuk enam lubang). Selanjutnya 0,2 g bubuk agarosa ditimbang, dimasukkan ke dalam labu *erlenmeyer*, ditambahkan 20 ml TBE, dan dilarutkan dengan cara dioven pada suhu medium selama 80 detik. Larutan kemudian didiamkan pada suhu ruang hingga hangat, ditambahkan pewarna FluoroVue™ Nucleic Acid Gel Stain (10,000X) sebanyak 2 µl, dikocok manual, dituang ke dalam

cetakan, dan dibiarkan mengeras pada suhu ruang \pm 1 jam hingga menjadi gel. Gel kemudian dipindah ke mesin elektroforesis, yang sudah berisi larutan TBE. Sampel DNA hasil PCR dan marker 100 pb Plus DNA Ladder sebagai pembanding fragmen DNA, dimasukkan ke masing-masing lubang gel sebanyak 5 μ l menggunakan pipet. Mesin elektroforesis dinyalakan dengan pengaturan 50 v selama 50 menit. Setelah proses elektroforesis selesai, gel divisualisasi menggunakan UV transilluminator dan hasilnya didokumentasikan.

Sekuensing DNA

Sekuensing DNA dilakukan oleh pihak ketiga. Sampel DNA yang berhasil teramplifikasi (produk PCR) dikirim sebanyak 20 μ l, beserta primer *forward* dan primer *reverse*, masing-masing minimal 10 μ l per sampel. Hasil *sekuensing* diterima dalam bentuk file AB1 *forward* dan *reverse*.

Analisis data

Hasil *sekuensing forward* dan *reverse* diedit dan digabungkan (*di-contig*) menggunakan aplikasi BioEdit *version 7.2.5*, kemudian dibandingkan dengan *database* spesies yang ada di GenBank National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) menggunakan *basic local alignment search tool* (BLAST). Sekuens DNA sampel juga dicocokkan dengan data spesies di BOLD Systems (<https://www.boldsystems.org>) menggunakan *identification engine*. Pencocokan data di GenBank dan BOLD System menghasilkan nilai homologi.

Penjajaran sekuens DNA menggunakan metode ClustalW dengan aplikasi MEGA11, sedangkan jarak genetik dihitung secara berpasangan (*pairwise*) dengan metode *maximum composite likelihood* menggunakan aplikasi MEGA11. Pohon filogeni dibuat dengan aplikasi MEGA11 dengan metode *maximum likelihood*.

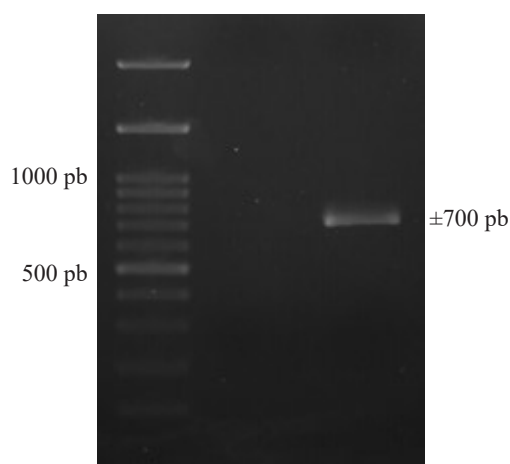
HASIL

Amplifikasi dan visualisasi DNA sampel predator

Pada visualisasi hasil amplifikasi (PCR) DNA, kolom pertama adalah marker, sedangkan kolom kedua merupakan pita DNA sampel ngengat predator (Gambar 1). Dengan membandingkan posisi pita DNA sampel terhadap marker, diperkirakan bahwa panjang fragmen DNA sampel \pm 700 pb. Panjang fragmen tersebut sesuai dengan target yang diharapkan. Pita DNA sampel terlihat cukup tebal dan terang, yang berarti bahwa produk PCR yang dihasilkan dengan primer universal LCO-HCO mengandung cukup DNA untuk dilakukan *sekuensing*.

Sekuens DNA sampel predator

Berdasarkan pengolahan data *sekuensing* menggunakan Bioedit dan BLAST, diperoleh sekuens DNA ngengat predator yang berasal dari gen COI mitokondria dengan panjang fragmen 629 pb (Gambar 2). Ketiga sampel yang digunakan dalam penelitian ini memiliki sekuens DNA yang identik.



Gambar 1. Visualisasi amplifikasi DNA yang dihasilkan dengan primer LCO-HCO pada media *gel agarose* menggunakan UV-transilluminator setelah proses elektroforesis. 1: marker; 2: ngengat predator.
Figure 1. Visualization of DNA amplification using LCO-HCO primers after gel electrophoresis. 1: marker; 2: predatory Lepidoptera.

Homologi dan filogeni antara sampel predator dengan 10 spesies paling mirip

Hasil pencocokan sekuens DNA sampel dengan voucher spesies pada database GenBank menunjukkan bahwa sampel memiliki nilai homologi paling tinggi dengan *Autoba rubra* Hampson voucher 10ANIC-06779, yaitu sebesar 95,67% (Tabel 1). Sementara, pada BOLD Systems, diperoleh persentase kemiripan DNA

sampel tertinggi dengan spesies *A. rubra* sebesar 95,37% (Tabel 2). Pohon filogeni yang terbentuk menggambarkan dua kelompok besar yang terpisah, yaitu *Mataeomera* spp. dan *A. rubra* (Gambar 3). Untuk *Mataeomera*, spesies yang berkerabat dekat dengan sampel terdiri atas *M. mesotaenia* (Turner), *M. porphyris* (Turner), *M. coccophaga* (Meyrick), dan *M. dubia* Butler.

No.	Sekuen DNA sampel ke-1					
1	AACATTATAT	TTTATTTTTG	GAATTTGAGC	AGGAATAGTT	GGAACTTCTT	TAAGATTATT
61	GATTCGAGCT	GAATTAGGTA	ACCCAGGATT	TTTAATTGGA	GATGATCAAA	TTTATAATAC
121	AATTGTTACA	GCTCATGCTT	TTATTATAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCAA	TTATAATTGG
181	AGGATTTGGA	AATTGATTAG	TACCTTTAAT	ATTAGGAGCC	CCAGATATAG	CTTTCCCTCG
241	AATAAATAAT	ATAAGTTTTT	GACTTCTACC	CCCTTCTTTA	ATTCTTTTAA	TTTCAAGAAG
301	AATTGTAGAA	AATGGAGCAG	GAACTGGATG	AACAGTGAC	CCCCCACTTT	CATCTAATAT
361	TTCACATAGA	GGAAGATCTG	TAGATTAGC	TATTTTTTCC	CTACATTTAG	CAGGAATTTT
421	ATCAATTTTA	GGAGCTATTA	ATTTTATTTT	TACAATTATT	AATATACGAT	TAAATAATTT
481	ATCATTGGAT	AAAATACCAT	TATTTGTTTG	ATCAGTTGGA	ATTACAGCTT	TTCTTTTATT
541	ATTATCTTTA	CCAGTTTTAG	CAGGAGCTAT	TACAATATTA	TTAACAGATC	GAAATTTAAA
601	TACTTCATTT	TTTGATCCAG	CTGGTGGAG			
No.	Sekuen DNA sampel ke-2					
1	AACATTATAT	TTTATTTTTG	GAATTTGAGC	AGGAATAGTT	GGAACTTCTT	TAAGATTATT
61	GATTCGAGCT	GAATTAGGTA	ACCCAGGATT	TTTAATTGGA	GATGATCAAA	TTTATAATAC
121	AATTGTTACA	GCTCATGCTT	TTATTATAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCAA	TTATAATTGG
181	AGGATTTGGA	AATTGATTAG	TACCTTTAAT	ATTAGGAGCC	CCAGATATAG	CTTTCCCTCG
241	AATAAATAAT	ATAAGTTTTT	GACTTCTACC	CCCTTCTTTA	ATTCTTTTAA	TTTCAAGAAG
301	AATTGTAGAA	AATGGAGCAG	GAACTGGATG	AACAGTGAC	CCCCCACTTT	CATCTAATAT
361	TTCACATAGA	GGAAGATCTG	TAGATTAGC	TATTTTTTCC	CTACATTTAG	CAGGAATTTT
421	ATCAATTTTA	GGAGCTATTA	ATTTTATTTT	TACAATTATT	AATATACGAT	TAAATAATTT
481	ATCATTGGAT	AAAATACCAT	TATTTGTTTG	ATCAGTTGGA	ATTACAGCTT	TTCTTTTATT
541	ATTATCTTTA	CCAGTTTTAG	CAGGAGCTAT	TACAATATTA	TTAACAGATC	GAAATTTAAA
601	TACTTCATTT	TTTGATCCAG	CTGGTGGAG			
No.	Sekuen DNA sampel ke-3					
1	AACATTATAT	TTTATTTTTG	GAATTTGAGC	AGGAATAGTT	GGAACTTCTT	TAAGATTATT
61	GATTCGAGCT	GAATTAGGTA	ACCCAGGATT	TTTAATTGGA	GATGATCAAA	TTTATAATAC
121	AATTGTTACA	GCTCATGCTT	TTATTATAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCAA	TTATAATTGG
181	AGGATTTGGA	AATTGATTAG	TACCTTTAAT	ATTAGGAGCC	CCAGATATAG	CTTTCCCTCG
241	AATAAATAAT	ATAAGTTTTT	GACTTCTACC	CCCTTCTTTA	ATTCTTTTAA	TTTCAAGAAG
301	AATTGTAGAA	AATGGAGCAG	GAACTGGATG	AACAGTGAC	CCCCCACTTT	CATCTAATAT
361	TTCACATAGA	GGAAGATCTG	TAGATTAGC	TATTTTTTCC	CTACATTTAG	CAGGAATTTT
421	ATCAATTTTA	GGAGCTATTA	ATTTTATTTT	TACAATTATT	AATATACGAT	TAAATAATTT
481	ATCATTGGAT	AAAATACCAT	TATTTGTTTG	ATCAGTTGGA	ATTACAGCTT	TTCTTTTATT
541	ATTATCTTTA	CCAGTTTTAG	CAGGAGCTAT	TACAATATTA	TTAACAGATC	GAAATTTAAA
601	TACTTCATTT	TTTGATCCAG	CTGGTGGAG			

Gambar 2. Sekuens DNA sampel ngengat predator (629 pb). Sekuens dari ketiga sampel identik.
Figure 2. The DNA sequences of predatory lepidoptera sample (629 bp). The three of samples have identical sequences.

Homologi dan filogeni antara sampel predator dan *Autoba* spp.

Bila dibandingkan dengan *A. rubra* dan *Autoba* sp. lain di GenBank, sekuens DNA sampel memperlihatkan nilai homologi dalam rentang 88,69–95,67% (Tabel 3). Mayoritas *Autoba* spp. berasal dari Australia (Western Australia, Queensland dan Northern Territory), kecuali *A. silicula* Swinhoe voucher *A. silicula* Kothia yang berasal dari India (Tabel 3). Wilayah negara atau negara bagian tersebut, secara geografis dekat dengan Indonesia. Hasil konstruksi filogeni antar spesies *Autoba* memperlihatkan bahwa sampel nengat predator dan *A. rubra* merupakan *sister*

group (Gambar 4). Hal ini didukung dengan data jarak genetik. Sampel memiliki jarak genetik paling kecil dengan *A. rubra* sebesar 4,5%, dan selanjutnya dengan *A. dispar* Warren sebesar 7,3% (Tabel 4). Semakin kecil jarak genetik, semakin dekat hubungan kekerabatannya.

Variasi DNA antara sampel predator dan spesies *A. rubra*

Hasil penjajaran sekuens DNA antara sampel dan empat *voucher* spesies *A. rubra* di GenBank menunjukkan bahwa kelima taksa memiliki 594 daerah lestari dan terdapat variasi sekuens basa nukleotida di beberapa lokasi. Variasi nukleotida

Tabel 1. Sepuluh besar *voucher* spesies di *database* GenBank yang *sekuens* DNA-nya paling identik dengan sampel nengat predator per 25 Juni 2024

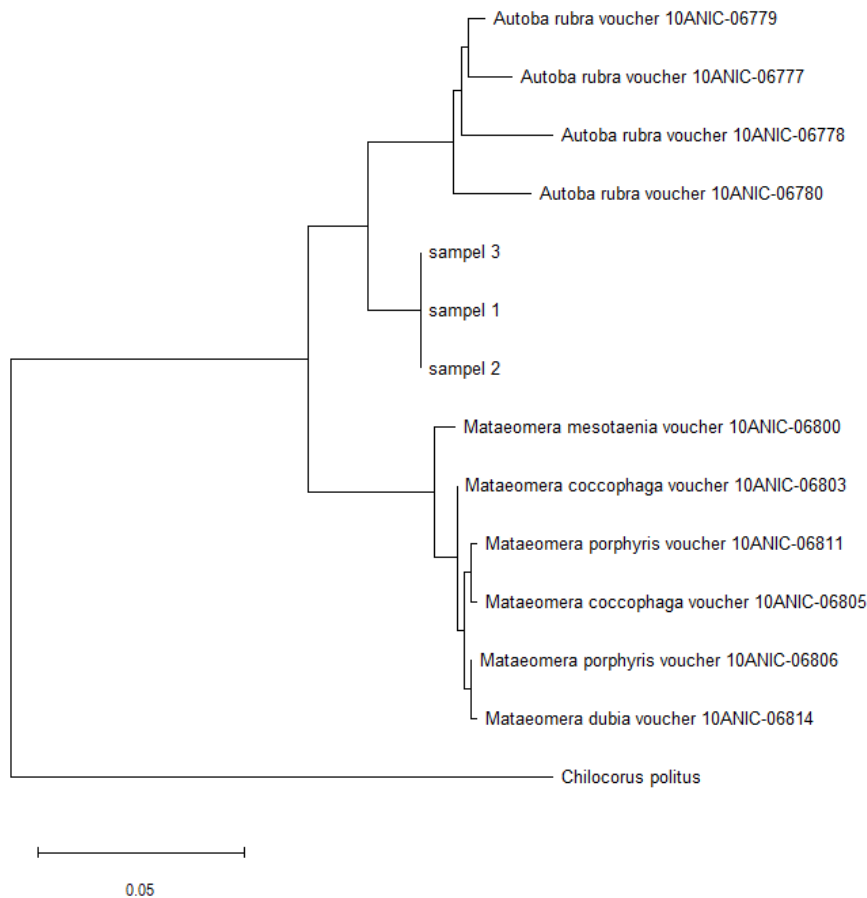
Table 1. Top ten of species voucher DNA sequences in the GenBank database that most identical to the predatory lepidoptera sample per June 25, 2024

Voucher spesies (<i>Species voucher</i>)	Max/Total score	Query cover (%)	Percent identity (%)
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06779	1003	99	95,67
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06777	985	100	94,91
<i>Mataeomera mesotaenia</i> voucher 10ANIC-06800	959	99	94,39
<i>Mataeomera porphyris</i> voucher 10ANIC-06811	959	99	94,39
<i>Mataeomera coccophaga</i> voucher 10ANIC-06805	953	99	94,23
<i>Mataeomera coccophaga</i> voucher 10ANIC-06803	953	99	94,23
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06780	953	96	94,91
<i>Mataeomera porphyris</i> voucher 10ANIC-06806	953	99	94,23
<i>Mataeomera dubia</i> voucher 10ANIC-06814	950	98	94,21
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06778	942	95	95,00

Tabel 2. Sepuluh besar sekuens DNA di BOLD Systems yang paling mirip dengan sampel nengat predator per 25 Juni 2024

Table 2. Top ten of DNA sequences in the BOLD Systems that most similar to the predatory Lepidoptera sample per June 25, 2024

Ordo (<i>Order</i>)	Famili (<i>Family</i>)	Genus	Spesies (<i>Species</i>)	Similarity (%)
Lepidoptera	Erebidae	<i>Autoba</i>	<i>Autoba rubra</i>	95,37
Lepidoptera	Erebidae	<i>Autoba</i>	<i>Autoba rubra</i>	94,90
Lepidoptera	Erebidae	<i>Autoba</i>	<i>Autoba rubra</i>	94,90
Lepidoptera	Erebidae	<i>Autoba</i>	<i>Autoba rubra</i>	94,88
Lepidoptera	Noctuidae	<i>Mataeomera</i>	<i>Mataeomera coccophaga</i>	94,83
Lepidoptera	Erebidae	<i>Autoba</i>	<i>Autoba rubra</i>	94,74
Lepidoptera	Erebidae	<i>Autoba</i>	<i>Autoba rubra</i>	94,74
Lepidoptera	Erebidae	<i>Autoba</i>	<i>Autoba rubra</i>	94,69
Lepidoptera	Noctuidae	<i>Mataeomera</i>	<i>Mataeomera dubia</i>	94,42
Lepidoptera	Noctuidae	<i>Mataeomera</i>	<i>Mataeomera dubia</i>	94,39



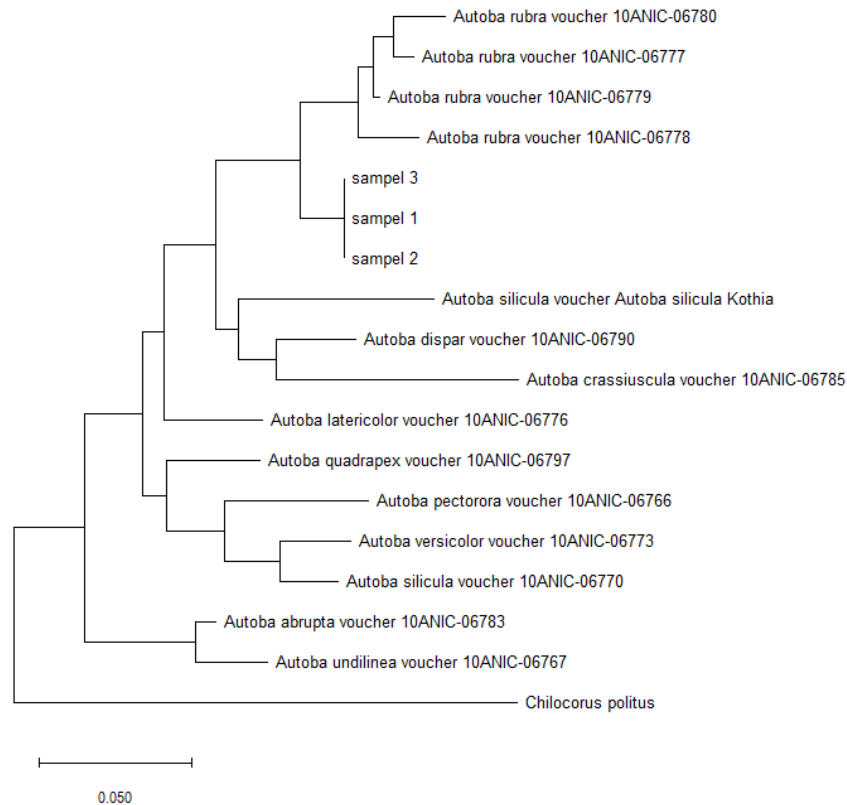
Gambar 3. Pohon filogeni sampel ngengat predator dan sepuluh voucher spesies paling mirip di database GenBank dengan metode maximum likelihood (*Chilocorus politus* sebagai outgroup).

Figure 3. Phylogeny tree of the predatory lepidoptera sample and top 10 species voucher in the GenBank database using Maximum Likelihood method (*Chilocorus politus* as outgroup).

Tabel 3. Homologi sekuens DNA antara sampel ngengat predator dan *Autoba* spp. yang ada di GenBank per 25 Juni 2024

Table 3. Homology of DNA sequences between the predatory lepidoptera sample and *Autoba* spp. in the GenBank per June 25, 2024

Spesies (Species)	Max/ Total score	Query cover (%)	Percent Identity (%)	Lokasi/ (Location)
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06779	1003	99	95,67	Western Australia
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06777	985	100	94,91	Queensland
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06780	953	96	94,91	Queensland
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06778	942	95	95,00	Queensland
<i>Autoba dispar</i> voucher 10ANIC-06790	935	100	93,49	Western Australia
<i>Autoba latericolor</i> voucher 10ANIC-06776	893	99	92,47	Queensland
<i>Autoba quadrapex</i> voucher 10ANIC-06797	859	97	91,87	Queensland
<i>Autoba silicula</i> voucher 10ANIC-06770	841	100	90,79	Northern Territory
<i>Autoba versicolor</i> voucher 10ANIC-06773	832	98	90,82	Queensland
<i>Autoba pectorora</i> voucher 10ANIC-06766	821	99	90,38	Northern Territory
<i>Autoba silicula</i> voucher <i>Autoba silicula</i> Kothia	804	99	89,90	India
<i>Autoba abrupta</i> voucher 10ANIC-06783	787	97	89,77	Queensland
<i>Autoba crassiuscula</i> voucher 10ANIC-06785	769	100	88,73	Queensland
<i>Autoba undilinea</i> voucher 10ANIC-06767	754	98	88,69	Queensland



Gambar 4. Pohon filogeni sampel ngengat predator dan *Autoba* spp. di database GenBank dengan metode *maximum likelihood* (*Chilocorus politus* sebagai *outgroup*).

Figure 4. Phylogeny tree of the predatory lepidoptera sample and *Autoba* spp. in the GenBank database using *maximum likelihood* method (*Chilocorus politus* as *outgroup*).

antar kelima taksa meliputi 45 daerah nukleotida berbeda atau sebesar 7,58%, sedangkan variasi nukleotida di antara keempat *A. rubra* (tanpa sampel) sebesar 4,88% atau ada 29 daerah nukleotida berbeda (Tabel 5). Hal ini menunjukkan bahwa variasi DNA sampel dengan *A. rubra* lebih tinggi dibandingkan dengan variasi intraspesies *A. rubra* yang sebelumnya ada di GenBank.

Imago dan larva predator

Predator yang dipelihara pada penelitian ini mengalami tahap perkembangan metamorfosis sempurna, yaitu dari larva, pupa hingga imago. Larva predator berupa ulat berbentuk *eruciform*. Larva instar akhir berwarna merah muda (Gambar 5). Spirakel abdomen ruas ke-8 dan 7 berada di posisi sejajar secara lateral dan berukuran sama. Larva tertutup oleh semacam kubah bulat sehingga hanya bagian abdomen yang tidak tertutup. Penutup larva berwarna coklat terbuat dari sisa-sisa tempurung kutu yang dimangsa dan bahan organik lain, seperti jaringan tanaman dan embun jelaga, yang dipintal dengan benang sutera. Demikian pula pupanya terlindung di dalam

penutup. Pupa berbentuk obtekt berwana kuning kecokelatan, sedangkan penutup pupa berbentuk oblong dan berwarna coklat.

Imago predator merupakan ngengat berwarna coklat dengan lebar sayap berukuran $1,66 \pm 0,11$ cm ($n = 10$) (Gambar 6). Posisi ujung abdomen tidak melebihi sayap belakang. Sayap depan, sayap belakang, dan abdomen masing-masing ditampilkan pada Gambar 7. Di bagian tepi sayap depan terdapat pola seperti garis melengkung. Baik pada sayap depan maupun sayap belakang, ada garis melintang di tengah sayap dan titik-titik berwarna hitam di bagian mendekati ujung sayap. Segmen pada abdomen berwarna putih. Tipe antena filiform dan alat mulut imago berupa palpus labial.

PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini, analisis DNA menunjukkan bahwa sampel ngengat predator memiliki homologi dengan spesies *A. rubra* sebesar 95,67% (GenBank) dan 95,37% (BOLD). Serangga

Tabel 4. Matriks jarak genetik antara sampel ngengat predator dengan *Autoba* spp. yang ada di GenBank
Table 4. Genetic distance matrix of the predatory Lepidoptera sample and *Autoba* spp. in the GenBank

	[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[8]	[9]	[10]	[11]	
sampel	[1]											
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06779	[2]	0,045										
<i>Autoba quadrapex</i> voucher 10ANIC-06797	[3]	0,091	0,086									
<i>Autoba silicula</i> voucher <i>Autoba silicula</i> Kothia	[4]	0,112	0,113	0,099								
<i>Autoba dispar</i> voucher 10ANIC-06790	[5]	0,073	0,087	0,085	0,102							
<i>Autoba crassiuscula</i> voucher 10ANIC-06785	[6]	0,127	0,135	0,122	0,128	0,103						
<i>Autoba abrupta</i> voucher 10ANIC-06783	[7]	0,118	0,115	0,092	0,135	0,102	0,141					
<i>Autoba latericolor</i> voucher 10ANIC-06776	[8]	0,081	0,086	0,070	0,109	0,081	0,120	0,088				
<i>Autoba versicolor</i> voucher 10ANIC-06773	[9]	0,100	0,113	0,088	0,110	0,089	0,120	0,111	0,084			
<i>Autoba undilinea</i> voucher 10ANIC-06767	[10]	0,129	0,136	0,111	0,150	0,115	0,156	0,031	0,105	0,121		
<i>Autoba pectorora</i> voucher 10ANIC-06766	[11]	0,106	0,107	0,081	0,126	0,105	0,116	0,111	0,101	0,080	0,120	
<i>Autoba silicula</i> voucher 10ANIC-06770	[12]	0,100	0,099	0,071	0,083	0,081	0,108	0,101	0,077	0,043	0,120	0,082

Tabel 5. Variasi sekuens DNA sampel ngengat predator dengan *Autoba rubra* yang ada di GenBank
Table 5. DNA sequence variations of the predatory Lepidoptera sample and *Autoba rubra* in the GenBank

Runutan DNA	
sampel	T T T T G G A A T T T G A G C A G G A A T A G T T G G A A C T T C T T T A A G A T T A T T G A T T C G A G C T G A A T T
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06778 C C . A
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06777 C A
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06779 C A
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06780 C A
Runutan DNA	
sampel	A G G T A A C C C A G G A T T T T T A A T T G G A G A T G A T C A A A T T T A T A A T A C A A T T G T T A C A G C T C A
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06778 T . . C C
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06777	. . . A T G C
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06779	. . . A T C
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06780	. . . A T G C
Runutan DNA	
sampel	T G C T T T T A T T A T A A T T T T T T T A T A G T T A T A C C A A T T A T A A T T G G A G G A T T T G G A A A T T G
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06778 C A
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06777 A
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06779 A
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06780 G . . G
Runutan DNA	
sampel	A T T A G T A C C T T T A A T A T T A G G A G C C C C A G A T A T A G C T T T C C C T C G A A T A A T A A T A T A A G
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06778 C . T
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06777 C . T T C
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06779 C . T C
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06780 G G C . T
Runutan DNA	
sampel	T T T T T G A C T T C T A C C C C C T T C T T T A A T T C T T T T A A T T T C A A G A A G A A T T G T A G A A A A T G G
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06778 C T A
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06777 C T C C
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06779 C T C
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06780 C T C

Tabel 5. Variasi sekuens DNA sampel ngengat predator dengan *Autoba rubra* yang ada di GenBank (lanjutan)
Table 5. DNA sequence variations of the predatory Lepidoptera sample and *Autoba rubra* in the GenBank (continued)

Runutan DNA	
sampel	A G C A G G A A C T G G A T G A A C A G T G T A C C C C C C A C T T T C A T C T A A T A T T T C A C A T A G A G G A A G
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06778 A T C C
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06777 A T T
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06779 A T .
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06780 A T . C
Runutan DNA	
sampel	A T C T G T A G A T T T A G C T A T T T T T T C C C T A C A T T T A G C A G G A A T T T C A T C A A T T T T A G G A G C
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06778	C . . A . . G . T
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06777	C . T . . T G
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06779	C . T
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06780	C . T T
Runutan DNA	
sampel	T A T T A A T T T T A T T T C T A C A A T T A T T A A T A T A C G A T T A A A T A A T T T A T C A T T T G A T A A A A T
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06778	. T
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06777	. T
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06779	. T
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06780	. T
Runutan DNA	
sampel	A C C A T T A T T T G T T T G A T C A G T T G G A A T T A C A G C T T T T C T T T T A T T A T T A T C T T T A C C A G T
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06778	. . . T A T T C A
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06777	. . . T T T A
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06779	. . . T T T A
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06780	. . . T A T T A
Runutan DNA	
sampel	T T T A G C A G G A G C T A T T T A C A A T A T T A T T A A C A G A T C G A A A T T T A A A T A C T T C A T T
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06778	. T G
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06777	. T
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06779 G T .
<i>Autoba rubra</i> voucher 10ANIC-06780 G T G .



Gambar 5. Larva predator yang memangsa kututempurung pada kopi di Sukabumi, Indonesia. A: spirakel abdomen ruas ke-7; B: spirakel abdomen ruas ke-8.

Figure 5. The predatory Lepidoptera larvae that preys on scale insects on coffee in Sukabumi, Indonesia. A: seventh abdominal spiracle; B: eighth abdominal spiracle.



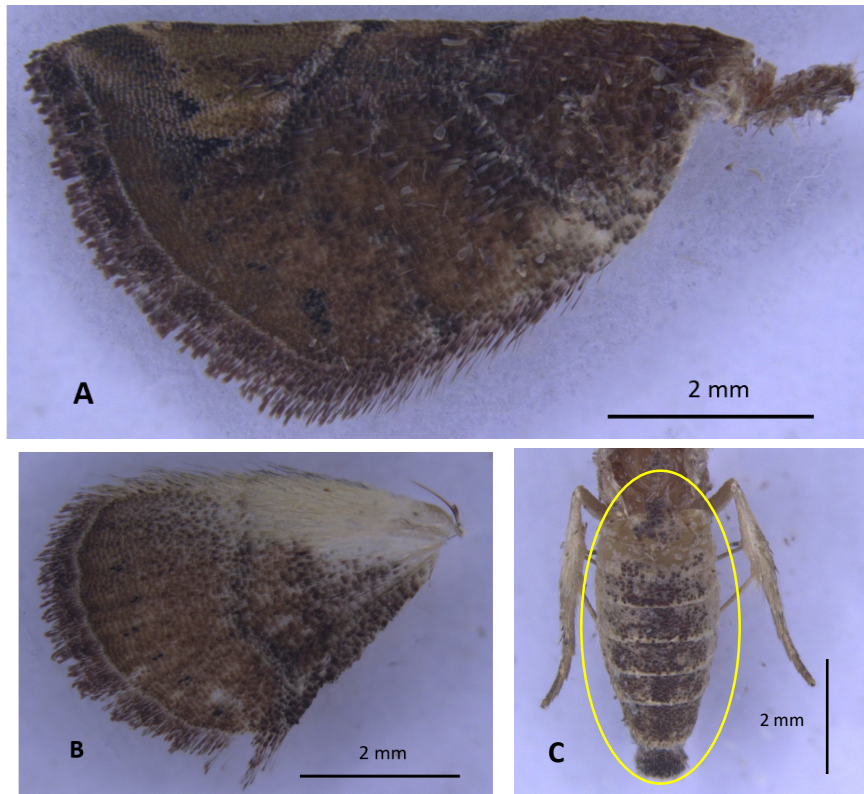
Gambar 6. Imago ngengat predator yang memangsa kututempurung pada kopi di Sukabumi, Indonesia.

Figure 6. The predatory Lepidoptera adult that preys on scale insects on coffee in Sukabumi, Indonesia.

(studi kasus Subfamili Scarabaeinae) dapat dinyatakan identik (similar) pada tingkat spesies jika persentase kecocokan DNA-nya berdasarkan fragmen gen COI mitokondria bernilai lebih dari 93,4% (Baena-Bejarano et al. 2023). Variasi DNA antara sampel dengan *A. rubra* sebesar 7,58%, sedangkan variasi intraspesies *A. rubra* di database GenBank sebesar 4,88%. Meskipun menurut Hebert et al. (2004), ambang batas variasi COI intraspesies untuk burung, yaitu 2,7%, lebih kecil dibandingkan dengan hasil penelitian ini, namun kelompok burung mungkin berbeda dengan serangga. Apabila mengacu pada pernyataan Baena-Bejarano et al. (2023) maka dapat diduga bahwa sampel merupakan spesies *A. rubra*. Ngengat predator dari Genus *Autoba*, diketahui merupakan salah satu musuh alami kututempurung di Indonesia, selain *Catoblemma* dan *Eublemma* (Kalshoven 1981).

Terdapat empat voucher spesies *A. rubra* yang ada di GenBank dan semua ditemukan di Australia. Dari sisi geografis, Australia dan Indonesia cukup dekat sehingga dimungkinkan memiliki serangga sejenis. Sejarah filogeni DNA terstruktur secara geografis dan terkait secara erat telah terbukti pada banyak spesies (Avice et al. 1987). Di sisi lain, variasi DNA antara sampel ngengat predator dan spesies *A. rubra* lebih tinggi dibandingkan dengan variasi DNA intraspesies *A. rubra* yang berasal dari Australia. Perbedaan sumber daya antar habitat lokal dapat memengaruhi struktur geografis populasi serangga (Roderick 1996).

Studi yang dilakukan oleh Indriyati & Susilo (2015) menunjukkan bahwa ngengat predator yang memangsa *C. viridis* di Lampung termasuk Genus *Eublemma* berdasarkan ciri morfologi larva. Pada pengamatan yang dilakukan, sampel ngengat predator di Sukabumi dan ngengat predator di



Gambar 7. Sayap depan (A), sayap belakang (B), dan abdomen (C) imago ngengat predator.
Figure 7. Fore wing (A), hind wing (B), and abdomen (C) of the predatory lepidoptera imago.

Lampung sangat mirip bentuk dan warna, baik larva, pupa maupun imagonya. Namun demikian, hasil analisis DNA tidak cukup mendukung bahwa sampel ngengat predator berkerabat dekat dengan *Eublemma*. Pohon filogeni menunjukkan bahwa sampel berkerabat lebih dekat dengan *A. rubra* dan *Mataeomera* spp. Dalam penelitian Ovalle et al. (2014), analisis filogenetik merupakan alat yang akurat dan efektif untuk mengelompokkan spesies kutukebul dan membandingkan antara karakter molekuler dengan morfologinya.

Beardsley (1982) membuat kunci identifikasi untuk larva instar akhir yang membedakan Genus *Eublemma* dan *Amyna*. Salah satunya, yaitu melalui rasio tinggi spirakel abdomen ruas ke-8:7. Untuk *Eublemma*, rasio tinggi spirakel ke-8 kurang dari dua kali tinggi spirakel ke-7 (8:5), sedangkan untuk *Amyna*, rasio tinggi spirakel ke-8 lebih dari dua kali tinggi spirakel ke-7 (12:5). Pada kenyataannya, larva ngengat predator di Lampung memiliki spirakel ke-8 dan ke-7 yang hampir sama baik tinggi maupun ukurannya (Indriyati & Susilo (2015), demikian juga tampilan spirakel ke-8 dan ke-7 larva ngengat predator di Sukabumi.

Ngengat *A. rubra* (Hampson 1902) pada mulanya didefinisikan sebagai *E. rubra* Hampson,

1902. Imago *E. rubra* pertama kali dideskripsikan oleh Hampson (1902) sebagai ngengat berwarna coklat terang kemerahan dengan garis putih, yang kemudian menjadi sinonim *A. rubra* (Poole 1989). *E. rubra*, menurut Hampson (1902), berhabitat di Sikkim (India), Singapura, dan Jawa (Indonesia). Secara taksonomi, *Autoba* dan *Eublemma* dikelompokkan dalam famili yang sama, yaitu Erebidae. Famili Erebidae dipisahkan dari Famili Noctuidae pada tahun 1990-an, didukung oleh hasil penelitian molekuler. *Autoba* masuk dalam Subfamili Boletobiinae, sedangkan *Eublemma* termasuk Subfamili Eublemminae (Abdelfattah & Salem 2021).

Hampir semua larva Lepidoptera (99%) merupakan fitofag atau memakan tanaman (Strong et al. 1984; Common 1990), sedangkan sisanya atau sebagian kecil berperan sebagai predator dan parasitoid (Pierce 1995). Seperti Lepidoptera lainnya, terdapat beberapa Spesies *Autoba* yang fitofag dan menjadi hama, di antaranya *A. silicula* (Ramaiah et al. 2023), *A. abrupta* Walker dan *A. versicolor* Walker (Dean 1978). Khusus untuk Genus *Autoba* predator, belum banyak literatur yang tersedia. Di Thailand, terdapat dua Spesies *Autoba* yang menjadi predator Coccoidea pada

tanaman buah-buahan, yaitu *A. rubra* dan *A. coccidiphaga*. Ngengat *A. rubra* merupakan predator kutu *Kerria lacca* (Kerr) (Hemiptera: Kerriidae), sedangkan *A. coccidiphaga* merupakan predator *Xenolecanium mangiferae* Takahashi (Hemiptera: Coccidae), *Ceroplastes rubens* Maskell (Hemiptera: Coccidae), *Saissetia nigra* King (Hemiptera: Coccidae) dan *Tachardiella decorella* Maskell (Hemiptera: Kerriidae) (Charensom et al. 1980). Demikian juga dengan ngengat *E. rubra*, informasi yang diketahui mengenai predator ini masih terbatas. Menurut Pierce (1995), *E. rubra* merupakan predator obligat terhadap *Coccus optimum* (Hemiptera: Coccidae) dan *C. africanus* Newstead (Hemiptera: Coccidae).

Selain genus *Autoba*, sampel predator juga berkerabat dengan Genus *Mataeomera*. Serangga *M. dubia* merupakan predator *Saissetia oleae* (Olivier) (Hemiptera: Coccidae) pada jeruk (Dao et al. 2013) di Australia dan *Parthenolecanium persicae* (Fabricius) (Hemiptera: Coccidae) pada anggur di Australia (Rakimov et al. 2015). Ngengat *M. dubia* sejenis dengan Spesies *Catoblemma* yang ada di Australia dan kedua genus tersebut dinyatakan sinonim (Edwards 1996).

Ngengat *A. rubra* yang merupakan sinonim *E. rubra* (Poole 1989), telah lama ada di Indonesia (Hampson 1902), dan berperan sebagai predator kututempurung (Kalshoven 1981; Pierce 1995). Namun demikian, pemanfaatan ngengat predator sebagai agens pengendali hayati kututempurung belum banyak diteliti, meskipun memiliki tingkat predasi yang cukup baik, 97 ± 11 kutu/larva (Indriyati & Susilo 2015). Oleh karena itu, untuk mengetahui potensi ngengat predator sebagai agens pengendali hayati di lapangan, diperlukan studi lebih lanjut mengenai biologi, ekologi, distribusi, tingkat pengendalian, dan cara perbanyakannya. Selain itu, identifikasi secara morfologi secara lebih lengkap juga perlu dilakukan untuk melengkapi informasi DNA.

KESIMPULAN

Hasil identifikasi secara molekuler menunjukkan bahwa ngengat predator yang memangsa kututempurung (Coccidae) pada pertanaman kopi (*Coffea* spp.) di Sukabumi memiliki kemiripan

paling dekat dengan spesies *A. rubra* berdasarkan sekuens DNA dengan tingkat homologi sebesar 95,67%.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelfattah, Salem MA. 2021. Revision of Lepidoptera of Egypt Superfamily Noctuoidea. Part II: Erebidae, Nolidae and Euteliidae. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. A. Entomology*. 14:59–142. DOI: <https://doi.org/10.21608/eajbsa.2021.169679>.
- Avisé JC, Arnold J, Ball RM, Bermingham E, Lamb T, Neigel JE, Reeb CA, Saunders NC. 1987. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 18:489–522. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.es.18.110187.002421>.
- Baena-Bejarano N, Reina C, Martinez-Revelo DE, Medina CA, Tovae E, Uribe-Soto S, Nelta-Moreno JC, Gonzales MA. 2023. Taxonomic identification accuracy from BOLD and GenBank databases using over a thousand insect DNA barcodes from Colombia. *Plos One*. 18:e0277379. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277379>.
- Beardsley JW. 1982. A key to the late instar larvae of some Hawaiian Noctuidae. *Proceedings Hawaiian Entomological Society*. 24:37–49.
- Cassedy AA, Parle-McDermott, Kennedy RO. 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>.
- Charensom K, Napompeth B, Suasaard W. 1980. Predatory caterpillars of scale insects on fruit trees in Thailand. Research Reports 1979–1980. Bangkok: Kasetsart University.
- Common IFB. 1990. *Moths of Australia*. Leiden, New York, Copenhagen & Koln: E. J. Brill. <https://doi.org/10.1071/9780643101227>.
- Dao HT, Meats A, Beattie GAC, Spooner-Hart R. 2013. Ant-coccid mutualism in citrus canopies and its effect on natural enemies of red scale, *Aonidiella aurantii* (Maskell) (Hemiptera: Diaspididae). *Bulletin of Entomological Research*. 104:137–42. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0007485313000187>.
- Dean GJ. 1978 Insects found on economic plants other than rice in Laos. *International Journal of Pest Management*. 24:129–142. DOI: <https://doi.org/10.1080/09670877809411603>.

- Doyle JJ, Doyle JL. 1990. A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. *Focus*. 12:13–15.
- Edwards ED. 1996. Noctuidae. In: Nielsen ES, Edwards ED, Rangei TV (Eds.), *Checklist of the Lepidoptera of Australia*. pp. 291–333. Canberra: CSIRO.
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*. 3:294–299.
- Hadrys H, Balick M, Schierwater B. 1992. Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. *Molecular Ecology*. 1:55–63. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.1992.tb00155.x>.
- Hampson GF. 1902. The Moths of India. Supplement paper to the volumes in “The Fauna of British India.” Series II. Part VI. *Journal of the Bombay Natural History Society*. 14:197–219.
- Hebert PDN, Stoeckle MY, Zemplak TS, Francis CM. 2004. Identification of birds through DNA barcodes. *Plos Biology*. 2:e312. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020312>.
- Hoy MA. 2003. *Insect Molecular Genetics: An Introduction to Principles and Applications. Second Edition*. San Diego, Burlington & London: Academic Press.
- Indriyati, Susilo FX. 2015. Preliminary study on *Eublemma* sp. (Eublemminae): A lepidopteran predator of *Coccus viridis* (Hemiptera: Coccidae) on coffee plants in Bandar Lampung, Indonesia. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. 15:10–16. DOI: <https://doi.org/10.23960/j.hptt.11510-16>.
- Iverson A, Burnham R, Perfecto I, Vandenberg N, Vandermeer J. 2022. A tropical lady beetle, *Diomus lupusapudoves* (Coccinellidae), deceives potential enemies to predate an ant-protected coffee pest through putative chemical mimicry. *International Journal of Tropical Insect Science*. 42:947–953. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42690-021-00621-5>.
- Kalshoven LGE. 1981. *The Pests of Crops in Indonesia*. Revised and translated by van der Laan PA & Rothschild GHL. Jakarta: PT Ichtiar Baru – van Hoeve.
- Mani M, Visalakshy PNG, Krishnamoorthy A, Venugopalan R. 2008. Role of *Coccophagus* sp. in the suppression of the soft green scale *Coccus viridis* (Green) (Homoptera: Coccidae) on sapota. *Biocontrol Science and Technology*. 18:721–725. DOI: <https://doi.org/10.1080/09583150802298769>.
- Nais J, Busoli AC. 2012. Morphological, behavioral and biological aspects of *Azya luteipes* Mulsant fed on *Coccus viridis* (Green). *Scientia Agricola*. 69:81–83. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-90162012000100012>.
- Ovalle TM, Parsa S, Hernandez MP, Becerra Lopez-Lavalle LA. 2014. Reliable molecular identification of nine tropical whitefly species. *Ecology and Evolution*. 4:3778–3787. DOI: <https://doi.org/10.1002/ece3.1204>.
- Oyston JW, Wilkinson M, Ruta M, Wills MA. 2022. Molecular phylogenies map to biogeography better than morphological ones. *Communication Biology*. 5:521. DOI: <https://doi.org/10.1038/s42003-022-03482-x>.
- Pierce NE. 1995. Predatory and parasitic Lepidoptera: carnivores living on plants. *Journal of The Lepidopterists' Society*. 49:412–453.
- Poole RW. 1989. *Lepidopterorum Catalogus (New Series)*. Fascicle 118: Noctuidae. Leiden, New York, Copenhagen & Koln: E. J. Brill/ Flora & Fauna Publications.
- Rakimov A, Hoffmann AA, Malipatil MB. 2015. Natural enemies of soft scale insects (Hemiptera: Coccoidea: Coccidae) in Australian vineyards. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 21:302–310. DOI: <https://doi.org/10.1111/ajgw.12134>.
- Ramaiah M, Naik S, Meshram NM, Bhagyashree SN, Shashank PR. 2023. First host report of earhead worm *Autoba silicula* (Swinhoe 1897) on maize. *Indian Journal of Entomology*. 86:187–191. DOI: <https://doi.org/10.55446/IJE.2023.922>.
- Roderick GK. 1996. Geographic structure of insect populations: Gene flow, phylogeography, and their uses. *Annual Review of Entomology*. 41: 325–52. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.en.41.010196.001545>.
- Rosado JF, Bacci L, Martins JC, Silva GA, Gontijo LM, Picanco MC. 2014. Natural biological control of green scale (Hemiptera: Coccidae): a field life-table study. *Biocontrol Science and Technology*. 24:190–202. DOI: <https://doi.org/10.1080/09583157.2013.855165>.
- Rutherford MA, Phiri N. 2006. *Pests and Diseases of Coffee in Eastern Africa: A Technical and Advisory Manual*. Wallingford: CABI.
- Santosa B, Wagiman FX, Martono E. 2006. Pertumbuhan dan perkembangan kumbang buas *Chilocorus politus* pada kutu *Coccus viridis*. *Agrosains*. 19:13–20.

- Strong DR, Lawton JH, Southwood TRE. 1984. *Insects on Plants: Community Patterns and Mechanisms*. Oxford: Blackwell Scientific.
- Waller JR, Bigger M, Hillocks RJ. 2007. *Coffee Pests, Diseases, and Their Management*. Wallingford: CABI. DOI: <https://doi.org/10.1079/9781845931292.0000>.