

KERAGAMAN GENETIK, KEBUGARAN DAN INKOMPATIBILITAS REPRODUKSI *Hemiptarsenus varicornis* Girault (Hymenoptera: Eulophidae), PARASITOID LARVA *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae)

Reflinaldon¹, Damayanti Buchori² & Dwinardi Aprianto³

¹ Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Andalas, Kampus Limau Manis Padang 25163.

E-mail: refl_i_naldon@yahoo.com

² Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, IPB, Jl. Kamper Kampus Darmaga Bogor 16680

³ Jurusan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu, Jl. Raya Kandang Limun Bengkulu 38371.

E-mail: dwi_nardi@yahoo.com

ABSTRACT

Genetic variation, fitness and reproductive incompatibility of *Hemiptarsenus varicornis* Girault (Hymenoptera: Eulophidae), a larval parasitoid of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). Several experiments have been conducted to study genetic variation, fitness and reproductive incompatibility of *H. varicornis* from different geographic populations. Genetic variation from Pandai Sikek (PS), Alahan Panjang (AP) and Kayu Aro (KA) was analyzed by using random amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction (RAPD-PCR) technique and the similarity of genetics measured using NTSys program. The fitness of female wasps such as longevity, fecundity and preoviposition was observed and then compared among those populations. Incompatibility in reproduction was determined by accounting of reproductive compatibility (RC) index in crossing of intra and interpopulation both of PS and AP. The results showed high genetic variation of *H. varicornis* among population from Alahan Panjang, Pandai Sikek and Kayu Aro with similarity coefficient of 30 to 70%. The best fitness showed the female wasps from Kayu Aro that was significantly different ($P=0.00$) in longevity (24.60 ± 6.4 days), fecundity (63.6 ± 28.6 eggs) and parasitization (53.60%) but not significantly different ($P=0.07$) in number of the first day eggs (1.1 ± 1.4 eggs). Crossing of AP and PS indicated incompatibility in reproduction among the population.

Key words: fitness traits, genetic variation, *Hemiptarsenus varicornis*, reproductive incompatibility

ABSTRAK

Keragaman Genetik, Kefugaran dan Inkompabilitas Reproduksi *Hemiptarsenus varicornis* Girault (Hymenoptera: Eulophidae), Parasitoid Larva *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). Beberapa percobaan telah dilaksanakan untuk mempelajari keragaman genetik, kebugaran dan ketidaksesuaian reproduksi *H. varicornis* dari populasi berbeda secara geografi. Keragaman genetik populasi *H. varicornis* berasal dari daerah Pandai Sikek (PS), Alahan Panjang (AP) dan Kayu Aro (KA) dianalisis menggunakan metode RAPD-PCR dan penentuan tingkat kesamaan menggunakan program NTSys. Kefugaran imago betina *H. varicornis* ditentukan dengan pengamatan terhadap lama hidup, keperidian dan masa prapeneluran. Sementara, ketidaksesuaian reproduksi hanya diamati pada populasi PS dan AP dengan menghitung indeks kompatibilitas persilangan intra dan interpopulasinya. Hasil menunjukkan bahwa keragaman genetik populasi *H. varicornis* dari AP, PS dan KA tinggi karena indeks kesamaannya hanya berkisar 30–70%. Kefugaran terbaik diperlihatkan oleh *H. varicornis* berasal dari KA yang ditunjukkan oleh perbedaan nyata ($P=0.00$) pada lama hidup ($24,60 \pm 6,4$ hari), keperidian ($63,6 \pm 28,6$ butir telur) dan parasitisasi (53,60%) tetapi tidak berbeda nyata ($P=0.07$) dalam jumlah telur hari pertama ($1,1 \pm 1,4$ butir telur). Persilangan antara populasi AP dan PS mengindikasikan adanya ketidaksesuaian reproduksi (inkompatibel) antara populasi AP dan PS.

Kata kunci: keragaman genetik, *H. varicornis*, ketidaksesuaian reproduksi, sifat kebugaran

PENDAHULUAN

Hemiptarsenus varicornis (Hymenoptera: Eulophidae) merupakan salah satu jenis parasitoid penting hama pengorok daun (*Liriomyza* spp.) di

Indonesia (Rauf, 2003). Parasitoid ini ditemukan tersebar luas di pertanian sayuran terutama dataran tinggi di Jawa, Sumatera dan Sulawesi (Rauf & Shepard, 1999; Sembel *et al.*, 2003). *H. varicornis* selalu ditemukan dominan di sentra sayuran dataran tinggi. Di

Jawa parasitoid ditemukan di Garut, Banjarnegara dan Pengalengan (Purnomo *et al.*, 2003; Reflinaldon *et al.*, 2000). Sementara di Sumatera, parasitoid tersebut ditemukan di pertanaman sayuran dataran tinggi Alahan Panjang, Pandai Sikek dan Bukittinggi (Reflinaldon *et al.*, 1999).

Berkenaan dengan penyebaran *H. varicornis* yang cukup luas maka aspek keragaman menjadi faktor penting. Perbedaan lingkungan dapat memengaruhi kemampuan adaptasi dan tanggap parasitoid secara intrinsik sehingga berkontribusi terhadap terbentuknya keragaman intraspesifik (Diehl & Bush, 1984; Mackenzie *et al.*, 1998). Hambatan geografis dapat pula menyebabkan peningkatan keragaman karena aliran gen (*gen flow*) melalui perkawinan tidak dapat terjadi secara intens antara satu populasi dengan populasi lainnya (Bordenstein *et al.*, 2000).

Penyelidikan mengenai keragaman intraspesies (*intraspecific variation*) membantu kita memahami struktur populasi yang terbentuk di lapang. Pendekatan molekuler saat ini banyak dilakukan untuk menelusuri keragaman genetik dalam dan antar populasi (*within and between population*) yang berbeda secara geografis (Hidayat, 2000; Loxdale *et al.*, 1996; Hoy, 1994). Studi ini membantu mengungkapkan struktur populasi *H. varicornis* yang terdistribusi secara panmitik atau merupakan metapopulasi. Selanjutnya, keragaman genetik *H. varicornis* dapat pula didalami melalui aspek reproduksi yang terkait dengan sifat kebugaran dan keragaan (*fitness and performance traits*) dan dapat ditelusuri pula dengan kajian kesesuaian reproduksi melalui persilangan antar populasi.

Studi *reproductive compatibility* parasitoid dilakukan untuk mengatasi permasalahan dalam pengendalian hayati terutama dalam program pelepasan parasitoid. Selama ini, salah satu faktor penyebab kegagalan pengendalian hayati adalah kurangnya informasi tentang adanya ketidaksesuaian reproduksi populasi yang dilepas dengan populasi asli sehingga perkembangannya tidak terjadi (Stouthamer *et al.*, 2000). Pinto *et al.* (1991) mengamati kejadian tersebut pada parasitoid *Trichogramma*, dimana sedikitnya jumlah betina yang ditemukan di lapang yang mengindikasikan bahwa telah terjadi ketidakcocokan perkawinan antar strain. Kajian kesesuaian reproduksi bermaksud untuk menjelaskan kemungkinan yang terjadi bila dilakukan persilangan antar populasi parasitoid *H. varicornis* di laboratorium untuk perbanyakan. Begitu pula kemungkinan untuk melakukan pelepasan dimana parasitoid yang berasal dari populasi suatu daerah. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan tentang

keragaman genetik, kebugaran dan kesesuaian reproduksi dari populasi *H. varicornis* berbeda geografi.

METODE PENELITIAN

Pengumpulan dan pemeliharaan parasitoid.

Pengumpulan serangga parasitoid di daerah Alahan Panjang (AP), Kabupaten Solok (elevasi 1200-1300 m), Pandai Sikek (PS), Kabupaten Tanah Datar (900-1000 m) dan Kayu Aro (KA), Kabupaten Kerinci (1300-1500 m) yang merupakan daerah pertanaman sayuran dengan tingkat elevasi berbeda. Pelaksanaan koleksi di lapangan dan pemeliharaan di Laboratorium PHT Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Universitas Andalas dilakukan pada bulan Maret sampai Desember 2004.

Sampling dilakukan secara purposive pada setiap lahan pertanaman yang dipilih. Pada masing-masing daerah dipilih 2 areal pertanaman terpisah sehingga ada 6 populasi yaitu AP1, AP2, PS1, PS2, KA1 dan KA2. Populasi parasitoid yang dikoleksi dari AP dan KA berasal dari tanaman kentang sedangkan PS berasal dari tanaman buncis. Koleksi dilakukan dengan cara mengumpulkan daun-daun terserang berupa korokan dari larva hama pengorok daun.

Daun-daun yang telah dikoleksi dari lapang ditempatkan dalam wadah pemeliharaan berupa plastik berbentuk silinder (tinggi 20 cm, diameter 15 cm) dengan ditutupi kasa (kain jenis til) dalam ruangan dengan temperatur 23°C di laboratorium. Parasitoid yang berasal dari lokasi dan tanaman tertentu dipelihara secara terpisah satu dengan lainnya sebagai populasi-populasi yang berlainan. Semua wadah pemeliharaan disusun di atas rak dengan label lokasi, tanggal koleksi dan tanaman inang. Selanjutnya, setiap hari dilakukan pengamatan munculnya parasitoid. Parasitoid yang muncul tersebut selanjutnya disimpan dalam botol koleksi berisi alkohol 90% dengan diberi label lokasi dan tanaman inang asalnya sebagai bahan dalam pengujian analisis DNA.

Pengujian Keragaman Genetik. Analisis DNA dilakukan dengan teknik RAPD-PCR di Laboratorium Balai Penelitian Bioteknologi, Cimanggu Bogor. Tahapan pelaksanaan sebagai berikut: ekstraksi DNA parasitoid ini menggunakan metode Meilin (1999) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 3 ekor serangga parasitoid dari masing-masing sampel dimasukkan ke dalam tabung eppendorf 1,5 ml. Kemudian ditambahkan 400 µl buffer TEN (Tris 10 mM EDTA 2 mM, dan NaCl 0,4 M) sedikit demi sedikit sambil digerus, selanjutnya ditambahkan

40 μ l SDS 20% (w/v) dan 8 μ l Proteinase K 20 mg ml^{-1} sambil diaduk-aduk. Sel yang telah diekstrak diinkubasi dalam penangas air dengan suhu 55°C selama lebih kurang 1 jam. Setelah itu ditambahkan 300 μ l NaCl 5 M dan divorteks (dicampur merata) secara cepat dan disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 12.000 g pada suhu 4°C.

Pada tahapan berikutnya cairan pada bagian atas tabung (supernatan) dipindahkan ke dalam tabung eppendorf yang baru. Kemudian DNA yang berada pada supernatan diendapkan dengan menambahkan isopropanol sebanyak 1X (volume/volume) supernatan dan disimpan di freezer -20°C selama 30 menit atau untuk hasil yang lebih baik dapat disimpan selama satu malam (*overnight*). DNA yang sudah mengendap (menggumpal) dipisahkan dari cairan tadi dengan cara mensentrifugasi tabung selama 15 menit pada kecepatan 12.000 rpm suhu 4°C. Buang cairan dan pelet DNA yang diperoleh dicuci dengan ETOH 70%, langsung keringanginkan. Pada tahap akhir pelet DNA dilarutkan dalam 30 μ l buffer TE (tergantung besar kecilnya pellet). DNA yang sudah dilarutkan dijadikan templat atau cetakan dalam analisis PCR. Biasanya DNA yang digunakan disamakan konsentrasinya untuk setiap sampel (10 ng μl^{-1}).

Pada tahapan analisis PCR, dilakukan melalui prosedur pembuatan total reaksi sebanyak 20 l yang mengandung 10 ng DNA genomik cetakan, masing-masing dNTP 0.1 μ M (dATP, dCTP, dGTP, dan dTTP), masing-masing primer (OPN-16, OPA-02, OPG-18, DAN OPJ-04) 0.5 pmol, enzim *Taq DNA polymerase* 1 unit dalam larutan buffer PCR 1X. Urutan basa dari primer tersebut adalah: OPN-16 (5'-AAGCGACCTG-3'), OPA-02 (5'-TGCCGAGCTG-3'), OPG-18 (5'-GGCTCATGTG-3'), dan OPJ-04 (5'-ACGGCAGCTG-3'). Reaksi PCR dilakukan pada volume 20 μ l menggunakan mesin PCR MJ Research PCT-100.

Program PCR terdiri dari pre-denaturasi pada suhu 94°C, selama 2 menit, dilanjutkan dengan 45 siklus yang terdiri dari denaturasi pada suhu 94°C, 1 menit, *annealing* pada suhu 36°C, menit, dan *extension* 72°C, 2 menit. Pada tahap terakhir proses PCR dilakukan *final extension* pada suhu 72°C selama 5 menit. Sebanyak 10 μ l produk PCR hasil amplifikasi dianalisis dengan elektroforesis pada gel agarose 1,2% (w/v).

Tiap pita DNA yang muncul dari hasil reaksi RAPD-PCR dianggap sebagai satu lokus tersendiri dan dikelompokkan sesuai berat molekulnya kemudian diskor secara visual keberadaannya, yaitu 1 untuk pita yang terbentuk dan 0 jika tidak ada pita.

Analisis data. Data pengamatan dianalisis kekerabatan genetiknya menggunakan program SAHN dari NTSYS-pc 2.1. Berdasarkan nilai kesamaan genetika tersebut dilakukan analisis pengelompokan (*cluster analysis*) menggunakan metode UPGMA yang menghasilkan dendogram kesamaan genetika.

Studi Kebugaran Parasitoid dari Geografi Berbeda.

Pengamatan lama hidup, keperidian, produksi telur perhari.

Parasitoid berasal dari Pandai Sikek, Alahan Panjang dan Kayu Aro (*paternal population*) sedangkan inangnya diambil dari biakan hama pengorok yang telah dipelihara pada tanaman kacang merah di rumah kawat. Sepasang imago parasitoid yang baru muncul dari setiap pelakuan ditempatkan dalam wadah plastik berbentuk gelas (diameter alas 5 cm, atas 8 cm dan tinggi 14 cm). Segera setelah itu, ke dalam wadah tersebut dipaparkan tiga larva inang yang berada dalam korokan daun. Untuk menjaga kesegarannya, daun-daun tersebut diberi kapas lembab yang dibalutkan pada tangkainya. Setiap 24 jam, larva yang dipaparkan diganti dengan yang baru. Dari larva inang yang telah dipaparkan tersebut selanjutnya dihitung jumlah telur yang diletakkan oleh parasitoid yaitu dengan cara membedah gejala korokan pada daun di bawah mikroskop binokuler. Penggantian larva dilakukan terus menerus sampai imago betina parasitoid tersebut mati. Dari percobaan ini diperoleh data keperidian total, produksi telur per hari dan lama hidup betina. Dalam percobaan ini, jumlah betina yang diujikan sebanyak 20 ekor. Seluruh percobaan di atas dilaksanakan dalam ruangan bertemperatur 23°C.

Parasitisasi dan superparasitisasi.

Pengamatan parasitisasi dan superparasitisasi sejalan dengan pengamatan jumlah telur dan lama hidup betina di atas. Parasitisasi berdasarkan pada asumsi peletakkan telur oleh parasitoid pada atau di dekat larva inang. Parasitisasi dihitung berdasarkan persentase perbandingan jumlah inang yang diletakkan telur dengan total jumlah inang yang dipaparkan. Superparasitisasi merupakan kejadian parasitisasi dengan asumsi bila peletakan lebih dari satu telur pada setiap larva inang. Pengamatan dilakukan setiap 24 jam selama masa hidup betina.

Masa praoviposisi.

Pengamatan masa praoviposisi dilakukan terpisah dengan pengamatan di atas. Seekor betina yang baru saja muncul dari pupa segera dipaparkan larva inang. Setiap 2 jam larva inang diganti dan larva yang telah dipaparkan tersebut diamati di bawah

mikroskop untuk mengetahui ada tidaknya telur yang diletakkan. Masa oviposisi adalah lama waktu yang dilalui oleh betina sampai peletakkan telur pertamanya. Percobaan dilakukan dengan ulangan sebanyak 10 kali setiap perlakuan.

Analisis data. Data lama hidup, jumlah telur, telur hari I, parasitisasi dan superparasitisasi dianalisis menggunakan Program Statistik versi 8.0 dengan pengujian nilai tengah menggunakan uji Tukey pada taraf 5% dan disajikan dalam bentuk tabel. Masa praoviposisi betina dari masing-masing daerah dibandingkan dalam bentuk grafik.

Pengujian kompatibilitas reproduksi dari populasi berbeda daerah. Serangga uji berasal dari biakan beberapa populasi parasitoid di laboratorium yang dikoleksi dari berbagai lokasi dari Alahan Panjang (AP) dan Pandai Sikek (PS). Di laboratorium setiap populasi dipelihara secara terpisah untuk mendapatkan betina murni dari setiap populasi (*isofemale line*) sehingga betina dan jantan yang baru muncul segera dipisahkan untuk menghindari perkawinan sebelum diperlakukan. Selanjutnya, betina dari setiap populasi dikawinkan dengan jantan dari populasi lainnya sebagai perlakuan sedangkan untuk kontrol dilakukan juga perkawinan antara jantan betina dalam satu populasi. Kombinasi perkawinan disajikan dalam bentuk matriks berikut:

♀ \ ♂	AP	PS
AP	APxAP	APxPS
PS	PSxAP	PSxPS

Dari perkawinan baik di dalam dan antar populasi maka akan ada 4 kombinasi (perlakuan) dengan ulangan sebanyak 20 kali untuk perkawinan intrapopulasi dan 10 kali untuk perkawinan interpopulasi. Betina yang telah dikawinkan selanjutnya akan dipelihara dengan cara memaparkan larva inang hama pengorok yang diganti setiap hari (24 jam) dengan larva inang baru. Larva yang telah dipaparkan tersebut kemudian akan ditempatkan dalam cawan Petri untuk menunggu sampai semua anak (turunan) yang dihasilkan muncul menjadi imago. Hal ini dilakukan karena dalam penentuan kelamin lebih mudah pada stadium imago dengan berdasarkan perbedaan bentuk antene. Semua anak yang dihasilkan dari setiap perlakuan dihitung nisbah

kelamin (*sex ratio*) yaitu perbandingan antara jantan dan betina. Dari nilai rata-rata nisbah kelamin (*mean sex ratio*=MSR) dari setiap perkawinan tersebut, kemudian ditentukan pula nilai *ratio compatibility* (RC) berdasarkan metode yang digunakan Pinto *et al.* (1991) yang didefinisikan sebagai perbandingan proporsi anak betina dari perkawinan inter populasi dengan proporsi anak betina dari perkawinan intra populasi. Parameter biologi reproduksi meliputi lama hidup betina dan jumlah telur diamati pula untuk mengetahui pengaruh dari perkawinan persilangan. Data dianalisis menggunakan program Statistik 8.0.

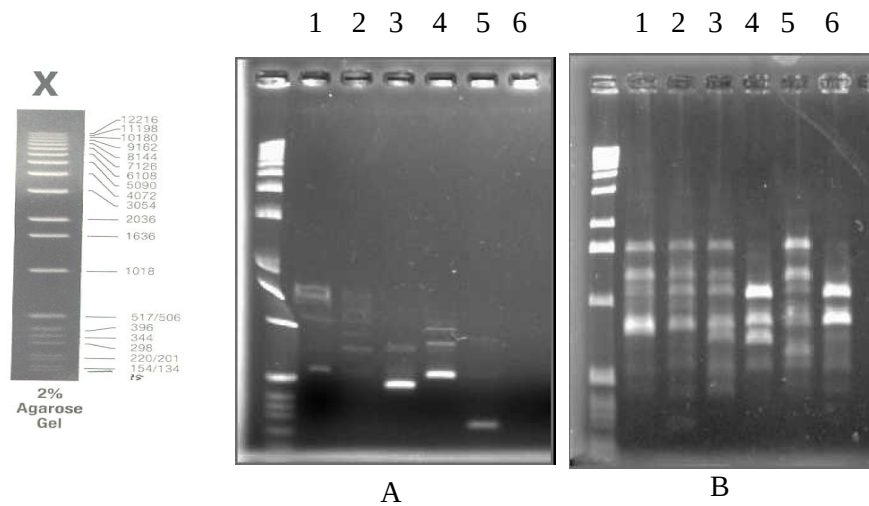
HASIL DAN PEMBAHASAN

Keragaman genetik *H. varicornis* dari populasi berbeda geografi. Profil pita RAPD yang dapat diamplifikasi dari keenam populasi *H. varicornis* diperlihatkan pada Gambar 1. Dari empat primer yang digunakan hanya dua primer OPJ-04 dan OPN-16 yang dapat mengamplifikasi keenam populasi yang diuji. Jumlah pita yang dihasilkan adalah berkisar antara 4 (OPJ-04) sampai dengan 8 (OPN-16). Dendrogram hasil analisis program NTSys enam populasi parasitoid berdasarkan kemiripan genetik dikonstruksi berdasarkan UPGMA dengan menggunakan koefisien Jaccard pada 4 lokus RAPD disajikan pada Gambar 2.

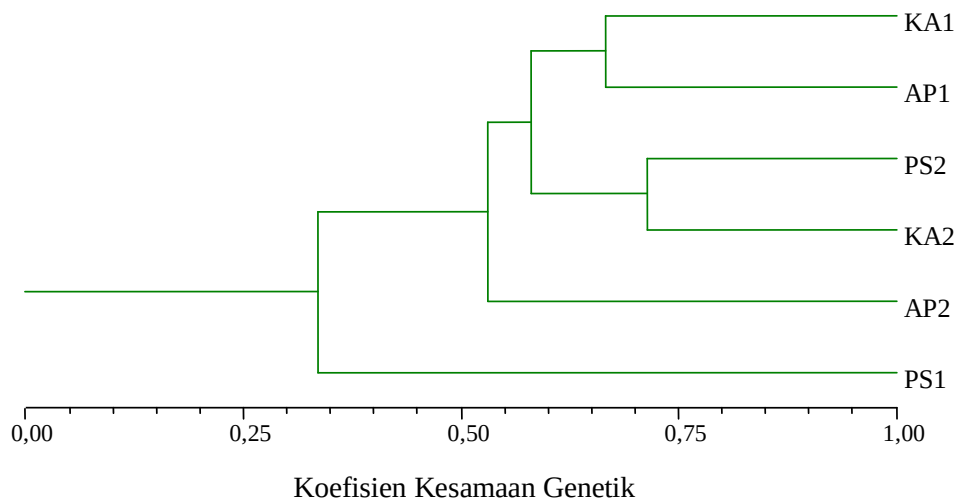
Dari pengelompokan enam populasi parasitoid berdasarkan uji kesamaan diperoleh dua kelompok utama pada tingkat kesamaan 34%. Populasi yang termasuk kelompok pertama adalah KA1, AP1, PS2, KA2 dan AP2. Sedangkan kelompok kedua hanya ditempati oleh populasi PS1. Populasi AP2 mengelompok dengan populasi KA1, AP1, PS2 dan KA2 pada tingkat kesamaan 55%.

Pada tingkat kesamaan 60%, populasi KA1, AP1, PS2 dan KA2 membentuk dua kelompok dan baru pada tingkat kesamaan 65% populasi KA1 mengelompok dengan AP1. Sementara populasi PS2 mengelompok dengan populasi KA2 pada tingkat kesamaan 70%.

Kebugaran parasitoid dari populasi geografi berbeda. Parasitoid berasal dari populasi Kayu Aro menunjukkan kebugaran paling baik dibanding Pandai Sikek dan Alahan Panjang (Tabel 1). Jumlah telur, lama hidup dan laju peletakkan telur parasitoid Kayu Aro berbeda nyata ($P = 0,00$) sedangkan untuk telur hari I tidak menunjukkan perbedaan nyata ($P = 0,07$) antara ketiga populasi. Parasitoid yang berasal dari ketiga tempat menunjukkan perbedaan nyata pada kemampuan parasitisasi dan superparasitisasi ($P = 0,00$). Parasitoid



Gambar 1. Pola pita hasil amplifikasi enam sampel DNA *H. varicornis* dengan primer OPJ-04; A. dan OPN-16 (5'-AAGCGACCTG-3'); B. Kolom 1 adalah populasi KA1, kolom 2 populasi AP1, kolom 3 populasi AP2, kolom 4 populasi PS1, kolom 5 populasi PS2 dan kolom 6 populasi KA2



Gambar 2. Dendrogram kesamaan genetik penanda RAPD (primer OPN-16) antar populasi *H. varicornis* di Sumatera Barat

Tabel 1. Rataan lama hidup, jumlah telur, laju peletakkan telur dan telur hari I betina *H. varicornis* berasal dari ketinggian tempat berbeda

Parameter kebugaran	Daerah Asal		
	Pandai Sikek	Alahan Panjang	Kayu Aro
	$x \pm sd$	$x \pm sd$	$x \pm sd$
Lama hidup (hari)	$12,10 \pm 7,59$ b	$8,75 \pm 3,10$ b	$24,60 \pm 6,40$ a
Jumlah telur (butir)	$15,75 \pm 16,6$ b	$8,15 \pm 6,70$ b	$63,60 \pm 28,60$ a
Laju peletakkan telur (butir/hari)	$1,14 \pm 0,46$ b	$0,93 \pm 0,69$ b	$2,49 \pm 0,70$ a
Jumlah telur hari I (butir)	$0,45 \pm 0,70$ a	$0,50 \pm 0,50$ a	$1,10 \pm 1,40$ a

Perbedaan huruf kecil menurut baris, berbeda nyata pada taraf nyata 0,05 dengan uji Tukey (n = 20).

KA memiliki kemampuan parasitisasi dan superparasitisasi tertinggi dibanding Pandai Sikek dan Alahan Panjang (Tabel 2).

Masa praoviposisi yang dimiliki oleh masing-masing parasitoid berbeda. Parasitoid berasal dari KA memiliki masa praoviposisi lebih pendek daripada AP dan PS. Sebanyak 90% betina KA meletakkan telur pertama sebelum 12 jam sementara sebaliknya 90% AP dan 70% PS meletakkan telur pertama lebih dari 12 jam (Gambar 3).

Persilangan *H. varicornis* dari Populasi Berbeda Daerah. Persilangan interpopulasi *H. varicornis* tidak berpengaruh nyata terhadap lama hidup betina ($P = 0,0245$) dan lama hidup jantan ($P = 0,316$). Sebaliknya, interpopulasi menunjukkan pengaruh terhadap jumlah telur dan persentase keberhasilan telur menjadi imago ($P = 0,0$). Jumlah telur dari persilangan $PS_{\text{♀}} \times AP_{\text{♂}}$ memperlihatkan penurunan nyata (dibanding intrapopulasi $PS_{\text{♀}} \times PS_{\text{♂}}$), tetapi tidak demikian halnya pada interpopulasi $AF_{\text{♀}} \times PS_{\text{♂}}$ yang penurunannya tidak nyata (dibanding dengan intrapopulasi $AP_{\text{♀}} \times AP_{\text{♂}}$) (Tabel 3).

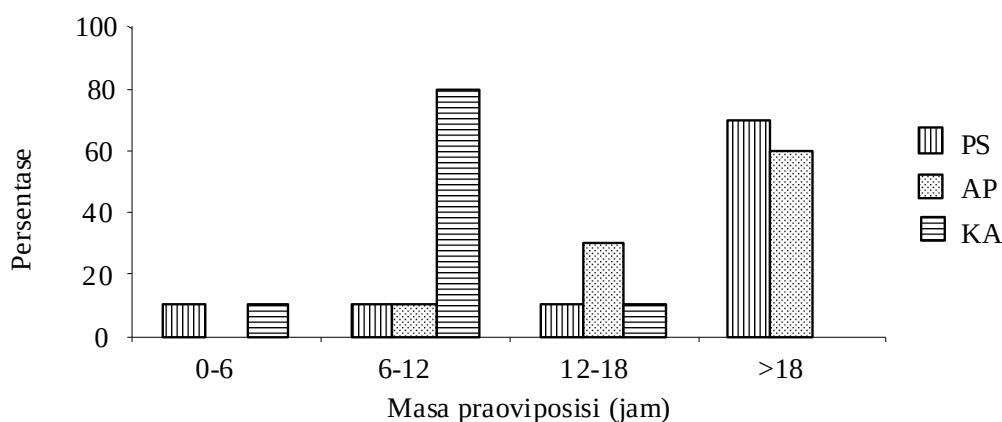
Nisbah kelamin anak yang dihasilkan dari setiap kombinasi persilangan menunjukkan perbedaan. Persilangan interpopulasi baik $PS_{\text{♀}} \times AP_{\text{♂}}$ maupun $AP_{\text{♀}} \times PS_{\text{♂}}$ menghasilkan jumlah anak betina lebih sedikit dan berbeda nyata ($P = 0,0013$ dan $P = 0,0026$) dibanding intrapopulasi masing-masingnya ($PS_{\text{♀}} \times PS_{\text{♂}}$ dan $AP_{\text{♀}} \times AP_{\text{♂}}$). Sementara, terhadap anak jantan yang dihasilkan, pada interpopulasi $AP_{\text{♀}} \times PS_{\text{♂}}$ tidak memperlihatkan perbedaan nyata ($P = 0,6103$), sedangkan pada $PS_{\text{♀}} \times AP_{\text{♂}}$ anak jantan yang dihasilkan berbeda nyata ($P = 0,0006$) (Tabel 4). Nilai

RC dari persilangan AP dan PS masing-masing 0,70 dan 0,61% untuk $AF_{\text{♀}} \times PS_{\text{♂}}$. Sesuai kategori oleh Pinto *et al.* (1991) nilai tersebut mengindikasikan inkompatibel pada persilangan populasi AP dan PS.

Keragaman genetik. Populasi *H. varicornis* yang terdistribusi di Pandai Sikek, Alahan Panjang dan Kayu Aro menunjukkan variasi genetik cukup tinggi. Keragaman genetik yang cukup tinggi disebabkan oleh terdapat hambatan geografis terutama jarak yang cukup besar untuk memungkinkan terjadi perpindahan populasi secara alami. Jarak antara Pandai Sikek dan Alahan Panjang kurang lebih 140 km demikian pula dari Alahan Panjang ke Kayu Aro berjarak lebih kurang 160 km (Gambar 4).

Distribusi parasitoid terbawa dalam perpindahan komoditi melalui jalur perdagangan sangat efektif. Fase telur atau larva parasitoid dapat terbawa bersamaan inang *L. huidobrensis* dalam liang korokan daun. Hal ini dapat terjadi disebabkan rentang waktu pamarasitan (stadium larva) *H. varicornis* berkisar antara 3 sampai 4 hari sehingga cukup waktu untuk bertahan dan berpindah dalam jarak yang panjang. Rute transportasi perdagangan komoditi sayuran yang selama ini berlangsung adalah dari Kayu Aro melalui Alahan Panjang sampai ke Bukittinggi dan sekitarnya (Pandai Sikek) (Gambar 4). Oleh karena itu sangat memungkinkan terjadi perpindahan populasi dari KA ke AP dan PS sehingga menyebabkan tingkat kesamaan yang cukup besar antara KA2 dan PS2 (70%) dan KA1 dan AP1 (65%) (Gambar 2).

Akan tetapi, bagaimana terjadi perbedaan genetik cukup besar pada populasi-populasi dalam satu hamparan lansekap agroekosistem dapat terjadi? Kami



Gambar 3. Masa praoviposisi *H. varicornis* berasal dari Pandai Sikek (PS), Alahan Panjang (AP) dan Kayu Aro (KA)

Tabel 2. Kemampuan parasitisasi dan superparasitiasi *H. varicornis* yang berasal dari Pandai Sikek, Alahan Panjang dan Kayu Aro

Daerah asal	Rataan inang dipaparkan (ekor)	Rataan inang diparasit (ekor)	Parasitisasi (%)	Super parasitiasi (ekor)	Super parasitiasi (%)
KA	73,8	40	53,60 a	14,4	19,26 a
PS	36,3	11,05	29,20 b	3,15	6,38 b
AP	26,25	6,2	23,54 b	1,15	4,27 b

Perbedaan huruf kecil menurut kolom, berbeda nyata pada taraf nyata 0,05 dengan uji Tukey.

Tabel 3. Lama hidup, jumlah telur dan persentase telur survival dari perkawinan intra dan interpopulasi *H. varicornis*

Parameter biologi	Intrapopulasi		Interpopulasi	
	AP♀ x AP♂	PS♀ x PS♂	AP♀ x PS♂	PS♀ x AP♂
Lama hidup betina (hari)	24,55 ± 1,80 a	30,55 ± 1,80 a	22,56 ± 2,69 a	22,90 ± 2,55 a
Lama hidup jantan (hari)	18,35 ± 3,67 a	21,05 ± 5,62 a	19,30 ± 3,16 a	19,50 ± 4,74 a
Jumlah telur/betina (butir)	18,00 ± 2,69 b	37,85 ± 18,59 a	10,40 ± 2,17 b	8,30 ± 2,21 b
Telur jadi imago (%)	66,00 ± 3,64 a	40,98 ± 3,64 b	71,33 ± 5,43 a	68,30 ± 5,15 a

Angka-angka dalam baris yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama dibelakangnya menunjukkan perbedaan tidak nyata dengan menggunakan Uji Tukey pada taraf nyata $\alpha=0,05$.

Tabel 4. Perbandingan jumlah anak jantan dan betina dan nilai RC hasil persilangan *H. varicornis* geografi berbeda

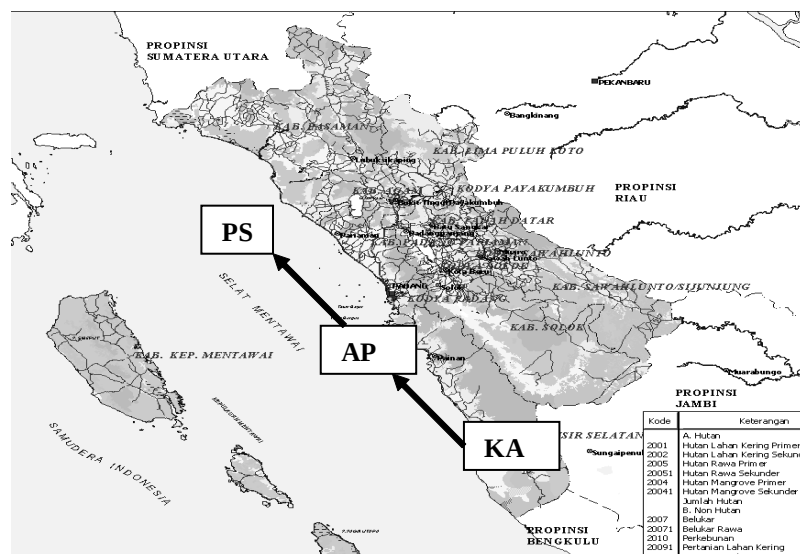
Kombinasi perkawinan	n	Jumlah anak		MSR ²	RC ³	Keterangan
		♂	♀			
(intrapopulasi)AP♀ x AP♂	20	5,00 ± 0,45 a ¹	6,4 ± 3,30 a ¹	0,56		
(interpopulasi)AP♀ x PS♂	10	4,60 ± 0,64 a ¹	2,9 ± 0,57 b ¹	0,39	0,70 ⁴	Inkompatibel
(intrapopulasi)PS♀ x PS♂	20	6,90 ± 0,45 x ¹	7,3 ± 4,88 x ¹	0,51		
(interpopulasi)PS♀ x AP♂	10	3,80 ± 0,64 y ¹	1,7 ± 0,95 y ¹	0,31	0,61 ⁴	Inkompatibel

¹ Perbandingan jenis kelamin anak dari masing-masing persilangan intrapopulasi dan interpopulasi menggunakan UjiTukey ($\alpha=0,05$).

² MSR (mean sex ratio) adalah proporsi anak betina dalam satu generasi keturunan.

³ RC (reproductive compatibility) adalah perbandingan MSR interpopulasi dengan intrapopulasi (Liu *et al.*, 2002).

⁴ Nilai RC<75% menunjukan inkompatibel (Pinto *et al.*, 1991).



Gambar 4. Pola penyebaran potensial *H. varicornis* mengikuti jalur transportasi tanaman inang (tanda panah)

menduga keragaman intraspesifik intrapopulasi yang tinggi pada populasi PS1 dan PS2, KA1 dan KA2 serta AP1 dan AP2 disebabkan oleh hambatan akibat adanya fragmentasi habitat dan kemampuan terbang parasitoid yang terbatas. Fragmentasi habitat dapat berupa tanaman non inang yang ditemukan menyusun struktur vegetasi agroekosistem. Di Alahan Panjang dan Kayu Aro tanaman inang yang dominan adalah kentang sedangkan di Pandai Sikek tanaman buncis. Berbeda dengan di Alahan Panjang dan Kayu Aro dimana tanaman kentang dengan areal yang cukup luas, di Pandai Sikek buncis hanya ditanam dalam areal sangat kecil dan adakalanya hanya sebagai tanaman selingan. Disamping itu, struktur vegetasi di Pandai Sikek lebih didominasi oleh tanaman padi yang bukan tanaman inang *Liriomyza* sehingga menyebabkan hambatan yang selalu ditemukan. Dengan demikian, adanya fragmentasi habitat menyebabkan populasi satu dengan lainnya menjadi terpisah sehingga tidak memungkinkan terjadi aliran gen (*gen flow*).

Faktor lain penyebab tingginya keragaman parasitoid dalam satu daerah adalah keterbatasan kemampuan terbang imago. Hal ini diduga kuat sebagai penyebab tingkat ketidaksamaan populasi dalam satu daerah menjadi rendah (PS1 dan PS2 <35%, AP1 dan AP2 <55%, KA1 dan KA2 < 60%). Keterbatasan penerbangan akan menjadi lebih tinggi bila ditemukan halangan (*barrier*) yang berupa tanaman non inang dalam ekosistem. Oleh karena itu diperlukan kajian terhadap kemampuan terbang imago yang akan menjelaskan hal ini lebih mendalam.

Kebugaran parasitoid. Parasitoid berasal dari Kayu Aro memperlihatkan kebugaran paling baik diantara ketiga populasi. Kemampuan meletakkan telur ternyata sangat ditentukan masa hidup betina. Hal serupa diperlihatkan pula pada parasitoid yang berasal dari beberapa daerah di Jawa. Betina berasal dari Pangalengan dengan lama hidup lebih panjang memiliki keperidian tertinggi dibanding betina berasal dari Banjarnegara, Garut dan Wonosobo (Reflinaldon *et al.*, 2000). Kemampuan meletakkan telur sepanjang hidup betina merupakan salah satu karakter parasitoid synovigenik seperti pada *H. varicornis*. Masa pematangan telur dapat berlangsung selama hidup betina. Oleh karena itu, kebutuhan sumber nutrisi bagi betina mutlak dibutuhkan dalam pematangan telur (Hidayani, 2005).

Masa praoviposisi yang lebih cepat pada KA (Gambar 1) ternyata tidak memiliki kaitan dengan peletakkan telur hari pertama. Praoviposisi cenderung memerlukan masa lebih lama pada synovigenik sehingga berkaitan dengan perilaku dewasa imago untuk mencari pakan sebelum menemukan inang.

Inkompatibilitas. Persilangan interpopulasi APbxPSj dan PSbxAPj menunjukkan inkompatibilitas karena proporsi anak betina yang dihasilkan menjadi lebih sedikit. Kejadian ini dapat disebabkan oleh meningkatnya telur yang tidak difertilisasi sehingga menghasilkan kelamin jantan. Pada sistem reproduksi arenotoki, telur yang dibuahi (*fertilized egg*) berkembang menjadi jantan (Godfray, 1994). Penjelasan lainnya, telur-telur yang

telah dibuahi gagal berkembang menjadi betina karena mengalami kematian sebelum matang. Dalam percobaan ini terlihat tingkat keberhasilan telur menjadi imago hanya sekitar 70% pada persilangan interpopulasi (Tabel 2). Hal yang sama ditemukan pada inkompabilitas antar strain *Trichogramma deion* Stouthamer *et al.* (2000). Pada beberapa kasus dilaporkan bahwa ditemukan adanya isolasi reproduksi yang bersifat *postzygotyc* oleh jenis bakteri sitoplasmik yaitu *Wolbachia* pada parasitoid *Nasonia* yang disilangkan dari berbagai populasi sehingga menghasilkan keturunan yang bias jantan (Bordenstein *et al.*, 2000).

SIMPULAN

Keragaman *H. varicornis* dari berbagai tempat pertanaman sayuran di Sumatera Barat ternyata cukup tinggi terlihat dari karakter molekuler dan sifat kebugarannya. Parasitoid yang berasal dari populasi Kayu Aro memiliki potensi reproduksi paling baik dibanding populasi parasitoid dari Pandai Sikek dan Alahan Panjang. Persilangan antar populasi *H. varicornis* dari Alahan Panjang dan Pandai Sikek mengindikasikan ketidaksesuaian reproduksi.

SANWACANA

Terima kasih disampaikan kepada DP3M Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi yang mendanai sebagian penelitian melalui Program Penelitian Hibah Bersaing XV tahun 2003-2005. Ucapan terima kasih dan penghargaan juga disampaikan kepada Sdr. Reflinur, Damanhuri, Astridawati dan Sugiartati yang membantu dalam pengumpulan data di lapang dan laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Bordenstein SR, Drapeau MD & Werren JH. 2000. Intraspecific variation in sexual isolation in jewel wasp *Nasonia*. *Evolution* 54(2): 567–573.
- Diehl SR & GL Bush. 1984. An evolutionary and applied perspective of insect biotypes. *Annu. Rev. Entomol.* 29: 471–483.
- Godfray HCJ. 1994. *Parasitoid behavioural and evolutionary biology*. Princeton Univ. Press. Chichester.UK.
- Hidayat P. 2000. Aplikasi teknik RAPD-PCR untuk studi parasitoid. Makalah dalam Pelatihan Parasitoid Pusat Kajian Pengendalian Hama Terpadu, 2-25 Februari 2000.
- Hidayani. 2005. *Hemiptarsenus varicornis* (Girault) (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoid *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae): bioekologi dan parasitisasi. *Disertasi*. Bogor, Institut Pertanian Bogor.
- Hoy MA. 1994. *Insect Molecular Genetics, An Introduction to Principles and Applications*. Academic Press.
- Liu, Shu-sheng, Gebremeskel FB & Shi, Zu-hua. 2002. Reproductive compatibility and variation in survival and sex ratio between two geographic populations of *Diadromus collaris*, a pupal parasitoid of the diamond back moth, *Plutella xylostella*. *Biocontrol* 47: 625–643.
- Loxdale HD, Brookes CP & De Barro PJ. 1996. Application of novel molecular markers (DNA) in agricultural entomology Pp. 150–198 In: Symondson WOC & Liddell JE, eds. *The Ecology of Agricultural Pests*. Chapman and Hall.
- Mackenzie A, Ball AS & Virdee SR. 1998. *Instant Notes in Ecology*. Bios Scientific Pub. Ltd. Oxford.
- Meilin A. 1999. Keragaman karakter morfologi dan genetik populasi parasitoid telur, *Trichogramma* spp. dan *Trichogrammatoidea* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) dari daerah geografis berbeda di Pulau Jawa. *Tesis* Program Pascasarjana, IPB.
- Purnomo, Rauf A, Sosromarsono S & Santoso T. 2003. Parasitoid lalat pengorok daun pada pertanaman kentang dan tumbuhan liar di wilayah Pangalengan. Makalah Kongres PEI dan Simposium Entomologi VI, 5-7 Maret 2003.
- Pinto JD, Stouthamer R, Platner GR & Oatman ER. 1991. Variation in reproductive compatibility in *Trichogramma* and its taxonomic significance (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 84: 37–46.

- Rauf A. 2003. Pengembaraan hama invasif *Liriomyza* spp. pada peralihan dan awal milenium II: respon petani dan musuh alami di Indonesia. Makalah Kongres PEI dan Simposium Entomologi VI, 5-7 Maret 2003.
- Rauf A & Shepard BM. 1999. Leafminers in vegetables in Indonesia: Survey of host crops, species composition, parasitoids and control practices. Paper presented in Workshop on leafminers of vegetables in Southeast Asia. Malaysia, CAB Int. 2-5 February 1999.
- Reflinaldon, Rauf A & Novizar. 1999. *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae): Tantangan petani di dataran tinggi Sumatera Barat. *J. Manggaro* 1(2): 49–52.
- Reflinaldon, Yaherwandi, Hidrayani & Damayanthi B. 2000. Fragmentasi habitat dan keragaman parasitoid *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae) pada berbagai struktur lansekap. Laporan Penelitian Domestic Collaboration Research Grant (DCRG). Urge Project.
- Sembel DT, Kandawangko DS & Watung J. 2003. Survey on *Liriomyza* spp. (Diptera: Agromyzidae) and their parasitoids in North Sulawesi. Makalah Kongres PEI dan Simposium Entomologi VI, 5-7 Maret 2003.
- Stouthamer R, Jochemsen P, Platner GR & Pinto JD. 2000. Crossing incompatibility between *Trichogramma minutum* and *T. platneri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): Implication for application in biological control. *Environ. Entomol.* 29(4): 832-837.