

**PENGGUNAAN DATA SEKUENS DNA DALAM PENENTUAN
VARIASI dan KEKERABATAN GENETIK KUTU KEBUL
(Homoptera; Aleyrodidae)**

OLEH

**HELNY LALAN
04112023**



**JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2008**

PENGGUNAAN DATA SEKUENS DNA DALAM PENENTUAN
VARIASI dan KEKERABATAN GENETIK KUTU KEBUL
(Homoptera: Aleyrodidae)

ABSTRAK

Penelitian dengan judul "Penggunaan Data Sekuens DNA dalam Penentuan Variasi dan Kekerbatan Genetik Kutu Kebul (Homoptera, Aleyrodidae)", telah dilakukan di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang dari bulan September sampai November 2008. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi spesies serta biotipe serangga vektor penyebar virus Gemini, dilanjutkan dengan penentuan kekerbatan genetik kutu kebul tersebut.

Sampel material isolasi DNA dieksplorasi dari 7 wilayah Kabupaten Kota se-Sumatra Barat (Padang, Solok, Pesisir Selatan, Tanah Datar, 50 Kota, Agam dan Pasaman Barat). Sampel DNA diisolasi dengan prosedur berdasarkan metode Goodwin *et al* (1994). Kegiatan dilanjutkan dengan Amplifikasi *in-vitro* menggunakan primer COI-RV (5'TTGATTTTTTGGTCATCCAGAAGT-3') dan COI-FW (5'TCCAAATGCAATAATCTGCCATATTA-3'). Sekuensing dilakukan di PT Charoen Phokphand Indonesia (CPI) secara *one read direction* menggunakan primer COI-RV. Penentuan spesies kutu kebul dilakukan dengan mengakses database pada database publik website NCBI melalui analisis BLAST. Jenis biotipe ditentukan berdasarkan prediksi jumlah titik potong fragmen nukleotidnya oleh enzim *Tru9I* dan *TaqI* yang berpedoman pada Bosco *et al* (2006). Studi kekerbatan dianalisis dengan Program NTSYS versi 2.02.

Hasil penelitian menyimpulkan bahwa terdapat dua jenis spesies kutu kebul yang ditemukan yaitu *Bemisia tabaci* dan *Trialeurodes vaporariorum* dengan derajat kemiripan inter spesies 62% dan intra spesies *B.tabaci* 96%. Dari prediksi jumlah titik potong enzim restriksi disimpulkan bahwa jenis biotipe *B.tabaci* yang ditemukan tersebut adalah biotipe M.

I. PENDAHULUAN

Variasi genetik merupakan salah satu aspek penting dalam bidang pemuliaan tanaman. Informasi tentang variasi genetik bukan hanya bermanfaat untuk keperluan perakitan varietas-varietas tanaman unggul berproduksi tinggi, tetapi juga untuk perakitan varietas dengan karakteristik istimewa lainnya seperti resistensi terhadap berbagai macam hama dan penyakit tanaman.

Teknik untuk menganalisis adanya keragaman genetik pada suatu populasi organisme, baik tumbuhan, hama maupun penyakit tanaman telah berkembang dengan pesat. Dimulai pada awalnya melalui akses terhadap variasi morfologi, fisiologi maupun biokimiawi. Bahkan saat ini dengan perkembangan teknik analisis molekuler berbasis DNA, maka teknik untuk mengakses variasi genetik organisme menjadi lebih beragam dengan berbagai macam tingkat akurasi maupun sensitifitasnya.

Sekuensing asam nukleat merupakan salah satu teknik yang dianggap paling akurat untuk melihat keanekaragaman hayati suatu kelompok organisme. Teknik ini berkembang setelah diciptakannya mesin *DNA sequencer*. Dengan perkembangan tersebut peluang untuk melihat variasi atau polimorfisme yang dimiliki suatu organisme menjadi semakin terbuka lebar.

Sekuens asam nukleat merupakan informasi dasar yang paling detail dan akurat untuk melihat polimorfisme yang dimiliki oleh suatu organisme. Polimorfisme dapat diamati pada bagian-bagian tertentu saja dari keseluruhan total genom yang dimiliki oleh suatu organisme. Hal ini berlaku terutama terhadap organisme-organisme yang memiliki struktur genom yang besar. Sedangkan untuk organisme dengan struktur dan ukuran genom yang sangat sederhana seperti virus, analisis variasi genetik memungkinkan untuk dapat dilakukan pada keseluruhan genom yang dimilikinya.

Sebenarnya analisis variasi genetik berbasis DNA dapat juga dilakukan dengan menggunakan teknik fingerprinting berbasis kepada polimorfisme perbedaan ukuran fragmen DNA. Akan tetapi dibandingkan dengan analisis berbasis sekuens, maka informasi berbasis ukuran fragmen sangat dibatasi oleh kemampuan primer untuk menghasilkan fragmen dalam berbagai ukuran serta

resolusi elektrophoresis untuk memvisualisasi diferensiasi fragmen yang diperoleh. Di samping itu, jumlah lokus yang dapat dihasilkan sangat dibatasi kepada jumlah fragmen yang dapat diperoleh dari satu primer. Oleh karena itu, maka polimorfisme berbasis asam nukleat dianggap merupakan teknik yang paling akurat dan sensitif dalam studi variasi genetik dan kekerabatan suatu organisme.

Berbagai penelitian telah banyak dilakukan dengan menggunakan data sekuens organisme yang diperoleh dari lokasi-lokasi tertentu. Weisburg *et al.*, (1991) *cit* Suryanto (2003) telah menggunakan sekuens 16S-rRNA untuk melihat variasi genetik Archaeobacteria. Santoso *et al.*, (2008) bahkan menggunakan data sekuens untuk melihat identitas dan variasi genetik begomovirus pada tanaman tomat. Demikian pula Jamsari, *et al.*, (2008) menggunakan informasi asam nukleat dari daerah *Coat protein* untuk melihat variasi genetik virus Gemini yang menyerang tanaman cabai di Sumatera Barat.

Kutu kebul merupakan salah satu serangga vektor virus kuning keriting. Dinyatakan oleh Hidayat *et al.*, (2004) bahwa keragaman serangga vektor juga mempengaruhi persentase infeksi. Oleh karena itu pengetahuan tentang spesies dan biotipe kutu kebul yang bertindak sebagai serangga vektor sangat diperlukan dalam memberikan landasan pengendalian hama/penyakit terpadu pada tanaman sayuran. Di Indonesia terdapat beberapa spesies kutu kebul, tetapi tidak mudah untuk dibedakan karena kemiripan morfologi dan ukurannya yang kecil. Diduga di Indonesia terdapat dua jenis *B. tabaci* yaitu biotipe B dan biotipe non B. Pengetahuan mengenai biotipe *B. tabaci* terkait dengan strategi diagnosis yang dapat dijadikan landasan untuk mempelajari hubungan antara keragaman dengan kemampuan menyebarkan virus gemini.

Analisis molekuler melalui teknik sekuensing asam nukleat akan memberikan informasi yang lebih akurat untuk menentukan keragaman dari kutu kebul. Hal ini dikarenakan informasi yang diberikan berupa urutan nukleotid-nukleotidnya dan memberikan ciri khusus dari masing-masing individu.

Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan suatu penelitian penggunaan data sekuens DNA serangga kutu kebul untuk melihat variasi genetik. Sehubungan dengan keperluan tersebut, maka digunakan perangkat lunak NTSYS

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

5.3. Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan beberapa hal yaitu :

1. Ada 2 spesies kutu kebul pada populasi pertanaman cabai se-Sumatra Barat yakni : *Bemisia tabaci* dan *Trialeurodes vaporariorum* dengan
2. Derajat tingkat kemiripan inter spesies 62 % dan intra spesies *B. tabaci* adalah 96 %.
3. Berdasarkan prediksi jumlah titik potong enzim restriksi *Tru9I* dan *TaqI* terhadap sekuens DNA *B. tabaci* diidentifikasi merupakan biotipe M.

5.2. Saran

Dalam penentuan variasi dan kekerabatan suatu organisme yang sulit teridentifikasi secara morfologi, sebaiknya digunakan analisis molekuler.

Adanya variasi spesies vektor virus gemini mengindikasikan perlunya strategi khusus dalam penanganan pengendalian penyakit tersebut, termasuk apabila akan dirakitnya tanaman-tanaman resisten terhadap penyakit virus kuning keriting.

DAFTAR PUSTAKA

- Bosco, D., Loria, A., Sartor, C. And Cenis, J.L. 2006. PCR-RFLP Identification of *Bemisia tabaci* Biotypes in the Mediterranean Basin. *Phytoparasitica* 34 (3):243-251
- Brown, J.K., Coats, S., Bedford, I.D., Markham, P.G., Bird, J. and Fröhlich, D.R. 1995. Characterization and Distribution of Esterase Electromorphs in the Whitefly *Bemisia tabaci* (Genn.) (Homoptera:Aleyrodidae). *Biochem Genet.* 33: 203-214
- Darussalam, R. 2007. Karakterisasi Morfologi Beberapa Genotipe Cabai (*Capsicum annuum*) dan seleksi primer RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) untuk studi kekerabatan. [Skripsi]. Padang. Fakultas Pertanian Universitas Andalas.
- Fröhlich, D.R, Torres-Jerez, I., Bedford, I.D., Markham, P.G and Brown, J.K. 1999. A Phylogeographic Analysis of The *Bemisia tabaci* species complex based on mitochondrial DNA markers. *Mol. Ecol.* 8: 1593-1602.
- Goodwin, R.H, B.G. Xue, C.R. Kuske, and M.K. Sears. 1994. Amplification of Plasmid DNA to Detect Plant Pathogenic Cytoplasmic Organism. *Ann. Appl. Biol.* 124: 27-36.
- Hayward, M.D., N.O. Bosemark, and I. Romagosa. 1993., *Plant Breeding Principle and Prospects*. Chapman & Hall, 2-6 Boundary Roe, London. Chapter 22.
- Hidayat, P., Dewi S., Sri H.. 2004. Kajian Ciri Morfologi dan Molekuler Kutukebul (Homoptera : Aleyrodidae) Sebagai Dasar Pengendalian Penyakit Geminivirus pada Tanaman Sayuran. *Jurnal Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat*. Institut Pertanian Bogor. <http://web.ipb.ac.id/%7E1ppm/index.php?view=download/index>.
- Hidayat, S.H. 2005. *Informasi Taksonomi dan Biologi Kutukebul sebagai Dasar Pengendalian Vektor Penyakit Kuning Cabai*, Makalah dalam Workshop Penanganan Virus Kuning dan Vektornya di Balai Diklat Pertanian Bandar Buat Sumatra Barat. 7-8 April 2005. 15 hal.
- http://eustrv.multiply.com/journal/item/58/DNA_Mitokondria. 2008. [5-11-08]
- Jamsari, 2007. *Bioteknologi Pemula, Prinsip Dasar dan Aplikasi Analisis Molekuler*. Unri Press. 193 hal.
- Jamsari, I. Suliansyah., I. Manti., Nasrun, J. Trisno. 2008. Keragaman Geminivirus pada Cabai, Serangga Vektor (*Bemisia tabaci*) (Hemiptera;Aleyrodidae) dan Inang Alternatifnya. Laporan Perkembangan Penelitian Tahun Pertama Bidang KKP3T Balai Penelitian dan Perkembangan Pertanian Universitas Andalas. Padang.
- Mangoendidjojo, W. 2003. *Dasar-Dasar Pemuliaan Tanaman*. Yogyakarta. Kanisius. 182 hal.
- Maniatis, T., E.F. Fritsch, and J. Sambrook. 1989. *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. United State of America: Cold Spring Harbor Laboratory Press.