LAPORAN AKHIR
PENELITIAN FUNDAMENTAL

KERAGAMAN SPESIES GENUS SITOPHILUS
DI SULAWESI UTARA
BERDASARKAN UJI FENOTIPIK DAN GENOTIPIK

Tahun ke-1 dari rencana 2 tahun

TIM PENELITI

Dr. Ir. Jusuf Manueke, MP (Ketua Peneliti)
NIDN : 0016095808
Dr. Ir. Juliet M.E. Mamahit, MSi (Anggota Peneliti)
NIDN : 0019026702

UNIVERSITAS SAM RATULANGI
NOVEMBER 2016

LAPORAN AKHIR

PENELITIAN FUNDAMENTAL

KERAGAMAN SPESIES GENUS SITOPHILUS
DI SULAWESI UTARA
BERDASARKAN UJI FENOTIPIK DAN GENOTIPIK

TIM PENELITI

Dr. Ir. Jusuf Manueke, MP (Ketua Peneliti)
NIDN : 0016095808
Dr. Ir. Juliet M.E. Mamahit, MSi (Anggota Peneliti)
NIDN : 0019026702

UNIVERSITAS SAM RATULANGI
MANADO – NOVEMBER 2016

Kembali Cetak PDF

HALAMAN PENGESAHAN

Judul	: Keragaman Spesies Genus Sitophilus Di Provinsi Sulawesi Utara dan Gorontalo Berdasarkan Uji Fenotipik Dan Genotipik
Peneliti/Pelaksana	
Nama Lengkap	: Dr.Ir. JUSUF MANUEKE MP
Perguruan Tinggi	: Universitas Sam Ratulangi
NIDN	: 0016095808
Jabatan Fungsional	: Lektor Kepala
Program Studi	: Agroteknologi
Nomor HP	: 085338304925
Alamat surel (e-mail)	: jusufunsrat@gmail.com
Anggota (1)	
Nama Lengkap	: Dr Ir JULIET MERRY EVA MAMAHIT M.Si
NIDN	: 0019026702
Perguruan Tinggi	: Universitas Sam Ratulangi
Institusi Mitra (jika ada)	
Nama Institusi Mitra	: -
Alamat	: -
Penanggung Jawab	: -
Tahun Pelaksanaan	: Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan	: Rp 50000000
Biaya Keseluruhan	: Rp 150000000

Manado, 16 - 11 - 2016

Mengetahui,
Dekan Fakultas Pertanian Unsrat

(Prof.Dr.Ir. Antje Pelealu, MS)
NIP/NIK 195806301986031002

Ketua Pengusul

(Dr. Ir JUSUF MANUEKE M.P)
NIP/NIK 195809161987031001

Ketua LPPM Unsrat

(Prof.Dr.Ir. F.F.M. Rumengan)
NIP/NIK 195711051984032001

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Kuasa karena atas pertolongan dan perkenanNya sehingga Disertasi Berjudul **"Keragaman Spesies Genus Sitophilus Di Provinsi Sulawesi Utara dan Gorontalo Berdasarkan Uji Fenotipik Dan Genotipik"** ini dapat diselesaikan. Segala keterbatasan, hambatan dan keraguan penulis dapat teratasi dengan keteguhan hati dan keyakinan Iman kepada Yesus Kristus sebagai Tuhan dan Juru Selamat, penolong dan sumber segala berkat.

Keberhasilan penulis dalan menyelesaikan penulisan disertasi dan studi S-3 juga tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Penghargaan dan ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Rektor Universitas Sam Ratulang Manado Prof. Dr. Ellen Joan Kumaat, MSc. DEA dan Dekan Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi Manado Prof. Dr. Ir. Jantje Pelealu, MS atas kesempatan yang diberikan kepada penulis melakukan penelitian ini.
2. Kementrian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi melalui Dana Penelitian Riset Nasional (DPRN).
3. Prof. Dr. Ir. Ida Bagus Putra Manuaba, M.Phil. sebagai Guru Besar pada Fakultas MIPA Univertsitas Udayana Denpasar Bali dan Kepala UPT Laboratorium ANALITIK Universitas Udayana Denpasar Bali dan Prof. Dr. Drh. I. Gusti Ngurah Kade Mahardika sebagai Guru Besar pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana Denpasar Bali dan Kepala Laboratorium Biomedikdan Biologi Molekuler Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana Denpasar Bali, atas bantuan dalam identifikasi DNA sampel penelitian.
4. Pimpinan dan Staf Laboratorium Biomedik dan Biologi Molekuler Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana Denpasar Bali atas fasilitas dan pekerjaan identifikasi DNA.
5. Laboratorium Hama Tumbuhan dan Entomologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi Manado.
6. Pihak lain yang telah membantu penulis dalam melaksanakan penelitian ini.

Akhirnya segala kekurangan yang penulis lakukan terhadap pembimbing, teman-teman, orang tua, istri, dan anak-anak mohon dimaafkan. Semoga amal baik yang penulis terima dari semua pihak mendapat balasan berkat dan karunia dari Tuhan Yang Maha Kuasa.

Manado, November 2016

Penulis.

RINGKASAN

Permasalahan hama pascapanen perlu mendapat perhatian yang serius karena sampai saat ini penerlitian-penelitian yang dilakukan belum dapat menyelesaikan permasalahan hama pascapanen secara komprehensif. Penelitian preferensi, karakter morfologi dan profil DNA perlu dilakukan untuk memperkuat pemahaman dan pengambilan keputusan dalam manajemen pengelolaan hama pascapanen umumnya dan hama *Sitophilus* spp. khususnya. Tujuan penelitian yaitu : (1) Mengkaji keragaman genus *Sitophilus* pada beberapa jenis komoditas pascapanen, (2) Menkaji perbedaan karakter morfologi *S. oryzae* dan *S. zeamais* pada beras dan jagung pipilan; (3) Menganalisis profil DNA *SSitophilus* spp pada beras dan jagung pipilan.

Penelitian ini merupakan penelitian di bidang taxonomi dan biologi evolusi yang didekati dengan peneltian bidang biologi molekuler. Penelitian menggunakan metode observasional, eksperimental dan deskriptif. Penelitian preferensi untuk mengetahui jumlah spesies genus Sitophilus di Sulawesi Utara dan Gorontalo. Penelitian karakter morfologi terdiri dari pengamatan variasi morfologi, tingka laku, fekunditas, mortalitas, dan rasio kelamin. Analisa DNA menggunakan *Sofware MEGA (Molekular Evolutionary Gene Analysis) Versi 4.0* (Tamura *et* al., 2007). Data yang dianalisis adalah konfirmasi hasil sekuensing dengan program *Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)*. Parameter sekuens yang dianalisis meliputi : daerah polimorfik, jarak/perbedaan genetik (*genetic distance*) dan pohon asal-usul (*phylogenetic tree*). Jarak genetik dihitung dengan metode *Kimura 2 parameter* (Kimura, 1980).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa di Sulawesi Utara dan Gorontalo ditemukan *S. oryzae, S. zeamais* dan *Sitophilus* sp. berwaran coklat. *S. oryzae* dan *S. zeamais* memilih pakan sesuai dengan inang utama masing-masing dimana populasi tertinggi untuk *S. oryzae* pada beras yaitu 28,8 ekor dan terendah pada kopra yaitu 4,0 ekor, sedangkan *S. zeamais* populasi tertinggi pada jagung pipilan yaitu 22,0 ekor dan terendah pada kacang tanah yaitu 4,2 ekor. *S. oryzae* dan *S. zeamais* tidak dapat hidup pada kacang tanah, kacang kedelai, dan kopra. Ukuran tubuh imago *S. oryzae* saat keluar dari pupa ± 2,16 mm, pada perkembangan penuh ± 3,36 mm, dan *S. zeamais* saat keluar dari pupa ± 2,54 mm, pada perkembangan penuh ± 4,78. Imago *S. oryzae* berwarna hitam cerah atau hitam kecoklatan, memiliki empat buah gambaran berbentuk bulat memanjang (lonjong) pada elytra yang berwarna coklat kemerahan dan kakinya juga berwarna coklat kemerahan, sedangkan imago *S. zeamais* berwarna hitam

pekat/berwarna gelap dengan empat buah gambaran pada elytra berwarna coklat kekuningan dan kaki berwaran coklat kekuningan Siklus hidup *S. oryzae* adalah 35,22 hari dan *S. zeamais* 49,13 hari. Fekunditas *S. oryzae* rata-rata 152,8 butir dan *S. zeamais* rata-rata 203,0 butir. Mortalitas *S. oryzae* 80,5 % dan *S. zeamais* 73,0 %. Rasio kelamin *S.oryzae* 0,79 dan *S. zeamais* dan 0,78.

Berdasarkan hasil-hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut : (1) Di Kota Manado, Kotamobagu, Talaud dan Gorontalo ditemukan *S. oryzae*, *S. zeamais* dan *Sitophilus* sp. berwarna coklat yang berasal dari populasi *S. zeamais*; (2) Pakan utama *S. oryzae* adalah beras dan pakan alternatif adalah jagung pipilan, sedangkan *S. zeamais*, pakan utama adalah jagung pipilan dan pakan alternatif adalah beras; (3) *S. oryzae* dan *S. zeamais* bukan merupakan hama pada kacang tanah, kacang kedelai, dan kopra; (4) Variasi morfologi, siklus hidup, lama hidup, dan fekunditas *S. oryzae* dan *S. zeamais* berbeda, sedangkan mortalitas dan rasio kelamin kedua spesies tersebut relatif sama; (5) Secara fenotipe *S. oryzae*, *S. zeamais* dan *Sitophilus* sp. warna coklat sudah merupakan spesies yang berbeda, namun secara genotipe masih satu kerabat atau satu spesies.

SUMMARY

The problem in postharvest pests has to be taken seriously since the recent researches were not comprehensively resolved the problem. The researches on preferences, morphological characteristics, and DNA profile are required in order to strengthen the knowledge and the decision making in postharvest pest management, especially *Sitophilus* spp. The aims of this reseach are to : (1) Study the diversity and preferences of *S. oryzae* on several postharvest commodity, type of storage containers and the color of the storage containers; (2) Develop a life table of *S. oryzae* and *S. zeamais*; (3) Identify the differences in morphological characteristics of *S. oryzae* and *S. zeamais* in rice and corn kernels; (4) Analysis the DNA profile and develop the phylogeny tree of *S. oryzae* dan *S. zeamais* in rice and corn kernels.

This research was emphasized on taxonomy and biological evolution through molecular biology approach. The method was used observational, descriptive, experimental and substitution method. The preferential study consisted of species diversity, the level of preference on feed, the type of storage containers, and the color of the storage containers. The table of life was developed base on the mortality and the development of insect stadia. The research on morphological characteristics like of the morphological variation, and also behavior, fecundity, mortality, and sex ratio. DNA analysis was conducted using the *Sofware MEGA (Molekular Evolutionary Gene Analysis) Versi 4.0* (Tamura *et al.*, 2007). The DNA sequencing data were confirmed by *Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)* program before analysis. Sequencing parameters that analyzed were polymorphic site, genetic distance, and phylogenetic tree. Genetic distance was measured by *Kimura 2 parameter* method (Kimura, 1980).

Results showed that *S. oryzae, S. zeamais* and brown *Sitophilus* sp. were found in North Sulawesi and Gorontalo. Preference study demonstrated that *S. oryzae* dan *S. zeamais* have feeding behavior in accordance to their respective primary host. The highest population of *S. oryzae* was 28.8 individuals in rice and the lowest was 4.0 individuals in copra. The population of *S. zeamais* was the highest in corn seeds 22.0 individuals and the lowest in peanut 4.2 individuals. *S. oryzae* and *S. zeamais* cannot survive in peanut, soybean, and copra. The most preferable storage packaging was jute sack, in which was found 21.8 individuals *S. oryzae* and 18.8 individuals *S. zeamais.* In contrary, the lowest population was in plastic sack where 10.2 individuals *S. oryzae* and 10.6 individuals *S. zeamais* were found. The most preferable color of the packaging

was black, in which 46.6 individuals *S. oryzae* and 38.4 individuals *S. zeamais* were found. On the other hand, the unfavorable color of storage packaging was white where 11.4 individuals *S. oryzae* and 12.2 individuals *S. zeamais* were found. The caused damage on rice and corn seeds was lineary correlated to the densities of *S. oryzae* and *S. zeamais*. The survivalship of *S. oryzae* was 1.65 eggs, 1.43 larvae, 1.51 pupae, and 1.0 for adults. Survivalship of *S. zeamais* was 1.80 eggs, 1.57 larvae, 1.46 pupae, and 1.0 for adults. One female of *S. oryzae* has the ability to give rise 32.56 females or 58.57 males and females of the next generation, and *S. zeamais* 45.35 females or 80.41 males and females.

The size of adult of *S. oryzae* emerging from pupae was ca 2.16 mm, and at complete development was ca 3.36 mm. The size of adult of *S. zeamais* emerging from pupae was ca 2.54 mm, and at complete development was ca 4.78 mm. The color of adult of *S. oryzae* was bright black or brownish black with reddish brown oval spot at elytra and also reddish brown legs. Adult of *S. zeamais* was dark black in color with four yellowish brown spot at elytra and also yellowish brown legs. The length of life-cycle of *S. oryzae* and *S. zeamais* were 35.22 and 49.13 days, respectively. The average fecundity of *S. oryzae* and *S. zeamais* were 152.8 and 203.0 eggs. The mortality of *S. oryzae* was 80.5 % and *S. zeamais* was 73.0 %. The sex ratio of *S.oryzae* was 0.79 and *S. zeamais* was 0.78. The nucleotide bases of *S. zeamais* located at Gorontalo and *S. oryzae* at Manado tend to be different from those in other locations, although they were relatives (*intraspecific relationship*).

Based on the results and the discussion, it can be concluded that: (1) brown *S. oryzae*, *S. zeamais* dan *Sitophilus* sp. from the population of *S. zeamais* were fround at the Manado city, Kotamobagu, Talaud and Gorontalo ; (2) The primary feed of *S. oryzae* were rice and alternatively corn kernel, while *S. zeamais* feed on corn kernel as their primary feed and rice for their alternative feed; (3) *S. oryzae* and *S. zeamais* were not pest on peanuts, soybeans, and copra; (4) Survivalship and ability of *S. oryzae* and *S. zeamais* were very high and life ability of *S. zeamais* was higher than that of *S. oryzae*; (5) Morphological variation, life cycle, adult longivity, and fecundity of *S. oryzae* were different from *S. zeamais*, but mortality and sex ratio of those species were relatively similar; (6) Phenotype of *S. oryzae, S. zeamais* and *S. zeamais* showed that those insects are different species, however, genotype of *S. oryzae, S. zeamais* and brown *Sitophilus* sp. demonstrated that they are relatives or the same species.

DAFTAR ISI

		Hal
HALAMAN PENGESAHAN	……...……...	i
KATA PENGANTAR	…….……...…….	ii
RINGKASAN	……...……’…….	iii
SUMMARY	……’……	iv
DAFTAR ISI	……..……	vii
BAB I.	PENDAHULUAN ……...…….’’’….…….	1
	1.1. Latar Belakang dan Permasalahan Yang Diteliti	1
	1.2.Tujuan Khusus …….…….	2
	1.3.Urgensi Penelitian ……..…….……..……	2
BAB II.	TINJAUAN PUSTAKA ……...……	3
	2.1.Taksonomi Genus Sitophilus …….…….…….	3
	2.2.Deoxyribonucleic Acid (DNA) ……...…….. …...……..….	4
BAB III.	METODE PENELITIAN ….. ……..……..	5
	3.1. Percobaan Pemikatan …..…….……...…….	5
	3.2. Uji Fenotipik …….…….…...…….	6
	3.3. Uji Genotipik ……..……	8
	3.4. Analisis Data ……...	11
BAB IV.	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN ……..……...	12
	4.1. Keragaman Spesies Genus Sitophilus ……...…….……	12
	4.2. Karakter Morfologi *Sitophilus oryzae* dan *S. zeamais* …..	13
	4.3. Profil DNA Genus Sitophilus …….……...……	26
BAB V.	KESIMPULAN …….…… ...…….	33
	DAFTAR PUSTAKA …….…….	34
	LAMPIRAN ……..…….…….	40

DAFTAR TABEL

No.	Teks	Hal.
1	Hasil Pengujian Perbedaan Rata-rata Ukuran Tubuh *S. oryzae* dab *S. zeamais* di Laboratorium ……	13
2	Hasil Pengujian Perbedaan Rata-Rata Stadia Perkembangan *S. oryzae* dan *S. zeamais* Di Laboratorium ……	19
3	Hasil Pengujian Perbedaan Rata-rata Siklus Hidup *S. oryzae* dan *S. zeamais* Di Laboratorium ……...……	20
4	Hasil Pengujian Perbedaan Rata-Rata Lama Hidup *S. oryzae* dan *S. zeamais* Di Laboratorium ……..…….	21
5	Hasil Pengujian Perbedaan Rata-rata Fekunditas *S. oryzae* dan *S. zeamais* di Laboratorium ……..……..	22
6	Hasil Pengujian Perbedaan Rata-Rata Mortalitas Pradewasa *S. oryzae* dan *S. zeamais* Di Laboratorium …….…….	23
7	Hasil Pengujian Perbedaan Rasio Kelamin *S. oryzae* dan *S. zeamais* di Laboratorium ……...……	24
8	Area dan Basa Nukleotida yang Berbeda pada Pita DNA *S. oryzae, S. zeamais* dan *Sitophilus sp.* Hasil Analisis Sekuens ...……....…….	27
9	Perbedaan/Jarak Genetik (Genetic Distance) Basa Nukleotida pada Pita DNA *S. oryzae, S. zeamais* dan *Sitophilus* sp. Di Sulawesi Utara dan Gorontalo ……...……..……..	29

DAFTAR GAMBAR

No.	Teks	Hal.
1	Imago *Sitophilus* spp. Yang Ditemukan di Sulawesi Utara dan Gorontalo …….…...……..	12
2	Diagram Batang Ukuran Tubuh *S. oryzae* dan *S. zeamais* Pada Beras dan Jagung Pipilan Di Laboratorium ……...…….…….	14
3	Perbedaan Imago *S. oryzae* dan *S. zeamais* ……...	14
4	Perbedaan Imago *S. zeamais* Jantan dan Betina ……...…….……	15
5	Perbedaan Rostrum Imago *S. zeamais* Jantan dan Betina …….	15
6	Abdomen posterior Imago *S. oryzae* Jantan dan Betina Saat Dibius ….	15
7	Gejalah Serangan *S. oryzae* pada Beras ……..……...……..	16
8	Biji Jagung Yang Diteluri *Sitophilus zeamais* ……	18
9	Stadia Perkembangan *Sitophilus* sp. …….……..	18
10	Diagram Batang Perbedaan Stadia Perkembangan *S. oryzae* dan *S. zeamais* pada Beras dan Jagung Pipilan Di Laboratorium …….	19
11	Diagram Batang Perbedaan Siklus Hidup *S. oryzae* dan *S. zeamais* Pada Beras dan Jagung Pipilan Di Laboratorium …..…….	20
12	Diagram Batang Perbedaan Susut Berat pada Beras dan Jagung Pipilan Akibat Serangan *S. oryzae* dan *S. zeamais* Di Laboratorium ...	21
13	Diagram Batang Perbedaan Fekunditas *S. oryzae* dan *S. zeamais* pada Beras dan Jagung Pipilan Di Laboratorium ……...……	22
14	Pita DNA Hasil Pool Terhadap Semua Sampel DNA Hasil	25

Ekstraksi ..

15 Pita DNA *S. oryzae*, *S. zeamais*, dan *Sitophlus* sp. Hasil RT-PCR …… 26

16 Transformasi Genetik Pada Organisme Hidup…… 29

17 Konstruksi Pohon Filogeni *S.oryzae* dan *S.zeamais* Dengan Metode Neighbor joining Kimura 2 Parameter ……...…… 30

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang dan Permasalahan Yang Diteliti

Kehadiran organisme pengganggu dalam komoditas pascapanen sudah ada sejak dari proses panen, pengeringan, pengangkutan, sortasi, pengepakan/pengisian dalam wadah penyimpanan dan keberadaan bahan dalam penyimpanan. Terdapat berbagai jenis organisme pengganggu yang dapat menginfestasi bahan pascapanen dan kehadirannya pada bahan tersebut sangat sulit dibatasi dan dideteksi sejak awal terutama organisme dari golongan serangga. Hal ini disebabkan oleh beberapa hal antara lain tubuh kecil, kehidupannya hampir ada disemua tempat, dan biasanya hidup pada tempat-tempat yang tersembunyi sehingga sulit dijangkau atau dilihat manusia (Syarief dan Halid, 1993).

Salah satu serangga hama penting yang menyerang komoditas pascapanen khususnya pascapanen biji-bijian yaitu *Sitophilus* spp. Identifikasi khusus spesies genus Sitophilus yang menyerang komoditas pertanian tersebut belum jelas apakah hanya terjadi variasi morfologi akibat perbedaan pakan (spesies sibling) ataukah sudah merupakan spesies baru. Karakter morfologi dan perilaku menunjukkan identitas dari jenis atau spesies serangga dan erat hubungannya dengan pemilihan makanan oleh sejenis serangga tersebut. Serangga hama yang memiliki lokomotor yang lengkap dapat dengan leluasa mencari dan menentukan pilihannya terhadap makanannya. Jenis-jenis serangga yang alat lokomotornya tidak berkembang dengan baik atau tidak dapat terbang jauh lebih mengutamakan penyesuaian diri dengan makanan yang ada disekitarnya. Hama pascapanen termasuk kelompok serangga yang tidak dapat terbang jauh sehingga kelompok ini memiliki kemampuan untuk menyesuaikan diri dengan keadaan yang ekstrim seperti lingkungan gudang atau tempat-tempat dengan komponen lingkungan yang sangat terbatas (Speight, *et al*, 1999, Suputa, 2003).

Berdasarkan hal tersebut maka penulis merasa sangat urgen untuk meneliti preferensi, karakter morfologi, dan profil DNA *Sitophilus oryzae* dan *S. zeamais*. Penelitian preferensi dimaksudkan untuk menentukan inang utama dan inang alternatif dari *S. oryzae* dan *S. zeamais*. Penelitian morfologi dilakukan untuk mendeskripsikan ciri morfologi, mengetahui perilaku, dan biologi dari *S. oryzae* dan *S. zeamais*. Penelitian profil DNA dimaksudkan untuk melihat perbedaan struktur pola pita DNA dan urutan basa nukleotida dari *S. oryzae* dan*S. zeamais*. Tujuan penelitian ini adalah

meluruskan/menjawab kerancuan taxonomi genus Sitophilus dengan uji fenotipik dan genotipik.

1.2. Tujuan Khusus

1. Mengkaji keragaman spesies dalam genus Sitophilus di Sulawesi Utara dan Gorontalo.
2. Menkaji perbedaan karakter morfologi *Sitophilusoryzae* dan *S. zeamais*pada beras dan jagung pipilan.
3. Menganalisis profil DNA dan membuat konstruksi pohon filogeni *S.oryzae dan S. Zeamais* pada beras dan jagung pipilan.

1.3. Urgensi Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian di bidang taxonomi dan biologi evolusi yang didekati dengan peneltian bidang biologi molekuler. Perubahan-perubahan yang terjadi pada serangga baik fenotipik maupun genotipik terjadi dalam proses biologi suatu organisme yang berlangsung dalam kurun waktu yang panjang yang disebut proses evolusi biologi. Terjadinya perubahan-perubahan morfologi, bilogi, dan genetik pada suatu organisme dapat menyebabkan terjadinya perubahan dalam taxonomi organisme tersebut.

Hasil dari penelitian ini penting karena dapat menjawab permasalahan dalam bidang taxonomi dan evolusi serangga di alam yaitu : (1) Apakah ada spesies lain dari genus Sitophilus selain *S. oryzae* dan *S. zeamais* di Sulawesi Utara dan Gorontalo?; (2) Apakah ada perbedaan karakter morfologi antara *S. oryzae* dan *S. zeamais* ?; (3) Apakah ada perbedaan profil DNA antara *S. oryzae* dan *S. zeamais*?. Sehingga mellaui pe3nelitian ini dapat diperoleh data dan informasi mengenai : (1) Keragaman spesies dalam genus*Sitophilus* pada beberapa jenis komoditas; (2) Ciri morfologi dan perilaku *Sitophilusoryzae* dan *S. zeamais*pada beras dan jagung pipilan; (3) Variasi genetik *S.oryzae* dan *S. zeamais*pada beras dan jagung pipilan yang meliputi urutan nukleotita pita DNA, persentase perbedaan nukleotida dan konstruksi pohon filogeni interspecific dan intraspecific.

Berdasarkan hal-hal tersebut diatas maka penelitian ini sangat urgen dilakukan untuk mengetahui keragaman spesies dalam genus Sitophilus di Sulawesi Utyara dan Gorontalo. Keutamaan lainnya yaitu hasil penelitian inidapat meluruskan kerancuhan dalam taxonomi genus genus Sitophilus.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Taksonomi Genus Sitophilus

Genus Sitophilus sangat penting dalam bidang pascapanen karena beberapa spesies di dalam genus ini merupakan hama penting pada komoditas pascapanen biji-bijian, diantaranya yaitu *Sitophilus oryzae* dan *S. zeamais*. Kedua jenis serangga ini sulit dibedakan karena baik *S. oryzae* maupun *S. zeamais* dapat hidup pada jagung dan beras. Imago berbentuk bulat memanjang dengan kepala dan alat mulut memanjang dan meruncing kedepan membentuk moncong atau "Rostrum" ("Snout"). Tubuh berwarna hitam, sayap depan (elytra) masing-masing memiliki dua bercak berwarna kuning agak pucat. Bagian pronotum mempunyai lekukan lekukan yang kecil, bundar dan satu sama lainnya dalam keadaan rapat (Anonim, 1991, Atmosudirdjo, 1977).

Taksonomi serangga Genus Sitophilus masih terdapat kerancuan hingga beberapa tahun terakhir ini, oleh karena itu beberapa literatur berharga terdahulu mengenai serangga ini tidak lagi valid untuk dijadikan acuan. Kondisi seperti ini memerlukan pemecahan dan jawaban untuk kepastian kedudukan dan kebenaran dalam klasifikasi dan penamaan spesies dalam genus Sitophlus (Suputa, 2003).

Serangga ini pertama kali dideskripsikan oleh Linnaeus pada tahun 1798 sebagai *Curculio oryzae* yang kemudian direvisi oleh De Clairville dan Scheltenburg berubah nama menjadi *Calandra oryzae*. Para peneliti sesudah masa itu menemukan dua perbedaan ukuran pada serangga tersebut yaitu ada yang besar dan ada yang kecil. Pada tahun 1855, Motschulsky menyatakan bahwa serangga yang berukuran besar memang berbeda dengan yang kecil dan dia memberikan nama *Sitophilus zeamais* untuk serangga yang ukurannya lebih besar. Sayangnya hanya sebagian kecil peneliti yang mengetahui tentang revisi yang dilakukan oleh Motschulsky tersebut sehingga nama Calandra masih terus digunakan untuk komplek serangga jenis ini. Pada tahun 1928 dan 1931 Takahashi menyatakan bahwa serangga yang berukuran kecil secara khusus dinamai *Calandra sasakii*(Floyd dan Newsom, 1959).

Situasi yang membingungkan ini berlanjut hingga Floyd dan Newsom pada tahun 1959 melakukan revisi yang diteruskan oleh Kuschel pada tahun 1961. Dalam revisinya memperlihatkan bahwa yang dideskripsikan oleh Linnaeus adalah serangga yang kecil sedangkan yang dideskripsikan oleh Motschulsky adalah serangga yang besar, oleh karena itu untuk kedua jenis serangga ini dimasukkan ke dalam Genus Sitophilus dengan nama spesies merujuk pada Linnaeus untuk serangga yang berukuran

kecil dan merujuk pada Motschulsky untuk serangga yang berukuran besar. Sayangnya perbedaan besar ukuran tubuh antara *S. oryzae* dan *S. zeamais* tidak konsisten (tidak bisa dijadikan patokan bahwa serangga yang berukuran kecil adalah pasti *S. oryzae* atau sebaliknya), sehingga literatur mengenai serangga ini yang ditulis oleh peneliti terdahulu tidak lagi valid kecuali literatur yang ditulis pada tahun pra-1960-an yaitu *C. sasakii* adalah sinonim dari *S. oryzae* (Kuschel, 1961).

2.2. Deoxyribonucleic Acid (DNA)

DNA terdiri atas dua untai yang berpilin membentuk struktur heliks ganda. Pada struktur heliks ganda, orientasi rantai nukleotida pada satu untai berlawanan dengan orientasi nukleotida untai lainnya. Hal ini disebut sebagai *antiparalel*. Masing-masing untai terdiri dari rangka utama, sebagai struktur utama, dan basa nitrogen, yang berinteraksi dengan untai DNA satunya pada heliks. Kedua untai pada heliks ganda DNA disatukan oleh ikatan hidrogen antara basa-basa yang terdapat pada kedua untai tersebut. Empat basa yang ditemukan pada DNA adalah adenin(dilambangkan A (Adenine), sitosin (C, dari ***c****ytosine*), guanin(G=Guanine), dan timin(T=Timine). Adenin berikatan hidrogen dengan timin, sedangkan guanin berikatan dengan sitosin (Grenier*et al*., 1997, Marjorie, 2003, Mohsin, 2003; Yuwono, 2005).

Profil DNA suatu organisme adalah identitas biomolekuler atau sidik jari *(DNAfingerprint)*suatu organisme. Parameter yang diamatidalam penelitian profil DNA *Sitophilus* spp. yaitu perbedaan basa nukleotida (*polymorphic site*), perbedaan genetik (*genetic distance*), dan konstuksi pohon filogeni (*phylogenetic tree construction*).Output penelitian ini adalah hubungan kekrabatan atau asal usul*S. oryzae* dan *S. zeamais* yaitu hubungan antar individu dalam spesies (*intraspecific relationship*) atau hubungan individu antar spesies yang berbeda (*interspecific relationship)*.

BAB III. METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Entomologi dan Hama Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi Manado. Lamanya penelitian 6 (enam) bulan yaitu dari bulan Februari sampai dengan September 2016. Penelitian menggunakan metode deskriptif, obsevasiopnal dan eksperimental. Penelitian terdiri dari dua bagian yaitu Uji Fenotipik dan Uji Genotipik. Uji Fenotipik diawali dengan percobaan pemikatan kemudian dilanjutkan dengan penelitian karakter morfologi *Sitophilus* spp. Uji genotipik yaitu meneliti profil DNA *Sitophilus* spp.

3.1.Percobaan Pemikatan

Percobaan pemikatan bertujuan mengetahui spesies-spesies dari genus Sitophilus di Sulawesi Utara dan Gorontalo. Lokasi percobaan adalah Manado, Kotamobagu, Talaud, dan Gorontalo. Bahan-bahan pascapanen yang terdiri dari kopra, beras, jagung pipilan, kacang tanah Kacang hijau dan kedelai dimaksukkan kedalam karung sebanyak masing-masing 5 kg dan di tempatkan pada tempat-tempat yang terindikasi merupakan tempat hidup *Sitophilus* spp. Seperti gudang penyimpanan, pasar, dan toko penjual bahan pascapanen. Bahan-bahan tersebut dibiarkan selama 1,5 bulan di lapang dan setelah itu diambil dan dibawah ke laboratorium Hama Tumbuhan dan Entomologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan un tuk dimanati.

3.2. Uji Fenotipik

Uji fenotipik yaitu membandingkan karakter morfologi antar spesies dalam genus Sitophilus yang ditemukan di lapang melalui percobaan pemikatan. Penelitian karakter morfologi meliputi ciri morfologi dan perilaku. Penelitian ciri morfologi dan perilaku serangga uji menggunakan metode deskriptif-observasional. Morfologi luar serangga diamati dan dideskripsikan untuk melihat perbedaan antar spesies. Penelitian fekunditas, tahap perkembangan, mortalitas, dan rasio kelamin mengunakan metode observasional-substitusional. Setiap sampel yang sudah diamati dianggap sudah rusak dan pada pengamatan berikutnya diganti dengan sampel lain yang memiliki kondisi yang sama. Kemampuan bertelur, siklus hidup, tingkat kematian, serta jumlah serangga jantan dan betina dari *S. oryzae* dan *S.zaemais* diamati dan dihitung perbedaan antar kedua spesies dengan menggunakan uji statistik (Nazir, 1985; Zainudin, 2002) .

a. Ciri Morfologi

Perbedaan warna dan ukuran tubuh antara *S. oryzae* dan *S. zeamais* diamati dan diukur. Pengamatan warna tubuh menggunakan mikroskop binokuler yang meliputi warna tubuh secara keseluruhan, warna elytra dan bentuk gambaran yang terdapat pada elytra, warna kaki, antenna dan rostrum. Pengukuran ukuran tubuh menggunakan kertas/mistar berskala millimeter dengan cara membius serangga dengan menggunakan ethyl asetat, kemudian merentangkan tubuh serangga secara penuh diatas kertas berwarna putih dan di bawahnya diletakkan kertas/mistar ukuran/berskala millimeter.

b. Tingkah Laku

Pengamatan tingkah laku meliputi tingkah laku makan/menyerang, kopulasi/kawin, dan meletakkan telur. Pengamatan tingkah laku makan akan dilakukan dengan mengamati cara menyerang, bagian mana yang diserang, dan gejala serangan. Pengamatan tingkah laku kawin/kopulasi akan dilakukan dengan mengamati gerakan-gerakan imago jantan dan betina sebelum, sedang, dan sesudah kawin, serta posisi jantan dan betina saat kawin, waktu dan lamanya perkawinan berlangsung. Pengamatan tingkah laku meletakkan telur akan dilakukan mulai dari imago menyiapkan tempat peletakan telur, cara/posisi meletakkan telur, tingkah laku betina sebelum dan setelah meletakkan telur serta waktu dan lama peletakan telur.

c. Stadia Perkembangan dan Siklus Hidup

Penelitian stadia perkembangan akan dilakukan terhadap masing-masing 10 butir telur, 10 ekor larva, dan 10 ekor pupa. Serangga yang digunakan untuk setiap stadium berumur sama. Pengamatan stadium telur hanya dilakukan terhadap jumlah telur yang menetas, sehingga jumlah telur yang menetas dianggap serbagai ulangan. Penghitungan stadium telur dimulai dari saat imago betina meletakkan telur sampai telur tersebut menetas menjadi larva. Pengamatan stadium larva dilakukan dengan mensubstitusi telur yang tidak menetas pada pengamatan stadium telur dengan larva yang berumur sama yang sudah disiapkan sebagai cadangan/pengganti, sehingga menjadi 10 ekor larva. Penghitungan stadium larva hanya dilakukan terhadap larva yang berhasil menjadi pupa sehingga jumlah larva yang diamati dianggap sebagai ulangan. Penghitungan dimulai saat terlur menetas jadi larva sampai terjadinya pupasi. Pengamatan stadium pupa dilakukan substitusi sama dengan pada pengamatan telur dan larva sehingga menjadi 10 ekor

pupa. Penghitungan stadium pupa hanya dilakukan terhadap pupa-pupa yang berhasil menjadi imago, yaitu saat larva menjadi pupa sampai pupa menjadi imago. Pengamatan masa praoviposisi dihitung saat pupa menjadi imago sampai imago meletakkan telur. Penghitungan lama hidup imago yaitu saat pupa menjadi imago sampai imago mati. Siklus hidup dihitung mulai saat telur diletakkan sampai imago betina yang menetas dari telur tersebut meletakkan telur yaitu terdiri dari stadium telur-larva-pupa-masa praoviposisi.

d. Fekunditas

Penelitian fekunditasakan menggunakan masing-masing satu pasang *S. oryzae* dan *S. zeamais* yang dipelihara pada beras dan jagung pipilan yang diulang sebanyak lima kali. Sepasang imago *S. oryzae* yang berumur sama (umur 1-2 hari) dipelihara dalam 15 gram beras dalam botol plastik tansparan ukuran diameter15 cm, tinggi 25 cm. Botol-botol plastik tersebut disungkup dengan kain sifon putih dan ditutup dengan penutupnya. Hal yang sama dilakukan juga terhadap *S. zeamais* pada jagung pipilan.

Pengamatan fekunditas dilakukan setiap hari dengan menghitung jumlah butir beras dan jagung yang sudah diteluri *S. oryzae* dan *S. zeamais.* Butir-butir beras dan jagung yang sudah diteluri langsung dipisahkan dari botol peliharaan dan dipindahkan pada toples lain yang sudah disiapkan. Pengamatan dilakukan sampai imago betina berhenti meletakkan telur.

e. Mortalitas dan Rasio Kelamin

Pengamatan mortalitas akan dilakukan terhadap 50 butir telur berumur sama (umur 1- 2 hari) yang diulang sebanyak 4 kali. Telur tidak bisa diamati secara langsung karena diletakkan oleh imago betina di dalam lubang yang di buat oleh imago jantan dan betina sebelumnya. Pengamatan telur akan didasarkan pada lubang gerekan imago pada butiran beras maupun jagung yang ditutupi dengan zat gelatine yang dihasilkan oleh imago tersebut. Tanda menetasnya telur menjadi larva dalam biji jagung ialah terdapatnya lubang kecil pada zat gelatin sebagai penutup lubang gerekan yang dibuat oleh betina saat meletakkan telur. Pengamatan rasio kelamin akan di hitung dari 50 ekor imago berumur sama (umur 1-2 hari) yang diambil secara acak dari populasi pada stok pemeliharaan, yang diulang sebanyak 5 kali. Penghitungan rasio kelamin akan dilakukan dengan membandingkan jumlah imago jantan terhadap betina.

3.3. Uji Genotipik

Uji genotitik yaitu menganalisis profil DNA spesies dalam genus Sitophilus yang ditemukan di Sulawesi Utara dan Gorontalo merlalui percobaan pemikatan. Penelitian akan dilakukan di Provinsi Sulawesi Utara dan Gorontalo. Pengambilan contoh serangga akan dilakukan di Gorontalo (GTO), Kotamobagu (KBU), Talaud (TLD) dan Manado (MDO). Rearing untuk pemurnian strain Sitophilus akan dilakukan di Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian UNSRAT Manado pada bulan Maret – Juli 2013. Ekstraksi DNA dan Amplifikasi PCR akan dilakukan di Laboratorium BIOMEDIKA Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana Bali dan Analisis sekuens (*sequensing)* akan dilakukan di Eijkman Institute Jakarta padabulan Juli – September 2013.

Sitophilus spp dikumpulkan dari lapangan dalam bentuk beras dan jagung pipilan yang sudah teridentifikasi terseranghama. Primer yang digunakan adalah tiga pasang primer yang saling overlapping. 1) Satu mengarah ke depan yaitu SOF 72 (5'-TGG ARC ATG ATC AGG AAT AGT RGG-3' dan sebaliknya SOR (5'-AGA DAA TWG GGT CTC CKC CTC-3') (Mahardika, 2011); 2) Satu mengarah ke depan yaituC1-J1709 (5'-AAT TGG WGG WTT YGG AAA YTG-3') dan sebaliknya C1-N2353 (5'-GCT CGT GTA TCA ACG TCT ATW CC-3') (Cao, 12008); 3) Satu mengarah ke depan yaitu C1-J2183 (5'-CAA CAT TTA TTT TGA TTT TTT GG-3') dan sebaliknya TL2-N3014 (5'-TCC AAT GCA CTA ATC TGC CAT ATT A-3') (Cao, 2008).

a. Ekstraksi DNA

DNA Sitophilus diekstraksi menggunakangenomic DNA Mini Kit (Invitrogen, PureLink^{TM}) mengikuti petunjuk pelaksanan Ekstraksi DNA Laboratorium Biomedika Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana Denpasar Bali. Imago *S. oryzae* dan *S. zeamais*yang berasal dari setiap lokasi pengambilan sampel diambil masing-masingsatu ekor dan dihancurkan dalam tabung ependorf dengan menggunakan mikropastle, tambahkan 180 µl Genomic Digestion Buffer dan homogen kembali dengan menggunakan mikropastel. Tabung ependorf ditutup, dibungkus dengan alluminiun foil dan parafine kemudian diboil dalam air panas pada suhu 100^{0}C selama kurang lebih 5 menit dan divorteks setiap 30 detik. Dinginkan dalam kulkas suhu 8^{0}C selama 10 menit, tambahkan Proteinase K 20 µl kemudian diinkubasikan dalam Oven suhu 55^{0}C selama 2,5 jam dan sesekali divorteks. Sentrifuse dengan max speed selama 3 menit, setelah itu ambil supernatannya dan masukkan ke tabung ependorf yang baru, tambahkan 20 µl RNAse A, kemudian divorteks dan

diinkubasikan selama 2 menit. Tambahkan 200 µl Binding Buffer kemudian divorteks dan tambahkan 200 µl Ethanol, pindahkan ke spin collum, sentrifuse dengan kecepatan 10.000 rpm selama 1 menit. Buang flow (cairan lapisan bawah), pindahkan ke spin collum baru, tambahkan 500 µl Wash Buffer 1, kemudian sentrifuse selama 1 menit dengan kecepatan 10.000 rpm. Buang flow, tambahkan 500 µl Wash Buffer 2, sentrifuse dengan max speed selama 3 menit. Buang flow, pindahkan ke tabung 1,5 ml, tambahkan 100 µl Elution Buffer, inkubasikan selama 1 menit dan sentrifuse dengan max speed selama 1 menit. DNA hasil ekstraksi tersebut dipindahkan ke spin collum yang baru dan disimpan dalam freezer suhu – 20^0C sambil menunggu pekerjaan ampifikasi PCR.

b. Amplifikasi *Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)*

Tiga pasang primer *Sitophilus* yang overlapping digunakan untuk amplifikaski region DNA mitokondria. Pasangan primer pertama mengarah kedepan yaitu SOF 72 (5'-TGG ARC ATG ATC AGG AAT AGT RGG-3' dan sebaliknya SOR (5'-AGA DAA TWG GGT CTC CKC CTC-3') digunakan untuk amplifikasi CO1. Pasangan kedua mengarah ke depan yaitu C1-J1709 (5'-AATTGGWGGWTTYGGAAAYTG-3') dan sebaliknya C1-N2353 (5'-GCTCGTGTATCAACGTCTATWCC-3') digunakan untuk amplifikasi bagian COI - C1. Pasangan primer ketiga mengarah ke depan yaitu C1-J2183 (5'-CAACATTTATTTTGATTTTTTGG-3') dan sebaliknya TL2-N3014 (5'-TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA-3') digunakan untuk amplifikasi bagian COI - C1 - TL2. Produk PCR dimurnikan menggunakan sistem pemurnian Rapid PCR purification system (Marligen Biosciences, MD) dan diencerkan dengan 30 µl air deionisasi panas.RT-PCR merupakan teknik amplifikasi DNA dengan menggunakan enzim dan template yang komplementer dengan DNA target. Komponen uji ini terdiri dari 5 µl R-Mix (buffer, MgSo4, dan dNTP), 0,6 µl foward primer, 0,6 µl backward primer, 2,55 µl aquabidest, 0,25 µl enzim dan 1 µl sampel DNA template. Setelah semua komponen dimasukkan ke dalam tabung eppendorf, selanjutnya dimasukkan ke dalam mesin (*Thermocycler*). Di dalam *Thermocycler* (mesin penyiklus DNA) suhu sudah diprogram dengan kondisi suhu 94°C selama 7 menit yaitu merupakan proses *pre Denaturasi* yaitu proses perubahan DNA dari serat ganda menjadi serat tunggal. Selanjutnya 94°C selama 45 detik merupakan proses *Denaturasi* yaitu serat ganda yang pelepasannya belum sempurna dipecah

lagi agar menjadi serat tunggal. Pada suhu 52°C selama 45 detik merupakan proses *Annealing* yaitu proses penempelan primer dengan serat DNA sampel. Pada saat penggunaan primer sebaiknya sekuens kedua primer tidak saling komplementer karena dapat mengakibatkan terjadinya primer dimer. Jika panjang primernya cukup panjang sebaiknya temperaturnya semakin tinggi. Proses elongasinya pada suhu72°C selama satu menit yaitu proses pemanjangan primer sehingga memperpanjang rantai DNA. Semua proses diatas diulang sebanyak 35 kali siklus padasuhu 72°C selama 5 menit.

c. Elektroforesis

Proses elektroforesis diawali dengan pembuatan gel 1 % yaitu sebanyak 1 gram agarose powder ditambahkan dengan 100 ml TAE (*Tris Acetat EDTA)* didihkan sambil diaduk sesekali setelah bubuk mencair dan agak mengental tambahkan 20 µl EtBr (Etidium Bromida) aduk dan dicetak dalam cetakan sisir. Setelah gel mengeras kemudian dimasukkan dalam mesin elektroforesis. Ambil 10 – 20 % dari produk PCR ditambahkan 1µl *loading dye* (*Bromphenol-blue dan Cyline Cyanol*), dimasukkan kedalam setiap sumur pada gel. Setelah itu dirunning dengan cara mesin elektroforesis diprogram dalam tegangan 100 volt selama 30 menit. Setelah itu diangkat dan visualisasi DNA dilakukan dengan *transluminator ultraviolet* (UV) dan hasilnya didokumentasikan dengan kamera dan film polaroid.

d. Analisis Sekuens *(Sequensing)* Pita DNA

Sebanyak 20 µl produk PCR ditambahkan 100 µl buffer PB (*Binding buffer)* dan dipindahkan ke *catridge column*, kemudian disentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 13000 rpm. Kedalam *catridge*, buffer PE (*Wash of Buffer*) ditambahkan sebanyak 750 µl dan disentrifugasi selama 30-60 detik dengan kecepatan 6000 rpm. *Catridge* dimasukkan kembali ke dalam *collumn* dan disentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 13000 rpm. Setelah ini *Catridge* dimasukkan kembali ke dalam tabung eppendorf dan ditambahkan 50 µl bufferEB (*Elution Buffer). Eluat* DNA ditampung setelah disentrifugasi selama 1 menit. Produk PCR yang telah murni tersebut dicampur dengan *Ready Reaction Mix* dan *sequencing buffer 5x (Big Dye Terminator KIT)* serta 1 µl primer yang direncanakan. Siklus dilakukan pada *Thermocycler* dalam kondisi 96°C selama 3 menit, 25 siklus 96°C selama 10 detik, 50°C selama 5 detik dan 64°C selama 4 menit. Sebanyak 5 µl larutan 125 mM EDTA dan 60 µl ethanol 100% ditambahkan kedalam tabung hasil *cycle*

sequencing. Campuran tersebut diinkubasikan pada suhu ruang selama 15 menit dan selanjutnya disentrifugasi pada kondisi 4 °C dengan kecepatan 6500 rpm selama 30 menit. Endapannya ditambahkan dengan 60 µl ethanol 70% dan disentrifugasi pada kecepatan 13000rpm selama 20 menit, supernatannya dibuang dan peletnya di *dry air* selama 10-15 menit. Pelet ditambahkan dengan 20 µl *Hi Dye* dan vortex selama 1 menit. Campuran tersebut dipanaskan menggunakan *Hot Block* pada suhu 95°C selama 3 menit kemudian didinginkan dengan es selama 3 menit. Sebanyak 15 µl campuran tadi dipindahkan ke dalam *plate sequencing* dan dimasukkan pada *Try* di *Automatic DNA Sequencer.* Selanjutnya barulah dilakukan analisis DNA.

3.4. Analisis Data

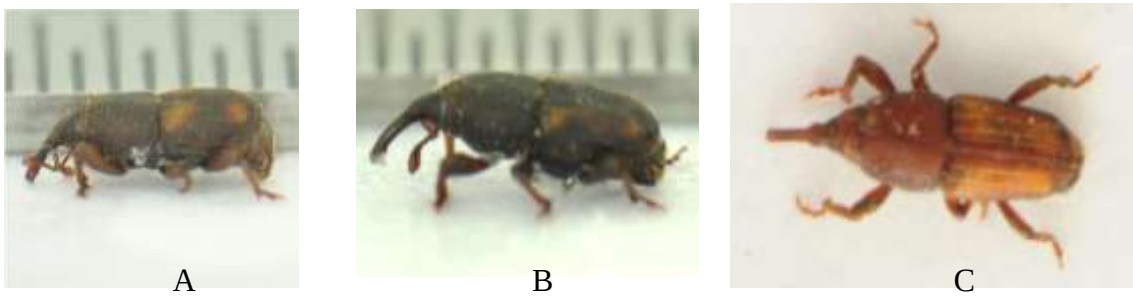
Data perbedaan ukuran tubuh dianalisis dengan sidik ragam menggunakan program aplikasi *SPSS 17.0 for windows* (Narimawati dan Munandar, 2008). Semua data hasil pengamatan dilakukan uji prasyarat analisis parametri untuk semua parameter yang diukur meliputi : 1) Analisis normalitas data dianalisis dengan uji Kolmogorov-Smirnov, dengan tingkat kemaknaan α = 0,05; 2) Analisis homogenitas varians data menggunakan analisis "*Levene test*"; dan 3) Perbedaan *S.oryzae dan S. zeanais* untuk setiap parameter pengamatan (perbedaan ukuran tubuh, fekunditas, stadia perkembangan dan siklus hidup, mortalitas dan rasio kelamin) dilakukan dengan analisis *oneway anova* yang dilanjutkan dengan *LSD Post Hoc Test* pada taraf α = 0,05.

Sekuens nukleotida gen *Sitophilus* disepadankan (*aligment)* 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).* Hasil sekuens *Sitophilus* dibandingkan dengan gen *Sitophilus* lain di *Gene Bank*. Parameter sekuens yang dianalisis meliputi : daerah polimorfik (*polymorphyc ssite*), jarak/perbedaan genetik (*genetic distance*) dan pohon asal-usul (*phylogenetic treec construction*). Jarak genetik dihitung dengan metode *Kimura 2 parameter* (Kimura, 1980, *dalam* Tamura dan Kumar, 2004).

BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Keragaman spesies Genus Sitophilus Berdasarkan Karakter Morfologi Di Sulawesi Utara dan Gorontalo

Hasil pengamatan pada percobaan pemikatan menunjukkan bahwa *Sitophilus* spp. hanya ditemukan pada Beras dan Jagung Pipilan. Kacang Tanah, Kacang Kedelai, dan Kopra tidak ditemukan adanya *Sitophilus* sp. *Sitophilus* spp. yang ditemukan pada percobaan pemikatan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Imago *Sitophilus* spp. yang Ditemukan di Sulawesi Utara dan Gorontalo (Pembesaran 30 X).

Keterangan : A = *Sitophilus oryzae*; B = *Sitophilus zeamais*; C = *Sitophilus* sp.

Hasil percobaan pemikatan ditemukan tiga spesies dari Genus Sitophilus yang berbeda secara morfologi pada Beras dan Jagung Pipilan di Kota Manado, Bolang Mongondow, Talaud, dan Kota Gorontalo yaitu *S. oryzae* (Gbr. 1A), *S. zeamais* (Gbr. 1B), dan *Sitophilus* sp. (warna coklat). (Gbr. 1C). Sampel Kacang Kedelai, Kacang Tanah dan Kopra tidak ditemukan *S. oryzae* dan *S. zeamais*. *S. oryzae* dan *S. zeamais* ditemukan pada Beras dan Jagung Pipilan di Kota Manado, Bolaang Mongondow, Talaud, dan Gorontalo. *Sitophilus* sp berwarna coklat hanya ditemukan pada populasi *S. zeamais* pada Jagung Pipilan di Talaud.

4.2. Karakter Morfologi *S. oryzae* dan *S. zeamais*

Penelitian karakter morfologi yang diamati adalah variasi morfologi yaitu melihat perbedaan fenotipe antara *S. oryzae* dan *S. zeamais*. Variasi morfologi yang berbeda antara kedua spesies tersebut meliputi ukuran tubuh, warna tubuh, tahap perkembangan, siklus hidup, fekunditas, sedangkan mortalitas dan rasio kelamin secara statistik relatif tidak berbeda/sama.

a. Ukuran dan Warna Tubuh

Hasil pengukuran besar tubuh imago *S. oryzae* dan *S. zeamais* di laboratorium dan uji statistiknya dilihat pada Lampiran 1 dan hasil pengujian statistiknya Lampiran 2.Hasil uji statistik perbedaan ukuran tubuh *S. oryzae* dan *S. zeamais* dapat diikuti pada Tabel 1.

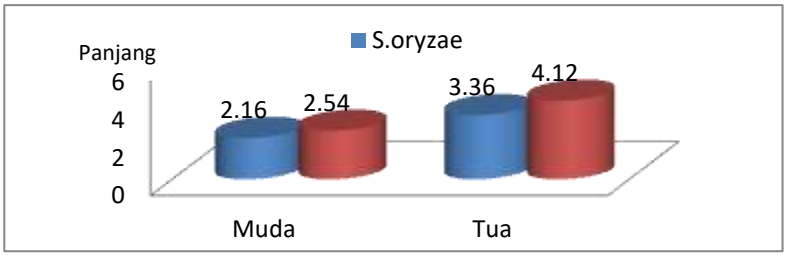
Tabel 1. Hasil Pengujian Perbedaan Rata-Rata Ukuran Tubuh *S. oryzae* dan *S. zeamais* Di Laboratorium.

No.	Jenis Serangga	Umur Imago	Ukuran Tubuh	Standar Deviasi (Sd)	t	Sig.(2-tailed)
1	*S.oryzae*	Muda	2.16	0,15	12,51**	0,000
		Tua	3.36	0,15		
2	*S.zeamais*	Muda	2.54	0,11	6,295**	0,002
		Tua	4.12	0,55		

Keterangan : **) = Sangat berbeda nyat

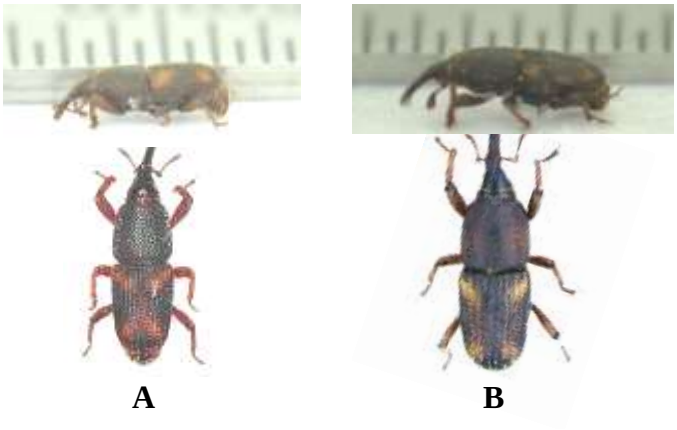
Data pada Tabel 1 menunjukkan nilai signifikansi imago tua dan imago muda antara *S. oryzae* dan *S. zeamais* adalah 0,000 dan 0,002 < 0,01. Hal ini mengindikasikan bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata antara ukuran tubuh imago *S. oryzae* dan *S. zeamais*.

Perbedaan ukuran tubuh imago *S. oryzae* dan *S. zeamais* dapat diikuti pada diagram batang berikut ini (Gambar 1).



Gambar 2. Diagram Batang Perbedaan Ukuran Tubuh *S. oryzae* dan *S. zeamais* pada Beras dan Jagung Pipilan Di Laboratorium.

Perbedaan warna tubuh dan ciri morfologi lain dari *S. oryzae* dan *S. zeamais* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Perbedaan Imago *S. oryzae* dan *S. zeamais* (Pembesaran : 10 X).
Keterangan : A = *S. oryzae* ; B = *S. zeamais.*

Gambar 3 menunjukkan bahwa imago *S. oryzae* berwarna hitam cerah atau hitam kecoklatan, memiliki empat buah spot berbentuk bulat telur (lonjong) berwarna coklat kemerahan pada elytra dan kaki berwarna coklat kemerahan. Imago *S. zeamais* berwarna hitam pekat/berwarna gelap dengan empat buah spot pada elytra berwarna coklat kekuningan. Kaki berwarana coklat kekuningan.

b. Perbedaan imago jantan dan betina

Imago jantan dan betina memiliki perbedaan yang jelas.Perbedaan antara imago jantan dan betina dapat dilihat pada Gambar 4, Gambar 5, dan Gambar 6.

Gambar 4. Perbedaan Imago *S. zeamais* Jantan dan Betina (Pembesaran : 10 X).
Keterangan : A = Imago Jantan; B = Imago Betina

Gambar 4 menunjukkan bahwa imago betina lebih besar dari jantan. Rostrum (moncong) serangga betina lebih panjang dan besar, sedangkan imago jantan lebih pendek dan ramping (Gambar 5).

A B

Gambar 5. Perbedaan Rostrum *S. zeamais* Jantan dan Betina (Pembesaran : 15 X).
Keterangan : A = Rostrum jantan; B = Rostrum betina.

Abdomen imago jantan melengkung dan meruncing, sedangkan betina agak tegak lurus kebawah dan tumpul. Pada saat dibius penis (*aedegus*) jantan mencuat keluar dan betina tidak ada (Gambar 6).

A B

Gambar 6. Abdomen posterior imago *Sitophilus oryzae* pada saat dibius (Pembesaran :
15 X).
Keterangan : A = Abdomen Imago Jantan dengan aedegus pada saat di bius; B = Abdomen Imago Betina.

Perbedaan lain pada abdomen jantan dan betina adalah ujung abdomen imago jantan jika dilihat dari arah lateral berbentuk melengkung dan jika dilihat dari arah posterior bentuknya tumpul. Abdomen imago betina jika dilihat dari arah lateral tidak melengkung dan dilihat dari arah posterior meruncing. Imago Sitophilus jantan pada saat di bius aedegus nya mencuat keluar sedangkan pada betina tidak ada.

Floyd dan Newsom pada tahun 1959 melakukan revisi yang diteruskan oleh Kuschel pada tahun 1961, *dalam* Suputa (2003) memperlihatkan bahwa yang dideskripsikan oleh Linnaeus adalah serangga yang kecil yaitu *Sitophilus oryzae*,

sedangkan yang dideskripsikan oleh Motschulsky yaitu serangga yang besar yaitu *Sitophilus zeamais*, oleh karena itu untuk kedua jenis serangga ini dimasukkan ke dalam Genus Sitophilus dengan nama spesies merujuk pada Linnaeus untuk serangga yang berukuran kecil dan merujuk pada Motschulsky untuk serangga yang berukuran besar.

c. Tingkah Laku

1. Makan

Imago makan dengan cara melobangi butiran biji (Beras dan Jagung) dengan menggunakan rostrum. Imago membuat dua jenis lobang gerekan pada butiran biji yaitu lubang yang pertama disiapkan untuk tempat peletakan telur oleh serangga betina dan lubang yang kedua untuk tempat makan imago. Butiran Beras atau Jagung yang sudah dilubangi untuk tempat peletakan telur, maka imago yang lain tidak akan membuat lubang atau menggerek lagi biji tersebut. Imago *Sitophilus* sp. dalam keadaan ideal hanya dibuat satu lubang gerekan pada setiap butiran biji, namun pada kondisi populasi padat dapat ditemukan dua sampai tiga lubang gerekan (Gambar 7).

Gambar 7. Gejalah Serangan *S. oryzae* pada Beras (Pembesaran : 5 X).

Larva makan dan menyerang biji dengan melanjutkan menggerek lubang yang sudah dibuat oleh imago. Larva tidak mampu membuat lubang gerekan baru pada biji lain, terus menggerek dan makan pada lubang yang sudah dibuat oleh imago terlebih dahulu. Larva berada terus dalam lubang gerekan tersebut sampai pupasi dan menjadi imago baru.Satu biji Beras dan Jagung cukup untuk makan dan berkembang satu ekor larva sampai menjadi imago.

2. Kawin (Kopulasi)

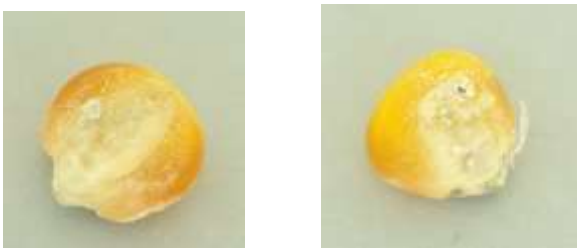
Kopulasi umumnya dilakukan pada malam hari di dalam dan pada permukaan bahan, namun ditemukan juga beberapa pasangan yang melakukan aktivitas kawin

sampai pada siang hari. Perkawinan dilakukan dengan cara imago jantan menaiki pungung imago betina sehingga kelihatannya imago betina mendukung imago jantan selama proses perkawinan berlangsung. Imago jantan mendekati imago betina dengan menggesek-gesekkan tubuhnya pada imago betina.Imago betina yang sudah matang kawin (birahi) berdiam diri sambil menggerak-gerakkan antena dan abdomen bagian posterior ke atas dan ke bawah. Hal ini menandakan bahwa betina sudah siap untuk kawin dan pada saat yang bersamaan imago jantan setelah menggesek-gesekkan tubuhnya pada imago betina, kemudian menaiki punggung imago betina sambil memasukkan aedegusnya pada vagina imago betina. Perkawinan berlangsung selama 3-4 jam dan umumnya dilakukan pada pukul 02.00 sampai 04.00 dini hari.

3. Meletakkan Telur

Imago betina meletakkan telur secara satu persatu dalam lubang gerekan yang dibuat oleh imago betina dan jantan. Dalam kondisi ideal, setiap biji beras atau jagung pililan hanya diletakkan satu butir telurdan dalam keadaan populasi tinggi satu butir biji dapat diletakkan dua sampai tiga butir telur, namun hanya satu butir yang menetas jadi larva. Telur lainnya dapat dirusak dan dimakan oleh larva, atau imago yang lain karena sifat kanibalismenya.Setelah meletakkan telur, imago betina menutup lubang yang berisi telur tersebut dengan zat berwarna putih yang disebut “zat gelatine”. Zat ini berfungsi merekatkan tepung sisa gerekan untuk menutupi lubang peletakan telur Sitophlus dan melindungi telur dari gangguan organisme lain (Gambar 8).

Hasil penelitian Manueke (1993) bahwa *S. oryzae* makan dan merusak biji beras dengan cara melubangi beras dengan moncongnya, kemudian memakan bagian dalam dari biji beras dengan menyisahkan bagian kulitnya.



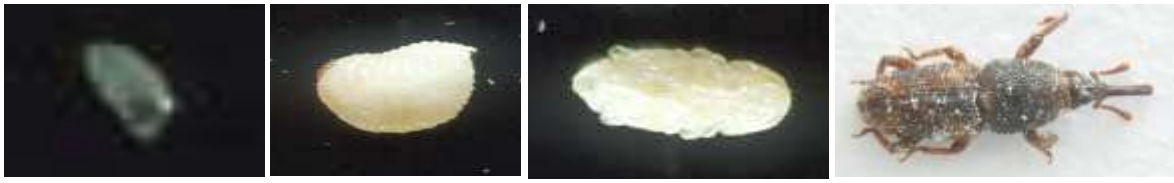
Gambar 8. Biji Jagung Yang Diteluri *Sitophilus zeamais* (Pembesaran : 5 X).
Ketengan : A = Telur Dalam Lubang Gerekan yang Ditutupi dengan Zat gelatine; B = Lubang Gerekan yang Sudah Terbuka.

Menurut Mangoendihardjo (1978) *S. oryzae* merusak butiran beras dan *S. zeamais* menyerang butiran jagung. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Kalshoven (1981) bahwa *S. oryzae* merupakan hama utama pada beras dan S. zeamais merupakan hama utama pada jagung pipilan, dan sering ditemukan menyerang bersama-sama, baik pada beras maupun jagung pipilan.

d. Stadia Perkembangan dan Siklus Hidup

1. Stadia Perkembangan

Serangga *Sitophilus* spp. termasuk kelompok serangga yang mengalami metamorfosis sempurna (*holometabola*). Pertumbuhan dan perkembangan serangga ini melalui empat tahap perkembangan (stadia) yaitu stadium telur, stadium larva, stadium pupa, dan imago (Gambar 9).



A B C D

Gambar 9. Stadia Perkembangan *Sitophilus* sp (Pemkbesaran : 15 X). Keterangan : A =

Telur; B = Larva; C = Pupa; D = Imago

Hasil pengujian perbedaan stadia perkembangan *S. oryzae* dan *S. zeamais* dapat diikuti pada Tabel 2. Hasil pengujian perbedaan stadia perkembangan *S. oryzae* dan *S. zeamais* menunjukkan perbedaan yang sangat nyata mulai dari stadium telur, larva, pupa, dan masa praoviposisi.

Tabel 2. Hasil Pengujian Perbedaan Rata-Rata Stadia Perkembangan *S. oryizae* dan *S. zeamais* Di laboratorium

.

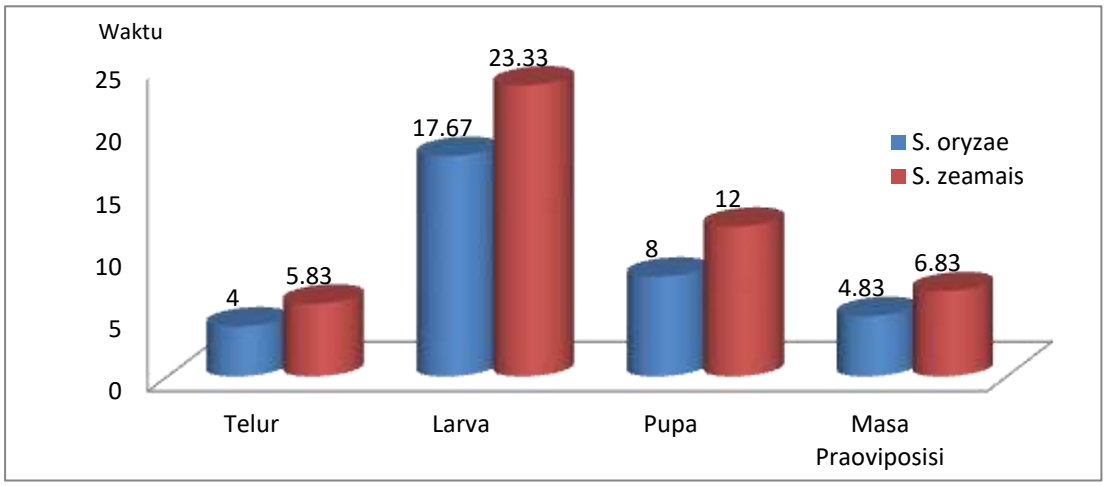
No.	Stadia Perkembangan	Waktu Stadium (Hari)	Standar Deviasi (Sd)	t	Sig (t-tailed)
1.	Telur : *S. oryzae*	4.0000	0,89443	3.841**	0,003
	S. zeamais	5.8333	0,75277		
2.	Larva : *S. oryzae*	17.6667	0.81650	9.503**	0,000
	S. zeamais	23.3333	1.21106		

3.	Pupa : *S. oryzae*	8.0000	0.89443	7.746**	0,000
	S. zeamais	12.0000	0.89443		
4.	Masa Praoviposisi :				
	S. oryzae	4.8333	0.98319	3.956**	0,003
	S. zeamais	6.8333	0.75277		

Keterangan : **) = Berbeda sangat nyata.

Hasil uji t perbedaan stadium telur, larva, pupa, dan masa praoviposisi antara *S. oryzae* dan *S. zeamais* menunjukkan nilai signifikasi 0,003, 0,000, 0,000, dan 0,003 < 0,01. Hal ini mengindifikasikan bahwa setiap stadium perkembangan dari *S. oryzae* dan *S. zeamais* memiliki perbedaan yang sangat nyata.

Perbedaan masing-masing stadium perkembangan kedua spesies tersebut dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Diagram Batang Perbedaan Stadia Perkembangan *S. oryzae* dan *S. zeamais* Pada Beras dan Jagung Pipilan Di Laboratorium.

Diagram batang (Gambar 10) menunjukkan bahwa lama stadium telur *S. oryzae* 4,0 hari, stadium larva 17,67 hari, stadium pupa 8,0 hari dan masa praoviposisi 4,83 hari. Stadium telur *S. zeamais* 5,83 hari, larva 23,33 hari, pupa 12,0 hari dan masa praoviposisi 6,83 hari. Khusus stadium larva mengalami lima instar dan antara pergantian instar satu dengan lainnya ditandai dengan berhentinya aktifitas makan/berdiam diri dan terjadi pergantian kulit/pelepasan kulit yang lama.

2. Siklus Hidup

Hasil uji statistik perbedaan siklus hidup *S. oryzae* dan *S. zeamais* dapat diikuti pada Tabel 3.

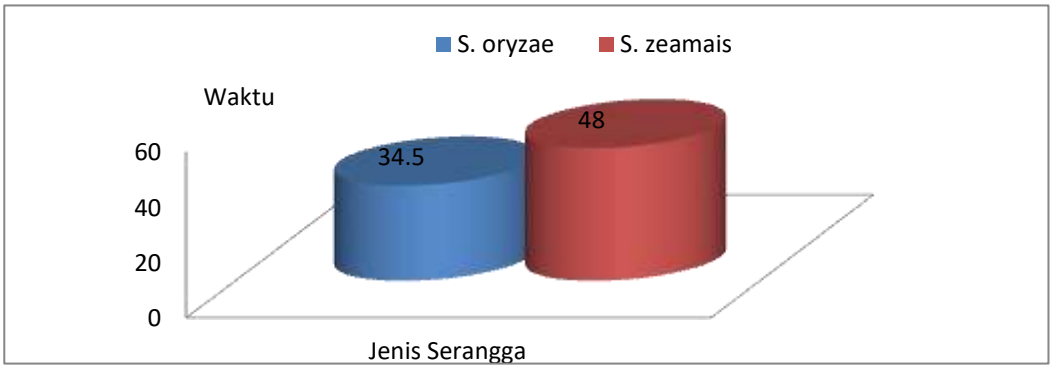
Tabel 3. Hasil Pengujian Perbedaan Rata-rata Siklus Hidup *Sitophilus oryzae* dan *S. . o zeamais* Di laboratorium.

No.	Jenis Serangga	Siklus Hidup (Rata-rata)	Sd	t	Sig (t-tailed)
1.	*Sitophilus oryzae*	34,5	1,52	13,17**	0,00
2.	*Sitophilus zeamais*	48,0	2,0		

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata

Hasil uji t perbedaan siklus hidup *S. oryzae* dan *S.* zeamais menunjukkan nilai signifikansi 0,00 < 0,01. Hal ini mengindifikasikan bahwa antara siklus hidup *S. oryzae* dan *S. zeamais* menunjukkan perbedaan yang sangat nyata.

Perbedaan siklus hidup *S. otyzae* dan *S. zeamais* dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Diagram Batang Pembedaan Siklus Hidup *S. oryzae* dan *S. zeamais* Pada Beras dan Jagung Pipilan Di Laboratorium.

Diagram batang (Gambar 11) menunjukkan bahwa siklus hidup *S. zeamais* lebih panjang dari *S. oryzae* . Siklus hidup *S. oryzae* 34,5 hari dan *S. zeamais* 48,0 hari. Panjangnya siklus hidup *S. zeamais* dibandingkan dengan *S. oryzae* disebabkan karena tubuh *S. zeamais* lebih besar dari *S. zeamais*.

Hasil pengamatan mengenai rentang hidup organisme yang hidup di muka bumi secara umum memiliki kecendrungan bahwa makin besar tubuh makluk hidup makin panjang rentang hidupnya, demikian sebaliknya makin kecil besar tubuh, makin pendek rentang hidupnya, namun hal ini akan sangat tergantung jenis dan ordo serangganya (Schoonhoven, Jermy, dan van Loon, 1998).

3. Lama Hidup Imago

Hasil uji statistik perbedaan lama hidup imago *S. oryzae* dan *S. zeamais* dapat diikuti papa Tabel 4.

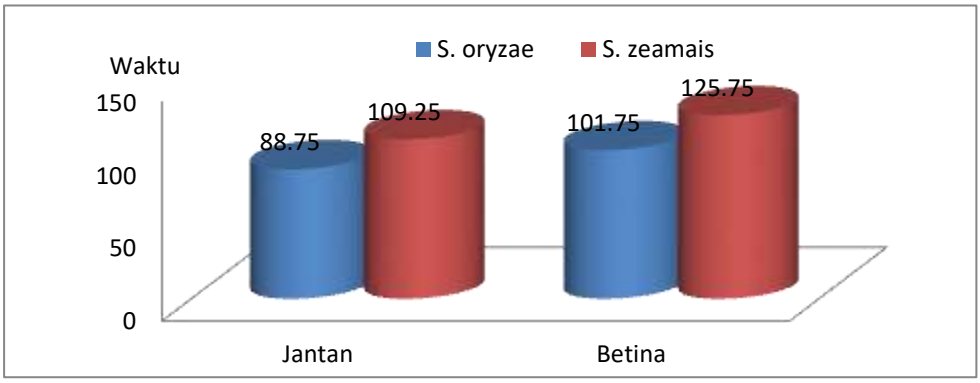
Hasil uji t perbedaan lama hidup imago *S. oryzae* dan *S. zeamais* menunjukkan nilai signifikansi 0,00 < 0,01. Hal ini mengindikasikan bahwa antara siklus hidup *S. oryzae* dan *S. zeamais* menunjukkan perbedaan yang sangat nyata.

Tabel 4. Hasil Pengujian Perbedaan Rata-Rata Lama Hidup Imago *S. oryzae* dan *S. zeamais* Di laboratorium.

No.	Jenis Kelamin	Jenis Serangga	Siklus Hidup (Rata-rata)	Standar Deviasi (Sd)	t	Sig
1.	Jantan	*S. oryzae*	88.75	4.56	8,21**	0,00
		S. zeamais	109.25	5.39		
2.	Betina	*S. oryzae*	101.75	3.69	9,81**	0,00
		S. zeamais	125.75	5.85		

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata

Perbedaan lama hidup imago *S. oryzae* dan *S. zeamais* dapat diikuti pada Gambar 12.



Gambar 12. Diagram Batang Perbedaan Susut Berat pada Beras dan Jagung Pipilan Akibat Serangan *S. oryzae* dan *S. zeamais* Di Laboratorium.

Gambar 12 menunjukkan bahwa lama hidup imago *S. oryzae* lebih pendek dari *S. zeamais* dan lama hidup imago betina lebih panjang dari imago jantan. Lama hidup Imago *S. oryzae* yaitu jantan 88,75 hari dan betina 101,75 hari sedangkan lama hidup imago *S. zeamais* jantan 109,25 hari dan betina 125,75 hari.

4. Fekunditas

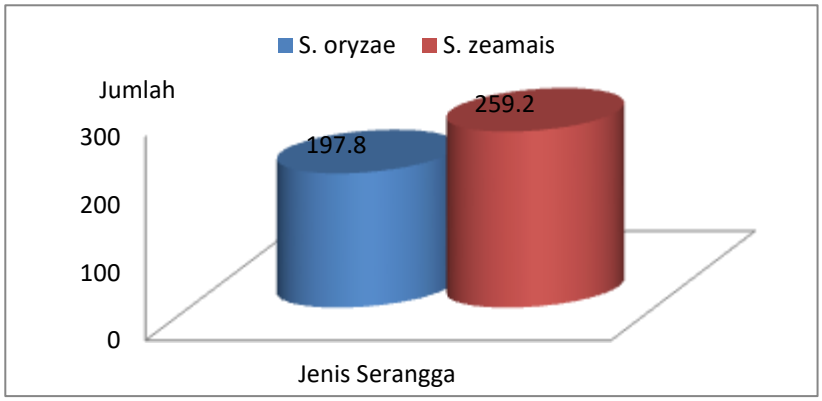
Hasil pengujian terhadap data perbedaan fekunditas *S. oryzae* dan *S. zeamais* dapat diikuti pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Pengujian Perbedaan Rata-Rata Fekunditas *S. oryzae* dan *S. zeamais* Di laboratorium.

No.	Jenis Serangga	Fekunditas (butir)	Sd	t	Sig (1-tailed)
1.	*Sitophilus oryzae*	197.80	13.027		
2.	*Sitophilus zeamais*	259.20	16.664	6,49**	0,00

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata

Hasil uji t perbedaan fekunditas *S. oryzae* dan *S. zeamais* menunjukkan nilai signifikansi 0,00 < 0,01. Hal ini mengindifikasikan bahwa antara fekunditas *S. oryzae* dan *S. zeamais* menunjukkan perbedaan yang sangat nyata. Perbedaan lama hidup imago *S. oryzae* dan *S. zeamais* dapat diikuti pada Gambar 13.



Gambar 13. Diagram Batang Perbedaan Fekunditas *S. oryzae* dan *S. zeamais* pada Beras Dan Jagung Pipilan Di Laboratorium.

Hill (1990) menyatakan bahwa *S. oryzae* dan *S. zeamais* memiliki daya reproduksi yang tinggi pada biji-bijian yang mengandung karbohydrat yang tinggi. Hasil penelitian Manueke (1993) menjelaskan bahwa *S. oryzae* yang dipelihara pada Beras IR-36, Cisadane, dan IR-64 dengan masing 6 ekor imago dengan perbandingan jantan dan betina 2 : 4 menunjukkan bahwa pada minggu ke-14 setelah infestasi populasinya menjadi 3767,33 ekor pada IR-36, 3620,66 ekor pada Cisadane, dan 3538,33 ekor pada IR-64.

5. Mortalitas

Hasil pengujian terhadap data perbedaan mortalitas *S. oryzae* dan *S. zeamais* dapat diikuti pada Tabel 6.

Hasil uji t perbedaan mortalitas telur, larva, dan pupa *S. oryzae* dan *S. zeamais* menunjukkan nilai signifikansi 0,0512, 0,502, 0,766 > 0,05. Hal ini mengindifikasikan bahwa mortalitas telur, larva, dan pupa *S. oryzae* dan *S. zeamais* menunjukkan perbedaan yang tidak nyata.

Tabel 6. Hasil Pengujian Perbedaan Rata-rata Mortalitas Pradewasa *S. oryzae* dan *S. zeamais* Di Laboratorium.

.No.	Stadia Perkembangan	Mortalitas (%)	Standar Deviasi (Sd)	t	Sig (t-tailed)
1.	Telur : *S. oryzae*	38.5000	3.41565	0.701^{tn}	0.512
	S. zeamais	37.0000	2.58199		
2.	Larva : *S. oryzae*	32.5000	4.43471	0.715^{tn}	0.502
	S. zeamais	30.5000	3.41565		
3.	Pupa : *S. oryzae*	9.0000	2.58199	0.311^{tn}	0.766
	S. zeamais	9.5000	1.91485		

Keterangan : tn = Tidak nyata.

Mortalitas *S. oryzae* dan *S. zeamais* di laboratorium tinggi yaitu *S. oryzae* 80 % terdiri dari mortalitas telur 38,5 %, larva 32,5 %, dan pupa 9,0 %, dan *S. zeamais* 77,0 % terdiri dari mortalitas telur 37,0 %, larva 30,5 %, dan pupa 9,5 %. Mortalitas tertinggi terjadi pada stadium telur, kemudian diikuti oleh stadium larva, dan stadium pupa. Mortalitas merupakan salah satu faktor penting dalam pertumbuhan dan perkembangan serangga. Tingginya mortalitas tersebut merupakan faktor pembatas utama dalam mengontrol perkembangan populasi *S. oryzae* dan *S. zeamais* yang sangat tinggi di alam.

Menurut Tarumingkeng (1970) dan Price (1976), terdapat beberapa faktor pembatas dalam pertumbuhan dan perkembangan serangga yang memiliki pengaruh langsung pada populasi serangga. Faktor-faktor pembatas terdiri dari dua kelompok yaitu *density dependent factor* dan *density independent factor* atau ada yang

mengelompokkannya menjadi *external factor* dan *internal factor*. Fekunditas, mortalitas dan rasio kelamin termasuk dalam kelompok *internal factor*.

6. Rasio Kelamin

Hasil uji statistik perbedaan rasio kelamin *S. zeamais* dan *S. oryzae* dapat diikuti pada Tabel 7.

Data pada Tabel 7 menunjukkan bahwa rasio kelamin *S. oryzae* dan *S. zeamais* secara statistik tidak berbeda nyata dengan nilai signifikansi 0,79 dan 0,78 > 0,05. Hal

Tabel 7. Hasil Pengujian Perbedaan Rasio Kelamin *S. oryzae* dan *S. zeamais* Di Laboratorium

No.	Jenis Serangga	Rasio Kelamin	Standar Deviasi (Sd)	t	Sig (1-tailed)
1	*Sitophilus oryzae*	0,79	0,098		
2	*Sitophilus zeamais*	0,78	0,079	$0,39^{tn}$	0,35

Keterangan : tn = Tidak nyata

ini menunjukkan bahwa potensi biotik atau kemampuan berkembang-biak kedua spesies

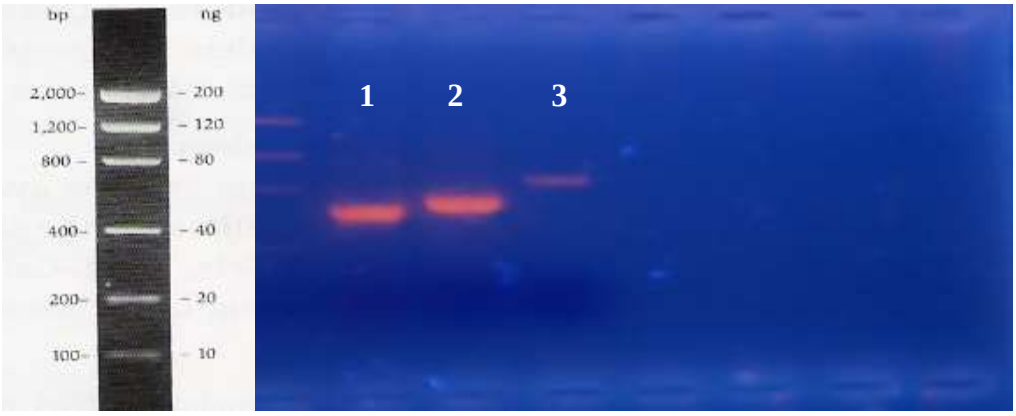
ini sama. Namun ditinjau dari segi pertumbuhan populasi maka kedua spesies ini memiliki potensi berkembang biak yang cukup tinggi. Rasio kelamin yang ideal untuk setiap makluk adalah 1 ≤ 1 artinya makin kecil rasio kelamin makin banyak individu betina sehingga jumlah individu yang melahirkan atau menghasilkan keturunan besar, dengan demikian maka potensi berkembang-biak *S. oryzae* dan *S. seamais* cukup tinggi.

4.2. Profil DNA Genus Sitophilus Di Sulawesi Utara dan Gorontalo

Hasil pool tiga macam primer yang digunakan terhadap seluruh sampel DNA hasil ekstraksi memberikan hasil yang cukup baik (Gambar 14).

Hasil pool (Gambar 14) menunjukkan bahwa dua pasangan primer yaitu pasangan primer pertama (SOF 72 (5’-TGG ARC ATG ATC AGG AAT AGT RGG-3’ dan sebaliknya SOR (5’-AGA DAA TWG GGT CTC CKC CTC-3) dan pasangan primer kedua (C1-J1709 (5'-AAT TGG WGG WTT YGG AAA YTG-3') dan sebaliknya C1-N2353 (5'-GCT CGT GTA TCA ACG TCT ATW CC-3')) dapat

menangkap DNA Sitophilus dengan baik dan memberikan gambar pita DNA yang jelas. Pasangan primer ketiga (C1-J2183 (5'-CAA CAT TTA TTT TGA TTT TTT GG-3') dan sebaliknya TL2-N3014 (5'-TCC AAT GCA CTA ATC TGC CAT ATT A-3') memberikan hasil pita DNA yang kurang baik atau menghasilkan gambar pita DNA yang kurang jelas. Dengan demikian maka hanya dua pasangan primer yaitu pasangan primer pertama dan pasangan primer kedua yang cocok digunakan dalam amplifikasi PCR terhadap DNA *S. oryzae* dan *S. zeamais* dan *Sitophilus* sp (berwarna coklat).



A **B**

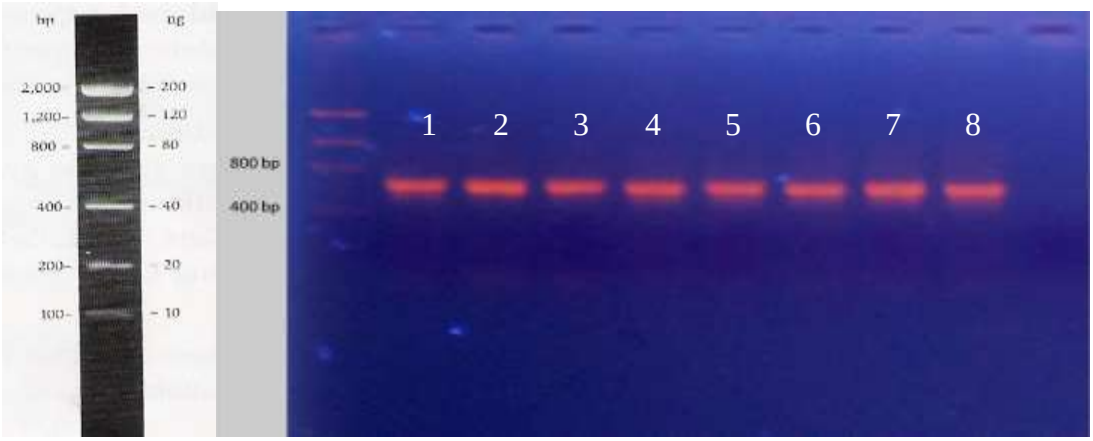
Gambar 14. Pita DNA Hasil Pool Terhadap Semua Sampel DNA Hasil Ekstraksi.
Keterangan : A = DNA Mass lader; B = Pita DNA Hasil RT-PCR; 1 = Pasangan primer pertama mengarah kedepan yaitu SOF 72 (5'-TGG ARC ATG ATC AGG AAT AGT RGG-3' dan sebaliknya SOR (5'-AGA DAA TWG GGT CTC CKC CTC-3'); 2. = Pasangan kedua mengarah ke depan yaitu C1-J1709 (5'-AAT TGG WGG WTT YGG AAA YTG-3') dan sebaliknya C1-N2353 (5'-GCT CGT GTA TCA ACG TCT ATW CC-3'); 3. = Pasangan primer ketiga mengarah ke depan yaitu C1-J2183 (5'-CAA CAT TTA TTT TGA TTT TTT GG-3') dan sebaliknya TL2-N3014 (5'-TCC AAT GCA CTA ATC TGC CAT ATT A-3').

Hasil amplifikasi PCR terhadap sampel *DNA S. oryzae* dan *S. zeamais* yang dikoleksi dari Manado, Talaud, Kotamobagu dan Gorontalo, serta *Sitophilus* sp. berwarna coklat yang berasal dari populasi *S. zeamais* dapat dilihat pada Gambar 15.

Hasil amplifikasi PCR terhadap delapan sampel Sitophilus menunjukkan bahwa hanya satu pasang primer yang menghasilkan pita DNA yang jelas yaitu pasangan primer pertama (SOF 72 (5'-TGG ARC ATG ATC AGG AAT AGT RGG-3' dan sebaliknya SOR (5'-AGA DAA TWG GGT CTC CKC CTC-3)) (Di design oleh Manueke dan Mahardika, 2011). Hasil PCR tersebut menunjukkan bahwa

berdasarkan DNA Mass Lader bahwa area pita DNA *S. oryzae*, *S. zeamais*, dan *Sitophilus sp*. (warna coklat) berada antara 400 – 800 bp.

Hasil analisis sekuens pita DNA *S. oryzae* dan *S. zeamais* dapat diikuti paqda 8. Hasil analisis sekuens menunjukkan bahwa pita DNA *S. oryzae* dan *S. zeamais* berada pada area atau panjang pita DNA adalah 552 bp dan memiliki urutan basa nukleotida yang cenderung sama (homolog) (Lampiran 27). DNA homolog artinya pita DNA yang memiliki kesamaan baik bentuk, ukuran/panjang, dan basa nukleotidanya. Sampel- Talaud, nomor 3 (SZ KBG A13) yaitu *S. zeamais* lokasi Kotamobagu, nomor 5 (SO KBG A15) yaitu *S. oryzae* lokasi Kotamobagu, dan sampel nomor 16 (SO MDO A16) yaitu *S. oryzae* lokasi Manado. Sampel yang memiliki perbedaan basa nukleotida adalah sample nomor 14 (SZ GTL A14) yaitu *S. zeamais* lokasi Gorontalo, nomor 17 (SO TLD A17) yaitu *S. oryzae* lokasi Talaud dan sampel nomor 18 (Stp sp A18) yaitu *Sitophilus* sp berwarna coklat yang berasal dari populasi *S. zeamais* lokasi Talaud.



A B

Gambar 15. Pita DNA *S. oryzae*, *S. zeamais*, dan *Sitophlus* sp. Hasil RT-PCR.
Keterangan : A = DNA Mass lader; B = Pita DNA Hasil PCR; 1 = SZ MDO A11 (*S. zeamais* lokasi Manado); 2 = SZ TLD A12 (*S. zeamais* lokasi Talaud); 3 = SZ KBG A13 (*S zeamais* lokasi Kotamobagu); 4 = SZ GTL A14 (*S. zeamais* lokasi Gorontalo); 5 = SO KTG A15 (*S. oryzae* lokasi Kotamobagu); 6 = SO MDO A16 (*S. oryzae* lokasi Manado); 7 = SO TLD A17 (*S. oryzae* lokasi Talaud); 8 = Stp sp A18 (*Sitophilus* sp. Warna Coklat).

Perbedaan basa nukleotida dan area pita DNA untuk *S. zeamais* lokasi Gorontalo, *S. oryzae* lokasi Talaud dan *Sitophilus* sp yang berwarna coklat dapat diikuti pada Tabel 29. Bank gen mengikut sertakan 3 gen pembanding yaitu *S. zeamais* COI, Coleoptera sp. Bold: AAJ6887 COI, dan Lepidoptera sp. Bold : AAJ2017 COI. *S.*

zeamais COI dan Coleoptera sp. Bold: AAJ6887 COI adalah pembanding *intraspesific relationship* dan Lepidoptera sp. Bold AAJ2017 COI adalah pembanding *interspesific relationship*.

Perbedaan basa nukleotida dalam populasi *S. oryzae* dan *S. zeamais* terdapat pada *S. zeamais* lokasi Gorontalo pada pasangan basa nomor 413 yaitu basa Adenine (A) menjadi Timine (T), *S. oryzae* lokasi Talaud pada pasangan basa nomor 158 yaitu basa Guanine (G) manjadi Adenine (A), dan *Sitophilus* sp. yang berasal dari populasi *S. zeamais* lokasi Talaud pada urutan pasangan basa nomor 200 yaitu basa Timine (T) menjadi basa Cytosine (C).

Tabel 8. Area dan Basa Nukleotida yang Berbeda pada Pita DNA *S. oryzae*, *S. zeamais*, dan *Sitophilus sp.* Hasil Analisis Sekuens.

```
         Sampel                                  Polimorfic Site

                          111 111 111 111 111 111 111 111 111 111 111 111 111 111 111
111
                          444 445 555 555 555 666 666 666 677 777 777 778 888 888 888
999
                          567 890 123 456 789 012 345 678 901 234 567 890 123 456 789
012
SZ MDO A11                CGG AAA CTG ATT AGT CCC ACT AAT ACT AGG AGC CCC AGA TAT AGC
ATT
SZ TLD A12                ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... .. ... ... ..........
SZ KBG A13                ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ..........
SZ GTL A14                ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ..........
SO KBG A15                ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ..........
SO MDO A16                ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ..........
SO TLD A17                ... ... ... ... .A. ... ... ... ... ... ... ... ... ….........
Stp sp A18                ... ... ... ... ... ... ....... ... ... ... .... .............
Sitophilus zeamais COI    ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ..........
Coleop sp. BOLD:AAJ6887 COI... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...
..........
Lepidop sp.BOLD:AAJ2017 COI T.. ... T.. ... ... G.. T.. T.. .T. ... ... T.. T..
.........

                          111 111 122 222 222 222 222 222 222 222 222 222 222 222 222
222
                          999 999 900 000 000 001 111 111 111 222 222 222 233 333 333
334
                          345 678 901 234 567 890 123 456 789 012 345 678 901 234 567
890
SZ MDO A11                CCC ACG ATT AAA CAA TAT AAG GTT CTG ATT ACT CCC TCC ATC ATT
AAT
```

```
SZ TLD A12                 ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ..........
SZ KBG A13                 ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ........
SZ GTL A14                 ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ........
SO KBG A15                 ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ............
SO MDO A16                 ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ........
SO TLD A17                  . ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... .........
Stp sp A18                 ... ... .C. ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ........
Sitophilus zeamais COI     ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ........
Coleop sp. BOLD:AAJ6887 COI ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ......
Lepidop sp. BOLD:AAJ2017 COI... ... .A. ... T.. ... ... T.. T.. ... .T. A.. C....C....

                           333 333 333 333 333 444 444 444 444 444 444 444 444 444 444
444
                           888 889 999 999 999 000 000 000 011 111 111 112 222 222 222
333
                           567 890 123 456 789 012 345 678 901 234 567 890 123 456 789
012
SZ MDO A11                 TCT TGG AGC TAT TAA TTT TAT TTC TAC TAC TTA TAA TAT ACG CCC
CTC
SZ TLD A12                 ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...
...
SZ KBG A13                 ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...
...
SZ GTL A14                 ... ... ... ... ... ... ... ... ... .T. ... ... ... ... ...
...
SO KBG A15                 ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...
...
SO MDO A16                 ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...
...
SO TLD A17                 ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...
...
Stp sp A18                 ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...
...
Sitophilus zeamais COI     ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...
...
Coleop sp. BOLD:AAJ6887 COI.. ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...
...
Lepidop sp. BOLD:AAJ2017 COI T. A.. ... . ... ... ... .A. ... A.T .AT ... ... ... AAT
TAA
```

Keterangan : 1. SZ MDO A11 = *S. zeamais* lokasi Manado; 2. SZ TLD A12 = *Sitophilus zeamais* lokasi Talaud; 3. SZ KBG A13 = *Sitophilus zeamais* lokasi Kotamobagu; 4.SZ GTL A14 = *Sitophilus zeamais* lokasi Gorontalo; 5. SO KTG A15 = *Sitophilus oryzae* lokasi Kotamobagu; 6. SO MDO A16 = *Sitophilus oryzae* lokasi Manado; 7. SO TLD A17 = *Sitophilus oryzae* lokasi Talaud; 8. Stp sp A18 = *Sitophilus* sp. Warna Coklat).

Perbedaan genetik *(genetic distance*) antar individu dalam populasi *S. oryzae* dan *S. zeamais* di Sulawesi Utara dan Gorontalo dapat diikuti pada Tabel 9.

Tabe 9. Perbedaan/Jarak Genetik (*Genetic Distance*) Basa Nukleotida pada Pita DNA *Sitophilus zeanais* dan *Sitophilus oryzae* Di Sulawesi Utara dan Gorontalo.

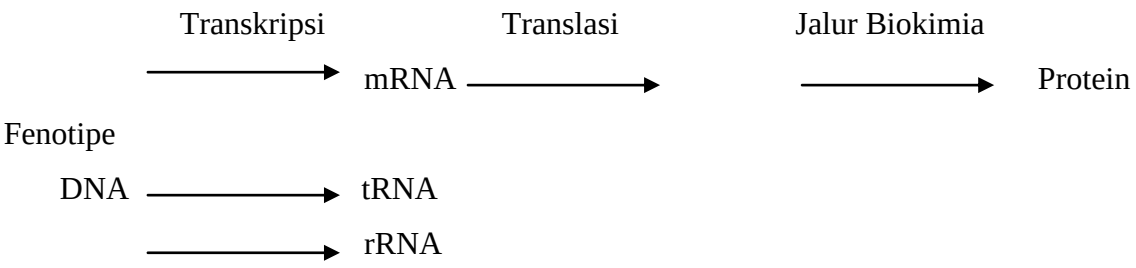
Sampel	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
[1]	0									
[2]	0.000									
[3]	0.000	0.000								
[4]	0.002	0.002	0.020							
[5]	0.000	0.000	0.000	0.020						
[6]	0.000	0.000	0.000	0.020	0.000					
[7]	0.002	0.002	0.002	0.040	0.020	0.020				
[8]	0.002	0.002	0.002	0.040	0.002	0.020	0.040			
[9]	0.000	0.000	0.000	0.020	0.000	0.000	0.020	0.020		
[10]	0.000	0.000	0.000	0.020	0.000	0.000	0.020	0.020	0.000	
[11]	0.203	0.203	0.203	0.205	0.203	0.203	0.205	0.203	0.203	0.203

Keterangan : [1]=SZ MDO A11; [2]=SZ TLD A12; [3]=SZ KBG A13; [4]=SZ GTL A14; [5]=SO KBG A15; [6]=SO MDO A16; [7]=SO TLD A17; [8]=Stp sp A18; [9]=*Sitophilus zeamais* COI; [10]=Coleoptera sp BOLD:AAJ6887 COI; [11]=Lepidoptera sp BOLD:AAJ2017 COI.

Perubahan basa nukleotida pada organisme di alam 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 intraspesific relatiopnship*) menghasil 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. Transkripsi adalah proses penyalinan kode-kode genetik yang ada pada urutan DNA menjadi molekul RNA (mRNA, tRNA, dan rRNA) dan merupakan proses penyalinanh urutan nukleotida pada molekul DNA yang mengawali ekspresi sifat-sifat genetik yang nantinya akan muncul sebagai fenotipe. Translasi adalah proses penerjemahan urutan

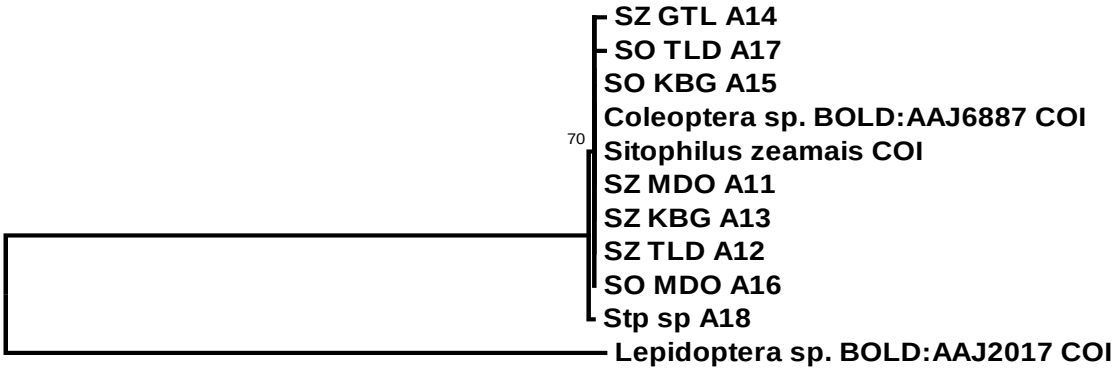
nukleotida yang ada pada molekul mRNA menjadi rangkaian asam-asam amino yang menyususn suatu polipeptida atau protein. Proses transformasi genetik pada organisme hidup dapat digambarkan seperti pada Gambar 16 (Yuwono, 2005)..



Gambar 16. Transformasi Genetik Pada Organisme Hidup.
Keterangan : mRNA = messenger RNA; tRNA = tranfes RNA;
rRNA = ribosonal RNA.

Gilbert (2011) menyatakan bahwa ekspresi genetik pada organisme merupakan hasil dari transformasi genetik yang terjadi selama proses transkipsi 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 Atkinson, *et al* (2001) 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 tergantung pada waktu lamanya pemisahan kelompok individu dengan populasi asal dan faktor lingkungan fisik dan makanan.

Konstruksi pohon filogeni *S. oryzae*, *S. zeamais*, dan *Sitophilus* sp (warna coklat) lokasi Manado, Kotamobagu, Talaud, dan Gorontalo dapat diikuti pada Gambar 17. Konstruksi pohon filogeni *S. zeamais*, *S. oryzae* dan *Sitophilus* sp. berwarna coklat masih termasuk pada satu clade. Hal ini menunjukkan bahwa *S. oryzae* dan *S. zeamais* lokasi Manado, Kotamobagu, Gorontalo, Talaud dan Sitophilus sp. berwarna coklat yang berasal dari populasi *S. zeamais* dari Gorontalo dan Talaud secara genetik masih satu kerabat atau satu spesies yaitu termasuk dalam hubungan *intraspecific relationship*. Namun khusus Sitophilus sp. berwarna cokjlat sudah mengarah pada pembentukan spesies baru karena keberadaannya kontruksi pohon filogeni sudah mulai keluar dari clade Spesies *S. oryzae* dan *S. zeamais*.



Gambar 17. Konstruksi Pohon Filogeni *S. oryzae* dan *S. zeamais*
Dengan Metode Neighbor joining Kimura 2 Parameter (Kimura, 1980).

Keterangan : 1. SZ MDO A11 = *S. zeamais* lokasi Manado
2. SZ TLD A12 = *S. zeamais* lokasi Talaud
3. SZ KBG A13 = *S. zeamais* lokasi Kotamobagu
4. SZ GTL A14 = *S. zeamais* lokasi Gorontalo
5. SO KTG A15 = *S. oryzae* lokasi Kotamobagu
6. SO MDO A16 = *S. oryzae* lokasi Manado
7. SO TLD A17 = *S. oryzae* lokasi Talaud
8. Stp sp A18 = *Sitophilus* sp. (Warna Coklat).

Terjadinya spesiasi atau perubahan genetik pada *Sitophilus* sp lokasi Talaud 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; 3) Lingkungan atau habitat hidup yang berbeda dengan populasi asal. Boughey (1973) dan Shoonhoven *et al* (1998) menyatakan bahwa terdapat tiga teori atau hypotesis 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. Penghunian 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.

Menurut Laffin *et al* (2005) serangga yang memiliki skala penyebaran yang sempit memiliki keragaman genetik rendah. DeSale et al (1987) menyatakan bahwa tingkat keragaman yang rendah dapat juga disebabkan oleh waktu tinggal yang singkat pada daerah/habitat baru sehingga tidak cukup waktu untuk mengakumulasikan perbedaan genetiknya. Spesies yang menyebar pada daerah yang luas menunjukkan variasi genetik yang cukup tinggi (Advise, 1994).

BAB V. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil mpenelitian dan pembahasan dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut :

1. Ukuran tubuh imago *S. zeamais* lebih besar dari *S. oryzae* yaitu 4,78 mm dan 3,36 mm.
2. Warna tubuh imago *S. oryzae* hitam cerah atau hitam kecoklatan dan pada elytra terdapat empat buah spot berbentuk bulat telur/lonjong berwarna coklat kemerahan, sedangkan *S. zeamais* berwarna hitam atau hitam pekat dengan empat buah spot berbentuk bulat telur/lonjong berwarna coklat kekuningan.
3. Kaki *S. oryzae* berwarna coklat kemerahan dan *S. zeamais* berwarna coklat kekuningan.
4. Stadium telur *S. oryzae* 4,0 hari, stadium larva 17,67 hari, stadium pupa 8,0 hari dan masa praoviposisi 4,83 hari. Stadium telur *S. zeamais* 5,83 hari, larva 23,33 hari, pupa 12,0 hari dan masa praoviposisi 6,83 hari.
5. Siklus hidup *S. oryzae* lebih pendek dari *S. zeamais* yaitu 34,5 hari dan 48,0 hari.
6. Lama hidup Imago *S. oryzae* yaitu jantan 88,75 hari dan betina 101,75 hari sedangkan lama hidup imago *S. zeamais* jantan 109,25 hari dan betina 125,75 hari.
7. Fekunditas *S. oryzae* rata-rata 197,2 butir dan *S. zeamais* rata-rata 259,2 butir.
8. Mortalitas pradewasa *S. zeamais* dan *S. oryzae* sama yaitu *S.oryzae* 80,5 %.
9. Rasio kelamin *S. oryzae* adalah 0,79 dan *S. zeamais* adalah 0,78.
10. Pita DNA *S. oryzae* dan *S. zeamaie* berada pada area atau panjang pita DNA 552 bp dan memiliki urutan basa nukleotida yang cenderung sama (homolog).
11. Basa nukleotida *S. zeamais* lokasi Gorontalo dan *S. oryzae* lokasi Talaud cendrung berbeda dengan populasi *S. oryzae* dan *S. zeamais* yang lain, namun masih satu kerabat (*intraspecific relationship*).
12. Perbedaan basa nukleotida pada pita DNA *S. zeamais* lokasi Gorontalo dengan Sitophilus lain terdapat pada area pita 413 bp yaitu basa nukleotida adenine (A) berubah menjadi timine (T), *S. oryzae* lokasi Talaud pada area pita 158 bp yaitu basa nukleotida guanine (G) berubah menjadi adenine (A), dan *Sitophilus* sp (berwarna coklat) terdapat pada area pita 200 bp yaitu basa nukleotida timine (T) berubah menjadi cytosine (C).

13. Jarak/perbedaan Genetik (genetic distance) *S. zeamais* lokasi Gorontalo dan *S. oryzae* lokasi Manado dengan *S. oryzae* dan *S. zeamais* yang lain 2 % dan *Sitophilus* sp (berwarna coklat) yaitu 4 %.
14. *S. oryzae* dan *S. Zeamais* secara morfologi sudah berbeda spesies, namun secara genetic masih satu kerapat atau satu spesies.
15. *Sitophilus* sp (berwarna coklat) secara genetik masih termasuk satu kerabat atau satu spesies dengan *S. oryzae* dan *S. Zeamais*.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim, 1982. *Risalah Lokakarya Pascapanen Tanaman Pangan*. Departemen Pertanian Badan Penelitian dan Pengenbangan Pertanian Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Bogor.

_____, 1991. *Kunci Determinasi Serangga*. Program Nasional Pelatihan dan Pengembangan Pengendalian Hama Terpadu. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.

_____, 2009a. *Kerusakan Oleh Hama Pascapanen*. http://anafzhu.blogspot.com/2009/06/ kerusakan-oleh-hama-pascapanen.html. Diakses 21 Juni 2009.

_____, 2009b. *Ekologi Hama Pasca Panen*. http:/abank-udha123.tripod.com/ ekologi hama pascapanen.htm. Diakses 17 Desember 2009.

_____, 2010. *Sitophilus*. From Wikipedia, the free Encyclopedia. *http:en.wikipedia.org/ wiki/Sitophilus*. Diakses 01 Januari 2010.

Agus, P.D. 1977. *Analisis Tabel Hidup dalam Populasi Serangga*. Disampaikan dalam Seminar/Worshop Matematika Terapan, Wawasan Matematika Diskrit dan Aplikasi. ITB-IAEUP, Bandung, 29=30 Desember 1977. ITB Bandung.

Antonella, A. 2009. *Molecular Identification of Sitophilus SPP. (Coleoptera Curculionidae) and Detection of Immture Stages in Wheat*. http://digilib.biologi.lipi.go.id/view.html? idm=43184http://digilib.biologi.lipi.go.id/view.html?idm=43184. Diakses 16 Juli 2010.

Ashburner, M., M.A. Hoy and J. Peloquin. 1998. *Transformation of Arthropods-research needs and Long Term Prospects*. Insect Mol. Biol. 7(3): 201-213.

Atkinson, P.W., E.R. Hines, S. Beaton, K.I. Matthaei, K.C. Reed and M.P. Bradley. 1991. *Association of exogenous DNA with Cattle and Insect Spermatozoa in Vitro*. Mol. Reprod. Dev: 23: 1-5.

Atkinson, P.W.A., A.C. Pinkerton and D.A. O'Brocta. 2001. *Genetic Transformation System in Insects.* Annu. Rev. Entomol. 46: 317-346.

Atmosudirdjo, O. 1977. *Kunci Determinasi Hama Gudang*. Yayasan Pembina Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Avise, J. C. 1994. *Molecular Markers, Nnatural History and Evolution*. New York, Chapman & Hall.

Azhar, T. N. 2008. Dasar-Dasar Biologi *Molekuler*. Cetakan 1. Penerbit Widya Padjadjaran. Fakultas Kedokteran Universitas Kedokteran Bandung.

Borror, D.J, Ch. Triplelhorn dan N.F. Johnson, 1989. *Pengenalan Pelajaran Serangga*. Edisi Keenam. Penerbit Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Boughey, A.S., 1973. *Ecology of Population*. Second Edition. The Macmillan Company, New York United Stated of America.

Bursell, E. 1970. *An Introduction to Insect Physiology*. Academic Press Inc. (London) LTD. London and New York.

Bussink, H.J.D., F.P. Buxton, and J. Visser, 1991. *Expression and Sequence Comparison of the Aspergillus tubigensis Genes Encoding Polygalacturonase II*. Current Genetics. 19:467-474.

Cao, H. 2008. *Molecular markers for weevil (Sitophilus zeamais) population genetics.* Department of Biological Sciences, Fordham University, Bronx, New York 10458.

Chapman, R.F. 1971. *The Insect : Structur and Function*. Second Edition. American Elsevier Publishing Company, Inc 52 Vanderbilt Avenue. New York 10017.

Cotton, R.T., 1980. *Tamarin Pod-Borer, Sitophilus linearis (Herbst.).* Journal of Agricultural Research. Washington D.C. Vol. XX. No.6. http://preserve.nal.usda. gov/jag/v20/ v20i6/ 200439/a200439.htm. Diakses 21 Maret 2010.

DeSalle, R., T. Freedman, E. M. Prager and A.C. Wilson. 1987. *Tempo and Mode of Sequence Evolution in Mitochondrial DNA of Hawaiian Drosophila*. Journal of Molecular Evolution 26: 157-164.

Eggleston, P. and Y. Zhao. 2000. *Targeted Transformation of the Insect Genome. In : Insect Transgenesis, Method and Applications*. A.M. Handler and A.A. James, Eds. CRC Press, Boca Raton, FL.

Floyd, EH, and L.D. Newsom. 1959. *Biological study of the rice weevil complex*. Annals of the Entomological Society of America, 52:687-695.

Futuyma, D.j., 1986. *Evolutionary Biology*. Second Edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts.

Gilbert, L. I. 20011. *Insect Molecular Biology and Biochemistry*. First Edition. Elsevier B.V. All Rights Reserved. Department of Biology University of North Carolina Chapel Hill, NC.

Gomez, K.A. and A.A. Gomez. 1984. *Statistical Procedures for Agricultural Research*. Second Edition. An International Rice Research Institute Book. A Wiley-Interscience Pubication, Johyn Wiley and Sons. New York. Chichester. Brisbane. Toromto. Singapore.

Grenier, A. M., M. Mbaiguin and B. Delobel. 1997. *Genetical analysis of the ability of the rice weevil sitophilus oryzae (Coleoptera, Curculionidae) to breed on split peas*. Heredity **79**:15-23.

Heddi A., Grenier AM., Khatchadourian C., Charles H., and Nardon P. 1998. *Four intracellular genomes direct weevil biology: Nuclear, mitochondrial, principal endosymbiont, and Wolbachi*a. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 96: 6814-6819.

Hill, D.S., 1990. *Pests of Stored Products and Their Control*. CRC Press, Inc. Publishers. Boca Raton. Ann Arbor. Boston.

Hinton, H.E. and A.S. Corbet. 1975. *Common Insect Pests Of Stored Food Product. A Guide to Their Identification.* 5 th Edition. British Museum (Natural History) Economic SeriesNo. 15. Trustees of the British Museum (Natural History). London.

Jie Ji, Y., D. Xing Zhang and L. Jun He, 2003. *Evolutionary Conservation and Versatility of a New Set of Primers for Amplifying the Ribosonal Internal Transcribed Spacer Region in Insects and Other Invertebrates*. Blackwell Publishing Ltd. Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing P.R. China.

Jeong, H. Y., J. E. Oh, S. W. Hong, M. Il Ry, K. D. Kim and H. Lee. 2006. *Molecular marker-assisted detection of rice weevil in stored rice*. International Journal of Pest Management **52**: 325-331.

Kalshoven, L.G.E. 1981. *Pests of Crops in Indonesia*. PT. Ichtiar Baru-Van Hoeve, Jakarta.

\

Kartasapoetra, A.G., 1991. *Hama Hasil Tanaman Dalam Gudang*. Penerbit Rineka Cipta. Cetakan Kedua. Jakarta.

Krebs, C.J. 1978. *Ecology : The Experimental Analysis of Distribution and Abundance*. Second Edition. Harper and Raw Publisher. New York.

Kuschel G, 1961. *On problems of synonymy in the Sitophilus oryzae.* Annals and Magazine of Natural History, Series 13(4):241-244.

Laffin, R. D., L. M. Dosdall and F. A. H. Sperling. 2005. *Population structure and phylogenetic relationships of ceutorhynchus neglectus (coleoptera: Curculionidae).* Canadian Entomologist **137**: 672-684.

Manueke, J. 1993. *Kajian Pertumbuhan Populasi Sitophilus oryzae dan Tribolium castaneum dan Kerusakan yang Ditimbulkan pada Tiga Varietas Beras*. Tesis. Program Pascasarjana Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Marjorie, A.H. 2003. *Insect Molecular Genetics. An Introduction to Principles and Applications.* Second Edition. Academic Press, An imprint of Elsevier Science. Amsterdam. Boston. London. New York. Oxford. Paris. San Diago. San Francisco. Singapore. Sydney. Tokyo.

Matthews, R.W., and J.R. Matthews, 1978. *Insect Behavior*. A Wiley-Interscience Publication. John Wley & Sons, New York . Chichester . Brisbane . Toronto.

Mallis, A., 2004. *Handbook of Pest Control. The Behavior, Life History and Control of Household Pests*. Ninth Edition. Janie Johns, Wild Rice Press, Inc. GIE Media, Inc.

Metcalf, R.L. and W.L. Luckmann, 1982. *Introduction to Insect Pest Management*. A Wiley-Interscience. John Wiley & Sons. New York . London . Sydney . Toronto.

Mohsin, Y. 2003. *50 Tahun Penemuan Struktur DNA*. http://www.chem-is-try.org/artikel_kimia/biokimia/50_tahun_penemuan_struktur_dna. Diakses 10 Januari 2010.

Nazir, M. 1985. *Metode Peneltian*. Penerbit : Chalia Indonesia. Jakarta.

Odum, E.P. 1971. *Fundamentals of Ecology*. Publisher of W.B. Saunders Co. Philadelphia.

Pearl, M. 1973. *Matrix Theory and Finite Mathematics*. McGraw-Hill Book Inc. New York.

Peng, W. K., Lin, H. C., Chen, C. N., and C.H. Wang. 2003. *DNA identification of two laboratory colonies of the weevils, Sitophilus oryzae (L.) and S. zeamais Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) in Taiwan.* http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN& cpsidt=14040264. Diakses 20 Juli 2010.

Patton, R.L. 1963. *Introductory Insect Physiology*. W.B. Saunders Compaqny, Philadelphia and London, Toppan Company Limited, Tokyo, japan.

Pielou, E.C. 1977. *Mathematical Ecology*. John Willey and Sons. New York.

Poole, R.W. 1974. *An Introduction to Quantitative Ecology*. MacGraw Hill Book Co. New York.

Pinto Junior, A.R., L.A. Kozlowski, E. de C. Amantini, and R.S. Furiatti. 2004. *Variation of the Nutritional Components of Stored Maize, due to the Influence of Insects from the Sitophilus complex (S. oryzae and S. zeamais) Infestation and Resultant Fungal Development.* Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Brasil. http://bru.gmprc.ksu.edu/proj/iwcspp/pdf/9/6298.pdf. Diakses 12 Januari 2010.

Price, P.W. 1975. *Insect Ecology*. John Wiley and Sons. New York.

Pritam Singh and R.F. Moore. 1985. *Handbook of Insect Rearing Vol. I and II*. Elsevier. Amsterdam. Oxford. New York. Tokyo.

Reeck. 2003. *Polygalacturonase from Sitophilus oryzae: Possible horizontal transfer of a pectinase gene from fungi to weevils*. *Journal of Insect Science*, 3:24, Published 12 August 2003.

Schoonhoven, L. M., T. Jermy, and J. J. A. van Loon. 1998. *Insect – Plant Biology*. From Physiology To Evolution. Chaman & Hall. London . Glasgow . New York . Tokyo, Melbourne . Madras.

Shen Z.C, Reese JC, and Reeck GR. 1996. *Purification and characterization of polygalacturonase from the rice weevil, Sitophilus oryzae (Coleoptera: Curculionidae*). *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 26: 427-433.

----------, Manning G., Reese J. C., and Reeck GR. 1999. *Pectin methylesterase from the rice weevil, Sitophilus oryzae (L.) (Coleoptera: Curculionidae): Purification and characterization*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 29: 209-214.

----------, M. Denton, N. Mutti, K. Pappan, M. R. Kanost, J. C. Reese, and G. R. Reeck. 2003. *Polygalacturonase from Sitophilus oryzae: Possible horizontal transfer of a pectinase gene from fungi to weevils*. *Journal of Insect Science*, 3:24, Available online: insectscience.org/3.24.

Speight, M. R., M. D. Hunter and A. D. Watt. 1999. *Ecology of Insects, Concepts and Application*. Blackwell Science. Oxford. USA. Scotland.

Suputa. 2003. *Catatan Taksonomi dan Sistem Penamaan Sitophilus oryzae dan S. zeamais*. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan. Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. http://abank-udha123.tripod.com/klasifikasi_hama_pasca_panen.htm. Diakses 22 Januari 2010.

Supriyatin. 1989. *Hubungan Antara Populasi Hama Perusak Polong dengan Hasil Kedelai (Glycine max (L.) Merr. Dan Penggunaannya untuk Penentuan Ambang Ekonomi*. Tesis S-2 Fakultas Pascasarjana Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Surtikanti. 2004. *Kumbang Bubuk Sitophilus zeamais Motsch. (Coleoptera: Curculuionidae) dan Strategi Pengendaliannya*. Balai Penelitian Tanaman Serealia, Maros 90514. Jurnal Litbang Pertanian, 23/4/2004.

Syarief, R. dan H. Halid, 1993. *Teoknologi Penyimpanan Pangan*. Kerjasama dengan Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi IPB. Penerbit Arcan. Jakarta.

Tamura, K. and S. Kumar, 2004. *Prospects for Infering Very Large Phylogenies by Using the Neighbor-Joining. PNAS* 110: 11030-11035.

----------, Dudley, J., Nei M., and S. Kumar. 2007. *MEGA 4.0: Molekular Evolutionary Gene Analysis (MEGA) Sofware Versi 4.0.* Molecular Biology and Evolution 10.1093/molbev/msm092.

Williamson, M. 1992. *Enviromental Risks from the Release of Genetically Modified Organism (GMOs)-the need for Molecular Ecology*. Mol. Ecol. 1: 3-8.

Warouw, J. 1981. *Dinamika Populasi Sexava nubila (Stall.) (Orthoptera;Tettigonidae) Di Sangihe Talaud dalam Hubungannya dengan Kerusakan Tanaman Kelapa*. Disertasi Fakultas Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.

Zainudin, M., 2000. *Metodologi Penelitian*. Penerbit : Chalia Indonesia. Jakarta.

LAMPIRAN

1. Penggunaan Dana Penelitian

No.	Jenis Pengeluaran	Besar Biaya (Rp)	Penggunaan Dana
1.	Gaji dan Upah	14.520.000.	100 %
2.	Bahan Habis Pakai dan Peralatan Penelitian	17.600.000.	100%
3.	Perjalanan (Manado-Minahasa-Kotamobagu, dan Talaud)	10.400.000.	100%
4.	Lain-lain (jasa analisis DNA serangga uji, seminar hasil, pelaporan, dokumentasi dan publikasi).	7.480.000.	100%

Manado, November 2016

Team Peneliti

2. LogBook/Pelaksanaan Kegiatan Penelitian

No.	Waktu Pelaksanaan	Jenis Kegiatan	Keterangan
1.	Maret 2016	Penyiapan tempat (laboratorium), bahan dan peralatan untuk penelitian	Selesai
2.	April 2016	Survei penentuan lokasi penelitian, pengambilan sampel dan serangga uji di lapangan	Selesai
3.	April 2016	Rearing serangga uji di laboratorium sebagai stok untuk penelitian	Selesai

4.	Mei 2016	Penelitian pemikatan serangga uji	Selesai
5.	Mei 2016	Identifikasi serangga uji	Selesai
6.	Mei 2016	Penelitian/pengukuran dan pengamatan besar tubuh, warna tubuh dan cirri morfologi lain	Selesai
7.	Mei 2016	Penelitian perilaku (makan, kopulasi	Selesai
8.	Juni 2016	Penelitian biologi	Selesai
9.	Juni 2016	Penelitian fekunditas dan ratio kelamin	Selesai
10.	Juli 2016	Analisi data ukuran tubuh, tahap perkembangan, fekunditas dan ratio kelami	Selesai
11.	Juli 2016	Penelitian pemurnian spesies serangga untuk uji genetik	Selesai
12.	Juli 2016	Penyiapan sampel serangga untuk analisa DNA	Selesai
13.	Agustus 2016	Penyusunan Laporan Kemajuan	Selesai
14.	Agustus 2016	Analisa DNA Serangga Uji	Selesai
15.	Agustus 2016	Pembuatan dan pemasukkan artikel ke jurnal internasional	Selesai
16.	November 2016	Penyusunan laporan akhir	Selesai
17	November 2016	Pelaporan	Selesai

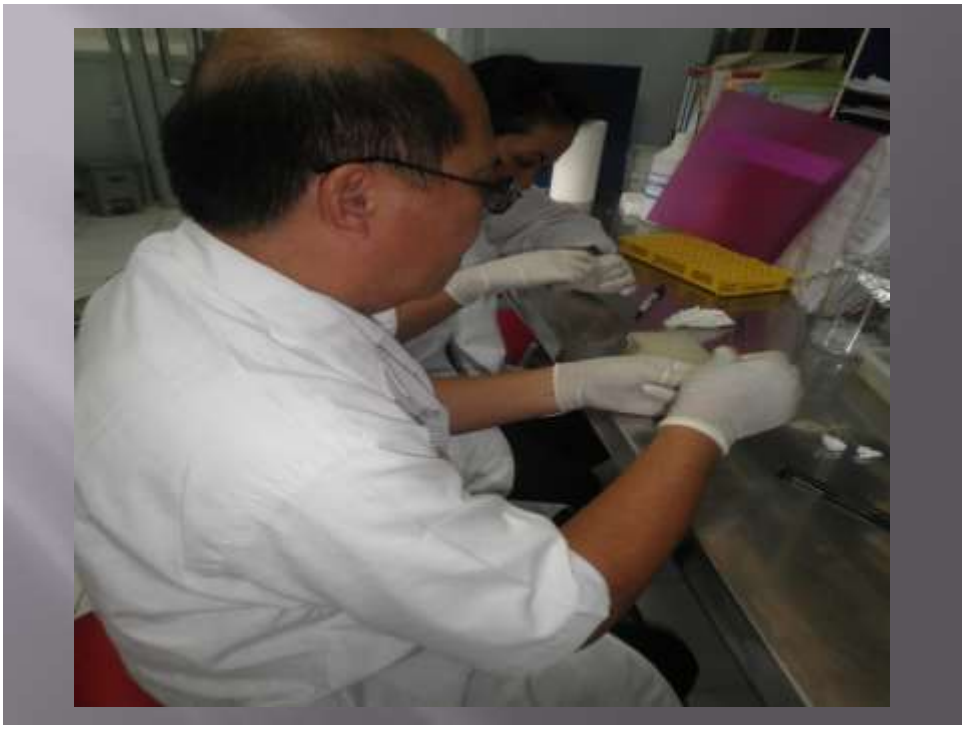
Manado, November 2016

Team Peneliti

3. Dokumentasi Penelitian

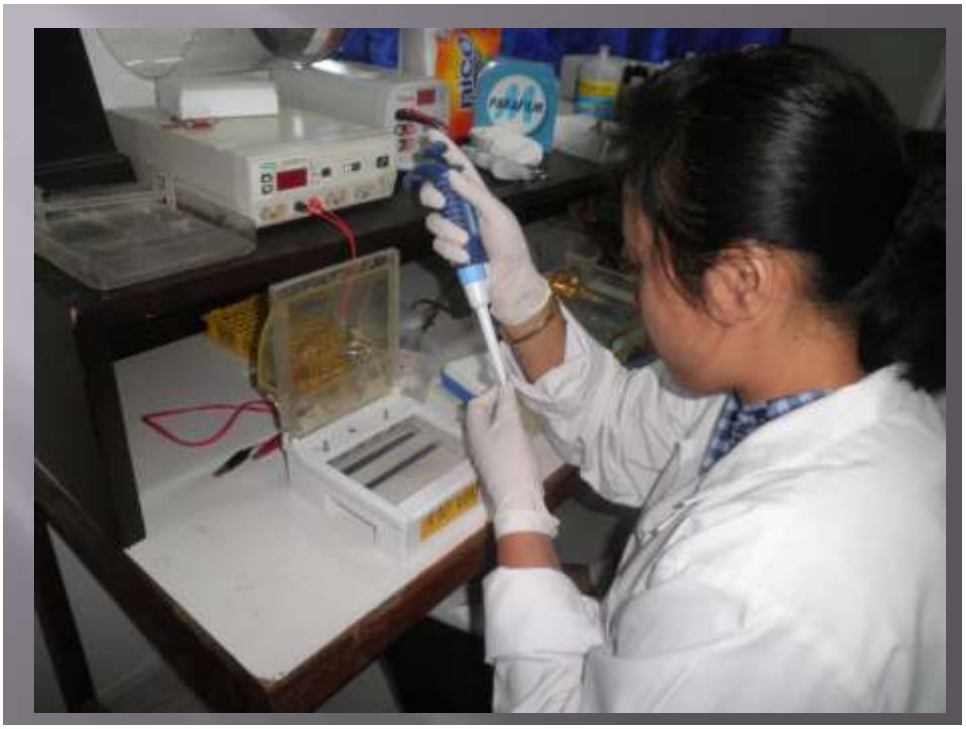
invitrogen
PureLink™
Genomic DNA Mini Kit

PureLink™
PureLink™
PureLink™
PureLink™
PureLink™



eppendorf

Thermo



4. Output Penelitian

a. Pemakalah dalam seminar nasional

SEMINAR NASIONAL SAINS DAN TERAPAN (SEMNAS - SINTA) III
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SAM RATULANGI
"Peran Sains Dalam Pengelolaan Sumber Daya Alam Untuk Kehidupan"
Manado, 23 September 2016

KARAKTER MORFOLOGI *Sitophilus oryzae* DAN *S. zeamais*

Jusuf Manueke, Juliet E.M. Mamahi
Fakultas Pertanian
Universitas Sam Ratulangi Manado

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan morfologi antara *S. oryzae* dan *S. zeamais* yang terdiri dari ciri morfologi dan perilaku. Ciri morfologi meliputi ukuran, bentuk dan warna tubuh, serta variasi pada organ tubuh. Perilaku meliputi perilaku makan, perilaku kawin, perilaku meletakkan telur. Penelitian menggunakan metode deskriptif observasional. Hasil penelitian menunjukkan bahwa secara morfologi luar *S. oryzae* dan *S. zeamais* berbeda, yaitu S. zeamais lebih besar S. oryzae. Ukuran tubuh imago *S. oryzae* saat keluar dari pupa ± 2,16 mm, pada perkembangan penuh ± 3,36 mm, dan *S. zeamais* saat keluar dari pupa ± 2,54 mm, pada perkembangan penuh ± 4,78. Imago *S. oryzae* berwarna hitam cerah atau hitam kecoklatan, memiliki empat buah spot berbentuk bulat memanjang (lonjong) pada elytra yang berwarna coklat kemerahan dan kaki berwarna coklat kemerahan, sedangkan imago *S. zeamais* berwarna hitam pekat/berwarna gelap dengan empat buah spot pada elytra berwarna coklat kekuningan dan kaki berwarana coklat kekuningan. Pengamatan perilaku menunjukkan bahwa imago makan dengan cara melubangi butiran biji Beras dan Jagung dengan menggunakan rostrum. Imago membuat dua jenis lobang gerekan pada butiran biji yaitu lubang yang pertama disiapkan untuk tempat peletakan telur oleh serangga betina dan lubang yang kedua untuk tempat makan imago. Perkawinan (kopulasi) umumnya dilakukan pada malam hari di dalam dan pada permukaan bahan, namun ditemukan juga beberapa pasangan yang melakukan aktivitas kawin sampai pada siang hari. Perkawinan berlangsung selama 3-4 jam dan umumnya dilakukan pada pukul 02.00 - 04.00 dini hari. Imago betina meletakkan telur secara satu persatu dalam lubang gerekan yang dibuat oleh imago betina dan jantan. Setiap lubang hanya diletakkan satu butir telurdan dalam keadaan populasi tinggi satu butir biji bahan dapat diletakkan dua sampai tiga butir telur, namun hanya satu butir yang menetas jadi larva.

Kata Kunci : Karakter morfologi, Beras, Jagung pipilan, Sitophilus oryzae, S. zeamais, perilaku makan, perilaku kawin, perilaku meletakkan telur.

SERTIFIKAT

Diberikan Kepada:

JUSUF MANUEKE

Sebagai

PEMAKALAH ORAL

Seminar Nasional Sains dan Terapan (SEMNAS-SINTA) III:
"Peran Sains Dalam Pengelolaan Sumber Daya Alam Untuk Kehidupan"
23 September 2016 di Universitas Sam Ratulangi Manado

Dekan FMIPA UNSRAT,

Prof. Dr. Benny Pinontoan, M.Sc
NIP. 19660604 199512 1 001

Ketua Panitia,

Dr. Henry F. Aritonang, S.Si., M.Si
NIP. 19711207 200003 1 001

b. Publikasi ilmiah di jurnal internasional

ChemTech

International Journal of ChemTech Research
CODEN (USA): IJCRGG ISSN: 0974-4290
Vol.7, No.5, pp 2194-2202, 2015-2016

Dna Profile of Sitophilus oryzae and S. zeamais In Rice and Corn Kernels

J. Manueke*, M. Tulung, J. Pelealu, O.R. Pinontoan

Entomology Study Program Graduate Program Sam Ratulangi University
Manado.Indonesia

Abstract: The problem in postharvest pests has to be taken seriously since the recent researches were not comprehensively resolved the problem. The researches on preferences, morphological characteristics, and DNA profile are required in order to strengthen the knowledge and the decision making in postharvest pest management, especially *Sitophilus* spp. The aims of this reseach was to analysis the DNA profile and develop the phylogeny tree of *S. oryzae* dan *S. zeamais* in rice and corn kernels. This research was emphasized on taxonomy and biological evolution through molecular biology approach. The method was used observational, descriptive, and experimental method. DNA analysis was conducted using the *Software MEGA (Molekular Evolutionary Gene Analysis) Versi 4.0*. The DNA sequencing data were confirmed by *Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)* program before analysis. Sequencing parameters that analyzed were polymorphic site, genetic distance, and phylogenetic tree. Genetic distance was measured by *Kimura 2 parameter* method. Results showed that the nucleotide bases of *S. zeamais* located at Gorontalo and *S. oryzae* at Manado tend to be different from those in other locations, although they were relatives (*intraspecific relationship*). The differences in nucleotide base of DNA sheet of *S. zeamais* located at Gorontalo with other Sitophilus was at 413 bp sheet that was adenine (A) turned into timine (T), *S. oryzae* located at Manado was at 158 bp sheet in which guanine (G) turned into adenine (A), and *Sitophilus* sp (brown in color) was at 200 bp sheet that is timine (T) turned into cytosine (C). Genetic distance of Gorontalo *S. zeamais* and Manado *S. oryzae* with other *S. oryzae* and *S. zeamais* was 0,002 and *Sitophilus sp (brown in color)* was 0.004. Genetic differences among individuals within populations of *S. oryzae* and *S. zeamais* from Manado, Kotamobagu, Talaud, and Gorontalo was the kinship within individual in species (*intraspecific relationship*). *Sitophilus* sp (brown in color) leads to interspecific relationship i.e. the genetic speciation or the new species was formed. Phenotype of *S. oryzae* and *S. zeamais* showed that those insects are different species, however, genotype of *S. oryzae* and *S. zeamais* demonstrates that they are relatives or the same species. Brown *Sitophilus* sp. on the phylogeny tree structure has led to the new speciation or new species formation and its name *Sitophilus* spo.

Keywords : Sitophilus oryzae, S. zeamais, Sitophilus sp (brown color), polymorphic site, genetic distance, phylogenitic tree construction

Introduction

Sitophilus weevil is an important cosmopolitan pest which attacks postharvest commodity grains over the world[1], *Rees in Cao*[2]. This pest is included in the genus Sitophilus, family Curculionidae, and the order Coleoptera. It is known that there are two important species which invade postharvest commodity grains especially rice and corn i.e. *S. oryzae* and *S. zeamais*[3,4]. According to Gillespie *et al.*[5], the systematic and taxonomic researches are needed for the success of biological control of both pest types.

Weevil Sitophilus is a host of different kinds of bacteria endosymbiotic [6,7]. Endosymbiotic is an interspecific association event and takes a crucial role in many ecology events and evolutionary processes of living beings in nature[7]. The existence of Symbion and some metabolites in the beetle's body will remain stable as long as the existence of Symbion does not lead to a deficiency of food to beetles, and the endosymbiotic event is taking place in the metabolism process[7,8].