

KEANEKARAGAMAN DAN KEKERABATAN LALAT BUAH (DIPTERA: TEPHRITIDAE) DI KALIMANTAN SELATAN BERDASARKAN KARAKTER MORFOLOGI DAN MOLEKULAR (RAPD-PCR DAN SEKUENSING DNA)

M Indar Pramudi¹, Retno Dyah Puspitarini², & Bambang Tri Rahardjo²

¹Program Studi Ilmu Tanaman Pascasarjana Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya

²Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya

E-mail: indar_pramudi@yahoo.com

ABSTRACT

Diversity and phylogeny of fruit fly (Diptera: Tephritidae) in South Kalimantan based on morphology and molecular (RAPD-PCR and DNA sequencing). Seven species of fruit fly was known by morphological identification. The fruit flies were found from trapping with methyl eugenol and fruit collecting at all study sites in South Kalimantan. The results showed that as much as 17 plants were infected by fruit fly. Dendrogram based on morphological identification analyzed by using UPGMA with MEGA 4 program consisted in a group consisting of 5 sub-groups. *Bactrocera carambolae* and *Bactrocera papayae* of morphology were still a closely related fruit fly at 0.935. Whereas, based on RAPD result analyzed by UPGMA using 20 character of DNA based, showed that out of seven species consisted 2 groups, 1st group were *B. umbrosa*, *B. occipitalis* and sub-group of *B. latifrons*. The second group consists of sub-groups *B. carambolae*, *B. papayae*, sub-group *B. albistrigata* and *B. cucurbitae*. The results of dendrogram from sequencing DNA fruit fly analysis comprised one of group and three sub-groups. The first sub-groups were *B. papayae*, *B. carambolae*, *B. occipitalis*, *B. latifrons*. The second subgroup were *B. cucurbitae* and *B. umbrosa*. While *B. albistrigata* separate but still one group with another fruit flies. The results of DNA sequencing showed that there were a homology of the seven species of the fruit fly i.e at 83 base pair / bp (C), 101 bp (T), 265 bp (G), 420 bp (A), 432 bp (T), 600 bp (A). The length of the base pair for *B. occipitalis*, *B. cucurbitae*, *B. albistrigata*, *B. carambolae*, *B. papayae*, *B. latifrons* were respectively 615, 898, 570.969, 898 and 615 bp. The results of morphological analysis and RAPD methods showed difference in the distribution of groups and sub-groups. But based on morphological and DNA identification seven species of fruit flies found were all same as the genebank.

Key words: DNA sequencing, fruit fly, morphology, PCR-RAPD, South Kalimantan

ABSTRAK

Keanekaragaman dan kekerabatan lalat buah (Diptera: Tephritidae) di Kalimantan Selatan berdasarkan karakter morfologi dan molekular (RAPD-PCR dan sekuensing DNA). Tujuh spesies lalat buah telah diketahui dari identifikasi morfologi lalat buah. Lalat buah ini didapatkan dari pemasangan perangkap dengan metil eugenol dan pengumpulan buah pada semua lokasi penelitian di Kalimantan Selatan. Diketahui 17 jenis tanaman yang diserang lalat buah dari pemeliharaan larva lalat buah hingga menjadi imago. Dendrogram hasil analisis UPGMA dari identifikasi morfologi dengan program MEGA 4 adalah satu kelompok yang terdiri atas 5 sub kelompok. *Bactrocera carambolae* dan *Bactrocera papayae* dari ciri-ciri morfologi masih berkerabat dekat sebesar 0,935, sedangkan dendrogram hasil RAPD dari 20 karakter pita DNA, menunjukkan ketujuh spesies itu terbagi ke dalam dua kelompok. Kelompok pertama terdiri atas sub kelompok *B. umbrosa*, *B. occipitalis* dan sub kelompok *B. latifrons*. Kelompok kedua terdiri dari atas sub kelompok *B. carambolae*, *B. Papayae* dan sub kelompok *B. albistrigata*, *B. cucurbitae*. Dendrogram dari sekuensing DNA lalat buah adalah satu kelompok dan 3 sub kelompok. Sub kelompok pertama adalah *B. papayae*, *B. carambolae*, *B. occipitalis*, *B. latifrons*. Sub kelompok kedua *B. cucurbitae* dan *B. umbrosa*. *B. albistrigata* terpisah tetapi masih satu kelompok yang sama dengan lalat buah lainnya. Hasil sekuensing DNA menunjukkan adanya homologi dari ketujuh spesies lalat buah tersebut yaitu pada 83 base pair/ bp (C), 101 bp (T), 265 bp (G), 420 bp (A), 432 bp (T), 600 bp (A). Panjang base pair untuk *B. occipitalis*, *B. cucurbitae*, *B. albistrigata*, *B. carambolae*, *B. papayae*, *B. latifrons* berturut-turut adalah 615, 898, 570, 969, 898 dan 615 bp. Hasil analisis dari ciri morfologi dan metode RAPD menunjukkan perbedaan dalam pembagian kelompok dan sub kelompok. Tetapi dari identifikasi secara morfologi dan DNA ketujuh spesies lalat buah yang ditemukan sama dengan data dari genebank.

Kata kunci : DNA sekuensing, Kalimantan Selatan, lalat buah, morfologi, PCR-RAPD,

PENDAHULUAN

Lalat buah sebagai hama tanaman telah diketahui sejak tahun 1920, yaitu menyerang mangga di pulau Jawa. Pada tahun 1938, lalat buah juga dilaporkan menyerang cabai, jambu, belimbing dan sawo. Pada populasi tinggi, intensitas serangannya dapat mencapai 60-100 % (Kuswadi, 2001; Griffith University dan Ministry of Agriculture, 2008). Sebagian besar lalat buah ini bersifat polifag (Ortiz *et al.*, 2006) dan dapat menurunkan produksi buah-buahan dan sayuran, baik secara kuantitas maupun kualitas (Sodiq, 1993; Kuswadi, 2001; Soesilohadi, 2002; Siwi *et al.*, 2006).

Kesalahan atau kesulitan dalam identifikasi serangga secara morfologi dapat terjadi. Kalsoven (1981) menyatakan bahwa terdapat enam spesies lalat buah di Indonesia yaitu *Dacus dorsalis* Hendel, *D. pedestris* Fabricius, *D. cucurbitae* Coquillett, *D. umbrosus* Fabricius, *D. caudatus* Fabricius dan *Adrama determinata* Walker (Diptera: Tephritidae). Genus *Dacus* yang sebelumnya diidentifikasi terdapat di Indonesia, merupakan kekeliruan dari identifikasi dari genus *Bactrocera*. *Dacus* berasal dari Afrika bukan dari Indonesia (White & Hancock, 2007). Dengan demikian, semua yang disebut sebagai *Dacus* dalam buku Kalshoven (1981) perlu diganti menjadi *Bactrocera*. Contoh perbedaan morfologis yang sulit dibedakan satu sama lain antara *B. carambolae* dan *B. papayae* karena kedekatan kekerabatannya sehingga dari ukuran tubuh dan sayap terlihat sama. Prof. Totok Himawan menyatakan bahwa sangat dekatnya hubungan kekerabatan telah menyebabkan berbaurnya kedua spesies tersebut. Keduanya merupakan spesies kembar (simpatrik) dengan perbedaan morfologi yang sangat kecil sehingga untuk dapat membedakannya perlu alat bantu (lup atau mikroskop), tidak seperti spesies lain yang bisa dibedakan langsung dengan melihat pola gambar sayap dan abdomennya. Keduanya sangat mirip namun memiliki perbedaan dalam preferensi inang, dan habitat (Hasil komunikasi pribadi).

Adanya perbedaan dari beberapa hasil identifikasi lalat buah secara morfologi atau konvensional ini menunjukkan adanya kelemahan pada metode identifikasi konvensional tersebut. Metode konvensional yang berdasarkan ciri morfologi kurang akurat akibat adanya pengaruh perubahan-perubahan lingkungan. Karakter-karakter morfologi sering tidak menggambarkan hubungan genetik akibat adanya interaksi lingkungan dan sejumlah kontrol genetik yang tidak diketahui, sehingga perlu dilakukan karakterisasi molekuler untuk mendapatkan hasil yang akurat dalam mengkarakterisasi perbedaan spesies (McPherson & Steck, 1996; Smith *et*

al., 2003; Siwi, 2004). Penggunaan marka molekuler RAPD banyak digunakan untuk menyusun kekerabatan beberapa individu dalam spesies maupun kekerabatan antar spesies.

Penggunaan marka molekuler RAPD juga sangat efektif pada serangga hama yang jarak migrasinya sangat jauh seperti pada belalang *Locusta migratoria* Linn. (Orthoptera: Acridiidae) (Heckel, 1995). Metode RAPD menggunakan oligonukleotida tunggal pendek (primer), sepanjang 10-12 basa, untuk membentuk fragmen-fragmen DNA. Metode ini mampu menghasilkan jumlah karakter yang tidak terbatas sehingga sangat membantu dalam analisis keragaman genetik (Anggereini, 2008; Fatchiyah & Estri, 2011).

Sampai saat ini informasi tentang spesies dan kelimpahan lalat buah di Kalimantan Selatan masih sedikit serta masih adanya kesalahan / kesulitan dalam identifikasi yang dilakukan berdasarkan morfologi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman jenis, kelimpahan populasi, tanaman inang lalat buah di Kalimantan Selatan. Identifikasi spesies lalat buah dalam penelitian ini dilakukan secara morfologi dan molekuler (RAPD).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan metode survei dilakukan dalam dua tahap, yaitu pengumpulan contoh lalat buah (pemasangan perangkap dan pengumpulan buah terserang lalat buah) dan penelitian keanekaragaman berdasarkan karakter morfologi, RAPD dan sekuensing DNA. Penelitian ini dilaksanakan pada dua kabupaten dan satu kota di Kalimantan Selatan, yaitu Kabupaten Barito Kuala dan Kabupaten Banjar serta Kota Banjarbaru. Pada masing-masing lokasi itu ditetapkan tiga kecamatan contoh dan pada setiap kecamatan ditetapkan satu desa contoh, sehingga terdapat sembilan desa contoh. Kecamatan dan desa-desa itu adalah Bakumpai (Desa Lepas), Mandastana (Desa Karang Indah), Rantau Badauh (Desa Pindahan Baru), Martapura Barat (Desa Sungai Batang), Karang Intan (Desa Sungai Alang), Astambul (Desa Kelampaian), Banjarbaru Selatan (Desa Sungai Besar), Landasan Ulin (Desa Guntung Payung), Cempaka (Desa Gunung Kupang). Penetapan jenis tanaman contoh pada setiap desa contoh tidak sama karena perbedaan jumlah dan jenis tanaman buah-buahan. Jenis tanaman contoh yang diamati pada semua desa contoh adalah 44 tanaman. Setiap jenis tanaman contoh, ditetapkan lima tanaman contoh secara acak. Pada setiap tanaman contoh dipasang sebuah perangkap, sehingga jumlah seluruh perangkap adalah 1980 (9 desa

x 44 jenis tanaman contoh x 5 pohon). Identifikasi lalat buah dilakukan di Laboratorium Entomologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat, dan Laboratorium Genetika dan Biologi Molekuler Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang. Penelitian dilakukan pada bulan Agustus 2012 sampai Januari 2013.

Pemasangan Perangkap. Perangkap yang digunakan adalah perangkap Steiner yang telah dimodifikasi. Perangkap dengan atraktan metil eugenol yang telah disiapkan digantung pada dahan atau ranting pohon contoh dengan ketinggian lebih kurang 2 m dari permukaan tanah (Suputa *et al.*, 2007). Pemasangan perangkap dilakukan selama enam minggu. Setiap minggu lalat buah yang terperangkap diambil, ditempatkan di dalam botol dan dibawa ke laboratorium untuk dihitung kelimpahannya. Penambahan atraktan pada perangkap dilakukan setiap kali setelah pengambilan lalat buah.

Pengumpulan Buah Terserang Lalat Buah dilakukan dari tanaman contoh yang sama dengan yang dipasang perangkap dan dilakukan pada hari yang sama dengan pengambilan lalat buah di perangkap. Pengambilan buah terserang dilakukan lima kali. Buah yang diambil adalah buah yang busuk dengan bintik hitam di permukaan kulit buahnya. Buah yang diambil per tanaman contoh sebanyak satu kantong plastik berukuran 1 kg. Kemudian buah-buahan dimasukkan ke toples yang sudah disediakan di laboratorium dan diamati setiap hari sampai muncul imago. Imago yang muncul dihitung kelimpahannya (Asrida & Susilo, 2001; Swibawa *et al.*, 2003).

Ekstraksi DNA dan Amplifikasi DNA. Teknik ekstraksi DNA menggunakan seekor lalat buah untuk tiap tabung ependorf dengan metode Goodwin *et al.* (1994), Bahagiawati & Habib (2005) dan untuk setiap spesies lalat buah diambil 20 ekor secara acak. Lalat buah ditempatkan pada tabung ependorf kemudian ditambahkan 125 µl buffer ekstraksi CTAB (CTAB 2%, NaCl 1.4 M, Tris-HCl 100 mM, EDTA 20 mM dan Polyvinylpyrrolidone (PVP-40) 1% dan dihaluskan dengan pistil mikro plastik. Kemudian lalat buah yang sudah dihaluskan tadi diinkubasikan pada 65° C selama 5 menit. Selanjutnya ditambahkan 125 µl kloroform: isoamil alkohol (24:1) dan diinkubasikan pada suhu ruang selama 20 menit sebelum disentrifugasi pada 8000 rpm selama 5 menit. Supernatan dipindahkan (90 µl) pada tabung baru dan ditambahkan 10 µl NaOAc 3 M (pH 5.2) dan 250 µl etanol absolut (-20° C) kemudian

diinkubasikan selama 30 menit pada suhu -20° C. Supernatan dibuang setelah disentrifugasi 11500 rpm selama 15 menit. Pelet dicuci dengan 200 µl etanol 70 % (-20° C) dan disentrifugasi pada 11500 rpm selama 2 menit. Etanol dibuang kemudian pelet dikeringanginkan selama 10 menit selanjutnya pelet ditambah dengan 10 µl air steril. DNA hasil ekstraksi diamplifikasi dengan teknik RAPD berdasarkan metode Gavel & Bartlett (1993). Primer yang digunakan sebanyak lima primer berdasarkan dari penelitian sebelumnya oleh Zhang & Zhang (2007) yang berasal dari omegabiotech (Tabel 1). Campurkan 10 µl PCR master mix, 5 µl ddH₂O, 3 µl primer dengan konsentrasi 5 µM, 2 µl DNA spesies lalat buah dengan konsentrasi 20ng/µl ke dalam PCR tube. Setting program PCR yang digunakan seperti pada Tabel 2.

DNA lalat buah hasil PCR diletakkan di atas es atau disimpan di pendingin sebelum digunakan. Sebanyak 3 µl DNA lalat buah hasil PCR dicampur dengan 2 µl *loading dye*, kemudian ditambahkan 100 bp DNA ladder dan dimasukkan ke dalam *well gel agarose* 1% (w/v) dalam 1X TBE. Kemudian gel dielektroforisis pada 80 Volt selama 60 menit. Hasil elektroforesis direndam dalam 1 mg l⁻¹ ethidium bromide, kemudian diambil gambarnya dengan meletakkan pada lampu ultraviolet agar terlihat pita DNA yang dihasilkan.

Sekuensing DNA. Fragmen DNA hasil aplikasi selanjutnya disekuensing untuk melihat susunan DNA masing-masing spesies lalat buah dengan menggunakan mesin sekuensing ABI-:Prisma 3100-avant Genetic analyzer.

Analisis Keragaman Morfologi. Penciri utama yang digunakan ialah ada tidaknya *medial postsutural vittae* dan *lateral postsutural vittae*. Pada bagian sayap penciri utama yang digunakan adalah *basal costal*, *costal*, *microtrichia*, *costal band*, *anal streak*, dan pola sayap. Pada bagian abdomen, penciri utama yang digunakan ialah ada tidaknya gambaran pola T pada terga, menyatu atau tidaknya antar terga ke dua dan seterusnya, serta pola warna pada bagian terga. Identifikasi lalat buah dilakukan dengan kunci determinasi berdasarkan morfologi (Drew 1989; Drew & Hancock, 1994; Siwi *et al.*, 2006; Griffith University & Kementerian Pertanian Indonesia, 2008) dan program Cabikey 2007. Dari perbedaan morfologi yang ada pada setiap spesies lalat buah dibuat menjadi data biner yang selanjutnya dipakai dalam analisis keragaman morfologi dengan metode pengelompokan Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA). Data scoring

Tabel 1. Primer yang digunakan dalam teknik RAPD (Zhang & Zhang, 2007)

Primer	Sequence (5'-3')
OPC-01	TTCGAGCCAG
OPI-17	GGTGGTGATG
OPL-07	AGGCGGGAAC
OPL-08	AGCAGGTGGA
OPL-16	AGGTTGCAGG

Tabel 2. Setting program PCR untuk amplifikasi DNA

Siklus	Proses	Suhu (°C)	Waktu (Menit)
Siklus 1		94	2
Siklus 2 to 35	Denaturing	94	1
	Annealing	60	1
	Extension	72	1
Final extension		72	5

yang telah tersusun dimasukkan dalam program pengolah data Mega 4 (Tamura *et al.*, 2007).

Analisis Keragaman Hasil RAPD. Pola pita DNA hasil elektroforesis dari PCR-RAPD digunakan untuk mempelajari keanekaragaman lalat buah. Pita-pita DNA diubah kedalam bentuk data biner dengan memberi nilai 1 jika ada pita dan 0 jika tidak ada pita (Bahagiawati & Habib, 2005; Fatchiyah & Estri, 2011; Smith *et al.*, 2003; Sappanukhro *et al.*, 2011). Selanjutnya data biner tersebut dianalisis dengan program Mega 4 (Tamura *et al.*, 2007).

Analisis Keragaman Hasil Sekuensing. Sekuen DNA ketujuh spesies lalat buah kemudian *alignmen* dengan program Bioedit dan clustalw2 dari European bioinformatics institute (<http://www.ebi.ac.uk/serve/clustalw>). Kemudian hasil sekuens DNA dicocokkan dengan memanfaatkan informasi sekuens DNA yang tersedia dalam genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Selanjutnya dianalisis keragaman genetik dengan program pengolah data Mega 4.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeliharaan larva yang berasal dari buah terserang dan perangkap lalat buah yang dipasang didapatkan tujuh spesies lalat buah (Tabel 3 dan 4). Spesies tersebut yaitu *B. papayae*, *B. carambolae*, *B. cucurbitae*, *B. umbrosa*, *B. occipitalis*, *B. latifrons* dan *B. albistrigata*. Spesies tersebut didapatkan dari

18 tanaman yang menjadi inang lalat buah. Satu jenis tanaman dapat menjadi inang dari dua atau lebih spesies lalat buah. Belimbing dan mangga diserang oleh tiga spesies lalat buah sedangkan nangka diserang oleh dua spesies (Tabel 3). Spesies tersebut merupakan spesies lalat buah yang dilaporkan sudah ada di Indonesia (Ginting, 2009).

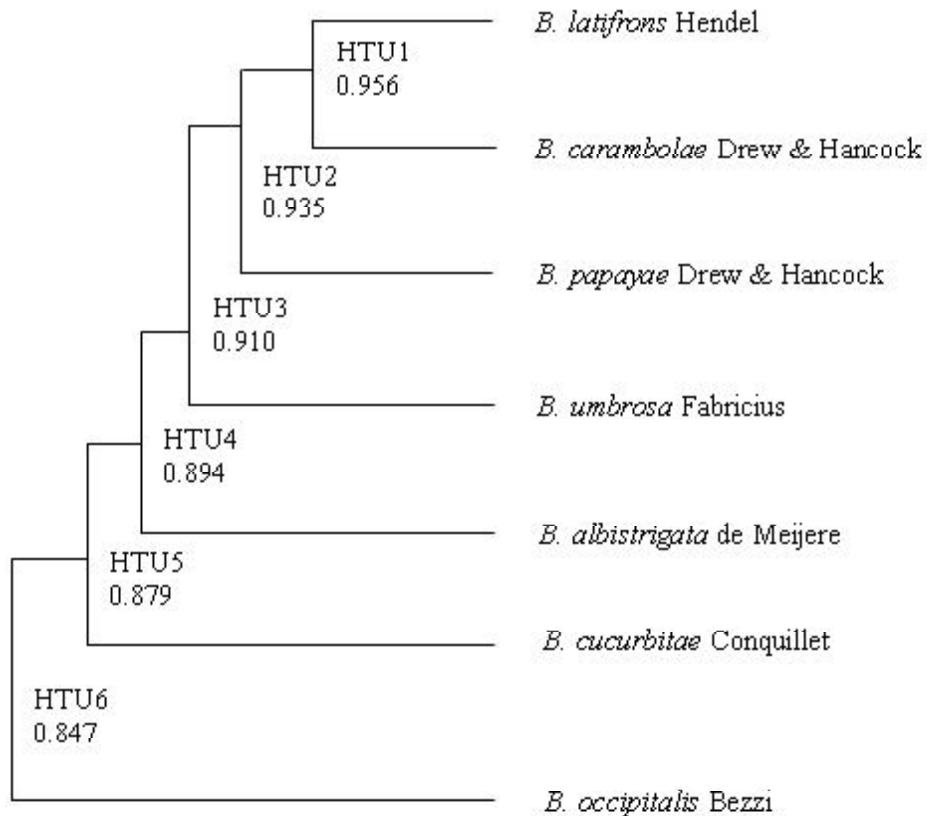
Ketujuh spesies lalat buah yang diperoleh dari perangkap di tiga kabupaten menunjukkan adanya perbedaan populasi (Tabel 5). *B. carambolae* merupakan spesies dengan tingkat populasi dan kelimpahan tertinggi pada ketiga kabupaten tersebut. Di kabupaten Banjarbaru, populasi *B. albistrigata* paling rendah yaitu 47 individu (0,304%) sedangkan *B. cucurbitae* tidak ditemukan. Di Barito Kuala dan Banjar, *B. cucurbitae* rendah yaitu satu individu (0,096%) dan dua individu (0,021%). Populasi lalat buah tiap kecamatan dengan kategori rendah 42%, menengah 10%, tinggi 38%, tidak ada populasi 10%.

Berdasarkan teknik identifikasi morfologi yang kemudian dianalisis UPGMA dengan menggunakan program MEGA 4, didapatkan satu kelompok yang terdiri atas lima sub kelompok. Sub kelompok pertama dimulai dari *B. latifrons* dan *B. carambolae* dengan jarak 0,957 dan diakhiri dengan sub kelompok kelima *B. occipitalis* sebesar 0,847. Jarak koefisien antar tujuh spesies lalat buah ini rata-rata sebesar 0,02 (Gambar 1).

Hasil amplifikasi DNA total dengan teknik PCR-RAPD pada tujuh spesies menunjukkan adanya polimorfisme pada ukuran pita 500 bp (Gambar 2 dan

Tabel 3. Berbagai spesies lalat buah yang didapatkan dari hasil pemeliharaan larva sampai menjadi imago dari pengumpulan buah terserang lalat buah

No.	Tanaman Inang	Jenis lalat buah
1	Belimbing (<i>Averrhoa carambola</i> Linn) (Oxalidaceae)	<i>B. carambolae</i> , <i>B. papayae</i> , <i>B. latifrons</i>
2	Mangga (<i>Mangifera indica</i> Linn) (Anacardiaceae)	<i>B. carambolae</i> , <i>B. occipitalis</i> , <i>B. umbrosa</i>
3	Nangka (<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lamarck) (Moraceae)	<i>B. latifrons</i> , <i>B. umbrosa</i>
4	Pepaya (<i>Carica papaya</i> Linn) (Caricaceae)	<i>B. carambolae</i> , <i>B. papayae</i>
5	Tomat (<i>S. lycopersicum</i> Linn)(Solanaceae)	<i>B. carambolae</i> , <i>B. papayae</i>
6	Jeruk siam (<i>Citrus nobilis</i> Lour) (Rutaceae)	<i>B. carambolae</i> , <i>B. papayae</i>
7	Jambu air (<i>Eugenia aquea</i> Burm F) (Myrtaceae)	<i>B. carambolae</i> , <i>B. albistrigata</i>
8	Jambu biji (<i>Psidium guajava</i> Linn) (Myrtaceae)	<i>B. carambolae</i> , <i>B. occipitalis</i>
9	Cabai besar (<i>Capsicum annum</i> Linn) (Solanaceae)	<i>B. latifrons</i>
10	Cabai rawit (<i>C. frutescens</i> Linn) (Solanaceae)	<i>B. latifrons</i>
11	Sukun (<i>A. altilis</i> Fosberg) (Moraceae)	<i>B. latifrons</i>
12	Cempedak (<i>A. champeden</i> Spreng) (Moraceae)	<i>B. umbrosa</i>
13	Kecapi (<i>Sandoricum koetjape</i> Merr) (Meliaceae)	<i>B. papayae</i>
14	Tigarun (<i>Crataeva nurvala</i> Buch. Ham.) (Capparaceae)	<i>B. carambolae</i>
15	Belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> Linn) (Oxalidaceae)	<i>B. carambolae</i>
16	Labu (<i>Cucurbita maxima</i> Duchesne) (Cucurbitaceae)	<i>B. cucurbitae</i>
17	Gambas (<i>Luffa acutangula</i> (Linn) Roxb) (Cucurbitaceae)	<i>B. cucurbitae</i>
18	Timun (<i>Cucumis sativus</i> Linn)(Cucurbitaceae)	<i>B. cucurbitae</i>



Gambar 1. Dendrogram tujuh spesies lalat buah hasil pemasangan perangkat dan pengumpulan buah berdasarkan identifikasi secara morfologi.

Tabel 4. Hasil pemantauan lalat buah dengan perangkap (*Trapping*)

Lalat buah	Lokasi			Vegetasi
	Banjarbaru	Barito Kuala	Banjar	
<i>B. carambolae</i>	LU, BS, CK	MA, BA, RB	KI, MB, AS	Belimbing, nangka, mangga, jeruk, sawi, tomat, cabe, bayam, rambutan, sawo, nanas, jambu air, sirsak, petai, labu, kundur, durian, pampaken, buah mentega, belimbing wuluh, ketapi, srikaya, kedondong, sukun, kopi, kelengkeng, melinjo, kalalayu, pepaya, balangkasua, cempedak, mengkudu
<i>B. papayae</i>	LU, BS, CK	MA, BA, RB	KI, MB	Sawi, , nangka, tomat, belimbing, cabe, nanas, sawo, rambutan, pisang, jambu biji, jeruk, sirsak, petai, labu, kundur, durian, pampaken, buah mentega, belimbing wuluh, ketapi, srikaya, sukun, kelengkeng, jambu air, cempedak, melinjo, kopi, kalalayu, balangkasua, mengkudu, pepaya
<i>B. umbrossa</i>	LU, BS, CK	MA, BA, RB	KI, MB, AS	Sawo, rambutan, sawi, nangka, tomat, belimbing, jeruk, jambu biji, pisang, bayam, mangga, buah mentega, belimbing wuluh, ketapi, srikaya, sukun, labu, kelengkeng, kalalayu, balangkasua, cempedak, pepaya
<i>B. albistrigata</i>	BS	MA	-	jambu biji, jambu air
<i>B. latifrons</i>	LU, BS	BA	MB	nangka, belimbing, rambutan, sawo, sirsak, petai, durian, pampaken, cempedak, labu, pepaya, cabai
<i>B. cucurbitae</i>	-	BA	MB	Mentimun, gambas, sawo
<i>B. occipitalis</i>	LU, BS, CK	BA	KI, MB, AS	Kelengkeng, pepaya, jambu air, jambu Bangkok, kecapi, belimbing, tomat, Nangka, sukun, cempedak, cabe, labu

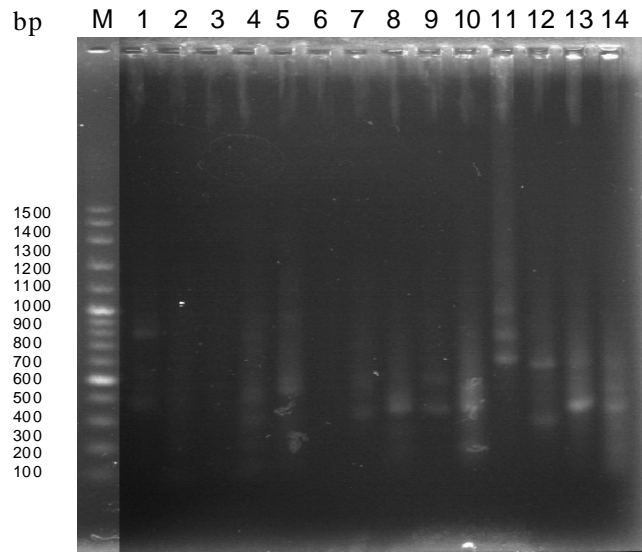
LU (Landasan Ulin), BS(Banjarbaru Selatan), CK (Cempaka), MA (Mandastana), BA (Bakumpai), RB (Rantau Badauh), KI (karang Intan), MB (Martapura barat), AS (Astambul).

Tabel 5. Kelimpahan populasi lalat buah dari pemasangan perangkap pada setiap kabupaten di Kalimantan Selatan

Spesies	Banjarbaru		Barito Kuala		Banjar	
	Populasi	Persentase	Populasi	Persentase	Populasi	Persentase
<i>B. carambolae</i>	3890	25,2	377	36,3	3049	32,0
<i>B. papayae</i>	3116	20,2	224	21,6	2548	26,8
<i>B. umbrosa</i>	3435	22,2	211	20,3	2112	22,3
<i>B. albistrigata</i>	47	0,3	20	1,9	0	0,1
<i>B. latifrons</i>	2323	15,1	153	14,7	977	10,3
<i>B. cucurbitae</i>	0	0,0	1	0,1	2	0,0
<i>B. occipitalis</i>	2649	17,1	52	5,0	838	8,8

Tabel 6). Hasil analisis UPGMA dengan program MEGA 4 untuk nilai koefisien perbedaan jarak ketidaksamaan yang didasarkan pada 20 karakter PCR-RAPD (Tabel 6 dan 7) didapatkan dua kelompok.

Kelompok pertama terbagi menjadi dua sub kelompok yaitu *B. umbrosa* dan *B. occipitalis* dengan jarak koefisien 0,900 dan sub kelompok *B. latifrons* dengan jarak koefisien 0,700. Kelompok kedua terbagi menjadi



Gambar 2. Hasil amplifikasi DNA lalat buah dengan PCR menggunakan marker 100 bp (M), nomor 1 sampai 14 adalah *B. albistrigata*1, *B. carambolae*1, *B. latifrons*1, *B. umbrosa*7, *B. albistrigata*7, *B. occipitalis*7, *B. papayae*7, *B. occipitalis*16, *B. umbrosa*16, *B. papayae*16, *B. albistrigata*17, *B. occipitalis*17, *B. occipitalis*8, *B. latifrons*8. Angka dibelakang spesies menunjukkan primer yang digunakan (OPL07, OPC01, OPL08, OPL16, OPL17).

2 sub kelompok yaitu sub kelompok *B. papayae* dan *B. carambolae* dengan jarak koefisien 0,850, sub kelompok kedua *B. cucurbitae* dan *B. albistrigata* dengan jarak koefisien 0,900 dengan jarak koefisien keduanya 0,775. Jarak koefisien dari dua kelompok tersebut sebesar 0,670 (Gambar 3).

Hasil dari amplifikasi DNA total dari hasil PCR RAPD dengan primer yang digunakan dipilih hasil PCR yang terbaik dalam mengaplikasikan pita DNA dari semua spesies lalat buah yang sebelumnya sudah dipurifikasi terlebih dahulu, kemudian dilakukan sekuensing menggunakan mesin sekuensing menunjukkan adanya homologi pada bagian sekuen DNA dari ketujuh spesies lalat buah tersebut yaitu pada 83 base pair/ bp (C), 101 bp (T), 265 bp (G), 420 bp (A), 432 bp (T), 600 bp (A). Panjang base pair berturut-turut untuk *B. occipitalis*, *B. cucurbitae*, *B. albistrigata*, *B. carambolae*, *B. papayae*, *B. umbrosa* adalah 615, 898, 570, 969, 898 dan 615 dengan kecocokan pada genebank 100%, *B. latifrons* 615 bp dengan kecocokan pada genebank 98% (Tabel 8).

Hasil clustalw menunjukkan ada beberapa bagian sekuen yang memiliki homologi. *B. papayae* dan *B. cucurbitae* mempunyai tingkat kesamaan yang tinggi 86% (771 pasang basa yang sama). *B. papayae* dan *B. occipitalis* 65% (591). Lalat buah yang relatif mirip susunan nukleotida adalah *B. carambolae* dan *B.*

papayae dari 1 sampai 85 sama pasangan basanya tetapi tingkat kesamaannya rendah 36%. Sedangkan untuk *B. latifrons*, *B. albistrigata*, *B. umbrosa* sangat rendah tingkat kesamaannya dengan kata lain ketiga spesies ini berbeda keragamannya.

Hasil analisis UPGMA dengan program MEGA 4 untuk nilai koefisien perbedaan jarak ketidaksamaan yang didasarkan pada sekuen dari DNA tujuh spesies lalat buah didapatkan satu kelompok yang terdiri atas tiga sub kelompok. Sub kelompok pertama yaitu *B. papayae*, *B. carambolae*, *B. occipitalis*, *B. latifrons*. Sub kelompok kedua yaitu *B. cucurbitae* dan *B. umbrosa*. Sedangkan sub kelompok ketiga yaitu hanya *B. albistrigata* (Gambar 4).

Hasil amplifikasi DNA metode RAPD menunjukkan hasil polimorfisme pada pita-pita DNA (William *et al.*, 1990). Adanya perubahan sekecil apapun dalam reaksi dapat mengubah jumlah dan intensitas produk amplifikasi sehingga keterulangan sulit untuk dipertahankan (Asokan *et al.*, 2007; Anggereini, 2008). Hal yang harus diperhatikan pada proses PCR yaitu kesterilannya, karena PCR rentan terhadap kontaminasi. Walaupun terdapat kontaminasi yang sangat kecil, baik pada DNA maupun bahan-bahan PCR, maka hasilnya akan berbeda. Sedangkan kesulitan dalam memakai teknik RAPD yaitu: (1) tingkat reproduksibilitas pola penanda hasil percobaan dari laboratorium ke

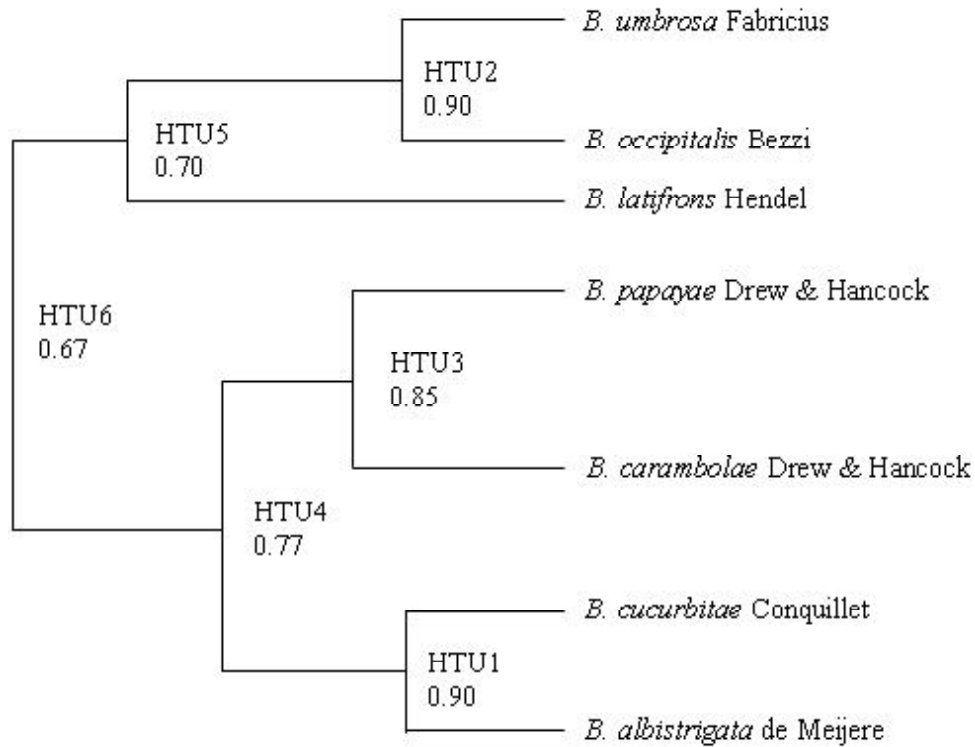
Tabel 6. Matrik data karakter molekuler RAPD tujuh spesies lalat buah hasil dari elektroforesis

Spesies	Karakter (bp)																			
	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	600	650	700	750	800	850	900	950	1000
<i>B. carambolae</i>	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>B. papayae</i>	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>B. umbrossa</i>	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>B. occipitalis</i>	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>B. albistrigata</i>	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1
<i>B. latifrons</i>	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>B. cucurbitae</i>	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1

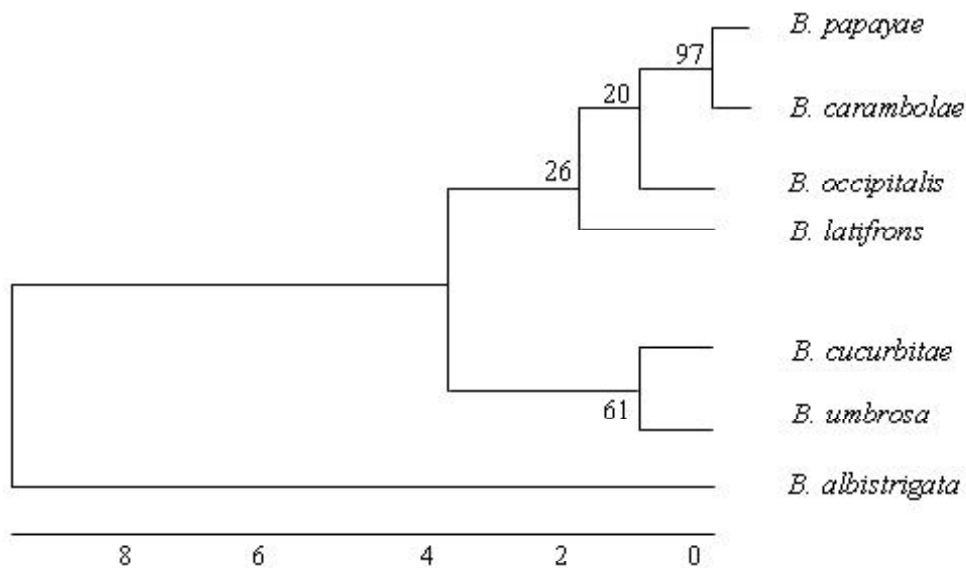
Tabel 7. Matrik jarak genetik tujuh spesies lalat buah dari hasil RAPD berdasarkan analisis UPGMA

OUT	B. a	B.ca	B.cu	B.la	B.oc	B.pa	B.um
<i>B. albistrigata</i>	1						
<i>B. carambolae</i>	0,750	1					
<i>B. cucurbitae</i>	0,900	0,850	1				
<i>B. latifrons</i>	0,700	0,650	0,700	1			
<i>B. occipitalis</i>	0,700	0,550	0,700	0,700	1		
<i>B. papayae</i>	0,700	0,850	0,800	0,700	0,500	1	
<i>B. umbrossa</i>	0,800	0,650	0,800	0,700	0,900	0,600	1
HTU1(1 3)	0,950	0,800	0,950	0,700	0,700	0,750	0,800
HTU2(5 7)	0,750	0,600	0,750	0,700	0,950	0,550	0,950
HTU3(2 6)	0,725	0,925	0,825	0,675	0,525	0,925	0,625
HTU4(8 10)	0,838	0,863	0,888	0,688	0,613	0,838	0,713
HTU5(4 9)	0,733	0,617	0,733	0,800	0,867	0,600	0,867
HTU6(11 12)	0,785	0,740	0,810	0,744	0,740	0,719	0,790

B.a (*B. albistrigata* de Meijere), B.ca (*B. carambolae* Drew & Hancock), B.cu (*B. cucurbitae* Coquillet), B.la (*B. latifrons* Hendel), B. oc (*B. occipitalis* Bezzi), B. pa (*B. papayae* Drew dan Hancock), B. um (*B. umbrosa* Drew & Hancock).



Gambar 3. Dendrogram tujuh spesies lalat buah hasil pemasangan perangkat dan pengumpulan buah berdasarkan karakter molekuler (PCR-RAPD).



Gambar 4. Dendrogram tujuh spesies lalat buah hasil sekuensing DNA.

laboratorium berbeda bahkan dalam laboratorium yang sama, (2) sangat sensitif terhadap variasi konsentrasi DNA, dan (3) memerlukan konsentrasi primer dan kondisi siklus suhu yang optimal pada saat pengujian. Muladno (2010) menambahkan RAPD tidak dapat membedakan individu homozigot dan heterozigot karena bersifat sebagai penanda dominan serta sulit mendeteksi

perubahan yang kecil pada struktur DNA. Sekuens DNA penyusun gen dari satu spesies seringkali mirip (homolog) dengan sekuens DNA penyusun gen yang sama dari spesies lain. Berbeda dengan sekuens DNA bukan gen, sehingga urutan sekuens DNA tertentu hanya terdapat pada spesies tertentu saja.

Tabel 8. Perbandingan hasil sekuen DNA tujuh spesies lalat buah dari Kalimantan Selatan

	10	20	30	40	50	60	70	80
<i>B. papayae</i>	CGACAATGGT TATTCTCAAC	AAATCATAAA GATATTGGAA	CTTTATATTT TATCTTCGGA	GCCTGAGCAG GAATAGTAGG				
<i>B. carambolae</i>	CGACAATGGT TATTCTCAAC	AAATCATAAA GATATTGGAA	CTTTATATTT TATCTTCGGA	GCCTGAGCAG GAATAGTAGG				
<i>B. umbrosa</i>	TTAGTGGCAG CTGAACTAGG	TCACCCCGGG GCATTAATTG	GAGAC--GA TCAAATCTAT	AATGTAATTG TAACAGCACA				
<i>B. cucurbitae</i>	CGACAATGGC TATTTTCAAC	GAACCATAAA GATATCGGAA	CATTATATTT TATTTTCGGA	GCTTGAGCAG GTATAGTGGG				
<i>B. latifrons</i>	-----CTAG TTCGAGCTGA	ATTAGGGCAC CCCGAGCAT	TAATCGGAGA C--GACCAA	ATTTATAATG TAATCGTAAC				
<i>B. albistrigata</i>	GCCGGTAAAT TTTGAATGGT	TCGAAAGGAT TTACCAGCT	GCGCTTGTGG TGGGCGAAGT	GTGTGAATCA CCCTCACATT				
<i>B. occipitalis</i>	CGACAATGGT TATTCTCAAC	AAATCATAAA GATATTGGAA	CTTTATATTT TATCTTCGGA	GCCTGAGCAG GAATAGTAGG				
	90	100	110	120	130	140	150	160
<i>B. papayae</i>	AACATCCCTT AGAATTTTAG	TCCGAGCTGA ACTCGGTCAC	CCAGGAGCTT TAATCGGTGA	C--GATCAA ATTTATAATG				
<i>B. carambolae</i>	AACATCCCTT ---AGAATTT	TAGTCCGAGC TGAACCTGGT	CACCCAGGAG CTTTAATTGG	TGAC--GAT CAAATTTATA				
<i>B. umbrosa</i>	TGCTTTCGCG ATGATTTTTT	TATAGITAT GCCCATTATA	ATCGGGGGCT TCGGAAACTG	GCTTGTTCCT CTAATACTAG				
<i>B. cucurbitae</i>	AACATCTCTT AGAATCTTAG	TCCGGGCGAGA ACTGGGTCAC	CCAGGAGCTT TAATCGGAGA	T--GATCAA ATCTATAATG				
<i>B. latifrons</i>	AGCCCATGCT TTCGTAATAA	TTTTCTTAT AGTTATACCT	ATTATAATTG GTGGGTTTCG	AAATGACTG GTTCCGTAA				
<i>B. albistrigata</i>	GGCGTGCCAA ACAGACGCTG	TCACAGTGGG TGGATGGTCA	TGGTGTACCA GGCATTAGCG	GCATAGATAC GCGTACACTC				
<i>B. occipitalis</i>	AACATCCCTT AGAATTTTAG	TCCGAGCTGA ACTCGGTCAC	CCAGGAGCTT TAATCGGTGA	C--GATCAA ATTTATAATG				
	170	180	190	200	210	220	230	240
<i>B. papayae</i>	TAATTGTAAC AGCTCATGCT	TTCGTAATAA TTTTCTTAT	AGTTATACCA ATTATAATTG	GTGGATTTGG AAATTGACTT				
<i>B. carambolae</i>	ATGTAATTTT AACAGCTCAT	GCTTTTCGTA TAATTTTCTT	TATAGTTATA CCAATTATAA	TGGTGGGATT TGGAATTTGA				
<i>B. umbrosa</i>	GAGCACCCGA CATAGCATT	CCACGAATGA ATAATATAAG	ATTTTGATTA TTGCCTCCTT	CCCTTACGCT ACTGTTAGTA				
<i>B. cucurbitae</i>	TCATCGTAAC AGCTCATGCA	TTTGTATGA TTTTTTTCAT	AGTGATACCT ATTATAATTG	GAGGATTTGG AAATTGACTA				
<i>B. latifrons</i>	TACTAGGTGC ACCAGATATA	GCATTTCCAC GAATAAACAA	TATAAGATTT TGGTACTAC	CTCCTTCCCT TACATATTA				
<i>B. albistrigata</i>	ACGAAAAGA AATTGAGAA	ACTTGGTTGC CGAGTGTTCG	GTTAAGGAGC GAAACCAACA	AATTTGGGTA GTCTAACTT				
<i>B. occipitalis</i>	TAATTGTAAC AGCTCATGCT	TTCGTAATAA TTTTCTTAT	AGTTATACCA ATTATAATTG	GTGGATTTGG AAATTGACTT				
	250	260	270	280	290	300	310	320
<i>B. papayae</i>	GTTCCTTTAA TATTAGGAGC	TCCCGATATA GCATTTCCAC	GAATGAATAA TATAAGATTT	TGTTATTAC CTCCTTCCCT				
<i>B. carambolae</i>	CTTGTTCCTT TAATA--TT	AGGAGCTCCC GATATAGCAT	TCCACGAAT GAATAATATA	AGATTTTGTAT TATTACCTCC				
<i>B. umbrosa</i>	AGAAGCATAG TAGAAAACGG	AGCTGGTACA GGTGAAACGG	TTTACCACC CCTATCATCA	GTTATCGCCC ACGGAGGAGC				
<i>B. cucurbitae</i>	GTACCCCTAA TACTAGGAGC	GCCAGATATA GCATTTCCCTC	GAATGAATAA TATAAGATTT	TGATTATTAC CTCCTCTCT				
<i>B. latifrons</i>	TTAGTGAGAA GCATAGTGA	AAATGGAGCT GGTACAGGCT	GAACAGTTTA CCTTCCCCTA	TCATCTGTTA TTGCTCATGG				
<i>B. albistrigata</i>	TGCCATCCA AATTGAGAA	ACTTGGTTGC CGAGTGTTCG	GTTAAGGAGC GAAACCAACA	AATTTGGGTA GTCTAACTT				
<i>B. occipitalis</i>	GTTCCTTTAA TATTAGGAGC	TCCCGATATA GCATTTCCAC	GAATGAATAA TATAAGATTT	TGTTATTAC CTCCTTCCCT				
	330	340	350	360	370	380	390	400
<i>B. papayae</i>	TACATTACTA TTAGTAAGAA	GTATAGTGA AAACGGAGCT	GGTACAGGTT GAACAGTTA	CCCACCCTA TCATCTGTTA				
<i>B. carambolae</i>	TTCCCTTACA TTACTATTAG	TAAGAAGTAT AGTAGAAAAC	GGAGCTGGTA CAGGTGAAAC	AGTTTACCA CCCTATCAT				
<i>B. umbrosa</i>	ATCAGTCGAT TACTACTATT	TTTCACTCCA CTAGCTGGT	ATCTCTTCAA TTCTAGGGGC	CGTAAATTTT ATTACTACAG				
<i>B. cucurbitae</i>	TACATTACTT TTAGTGAGCA	GTATAGTGA AAACGGAGCT	GGTACAGGTT GAACAGTTA	TCCCTCCCCT TCATCAATTA				
<i>B. latifrons</i>	AGGAGCATCA GTCGATCTAG	CTATTTTCTC ATTACACTTA	GCCGGAATTT CTCAATCTT	AGGAGCAGTT AACTTCATCA				
<i>B. albistrigata</i>	GTATTTGTGC CATCGACTGT	GGTTTGAAGC TGAATCAGAT	TAAGTGTCTT GTGTCACGTG	GTGCGCGTGT CGATTTGGTA				
<i>B. occipitalis</i>	TACATTACTA TTAGTAAGAA	GTATAGTGA AAACGGAGCT	GGTACAGGTT GAACAGTTA	CCCACCCTA TCATCTGTTA				
	410	420	430	440	450	460	470	480
<i>B. papayae</i>	TTGCACACGG AGGAGCTTCA	GTTGACCTAG CTATTTTTTC	ACTTCACTTA GCGGGTATT	CCTCAATTTT AGGAGCAGTA				
<i>B. carambolae</i>	CTGTTATTGC GCACGGAGGA	GCTTCAGTTG ATCTA--GC	TATTTTTTCA CTTCACTTAG	CAGGTATTTC CTCAATTTTA				
<i>B. umbrosa</i>	TTATTAATAT GCGGTCAACA	GGCATCTCAT TTGACCGAAT	ACCTCTTTC GTTTGAGCAG	TGTATAAC AGCCCTAITA				
<i>B. cucurbitae</i>	TCGCTCATGG TGGAGCCTCA	GTTGATTTAG CTATTTTTTC	TCTACATTA GCTGGTATT	CATCAATTTT AGGGGCCGTA				
<i>B. latifrons</i>	CAACAGTAAT CAACATACGA	TCAACAGGAA TTTCAATCGA	CCGAATGCTT CTTTTCGTT	GAGCAGTTGT ACTAACGGCC				
<i>B. albistrigata</i>	CTTGGAATT ATCCACTGAA	AGAGGAGGAG TTTGATGGG	TCCTTATTAG TAACGGTCT	GGTGATCCGG TTGTATGCAA				
<i>B. occipitalis</i>	TTGCACACGG AGGAGCTTCA	GTTGACCTAG CTATTTTTTC	ACTTCACTTA GCGGGTATT	CCTCAATTTT AGGAGCAGTA				
	490	500	510	520	530	540	550	560
<i>B. papayae</i>	AATTTTATTA CAACAGTAAT	TAATATACGA TCAACAGGAA	TCACCTTTGA TCGAATACCT	CTATTCGTTT GAGCAGTTGT				
<i>B. carambolae</i>	GGAGCAGTAA AITTCATTAC	AACAGTAATT AATATACGAT	CGACAGGAAT CACCTTTGAT	CGAATACCTC TATTTCGTTG				
<i>B. umbrosa</i>	CTTTTATTAT CACTTCCAGT	TTTAGCGGGA GCTATTACNA	TATTATTAAC AGACCAGAA	TTAAACACCT CTTTTTTCGA				
<i>B. cucurbitae</i>	AATTTTATTA CTACAGTAAT	TAATATGCGA TCAACAGGAA	TCACATTTGA CCGGATACCT	TTATTCGTTT GAGCTGTAGT				
<i>B. latifrons</i>	CTATTACTCT TACTGTACT	ACCAGTTTTA GCGGGAGCTA	TTACCATGCT ATTAACAGAT	CGAAATTTAA ATACTTCATT				
<i>B. albistrigata</i>	GGACACAGTT ACACAGATAC	AACGAGTTTT GAAGAATGGC	AAGAAACCGA TCTTCGGTAT	TTGTTGGGT CATCAACTGC				
<i>B. occipitalis</i>	AATTTTATTA CAACAGTAAT	TAATATACGA TCAACAGGAA	TCACCTTTGA TCGAATACCT	CTATTCGTTT GAGCAGTTGT				
	570	580	590	600	610	620	630	640
<i>B. papayae</i>	ATTAACAGCT TTATTACTTT	TATTATCATT ACCAGTTTTA	GCAGGAGCTA TTACTATACT	ACTAACAGAC CGAAACTTAA				
<i>B. carambolae</i>	AGCAGTAGTA TTAACAGCTT	TATTACTTTT ATTATCATT	CCAGTTTTAG CGGG--GC	TATTACTATA TTAATAACAG				
<i>B. umbrosa</i>	CCCCGACGGA GGGGGGGACC	NNNNNTATA CCAACATTTA	TTCTGATTTT TTGGTCAC	-----				
<i>B. cucurbitae</i>	AITGACAGCT CTTCTTTTAC	TTCATCTCT ACCTGTATA	GCTGGAGCTA TTACTATACT	TTAAACAGAC CGAAATTTAA				
<i>B. latifrons</i>	CTTTGACCCC GCTGGAGGAG	GAGATCTTAT CCTTACCAA	CACTTATTTT GATTTTTTGG	TCAC-----				
<i>B. albistrigata</i>	TCGCAACCGC-----							
<i>B. occipitalis</i>	ATTAACAGCT TTATTACTTT	TATTATCATT ACCAGTTTTA	GCAGGAGCTA TTACTATACT	ACTAACAGAC CGAAACTTAA				
	650	660	670	680	690	700	710	720
<i>B. papayae</i>	ATACTTCTTT TTTTGACCCT	GCCGGAGGAG GAGATCTTAT	TCTTTACCAA CATTATTTT	GATCTTTGG ACACCCANNN				
<i>B. carambola</i>	ACCGAACTT AAATACTTCC	TTTTTTGACC CTGCGGAGG	AGGAGATCCT ATCTTTACC	AACATTTATT TTGATCTTT				
<i>B. cucurbitae</i>	ACACTCTTT CTTGACCCG	GCTGGTGGTG GAGACCCTAT	TTTATACCAA CATTATTTT	GATCTTTGG ACACCCTGAA				
<i>B. occipitalis</i>	ATACTTCTTT TTTTGACCCT	GCCGGAGGAG GAGATCTTAT	TCTTTACCAA CATTATTTT	GATCTTTGG ACACCCA--				
	730	740	750	760	770	780	790	800

Sekuen DNA yang mempunyai hubungan kekerabatan dapat diidentifikasi dengan menempati cabang atau outgroup yang berdekatan yang membentuk pohon filogenetika. Perbedaan DNA lebih banyak dipakai karena dianggap lebih stabil dalam perkembangan spesies dibandingkan dengan perbedaan morfologi (William *et al.*, 1990). Menurut Putra (2005) ada dua hal dasar yang digunakan untuk identifikasi yaitu menggunakan karakter tubuh seperti morfologi, anatomi, perilaku dan fisiologi. Selain itu, dapat dilakukan dengan memanfaatkan untai basa DNA yang terdapat pada sel-sel serangga sebagai pencirinya (Putra, 2005). Identifikasi DNA spesies dapat menjadi alat yang sangat berguna dalam entomologi meski tidak menggantikan identifikasi spesies secara konvensional. Identifikasi visual dapat digunakan untuk membedakan antara dua jenis karakteristik fisik dan perilaku sangat mirip atau identik. Sebuah identifikasi menyeluruh dari spesies melalui metode konvensional diperlukan sebelum menggunakan analisis DNA (Anggereini, 2008).

SIMPULAN

Identifikasi secara morfologi lalat buah hasil dari pemasangan perangkap dan pengumpulan buah terserang pada sembilan kecamatan di Kalimantan Selatan ditemukan tujuh spesies lalat buah yaitu *B. carambolae*, *B. papayae*, *B. umbrosa*, *B. occipitalis*, *B. albistrigata*, *B. cucurbitae* dan *B. latifrons*. Hasil analisis nilai koefisien perbedaan jarak ketidaksamaan yang didasarkan pada ciri morfologi dan metode RAPD menunjukkan perbedaan dalam pembagian kelompok dan sub kelompok. Hasil sekuensing DNA lebih mudah untuk membedakan *B. carambolae* dan *B. papayae* yang mempunyai hubungan kekerabatan sangat dekat. Perbedaan DNA lebih stabil dalam perkembangan spesies dibandingkan dengan perkembangan morfologis.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggereini E. 2008. Random amplified polymorphic DNA (RAPD), suatu metode analisis DNA dalam menjelaskan berbagai fenomena biologi. *J. Biosp.* 1(2):73-76.
- Asokan R, Khrisna Kumar NK, & Verghese A. 2007. Molecular identification of fruit flies *Bactrocera* spp. (Diptera: Tephritidae) using mitochondrial cytochrome oxidase I. *Curr. Sci.* 93(12): 1668-1669.
- Asrida E & Susilo FX. 2001. Respons berbagai jenis lalat buah belimbing terhadap pembungkusan buah. *J. Pen S. Tek.* 7(1): 76-86.
- Bahagiawati & Rijzaani H. 2005. Pengelompokan biotipe wereng cokelat berdasarkan hasil PCR-RAPD. *J. Hayati* 12(1):1-6.
- Drew RAI. 1989. The tropical fruit flies (Diptera: Tephritidae: Dacinae) of the Australasian and Oceanian regions. *J. Mem. Qd Mus.* 26: 1.
- Drew RAI & Hancock DL. 1994. The *Bactrocera dorsalis* Complex of fruit flies (Diptera: Tephritidae : Dacinae) in Asia. *Bulletin of Entomological Research: Supplement Series Number 2*. In Supplement 2. Departement of Primary Industries. Australia. 11-13.
- Fatchiyah & Estri LA. 2011. *Pelatihan analisis fingerprinting DNA tanaman dengan metode RAPD balai besar perbenihan dan proteksi tanaman perkebunan (BBP2TP) Surabaya*. Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH). Universitas Brawijaya. 4 – 6 Juli 2011.
- Gawel NJ & Bartlett AC. 1993. Characterization of differences between whiteflies using PCR-RAPD. *J. Insect Mol. Biol.* 2(1):33-38.
- Goodwin RH, Xue BG, Kuske CR, & Sears MK. 1994. Amplification of plasmid DNA to detect plant pathogenic mycoplasma like organisms. *J. Ann. Appl. Biol.* 124:27-36.
- Ginting R. 2009. *Keanekaragaman lalat buah (Diptera : Tephritidae) di Jakarta, Depok dan Bogor sebagai bahan kajian penyusunan analisis risiko hama*. Tesis. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Griffith University, Brisbane, Australia dan Ministry of Agriculture, Republic of Indonesia. 2008. Second training workshop on fruit flies of Indonesia: Their Identification and Pest Status. 10-14 March 2008.
- Heckel DT. 1995. Randomly amplified polymorphic DNA differences between strains of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) susceptible or resistant to *Bacillus thuringiensis*. *J. Ann. Entomol. Soc. Am.* 88 (4): 20 – 34.

- Kalshoven LGE. 1981. *Pest of crops in Indonesia*. Revised and Translated by PA Van Der Laan. PT. Ichtiar Baru. Jakarta.
- Kuswadi AN. 2001. Panduan Lalat Buah. Diunduh di http://www.deptan.go.id/ditlinhorti/makalah/lalat_buah.html pada tanggal 20 April 2012.
- Muladno. 2010. *Teknologi Rekayasa Genetika*. IPB Press.
- McPherson BA & Steck GJ, 1996. *Overview of research on the behavior of fruit flies*. In *Fruit Fly Pests: A World Assessment of Their Biology and Management*. Florida: St Lucie Press.
- Ortiz H, Frias D, & Selivon D. 2006. Taxonomy of Immature Stages: New Morphological Character for Tephritidae Larvae Identification. *Proceedings of the 7th International Symposium on Fruit Flies Economic Importance* 10-15 September 2006. Brasil. 29-44.
- Putra NS. 2005. *Hama lalat buah dan pengendaliannya*. Kanisus. Yogyakarta.
- Sappanukhro P, Petcharat J, Nualsri J, & Permkam S. 2011. Identification of *Liriomyza* spp. (Diptera: Agromyzidae) on yardlog bean and cucumber in Songkhla province: II. Using random Amplified polymorphic DNA (RAPD) and male distiphallus technique. Faculty of Natural Resources. Prince of Songkla University. *J. Agric. Tech.* 7(2):349-368.
- Siwi SS. 2004. *Jenis-jenis lalat buah penting di Indonesia dan macam tanaman inangnya*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian. Bogor.
- Siwi SS, Purnama H, & Suputa E. 2006. *Taksonomi dan bioekologi lalat buah di Indonesia* (Diptera:Tephritidae). Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian. Departemen of Agriculture, Fisheries and Forestry Australia.
- Smith PT, Srini K, & Karen AA. 2003. Phylogenetic relationships among *Bactrocera* species (Diptera: Tephritidae) inferred from mitochondrial DNA sequences. *J. Mol. Phylogenet. Evol.* 26:8-17.
- Sodiq M. 1993. Aspek biologi dan sebaran populasi lalat buah pada tanaman mangga dalam kaitan dengan pengembangan model pengendalian hama terpadu. *Disertasi*. Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
- Soesilohadi RCH. 2002. Dinamika populasi lalat buah, *Bactrocera carambolae* Drew dan Handcock (Diptera: Tephritidae). *Disertasi*. Program Pascasarjana, ITB.
- Suputa E, Martono Z, Hussein AT, & Arminudin. 2007. Preliminary study: *Odontoponera denticulata* as a potential predator to reduce true fruit fly population in Jogjakarta. *J. Ilmu-Ilmu Pertanian* 2007 edisi khusus 3:351-356
- Swibawa IG, Susilo FX, Murti I, & Ristiyani E. 2003. Serangan *Dacus cucurbitae* (Diptera: Trypetidae) pada buah mentimun dan pare yang dibungkus pada saat pentil. *J. HPT Tropika* 3(2): 43 -46.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, & Kumar S. 2007. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol Evol.* 24:1596-1599.
- William JGAR, Kublecik KJ, Liwak JA, Rafaski SV, & Tinggey. 1990. DNA Polymorphism amplified by arbitrary primers are useful genetic markers. *Nucleic Acid Res.* 18:6531-6535.
- White IM & Hancock DL. 2007. Pest species of Dacini (Tephritidae). CABIKEY for WINDOWS. CAB International. International Institute of Entomology dalam CAB International. 2007. Crop Protection Compedium. Global Module. 2nd Edition. CD-ROM.
- Zhang L & Zhang ZY. 2007. Random amplified polymorphic DNA identification of six *Bactrocera* (Diptera: Tephritidae) species in Yunnan province of Southwest China. *Chin. J. Appl. Ecol.* 2007. 18(5):1163-1166.