

Studi Variasi Morfologi dan Pola Pita Isozim Lundi Putih (Coleoptera: Melolonthidae) yang Berperan sebagai Hama Tanaman Salak di Lereng Gunung Merapi

Morphological and isozymic banding pattern study of white grubs (Coleoptera: Melolonthidae) as pest of bark crop in mounth Merapi's slope.

SUGIYARTO*

Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Sebelas Maret (UNS), Surakarta 57126.

Program Studi Biosains Program Pascasarjana, Universitas Sebelas Maret (UNS), Surakarta 57126.

Pusat Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Biodiversitas LPPM, Universitas Sebelas Maret (UNS), Surakarta 57126.

Diterima: 27 Nopember 2007. Disetujui: 28 Mei 2008.

ABSTRACT

White grub (Coleoptera: Melolonthidae) is a group of soil pest at any agrosystem., especially at *Salak pondoh* (*Salacca zalacca* (Gaert.) Voss.) crop. The characteristics of this specimen were very crucial to be studied in order to find the exact biocontrol. The aim of this research was to know the characteristics of white grubs (Melolonthidae: Coleoptera) based on morphological and isozyme banding patterns. This research was conducted on August - November 2007 at Sleman and Magelang districts for the morphological purposes, while for the isozyme data were conducted at Sub Laboratory Biology, Central Laboratory of Sebelas Maret University Surakarta. Sample was taken by using stratified random sampling method, on five stations. Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) using the vertical type was taken to isozyme analysis. The enzyme used in this research were peroxidase and esterase to detect the isozyme banding patterns. The results showed that there was no morphological variation of white grubs (Melolonthidae: Coleoptera) at *salak pondoh* agroecosystem in Mounth Merapi's slope. Based on this character, there was one species of white grub found, i.e. *Holotrichia javana*. There was a genetic variation based on the variation of isozyme banding patterns.

© 2008 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta.

Key words: white grubs, isozyme, Merapi mount, bark.

PENDAHULUAN

Lundi putih merupakan kelompok hama yang terdiri dari beberapa spesies atau sub-spesies dari familia Melolonthidae (ordo: Coleoptera). Kelompok serangga ini populasinya tinggi, terdistribusi luas, bersifat multifagus dan cara pengendaliannya yang efektif belum ditemukan (Sugiyarto, 2004). Lundi putih mempunyai bentuk tubuh seperti huruf "C" atau "scarabaeid". Tubuh berwarna krem atau putih, kepala berwarna coklat kemerahan dengan tipe mulut pemotong. Kaki tiga pasang berada tepat di belakang kepala. Panjang tubuh berkisar 2-6 cm, diameter tubuh berkisar 0,5-1,5 cm (Kompas, 10/04/2003; Sugiyarto, 2003; Sugiyarto, 2000).

Di Sleman, Yogyakarta telah dilaporkan secara sporadik terjadi kerusakan tanaman salak pondoh secara meluas akibat serangan lundi putih (Kompas, 10/04/2003), tetapi hingga saat ini belum diketahui informasi secara lengkap tentang karakter hama tersebut. Lundi putih juga telah dinyatakan sebagai salah satu hama berbahaya di DAS Citanduy dengan daerah distribusi yang luas

(Soehardjono dkk., 2000). Di area lahan agroforestri berbasis sengon di RPH Jatirejo, kabupaten Kediri, lundi putih merupakan hama tanaman sela utama yang belum ditemukan cara pengendaliannya (Sugiyarto, 2004). Selain itu dilaporkan pula bahwa pada agroforestri tersebut terjadi peningkatan populasi lundi putih akibat perubahan sistem penggunaan lahan dari sistem non-agroforestri ke sistem agroforestri (Sugiyarto, 2003). Di Texas dan daerah sub-tropis lainnya, lundi putih dari spesies *Phyllophaga crinita* dikenal sebagai hama perakaran padang rumput dan berbagai jenis tanaman hias dengan kerugian yang sangat besar (Crocker *et al.*, 1999). Dilaporkan juga bahwa pada fase dewasa, kumbang *P. crinita* selain makan daun-daun tanaman juga mengganggu lampu penerang.

Sejauh ini usaha pengendalian hama lundi putih telah dilakukan melalui berbagai pendekatan, baik secara fisik maupun kimia, namun hasilnya belum memuaskan. Kendala utama dalam pengendalian lundi putih adalah habitatnya di dalam tanah dan lekat dengan tanaman budidaya serta bersifat polifagus sehingga pengendalian secara fisik maupun kimia mengalami hambatan (Soehardjono dkk., 2000; Sugiyarto, 2004). Dalam rangka pengembangan pengendalian secara hayati (biologi), kunci utama keberhasilannya adalah adanya informasi lengkap mengenai karakteristik spesimen. Hingga saat ini belum diketahui informasi lengkap karakteristik lundi putih, oleh karena itu perlu dilakukan karakterisasi terhadap

▼ **Alamat korespondensi:**

Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126
Tel.: +62-271-663375 Fax.: +62-271-663575
Email: sugiyarto_ys@yahoo.com

hama tersebut. Karakterisasi melalui pendekatan morfologi mempunyai beberapa kelemahan, di antaranya penampilan karakter sering kali dipengaruhi oleh faktor lingkungan atau kemungkinan terjadinya spesies kembar atau sibling (Suskendriyati dkk., 2000).

Salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk melengkapi informasi karakter morfologi adalah karakterisasi lundil putih berdasar pola pita isozim. Isozim adalah beberapa enzim yang memiliki struktur kimia yang berbeda tetapi mengkatalisis reaksi yang sama. Isozim memiliki beberapa keuntungan, antara lain: dapat digunakan untuk mengidentifikasi sifat-sifat yang tidak tampak secara morfologi (Mariani, 2002), dapat diterapkan untuk mengetahui struktur genetik intra maupun inter-populasi (Fitriyah, 2002), dan jumlah sampel yang banyak dapat dianalisis dalam waktu yang relatif singkat (Hadiati dan Sukmadjaja, 2002). Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui karakteristik lundil putih (Melolonthidae: Coleoptera) pada agroekosistem salak pondoh di lereng gunung Merapi berdasarkan pola pita isozim.

BAHAN DAN METODE

Penelitian di lapangan

Lundil putih (Melolonthidae: Coleoptera) diambil dari agroekosistem salak pondoh di lereng gunung Merapi, tepatnya di kabupaten Sleman, Yogyakarta dan kabupaten Magelang, Jawa Tengah. Pengambilan sampel dilakukan pada 5 stasiun dengan ketinggian tempat yang berbeda-beda, yaitu: stasiun I: 484 m dpl (Turi, Sleman), stasiun II: 545 m dpl (Srumbung, Magelang), stasiun III: 620 m dpl (Srumbung, Magelang), stasiun IV: 751 m dpl (Turi, Sleman), dan stasiun V: 820 m dpl (Pakem, Sleman). Setiap stasiun diambil sebanyak 10 sampel hidup dengan metode *hand sorting* untuk digunakan dalam analisis morfologi dan pola pita isozim.

Analisis morfologi

Pengamatan morfologi lundil putih dilakukan secara langsung maupun dengan bantuan kaca pembesar dan mikroskop. Hasil pengamatan sampel lundil putih didokumentasikan melalui pemotretan, data morfologi ditabulasikan dan dilakukan analisis keanekaragamannya (Wiratno dkk., 1997). Karakter morfologi lundil putih meliputi: persebaran bulu, jumlah segmen kaki, bentuk labrum, bentuk maxilla, bentuk kuku dan ukuran tubuh (Chu dan Cutkomp, 1992).

Analisis pola pita isozim

Analisis pola pita isozim dilakukan dengan Polyacrylamide Gel Electrophoresis (PAGE). Pembuatan buffer dan larutan stok mengikuti metode Suranto (1991, 2001, 2002). Tank buffer (buffer boraks) dibuat dengan melarutkan asam boraks 14,4 g dan boraks 31,5 g dalam akuades hingga mencapai volume 2 L. Buffer ekstraksi dibuat dengan melarutkan 0,018 g sistein, 0,021 g asam askorbat, dan 5 g sukrosa dalam 20 mL Tank buffer pH 8,4. Larutan stok A dibuat dengan melarutkan 4,5 g tris dan 0,51 g asam sitrat ke dalam 500 mL akuabides. Larutan stok B dibuat dengan melarutkan 30 g akrilamid, ditambah dengan 0,80 g N,N'-methylene-bis-acrylamide (bisakrilamid) ke dalam 100 mL akuabides.

Gel dibuat menurut metode Suranto (1991) dengan modifikasi, yaitu dengan mencampurkan 2,5 mL larutan

stok B dan 5 mL larutan stok A, kemudian ditambah dengan 0,02 mL N,N,N',N'-tetramethyl-ethylenediamine (TEMED) dan dicampur secara hati-hati. Untuk polimerisasi gel, ditambahkan 30 μ l ammonium persulphate (APS).

Organ pencernaan lundil putih diekstraksi menggunakan buffer ekstraksi dengan perbandingan 1:3, dalam satuan μ g untuk sampel dan μ L untuk buffer ekstraksi. Organ tersebut dilumatkan menggunakan mortar di atas serpihan kristal es. Sampel yang sudah hancur kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 8500 rpm selama 3 menit. Supernatan diambil sebanyak 7 μ L untuk pewarnaan peroksidase dan 15 μ L pewarnaan esterase. Perangkat elektroforesis yang digunakan untuk analisis pola pita isozim adalah BIO-RAD Mini PROTEAN 3 Cell tipe vertikal.

Pewarnaan pada penelitian ini menggunakan dua sistem enzim, yaitu peroksidase dan esterase. Untuk pewarnaan peroksidase, sebanyak 0,0125 g O-dianisidin dilarutkan dalam 2,5 mL aseton, lalu ditambahkan 50 mL buffer asetat pH 4,5 dan 2 tetes hidrogen peroksida. Sedangkan untuk pewarnaan esterase, sebanyak 0,0125 g α -naftil asetat dilarutkan dalam 2,5 mL aseton, kemudian ditambahkan 50 mL dari 0,2 M buffer fosfat pH 6,5 dan 0,0125 g fast Blue BB salt.

Pita yang terbentuk digambar dalam bentuk zimogram. Data diperoleh dengan menghitung nilai Rf, yaitu perbandingan jarak migrasi pita terhadap jarak migrasi loading dye. Data dianalisis berdasarkan muncul tidaknya pita pada gel serta tebal tipisnya pita yang terbentuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakter morfologi lundil putih (Coleoptera: melolonthidae)

Diantara kelompok serangga, kumbang (Coleoptera) merupakan kelompok terbesar karena menyusun sekitar 40% dari seluruh jenis serangga dan terdiri tidak kurang dari 250 ribu spesies (Pracaya, 1999). Lundil putih termasuk dalam familia Melolonthidae dari ordo Coleoptera (Chu, 1992). Borror (1992) juga memasukkan lundil putih ke dalam familia Scarabaeidae. Larva (uret) yang termasuk dalam familia ini sering merusak akar tanaman dan apabila sudah dewasa akan memakan daun, namun kerusakan yang ditimbulkan tidak separah fase larvanya. Lundil putih tinggal di dalam tanah dan memerlukan waktu \pm 7 bulan sebelum berkepompong.

Dari kelima lokasi penelitian, yakni stasiun I sampai V yang ditentukan berdasarkan gradasi ketinggian, ditemukan lundil putih yang memiliki ciri morfologi yang sama (Gambar 1), yaitu: bentuk tubuh seperti huruf 'C', kepala/thorak berwarna coklat kemerahan, terdiri dari 3 segmen, pada segmen pertama terdapat spirakel, bibir atas tidak bersegmen, maxilla dengan galea dan lacinia bersatu; memiliki 3 pasang kaki dengan 4 segmen terletak tepat di belakang kepala, kuku pada tibio tarsus terbelah dua (Jumar, 2000). Abdomen memiliki 10 segmen, 8 segmen memiliki spirakel di lateral tubuhnya, sedangkan 2 segmen terakhir tidak berspirakel dan berfungsi sebagai tempat untuk menyimpan sisa pencernaan sehingga berwarna gelap (hitam) dan terdapat anus. Warna tubuhnya putih kekuningan, panjang tubuh berkisar antara 2-6 cm, diameter tubuh berkisar antara 0,5-1,5 cm. Bulu-bulu tersebar merata.



Gambar 1. *Phyllophaga javana* Brsk. (*Holotrichia javana* Brsk.).

Berdasarkan deskripsi karakter morfologinya tersebut, variasi yang muncul hanya terletak pada ukuran tubuh dan bagian-bagian tubuhnya yang dimungkinkan karena perbedaan umur dan daya dukung lingkungannya. Dengan demikian berdasarkan morfologinya, lundil putih yang terdapat di kawasan penelitian tersebut adalah *Phyllophaga javana* Brsk. atau nama lainnya adalah *Holotrichia javana* Brsk. (Pracaya, 1999).

Karakter pola pita isozim

Isozim adalah enzim yang memiliki struktur kimia yang berbeda namun mengkatalisis reaksi yang sama. Perbedaan bentuk molekul suatu enzim dapat dijadikan sebagai landasan pemisahan secara kimia, antara lain dengan elektroforesis yang menghasilkan pita-pita dengan jarak migrasi yang berbeda-beda.

Isozim peroksidase

Enzim peroksidase (PER) tergolong dalam kelompok oksido-reduktase. Adanya enzim peroksidase mudah dideteksi karena aktivitas dan stabilitasnya yang tinggi dan dapat menggunakan sejumlah substrat sebagai donor hidrogen (Cahyarini, 2004). Dari zimogram hasil elektroforesis isozim peroksidase (Gambar 2), dapat diketahui bahwa isozim peroksidase menghasilkan 12 pita berdasarkan pergerakan relatif enzim (Rf).

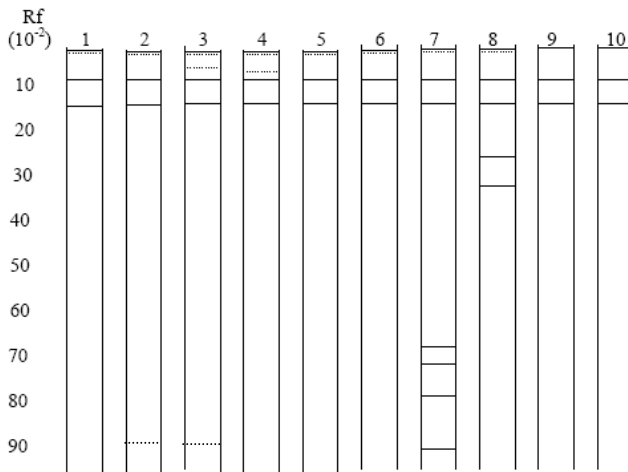
Dari duabelas pita, empat pita selalu muncul atau ditemukan pada semua individu dari stasiun I sampai V, yaitu pita yang terletak pada jarak migrasi 1; 1,5; 5 dan 9 mm dari slot atau pada Rf 0,017; 0,026; 0,086 dan 0,155. Pita kedua terlihat samar-samar atau tipis, yang menunjukkan bahwa konsentrasi enzim tersebut kecil. Keempat pita tersebut dapat dijadikan sebagai ciri khas pola pita isozim peroksidase pada lundil putih. Selain keempat pita utama yang muncul, pada individu dari stasiun II memiliki pita yang tidak terdapat pada individu lain dari kelima stasiun. Pita tersebut terletak pada 3,5

mm (Rf 0,060) dan pada 4 mm (Rf 0,069) dari slot. Secara kuantitatif kedua pita ini tipis. Selain individu dari stasiun II, individu dari stasiun IV juga menunjukkan munculnya pita pada jarak migrasi 15 dan 18 mm atau pada Rf 0,259 dan 0,310 (individu no. 8), serta 38, 41, 45 dan 52 mm atau pada Rf 0,655; 0,707; 0,776 dan 0,896 (individu no. 7). Munculnya pita pada individu dari stasiun IV yang tidak terdapat pada individu dari stasiun yang lain juga menunjukkan adanya variasi pola pita isozim peroksidase pada lundil putih.

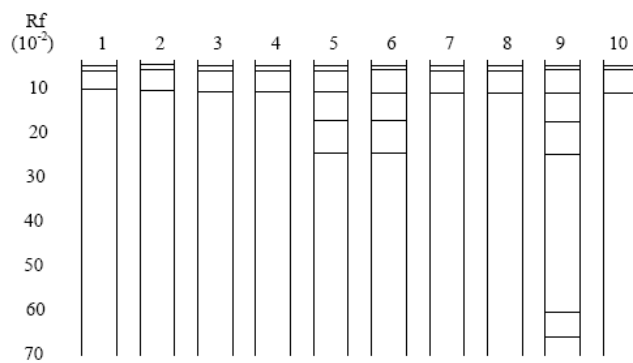
Berdasarkan hasil di atas, dapat dijelaskan bahwa individu dari stasiun I, III dan V memiliki pola pita yang sama, sedangkan individu dari stasiun II dan IV menunjukkan keanekaragaman pola pita isozim sehingga dapat dikatakan terdapat perbedaan genetik yang menyandi enzim tersebut. Menurut Cahyarini (2004), perbedaan jarak migrasi pita-pita merupakan wujud dari perbedaan muatan dan bentuk molekul enzim. Rahayu dkk (2006) menambahkan bahwa enzim atau protein dapat digunakan untuk menunjukkan variasi, baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Variasi ini akibat dari peran gen yang mengarahkan pembentukan enzim yang bersangkutan, oleh karenanya variasi enzim dapat menggambarkan variasi gen.

Isozim esterase

Enzim esterase termasuk dalam kelas hidrolase yang reaksi spesifiknya adalah memutuskan ikatan kimia dengan menambahkan unsur air (Salisbury dan Ross, 1992). Esterase merupakan enzim hidrolitik yang berfungsi melakukan pemotongan ester sederhana pada asam organik, asam anorganik, alkohol, dan fenol serta mempunyai berat molekul yang rendah dan mudah larut (Subronto, 1989). Dari zimogram hasil elektroforesis isozim esterase (Gambar 3.), diketahui bahwa isozim esterase pada lundil putih menghasilkan tujuh pita.



Gambar 2. Zimogram hasil elektroforesis isozim peroksidase lundi putih pada agroekosistem salak pondoh di lereng gunung Merapi. 1,2= sampel stasiun I; 3,4= sampel stasiun II; 5,6= sampel stasiun III; 7,8= sampel stasiun IV; 9,10= sampel stasiun V.



Gambar 3. Zimogram hasil elektroforesis isozim esterase lundi putih pada agroekosistem salak pondoh di lereng gunung Merapi. 1,2= sampel stasiun I; 3,4= sampel stasiun II; 5,6= sampel stasiun III; 7,8= sampel stasiun IV; 9,10= sampel stasiun V.

Pita pertama, kedua dan ketiga muncul pada semua individu dari kelima stasiun, dengan jarak migrasi masing-masing adalah 1,5, 2 dan 6 mm dari slot atau pada Rf 0,026, 0,034 dan 0,103. Ketiga pita ini bersifat khas karena selalu ditemukan pada semua individu dari kelima stasiun dan menunjukkan pola pita yang seragam. Keistimewaan terdapat pada individu dari stasiun III dan V, karena selain memiliki ketiga pita tersebut, juga memiliki pita pada jarak migrasi 10 dan 14 mm (Rf 0,172 dan 0,241). Selain itu, pita pada jarak 35 dan 38 mm (Rf 0,603 dan 0,655) hanya ditemukan pada individu dari stasiun V. Berdasarkan perbandingan pita-pita yang muncul pada kelima stasiun, nampak bahwa individu dari stasiun I, II, dan IV memiliki jumlah pita dan pola pita yang sama. Sementara itu, individu dari stasiun III dan V menunjukkan adanya variasi pola pita isozim esterase. Pita isozim esterase pada gel tampak berwarna coklat dengan intensitas yang hampir sama.

Berdasarkan hasil elektroforesis baik dengan pewarnaan peroksidase maupun esterase, keragaman pola pita isozim lebih cenderung tergolong ke dalam keragaman secara kualitatif, yaitu ada atau tidaknya pita pada gel, sedangkan ketebalan pita yang merupakan sifat kuantitatif

sebagian besar adalah sama. Menurut Setianto (2001), sifat kualitatif lebih diutamakan karena berhubungan dengan ada dan tidaknya pita pada jarak migrasi tertentu yang mencerminkan ada atau tidaknya asam amino penyusun enzim yang merupakan produk gen itu sendiri.

Dari kenyataan yang ada, dapat dijelaskan bahwa isozim peroksidase dan esterase dapat menunjukkan adanya variasi pola pita isozim pada lundi putih. Variasi pola pita isozim yang ditunjukkan oleh jarak migrasi pita yang berbeda-beda menunjukkan bentuk maupun struktur kimia (konformasi) enzim itu tidak sama, dan dapat diduga bahwa gen yang menyandi enzim-enzim tersebut tidak sama. Di samping itu, faktor lingkungan juga memberikan pengaruh terhadap munculnya variasi pola pita isozim ini mengingat lokasi pengambilan sampel memiliki kondisi lingkungan yang berbeda-beda. Menurut Salisbury dan Ross (1992) apabila faktor lingkungan berubah, isozim yang paling aktif dalam lingkungan tersebut akan melaksanakan fungsinya dan membantu organisme untuk tetap bertahan hidup.

Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara karakter morfologi dengan karakter isozim lundi putih (Coleoptera: Melolonthidae) yang ditemukan di agrosistem tanaman salak pondoh di berbagai ketinggian di lereng gunung Merapi. Berdasarkan karakter morfologinya tidak ada keragaman, tetapi berdasarkan karakter isozimnya terdapat keragaman, baik dengan peroksidase maupun esterase. Hal ini menunjukkan bahwa adaptasi lundi putih yang menempati habitat yang berbeda-beda pada agroekosistem tanaman salak di lereng gunung Merapi ditunjukkan pada level molekuler, belum pada level morfologi. Adaptasi molekuler ini memberikan indikasi bahwa lundi putih memiliki daya adaptasi yang tinggi. Meskipun hidup pada habitat yang berbeda, spesies hewan tanah ini mampu menyesuaikan diri dengan respon enzimatiknya. Ditinjau dari segi vegetasinya, stasiun II dan IV disusun tidak hanya oleh tanaman salak pondoh, melainkan ada tanaman lain yang menyusun ekosistemnya, sedangkan stasiun I, III, dan V merupakan pertanaman salak pondoh yang murni, dalam arti tidak ada tanaman lain yang mendominasi. Kemungkinan perbedaan vegetasi ini memberikan pengaruh atas terjadinya variasi pola pita isozim lundi putih, mengingat setiap makhluk hidup akan berusaha mempertahankan kelangsungan hidupnya pada berbagai lingkungan yang berbeda.

Hal ini juga membuktikan bahwa lundi putih merupakan salah satu kelompok hama yang mampu terdistribusi luas, bahkan dengan inang dan kondisi lingkungan yang beragam. Seperti dijelaskan oleh Borrer *et al.*, (1992) bahwa larva *P. javana* bersifat multifekag, apabila kandungan bahan organik dalam tanah tinggi, larva ini lebih bersifat sebagai saprofit, namun apabila kondisi tanah kekurangan bahan organik cenderung berperan sebagai hama dengan makan perakaran, umbi maupun kulit pangkal batang tanaman.

KESIMPULAN

Tidak ditemukan variasi morfologi lundi putih (Coleoptera: Melolonthidae) pada agroekosistem salak pondoh di lereng gunung Merapi; kesemuanya termasuk dalam satu jenis, yaitu: *Phyllophaga javana* Brsk., namun terdapat variasi genetik di antara populasi lundi putih tersebut yang ditunjukkan dengan adanya variasi pola pita

isozim baik isozim peroksidase (pada individu dari stasiun II dan IV) maupun esterase (pada individu dari stasiun III dan V).

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih diucapkan kepada Pengelola Program PHK A-2 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta atas dukungan dana penelitiannya, serta Sri Wardani, Retnowati, dan Andika Rahmawanto sebagai mahasiswa anggota tim peneliti.

DAFTAR PUSTAKA

- Borror, D.J., C.A. Triplehorn, dan N.F. Johnson. 1992. *Pengenalan Pelajaran Serangga*. Penerjemah: Soetiyono, P. dan D.B. Mukayat. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Cahyarini, R.D. 2004. *Identifikasi Keragaman Genetik Beberapa Varietas Lokal Kedelai di Jawa Berdasarkan Analisis Isozim*. [Tesis]. Surakarta: Program Pasca Sarjana Universitas Sebelas Maret.
- Chu, H.F. 1992. *How to Know Immature Insects*. Dubuque: WMC Brown Com. Inc..
- Crocker, R.L., W.T. Nailon, J.R., J.H. Matis, and R.E. Woodruff. 1999. Temporal pattern of ovipositional readiness in spring species of **Phyllophaga** (Coleoptera: Scarabaeidae) in North Central Texas. *Annual Entomology American Society* 92 (1): 47-52.
- De Oliveira, C.M., M.A. Moron, and M.R. Frizzas. 2007. First record of **Phyllophaga** sp. aff. **capillata** (Coleoptera: Melolonthidae) as a soybean pest in the Brazilian "Cerrado". *Florida Entomologist* 90 (4): 772-774.
- Fitriyah, F. 2002. *Studi Komparasi Pola Pita Isozim dan Morfologi Wereng Hijau (Nephotettix virescens) dari Jawa Barat, Jawa Tengah dan Jawa Timur*. [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret.
- Hadiati, S., dan D. Sukmadjaja. 2002. Keragaman pola pita beberapa aksesi nanas berdasarkan analisis isozim. *Jurnal Bioteknologi Pertanian* 7 (20): 62-70.
- Jumar. 2000. *Entomologi Pertanian*. Jakarta: PT. Rineka Cipta.
- Kompas. 10/04/2003. *Hama Uret Ancam Tanaman Salak Pondoh di Sleman*.
- Mariani, Y. 2002. *Studi tentang Variasi Isozim dari Beberapa Koloni Wereng Hijau (Nephotettix virescens) sebagai Vektor Pembawa Penyakit Tungro pada Padi*. [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret.
- Pracaya. 1999. *Hama dan Penyakit Tanaman*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Rahayu, S., S.B. Sumitro, T. Susilawati, dan Soemarno. 2006. Analisis isoenzim untuk mempelajari variasi genetik sapi bali di Provinsi Bali. *Berkala Penelitian Hayati* 12: 1-5.
- Salisbury, F.B. and C.W. Ross. 1992. *Fisiologi Tumbuhan* Jilid II. Penerjemah: Lukman, D.R. dan Sumaryono. Bandung: Penerbit ITB.
- Setianto, A. 2001. *Karakterisasi Jeruk Besar (Citrus grandis (L.) Obsbeck) di Kecamatan Jepon dan Jiken Kabupaten Blora Berdasarkan Penanda Isozim dan Morfologi Buah*. [Tesis]. Surakarta: Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret.
- Soehardjono, Y., Adianto, dan S. Adisoemarto. 2000. Strategi pengembangan pengelolaan arthropoda tanah. *Kumpulan Makalah Simposium KEHATI Arthropoda Tanah pada Sistem Prodoksi Pertanian*. PEI. Bogor, 16-18 Oktober 2000.
- Subronto, 1989. Isolasi dan Sifat Isozim dari Daun Kelapa Sawit Deli Dura. *Tesis*. FSP. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sugiyarto. 2000. Keanekaragaman makrofauna tanah pada berbagai umur tegakan sengon di RPH Jatirejo, kabupaten Kediri. *Biodiversitas* 1 (2): 47-54.
- Sugiyarto. 2003. *Evaluasi Struktur dan Komposisi Makrofauna Tanah Sebagai Bioindikator Kesehatan Tanah pada Kasus Perubahan Sistem Penggunaan Lahan di HTI Sengon*. Surakarta: LPPM UNS.
- Sugiyarto. 2004. *Keanekaragaman Makroinvertebrata Tanah dan Produktivitas Tanaman Sela pada Sistem Agroforestri Berbasis Sengon*. [Disertasi]. Malang: Program Pasca Sarjana Universitas Brawijaya.
- Suranto. 1991. *Studies of Population Variation in Species of Ranunculus*. [Thesis]. Hobart: Department of Plant Science, University of Tasmania.
- Suranto. 2001. Isozyme studies on the morphological variation of **Ranunculus nanus** populations. *AGRIVITA* 23 (2): 139-146.
- Suranto. 2002. Cluster Analysis of **Ranunculus** Species. *Biodiversitas* 3 (1): 201-206.
- Suskendriyati, H.A., Wijayati, Nurhidayah dan D. Cahyuningdari. 2000. Studi morfologi dan hubungan kekerabatan varietas salak pondoh (**Salacca zalacca** (Gaert.) Voss.) di dataran tinggi Sleman. *Biodiversitas* 1 (1): 26-31.