

**KARAKTERISTIK GEN *CHYTOCHROME C OXIDASE* SUB  
UNIT I (COI) LEBAH ENDEMIK DI DUSUN CINDAKKO,  
KABUPATEN MAROS**

Characterized of Cytochrone C Oxidase Sub Unit 1 (COI) Gene  
for Endemic Honey Bee in Cindakko Hamlet, Maros Regency

**M. HASBULLAH DHARA**

**C031 19 1033**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2023**



**KARAKTERISTIK GEN *CHYTOCHROME C OXIDASE* SUB  
UNIT I (COI) LEBAH ENDEMIK DI DUSUN CINDAKKO,  
KABUPATEN MAROS**

Characterized of Cytochrone C Oxidase Sub Unit 1 (COI) Gene  
for Endemic Honey Bee in Cindakko Hamlet, Maros Regency

**M. HASBULLAH DHARA**

**C031 19 1033**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2023**



**KARAKTERISTIK GEN *CHYTOCHROME C OXIDASE* SUB  
UNIT I (COI) LEBAH ENDEMIK DI DUSUN CINDAKKO,  
KABUPATEN MAROS**

Characterized of Cytochrone C Oxidase Sub Unit 1 (COI) Gene  
for Endemic Honey Bee in Cindakko Hamlet, Maros Regency

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk  
Mencapai Gelar Sarjana Kedokteran Hewan**

**M. HASBULLAH DHARA**

**C031 19 1033**

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**



## LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**KARAKTERISTIK GEN *CHHYTOCHROME C OXIDE* SUB UNIT I (COI)  
LEBAH ENDEMIK DI DUSUN CINDAKKKO, KABUPATEN MAROS**

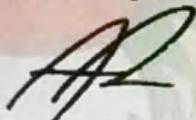
Disusun dan diajukan oleh

**M. HASBULLAH DHARA  
C031191033**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 31 Januari 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

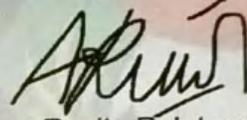
Menyetujui,

Pembimbing Utama



Drh. Muhammad Ardiansyah Nurdin, M.Si  
NIDK. 8819323419

Pembimbing Pendamping



Andi Ninnong Renita Relatami, S.Pi, M.Si  
NIDK. 8987550022

Mengetahui

Wakil Dekan Bidang Akademik dan  
Kemahasiswaan Fakultas Kedokteran



Prof. Dr. Agussalim Bukhan, M. Clin. Med., Ph.D., Sp.GK(K)  
700821 199903 1 001

Ketua Program Studi  
Kedokteran Hewan Fakultas  
Kedokteran



Dr. Drh. Dwi Kesuma Sari, AP.Vet  
MIP. 19730216 199903 2 001



**PERNYATAAN KEASLIAN**

1. Yang bertanda tangan di bawah ini:  
Nama : M. Hasbullah Dhara  
NIM : C031191033  
Program Studi : Kedokteran Hewan  
Fakultas : Kedokteran  
Menyatakan dengan sebenarnya bahwa :
  - a. Karya Skripsi saya adalah Asli
  - b. Apabila Sebagian atau seluruhnya dari skripsi ini tidak asli atau plagiasi, maka saya bersedia dibatalkan dan dikenakan sanksi akademik yang berlaku
2. Demikian pernyataan keaslian ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya

Makassar, 29 Januari 2024  
Pembuat Pernyataan



M. Hasbullah Dhara



**ABSTRAK**

M. HASBULLAH DHARA. **Karakteristik Gen *Cytochrome C Oxidase Sub Unit I (COI)* Lebah Endemik Dusun Cindakko, Kabupaten Maros.** Dibawah Bimbingan Muhammad Ardiansyah Nurdin dan Andi Ninnong Renita Relatami

---

Dusun Cindakko memiliki potensi sumber daya seperti lebah madu, gula aren dan kebun kopi. Potensi madu hutan mencapai 1 ton pada masa panen. Lebah sendiri merupakan salah satu serangga yang tersebar di Kabupaten Maros, utamanya wilayah perkebunan dan hutan. Vegetasi yang dapat ditemukan adalah lebah madu hutan (*apis dorsata* dan *apis cerana*) dan lebah *trigona (tetragonula biroi)*. Identifikasi secara PCR (*polymerase chain reaction*) merupakan salah satu teknik dalam biologi molekular untuk identifikasi organisme seperti, lebah. Identifikasi dengan metode PCR membantu proses identifikasi spesies secara spesifik, bersama dengan pengamatan morfologinya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi lebah lokal Dusun Cindakko, Kabupaten Maros dengan metode PCR. Sampel lebah DNA (*deoxyribo nucleic acid*) diisolasi dari *abdomen* dan *thorax* yang kemudian dilakukan PCR. Sampel DNA diekstraksi dengan ekstraksi kit (Geneaid), yang kemudian diamplifikasi PCR dan diamati secara elektroforesis. Hasil penelitian menunjukkan 2 sampel yang diteliti terbentuknya pita DNA yang berada di antara 100 bp dan mendekati 250 bp. Berdasarkan target produk primer yang digunakan berkisar  $\pm 212$  bp.

**Kata Kunci : Lebah, Amplifikasi, PCR (*Polymerase Chain Reaction*), dan Elektroforesis**



**ABSTRAK**

**M. HASBULLAH DHARA. Characterized of Cytochrome C Oxidase Sub Unit 1 (COI) Gene for Endemic Honey Bee in Dusun Cindakko, Kabupaten Maros.** Supervised by Muhammad Ardiansyah Nurdin dan Andi Ninnong Renita Relatami

---

Cindakko Hamlet has potential resources such as wild honeybees, palm sugar and coffee plantations. The potential for wild honeybees reaches one ton at harvest time. Bees themselves are one of the insects that are widespread in Maros Regency, especially in plantation and forest areas. Wild honeybees (*apis dorsata* and *apis cerana*) and Trigona bees (*tetragonula biroi*) can be found. PCR (*polymerase chain reaction*) identification is one of the molecular biology techniques used to identify organisms such as bees. PCR identification, together with morphological observations, helps in the process of species identification. The aim of this study was to identify endemic bees of Cindakko Hamlet, Maros Regency by PCR method. DNA (*deoxyribo nucleic acid*) samples of bees were isolated from *abdomen* and *thorax* and then subjected to PCR. DNA samples were extracted with extraction kits (Geneaid), then amplified by PCR and observed by electrophoresis. The results showed that the 2 samples studied formed DNA bands almost 250 bp. Depending on the target product of the primer used, the range is  $\pm 212$  bp. Based on the results of the electrophoresis examination of the bee samples showing that the sample formed a DNA bands of  $\pm 212$  bp.

**Key Word : Amplification, Bees, Electrophoresis, and PCR (*Polymerase Chain Reaction*)**



## KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji dan syukur atas kehadiran Allah subhanahu wata'ala atas segala rahmat dan hidayah-Nya kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Karakteristik Gen *Chytochrome C Oxidase* Sub Unit I (Coi) Lebah lokal Di Dusun Cindakko, Kabupaten Maros" ini. Shalawat serta salam senantiasa penulis ucapkan kepada junjungan Nabi Muhammad shallallahu 'alaihi wasallam, keluarga dan sahabat-sahabatnya. Nabi yang telah membawa umat manusia dari zaman kegelapan menuju zaman yang terang-benderang seperti yang dirasakan saat ini.

Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat guna menyelesaikan program sarjana Program Studi Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Penulis menyadari bahwa terdapat berbagai kekurangan dalam penulisan, baik dari sistematika penulisan, tata bahasa maupun kandungan makna yang ditulis dalam skripsi ini. Oleh sebab itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran dari setiap pembaca yang sifatnya membangun demi penyempurnaan kualitas skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penyelesaian skripsi dan penelitian ini tidak akan terwujud tanpa adanya doa, bantuan, bimbingan, motivasi dan dorongan dari berbagai pihak. Untuk itu dengan segala rasa syukur penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sangat istimewa kepada kedua orang tua penulis yakni Bapak Alm. **Ramlan Dhara, B.Sc., M.Si** dan Ibu **Suharni Budala, S.Sos.** Terima kasih telah merawat, membesarkan, senantiasa mendoakan dan mendukung pendidikan penulis dari kecil hingga dewasa. Penulis juga berterima kasih kepada seluruh keluarga besar yang memberikan dukungan kepada penulis baik dukungan moral maupun finansial, serta ucapan terima kasih kepada diri sendiri yang sudah berjuang keras dan bertahan hingga di titik ini, dan tak lupa juga berbagai pihak yang telah membantu selama proses penulisan dan penelitian. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, penyusun mengucapkan terima kasih kepada:

1. **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc** selaku Rektor Universitas Hasanuddin
2. **Prof. DR. dr. Haerani Rasyid, Sp.PD, KGH, Sp.GK, M.Kes** selaku kan Fakultas Kedokteran

**Drh. Dwi Kesuma Sari, APVet** sebagai Ketua Bidang Studi dokteran Hewan serta dosen pengajar yang telah banyak memberikan u dan berbagi pengalaman kepada penulis selama mengikuti



pendidikan di Program Studi Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

4. **Drh. Muh. Ardiansyah Nurdin, M.Si** sebagai pembimbing skripsi utama serta **Andi Ninnong Renita Relatami, S.Pi, M.Si** sebagai dosen pembimbing skripsi anggota yang telah memberikan bimbingan selama masa penulisan skripsi ini.
5. **Drh. Rini Amriani, M.Biomed** dan **Drh. Irwan Ismail, M.Si.** sebagai dosen pembahas dan penguji yang telah memberikan masukan-masukan dan penjelasan untuk perbaikan penulisan ini.
6. Segenap panitia seminar proposal dan seminar hasil atas segala bantuan dan kemudahan yang diberikan kepada penulis.
7. **Drh. Muh. Ardiansyah Nurdin, M.Si** sebagai dosen pembimbing akademik penulis.
8. **Dosen pengajar** yang telah banyak memberikan ilmu dan berbagi pengalaman kepada penulis selama mengikuti pendidikan di Program Studi Kedokteran Hewan Universitas Hasanuddin. Serta staf tata usaha Program Studi Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang membantu mengurus kelengkapan berkas.
9. Kakak-kakak saya **Muhammad Hasrullah Ramlan Dhara, S.ST., Sitti Ramlah Ramlan Dhara, S.Si., M.Si.,** dan **Sitti Rahmatiah Ramlan Dhara, S.Pd.,** serta kakak ipar saya **Yuyun Bachtiar, S.Kep.** dan **Muflihuddin Rauf, S.Pt., M.Si.** yang telah memberikan semangat setiap saat dan menjadi orang yang direpotkan semasa hidup penulis.
10. Sahabat sekaligus saudara saya **Sirkel Kacang**, yaitu Indah Afifah Rahmadhani, Sheila Tasya Wardhani, Mutiara Andjani Arsyad, S.Ked., Muslianti Midiin, S.Ak., Ayu Aprillia Somalinggi, S.Si., Ahmad Ma'Arif, S.Ked., Dimas Apriadi Sander, dan H,S, Fausi Gandhi yang selalu ada "kacang" serta mendengar keluh kesah penulis dan membantu dalam banyak hal selama menempuh pendidikan.
11. Mahasiswa dengan stambuk **1944041035** yang selalu ada mendengarkan keluh kesah penulis, memberikan semangat, perhatian dan dukungan serta membantu dalam proses penelitian hingga penyusunan skripsi.
12. Teman-teman angkatan 2019 "**DEXTER**", yang telah menjadi saudara seperjuangan selama menempuh jenjang pendidikan strata satu.
13. Teman penelitian saya **Chusnul Fitrih Ramdiah** yang telah berjuang bersama dalam penelitian dan menyelesaikan skripsi.
14. Serta kepada semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu yang telah ikut menyumbangkan pikiran dan tenaga untuk penulis.

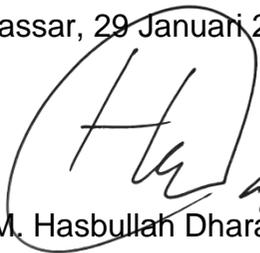
*at but not least, I wanna thank me I wanna thank me for believing in  
I wanna thank me for doing all this hard work I wanna thank me for  
ing no days off I wanna thank me for, for never quitting I wanna thank*



*me for always being a giver And tryna give more than I recieve I wanna thank me for tryna do more right than wrong I wanna thank me for just being me at all times”*

Demikian ucapan terima kasih yang dapat penulis sampaikan, semoga setiap kebaikan yang telah diberikan dapat diridhai oleh Allah *subhanahu wata’ala*. Akhir kata, semoga karya ini dapat bermanfaat bagi setiap jiwa yang bersedia menerimanya. *Aamiin yaa rabbal aalamiin*

Makassar, 29 Januari 2024



M. Hasbullah Dharā



## DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI .....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN .....	v
ABSTRAK .....	vi
ABSTRAK .....	vii
KATA PENGANTAR .....	viii
DAFTAR ISI .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR TABEL .....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xv
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	3
<b>1.4.1. Manfaat pengembangan ilmu .....</b>	<b>3</b>
<b>1.4.2. Manfaat aplikasi .....</b>	<b>4</b>
1.5. Hipotesis .....	4
1.6. Keaslian Penelitian .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
2.1. Karakter Daerah .....	5
2.2. Lebah.....	6
<b>2.1.1. Taksonomi lebah .....</b>	<b>7</b>
<b>2.1.2. Anatomi lebah .....</b>	<b>7</b>
<b>2.1.3. Habitat.....</b>	<b>10</b>
<b>2.1.4. Koloni.....</b>	<b>11</b>
2.3. PCR ( <i>Polymerase Chain Reactio</i> ).....	12
<b>1. Primer <i>cytochrome c oxidase</i> sub unit I (COI) .....</b>	<b>13</b>
DNA ( <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i> ) .....	14
<b>1. Isolasi DNA .....</b>	<b>14</b>
<b>2. Sequencing.....</b>	<b>15</b>



2.5.	Hubungan Antara Identifikasi Spesies Lebah dengan Pemeriksaan PCR	16
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>		<b>17</b>
3.1.	Waktu dan Tempat Penelitian .....	17
3.2.	Jenis Penelitian dan Metode Sampling .....	18
3.3.	Materi Penelitian.....	18
3.3.1.	<b>Alat Penelitian .....</b>	<b>18</b>
3.3.2.	<b>Bahan Penelitian.....</b>	<b>18</b>
3.4.	Metode Penelitian.....	19
3.4.1.	<b>Koleksi sampel.....</b>	<b>19</b>
3.4.2.	<b>Ekstraksi dan Isolasi DNA .....</b>	<b>19</b>
3.4.3.	<b>Amplifikasi DNA .....</b>	<b>20</b>
3.4.4.	<b>Elektroforesis.....</b>	<b>21</b>
3.4.5.	<b>Analisis Data .....</b>	<b>22</b>
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>		<b>23</b>
4.1.	Hasil Pemeriksaan PCR.....	23
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>		<b>26</b>
5.1.	Kesimpulan.....	26
5.2.	Saran .....	26
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>		<b>xxvii</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>		<b>xxx</b>
<b>RIWAYAT PENULIS .....</b>		<b>xxxii</b>



### DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 1.</b> Peta Wilayah Kabupaten Maros.....	5
<b>Gambar 2.</b> Anatomi Lebah.....	8
<b>Gambar 3.</b> Anatomi Kepala Lebah.....	8
<b>Gambar 4.</b> Tampak Dorsal Lebah.....	9
<b>Gambar 5.</b> Peta Desa Bonto Somba, Kecamatan Tompobulu, Kabupaten Maros.....	17
<b>Gambar 6.</b> Hasil amplifikasi PCR sampel lebah lokal. M : Marker (100 bp, 250 bp dan 500 bp), S1 dan S2 : sampel lebah.....	23



## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 1.</b> Primer Amplifikasi.....	20
---	----



## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1.</b> Proses Ekstraksi DNA.....	xxx
<b>Lampiran 2.</b> Amplifikasi PCR.....	xxx
<b>Lampiran 3.</b> Hasil Amplifikasi PCR.....	xxx



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Kabupaten Maros merupakan salah satu kabupaten yang berada di Provinsi Sulawesi Selatan. Secara wilayah, Kabupaten Maros dibagi menjadi 14 kecamatan (Nuraeni *et al.*, 2022). Kabupaten Maros memiliki lahan sawah yang luas, serta lahan bukan sawah seperti ladang, perkebunan, hutan rakyat, dan lahan lainnya yang juga sangat luas. Kabupaten Maros memiliki potensi usaha madu yang patut dikembangkan, yang diikuti dengan potensi alam dengan ketersediaan sumber pakan yang melimpah (Madiung dan bahri, 2021). Dusun Cindakko merupakan bagian dari Desa Bonto Somba, Kecamatan Tompobulu, yang berbatasan dengan Kabupaten Bone dan Gowa. (Awal, 2019). Dusun Cindakko memiliki potensi sumber daya seperti lebah madu, gula aren dan budidaya Kopi *Arabica* dan *Robusta*. Potensi Madu hutan mencapai 1 ton pada masa panen besar (Agustus-Oktober). Vegetasi yang terdapat adalah lebah madu hutan (*Apis dorsata* dan *Apis cerana*) dan lebah *trigona* (*Tetragonula biroii*) (PERTAMINA, 2021). Lebah merupakan salah satu serangga yang tersebar di Kabupaten Maros, utamanya pada wilayah hutan dan perkebunan.

Serangga memiliki peranan penting dalam ekosistem hutan dan juga termasuk peran dalam aspek ekonomi dan ekologisnya (Asghar *et al.*, 2015),

ya adalah lebah. Lebah diduga telah ada sekitar 120 juta tahun yang  
gan lebih dari 20.000 spesies. Lebah sangat berperan penting dalam



penyerbukan tanaman atau *pollination*, utamanya oleh lebah hutan (Danforth *et al.*, 2019). Beberapa jenis lebah yang dapat ditemukan di Sulawesi Selatan diantaranya *trigona incisa*, *trigona biroi* dan *trigona laeviceps* (Hasan *et al.*, 2020). Lebah memiliki *exoskeleton* yang keras dengan 2 pasang sayap (*wings*) dan 3 pasang kaki (*legs*). Bagian tubuhnya secara umum dapat dibagi menjadi kepala, *thorax* (dada), dan *abdomen* (perut). Dalam koloni lebah dibagi menjadi 3 hirarki, yakni pejantan (*drone*), pekerja (*worker*), dan ratu (*queen*) dengan ciri masing-masing (Kane dan Faux, 2021). Dalam mengidentifikasi spesies lebah dapat dilakukan melalui pengamatan morfologinya, namun secara spesifik dapat dilakukan dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR).

*Polymerase chain reaction* atau PCR merupakan salah satu teknik dalam biologi molekular untuk mengamplifikasi atau menggandakan sejumlah kecil DNA (*deoxyribo nucleic acid*) secara *in vitro* dengan sistim enzimatik dan suhu. PCR diawali dengan DNA *template* (cetakan) dalam jumlah kecil, yang kemudian menghasilkan jumlah *copy* DNA dalam jumlah besar dengan melalui siklus amplifikasi. Penggunaan primer yang tepat sangat penting dalam reaksi PCR. Faktor yang mempengaruhi spesifitas PCR meliputi temperatur *annelling*, aktivitas dan jumlah *polymerase*, konsentrasi primer, DNA *template* dan magnesium (Maftuchah *et al.*, 2015).



Berdasarkan latar belakang sebelumnya, peneliti melakukan analisis metode PCR untuk mengetahui karakteristik dari rantai DNA dari kal. Lebah yang akan diteliti, berlokasi di Dusun Cindakko, Kabupaten

Maros, memiliki keunikan sarang, yakni lebah tersebut membuat sarang di area luar batang pohon. Sejauh ini, belum ada penelitian yang terkait jenis lebah lokal di Dusun Cindakko. Dengan latar belakang sebelumnya, perlu dilakukan penelitian dalam identifikasi lebah lokal yang ada di Dusun Cindakko melalui analisis genetik dengan metode PCR. Data hasil penelitian ini dapat digunakan untuk identifikasi jenis lebah lokal di Dusun Cindakko, Kabupaten Maros.

## 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah bagaimana analisis genetik pada lebah lokal dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR) lebah lokal di Dusun Cindakko, Kabupaten Maros.

## 1.3. Tujuan Penelitian

Adapun Tujuan Penelitian ini adalah untuk mengetahui hasil analisis genetik lebah lokal di Dusun Cindakko, Kabupaten Maros dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR).

## 1.4. Manfaat Penelitian

### 1.4.1. Manfaat pengembangan ilmu

Manfaat dalam pengembangan ilmu pada penelitian ini merupakan sebagai tambahan informasi bagi penelitian selanjutnya mengenai

“Karakteristik Gen *Chytochrome C Oxidase* Sub Unit I (COI) Lebah Endemik

di Dusun Cindakko, Kabupaten Maros”



#### 1.4.2. Manfaat aplikasi

Manfaat aplikasi dalam penelitian ini adalah dapat melatih kemampuan peneliti dan menjadi referensi bagi penelitian-penelitian berikutnya. Serta, menjadi informasi baru dan dapat dikembangkan dan dibudidayakan masyarakat terkait lebah lokal di Dusun Cindakko, Kabupaten Maros.

#### 1.5. Hipotesis

Hipotesis berdasarkan uraian sebelumnya, yaitu identifikasi lebah lokal dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR) merupakan spesies lokal baru di Dusun Cindakko, Kabupaten Maros, yang bersarang di luar batang pohon.

#### 1.6. Keaslian Penelitian

Penelitian analisis lebah lokal dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR) di Dusun Cindakko, Kabupaten Maros belum pernah dilakukan. Namun penelitian serupa telah pernah dilakukan oleh Febriani (2021) dengan judul “Karakterisasi Gen *Major Royal Jelly Protein 2 (mrjp2)* pada Lebah *Apis Cerana* dan *Apis Mellifera* Asal Indonesia”



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Karakter Daerah

Indonesia merupakan salah satu wilayah dengan sebaran lebah madu dan juga produktivitas yang tinggi (Adalina, 2018). Indonesia sendiri merupakan salah satu wilayah dengan banyak spesies lebah madu yang tersebar di seluruh pulau. Salah satu pulau tersebut adalah Pulau Sulawesi dengan tingkat organisme yang tinggi dari proses ekologi dan geologi yang panjang dengan lanskap pulau yang unik. Berbagai wilayah di Sulawesi merupakan kawasan bagi beragam fauna asli dan endemik, termasuk lebah madu (Aini dan Purwanto, 2021).



**Gambar 1.** Peta Wilayah Kabupaten maros (BPS Kab. Maros, 2020)

Kabupaten Maros terletak di Barat Sulawesi Selatan, antara 40°45' - 50°07' Lintang Selatan dan 109°205' - 129°12' Bujur Timur, berbatasan langsung Kabupaten Pangkep (Utara), Kota Makassar dan Kabupaten Gowa), Kabupaten Bone (Timur), dan Selat Makassar (Barat). Secara rasi terdiri atas 14 Kecamatan dan 103 Desa/Kelurahan dengan luas



keseluruhan Kabupaten Maros 1.619,12 km<sup>2</sup>. Kabupaten Maros memiliki iklim tropis basah dengan curah hujan tertinggi pada 2019 terjadi di bulan Januari dengan rata-rata 735 mm selama 25 hari. Kecamatan Tompobulu merupakan Kecamatan paling luas, dengan luas 287,66 km<sup>2</sup> yang berpusat di Desa Pucak (BPS Kab. Maros, 2020). Dusun Cindakko adalah salah satu dusun yang dapat ditemukan di Desa Bonto Somba, Kecamatan Tompobulu. Dusun Cindakko dapat ditempuh selama 2 jam dengan kondisi jalan bebatuan dan menanjak. Selain itu, Dusun Cindakko menjadi wilayah penyebaran hewan endemik Sulawesi Selatan seperti Anoa, *Macaca maura*, dan Kuskus (Awal, 2019). Pada 2021, Dusun Cindakko dihuni oleh 114 Kepala Keluarga. Dusun Cindakko memiliki potensin pada lebah madu, gula aren, serta budi daya kopi (Fatir, 2021).

## 2.2. Lebah

Lebah merupakan serangga dengan panjang sekitar 1 cm, Sebagian besar tubuh berwarna coklat atau *orange*-coklat, yang hidup dalam jumlah besar, dan secara sosial kompleks dengan satu ratu dan ribuan pekerja dalam sarang. Lebah-lebah dapat mengomunikasikan lokasi sumber makanan yang baik dengan ‘tarian’ dalam gelap untuk memberi tahu lebah terdekat ke arah mana (dalam kaitannya dengan matahari) dan seberapa jauh perjalanan untuk menemukan nektar dan serbuk sari yang dibutuhkan. Namun, kebanyakan ak seperti demikian. *Apis mellifera* merupakan spesies asli Afrika dan elatan, tetapi telah didomestikasi selama berabad-abad ke seleruh



dunia. *Apis mellifera* merupakan 1 dari sekitar 20.000 spesies lebah yang telah dideskripsikan, hampir tidak ada yang nampak demikian (Packer, 2023).

### 2.1.1. Taksonomi lebah

Lebah sangat dikenal dengan perannya sebagai penyerbuk (Sheffield *et al.*, 2017). Terdapat lebih dari 20.000 lebih jenis lebah yang ada di permukaan Bumi, dan tidak mudah dalam membedakannya antara 1 jenis dengan jenis lainnya (Supeno dan Erwan, 2016). Menurut Sheffield *et al.* (2017), klasifikasi taksonomi lebah adalah :

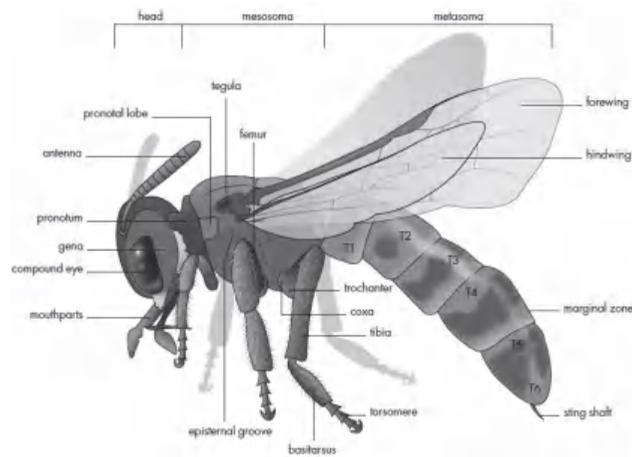
Kingdom : Animalia  
 Phylum : Arthropoda  
 Class : *Insecta*  
 Ordo : *Hymenoptera*

### 2.1.2. Anatomi lebah

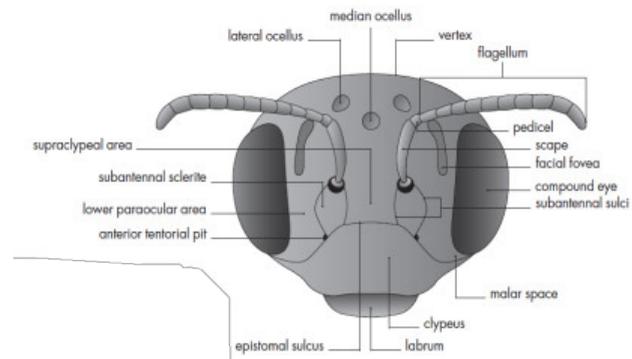
Secara anatomi, tubuh lebah dapat dibagi menjadi kepala, dada (*thorax*), dan perut (*abdomen*), seperti serangga lainnya. Tetapi berbeda dengan serangga lain (selain kerabatnya tawon), *abdomen* lebah tidak seperti terlihat, karena pinggang sempit sebenarnya berada di persimpangan antara segmen *abdomen* pertama dan kedua. Nenek moyang lebah dan tawon berevolusi untuk memiliki struktur yang dimodifikasi menjadi segmen pertama *abdomen* yaitu dengan *thorax*, dan persimpangan antaran segmen pertama dan sangat sempit. Sehingga, membutuhkan kata pembeda untuk "*thorax*



dan segmen pertama *abdomen*” (bagian antara leher dan bagian tubuh sempit lainnya) dan “*abdomen* dikurangi segmen pertamanya”. Dikenal dengan sebutan “*mesosoma*” dan “*metasoma*” yang berarti tubuh bagian tengah dan tubuh bagian belakang (Packer, 2023).



**Gambar 2.** Anatomi lebah (Packer, 2023).



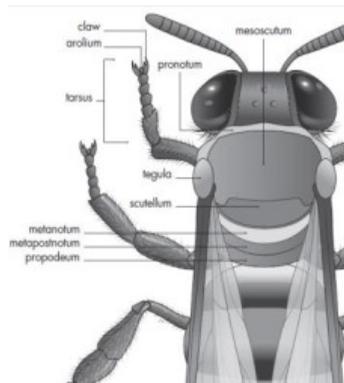
**Gambar 3.** Anatomi kepala lebah (Pecker, 2023).

Pada kepala memiliki mata majemuk *ocelli* (3 segi kecil yang umumnya menaukur intensitas cahaya), antena, dan rangkaian ‘fitur’ kompleks yang



ituk mulut. Detail struktur pada bagian mulut sangat penting dalam sai dan evolusi lebah. Antena berperan dalam membantu menentukan

jenis kelamin lebah, kecuali pada beberapa kasus, ada 13 subdivisi antena pada jantan dan 12 pada betina (Packer, 2023).



**Gambar 4.** Tampakkan *dorsal* lebah (Pecker, 2023).

*Mesosoma* memiliki 3 pasang kaki dan 2 pasang sayap. Setiap kaki dibagi menjadi 5 bagian : *coxo basal*, *trochanter minor*, *femur* memanjang, *tibia* memanjang, dan subsegmen *tarsus*, segmen *basal* biasanya cukup Panjang. *Tibia* memiliki 1 atau 2 *taji apical*, yang ada pada kaki depan membentuk bagian dari alat pembersih antena. Banyak lebah (seringkali hanya betina) memiliki tonjolan segitiga atau U di dasar *tibia* belakang (lutut lebah sebenarnya, karena membantu serangga membentuk dinding liangnya). Disebut sebagai *basitibial*, yang sering ditemukan pada lebah yang bersarang di tanah (Packer, 2023).

*Mesosoma* dibagi menjadi 4 segmen. Tiga pertama membentuk *thorax*



an ketiga memiliki sayap. Segmen ke-4 merupakan segmen pertama *omen* sejati, yang disebut *propodeum*. Tampakkan *dorsal propodeum*

adalah perpanjangan dari segmen ke-3 *thorax* yang disebut *metaspostnotum* dalam banyak literatur. Segmen ke-2 *mesosoma* jauh lebih besar dari segmen lain dan memiliki sebagian besar otot terbang (Pecker, 2023).

*Metasoma* dibagi menjadi segmen-segmen (seperti antena) yang juga berbeda jumlahnya antara jantan dan betina: betina memiliki 6 dan jantan memiliki 7 segmen yang terlihat secara eksternal. Pada alat penyengat beberapa lebah melengkung ke bawah, beberapa melengkung ke atas, dan pada yang lain lurus sempurna. Panjang bervariasi, beberapa lebah, terutama beberapa lebah *cuckoo*, memiliki sengat yang sangat panjang dan sempit, dan kadang dapat dikeluarkan sepenuhnya dari ujung struktur yang disebut *furcula*, yang berfungsi seperti 'pelempar tombak'. Pada lebah lain, termasuk lebah madu tanpa sengat dan beberapa keturunan berbeda dari lebah *cuckoo*, batang penyengat praktis tidak ada. Lebah tersebut tidak mampu menimbulkan rasa sakit dengan sengatan (Pecker 2023).

### 2.1.3. Habitat

Lebah telah hidup sekitar 125 juta tahun dan terus berevolusi, membuat mereka berhasil menempati hampir semua habitat. Keberagaman kondisi geografi habitat lebah menyebabkan munculnya variasi pada morfologi dan memunculkan sub spesies baru pada daerah tertentu (Semuel *et al.*, 2019).

Kebanyakan lebah membuat sarang di dalam tanah, namun beberapa membuat sarang di kayu, batang lapuk, batang *Agave*, atau lokasi tak terduga, sarang rayap. Selain itu, dapat berdiri bebas atau dari liang kumbang



tua, sarang bekas lebah atau tawon, cangkang siput, atau sarang terbungkalai lainnya. Pada bagian sel induk dilapisi dengan sekresi kelenjar, beberapa menggunakan minyak bunga, kombinasi pasir, kerikil dan produk tanaman (daun atau kelopak) (Danforth *et al.*, 2019).

#### 2.1.4. Koloni

Dalam sebuah koloni lebah akan terdapat seekor ratu (*queen*), lebah pekerja (betina), dan lebah pejantan (*drone*) (Pecker, 2023). Pembagian dalam koloni lebah didasarkan dengan hirarki dan tugasnya masing-masing. Lebah berkomunikasi (dengan tarian atau jejak bau) untuk eksploitasi sumber daya yang berada di sekitar sarang (Danforth *et al.*, 2019).

##### A. Lebah ratu (*queen*)

Lebah ratu merupakan lebah dengan tubuh yang paling besar dalam suatu koloni. Tugas lebah ratu hanya satu, yakni bertelur (lebah jantan, pekerja, atau calon ratu). Hidup lebah ratu diawasi, diberi makan oleh lebah pekerja khusus, dan menjaga kebersihan badannya. Dalam sebuah sarang hanya ada satu lebah ratu dengan masa hidup kurang lebih 4 tahun yang akan digantikan oleh calon ratu saat mati (Komaludin *et al.*, 2021).

##### B. Lebah pejantan (*drone*)



Lebah pejantan memiliki tubuh yang pendek dengan warna kehitaman. Ia pemalas, hanya terbang jauh untuk mengejar ratu lalu dikawini (dan mati). Lebah pejantan membawa sel telur untuk membuahi sang

ratu untuk keberlangsungan suatu koloni. Makan dan minum dicukupi oleh lebah pekerja dan cukup rakus. Lebah pejantan dapat menghasilkan suara keras dan bising, namun tidak suka berkelahi, dengan masa paceklik suram karena akan dibunuh oleh lebah pekerja. Masa hidup berkisar antara 70 hari atau 10 minggu (Komaludin *et al.*, 2021).

### C. Lebah pekerja (*worker*)

Lebah pekerja merupakan lebah betina yang tidak sempurna (tidak bertelur/infertil). Memiliki tubuh dengan ukuran tubuh kecil dan warna kecoklatan. Lebah pekerja memiliki sifat yang agresif, disiplin, dan bertanggung jawab. Lebah pekerja mempunyai sengat, namun saat menyengat akan terjadi kerusakan pada bagian tubuhnya yang nantinya akan mati (dapat bertahan hingga 3 hari). Lebah pekerja bertugas untuk memberi makan lebah ratu dan larva, membuat sarang, mencari nektar dan serbuk sari, memproses dan menyimpan madu dan mencari air. Masa hidup lebah pekerja kurang lebih 70 hari atau 10 minggu (Komaludin *et al.*, 2021).

### 2.3. PCR (*Polymerase Chain Reactio*)

DNA polimerase memainkan peran penting pada replikasi dan perbaikan DNA *in vivo*, serta dalam biologi molekular, terutama dalam *polymerase chain reaction* (PCR). PCR merupakan metode yang cepat, spesifik, dan sensitif untuk amplifikasi urutan asam nukleat, dan banyak digunakan dalam penelitian dan laboratorium klinis. PCR sendiri telah menjadi metode dan alat



penting dalam bidang ilmu biologi (Spibida *et al.*, 2017). PCR (*Polymerasi Chain Reaction*) adalah teknologi yang mudah digunakan dengan penambahan nukleotida polimerisasi yang disebut primer berdasarkan urutan target. Campuran utama mengandung enzim DNA-polimerasi, larutan garam *buffer*, larutan magnesium, dan DNA target. Amplikon spesifik dari urutan target kemudian diperoleh setelah siklus termal yang sesuai. Namun pada kenyataannya, deskripsi ini sederhana, Misalnya, primer mungkin tidak mengikat secara spesifik atau bahkan tidak memulai polimerisasi sama sekali. Dalam kasus tersebut, percobaan dapat menghasilkan data yang tidak berarti tanpa signifikansi biologis yang kuat (Biaassoni dan Raso, 2020).

PCR dapat memperkuat (amplifikasi) dari DNA dengan sumber apapun, seperti fragmen DNA yang berasal dari fosil atau residu di TKP, bahkan sel tunggal. Amplifikasi ini biasanya hanya memerlukan waktu beberapa jam, menghasilkan jutaan salinan urutan DNA target yang diinginkan. Hasilnya adalah pemurnian bagian DNA tertentu dari sekuens disekitarnya dalam satu reaksi (Bergtrom, 2020).

### 2.3.1. Primer *chytochrome c oxidase* sub unit I (COI)

*Chytochrome C Oxidase* sub unit I (COI) merupakan primer standar dalam konsep "*Barcode of Animal Life*" atau pengurutan gen dalam mengidentifikasi Sebagian besar hewan. COI sangat cocok untuk tujuan . Primer ini sangat andal dan tersedia, selain itu COI hadir di semua an tidak memiliki intron. Mutasi indel jarang terjadi dan memiliki tingkat



substitusi yang tinggi pada posisi kodon ke-3, sehingga memberikan keragaman urutan nukleotida (Heller *et al.*, 2018). COI merupakan mitokondria DNA yang paling sering digunakan dalam *barcode* hewan. Penggunaan COI pada spesies *invertebrae* telah terbukti efisien dalam membedakan spesies, seperti pada *collembola* (Anslan dan Todersoo, 2015).

#### 2.4. DNA (*Deoxyribo Nucleic Acid*)

*Nucleic acid* merupakan pembawa kode genetik pada makhluk hidup. *Nucleic acid* terdapat 2 tipe, yakni *deoxyribo nucleic acid* (DNA) dan *ribo nucleic acid* (RNA). DNA merupakan untaian 2 rantai (*double-stranded*) atau dikenal juga *double helix*, rantai tersebut terdiri dari 2 untaian rantai tunggal yang dihubungkan oleh ikatan hidrogen. Sementara RNA nampak dengan uraian rantai tunggal atau *single strand*. Komponen penyusun *nucleic acid* adalah fosfat, gula, dan basa nitrogen. Pada *nucleic acid* terdapat 5 jenis basa nitrogen, yakni *adenine* (A), *thymine* (T), *guanine* (G), *cytosine* (C) dan *uracil* (U) (Ableitner, 2022).

##### 2.4.1. Isolasi DNA

Menurut Maftuchah *et al.* (2015), Isolasi DNA pada hewan memerlukan kualitas DNA yang baik, kualitas dipengaruhi oleh kondisi dari materi jaringan yang digunakan. Materi diambil sebelum melakukan isolasi DNA. Jaringan segar dapat disimpan pada waktu singkat sebelum dilakukan isolasi, disimpan pada kondisi dingin, namun tidak beku (seperti dengan



bungkus plastik dan simpan dalam es). Kemudian penyimpanan dalam jangka Panjang memerlukan perlakuan :

- A. Simpan pada penyimpanan beku dengan suhu  $-80^{\circ}\text{C}$ ,
- B. Pencelupan jaringan pada nitrogen cair diikuti penyimpanan beku dengan suhu  $-80^{\circ}\text{C}$ ,
- C. Perlakuan liofilisasi, dengan hasil liofilliasi dapat disimpan pada suhu ruangan dalam jangka panjang (beberapa tahun) dalam kondisi kering.

#### 2.4.2. Sequencing

Metode *sequencing* yang sering digunakan adalah metode “Sanger” atau dikenal juga dengan nama “Sanger Sequencing”. *Sequencing* merupakan urutan nukleotida (*sequence*) pada satu untaian rantai DNA. Metode ini digunakan untuk deteksi adanya mutase pada DNA atau identifikasi patogen. Hasilnya akan dievaluasi dengan membandingkan nukleotida hasil *sequence* (hasil *sequencing*) dengan referensi *sequence* yang telah ada dan tersedia dalam *database*. Metode *sequencing* ini juga digunakan dalam menguraikan kode genetik pada berbagai organisme (Ableiner, 2022).

Menurut Ableiner (2022), metode *sanger sequencing* dapat dibagi kedalam 8 langkah sederhana, yakni :

1. Isolasi DNA
2. Amplifikasi PCR (Produk PCR A terbentuk)



3. Elektroforesis untuk control PCR
4. Identifikasi Produk PCR A

5. Sequencing PCR (dari produk PCR A menjadi produk PCR B)
6. Purifikasi Produk PCR B
7. Elektroforesisi *Capillary*
8. Perbandingan *database*

## **2.5. Hubungan Antara Identifikasi Spesies Lebah dengan Pemeriksaan PCR**

Identifikasi organisme melalui morfologinya relatif mudah pada hewan dengan ukuran besar dan sedang. Sementara identifikasi pada spesies *invertebrae* kecil lebih sulit, utamanya karena karakter mikroskopis yang buruk. Selain itu identifikasi melalui morfologi tidak dapat begitu diandalkan. Isu tersebut menyebabkan penilaian yang rendah terhadap biodiversitas (Anslan dan Tedersoo, 2015). Seperti pada lebah, yang terdapat sekitar 20.000 jenis spesies yang sulit untuk diidentifikasi secara morfologi (Supeno dan Erwan, 2016). Sehingga, metode molekuler biasa digunakan dalam identifikasi dan pemisahan spesies yang lebih akurat (Anslan dan Tedersoo, 2015). Salah satu metode tersebut melalui pemeriksaan PCR yang dapat diikuti dengan pemeriksaan rantai DNA dan dikomparasikan dengan rantai DNA yang telah didatakan sebelumnya.

