



Analisis Filogenetik *Cryptic Species Apis Cerana* Fabricius, 1793 Berdasarkan Gen 16S rRNA

¹Amira Puspitasari, ^{2*}I Made Budiarsa, ³Abdul Ashari, ⁴Manap Trianto, ⁵Fatmah Dhafir, ⁶Yulia Windarsih¹.

^{1,2,3,4,5,6}Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Tadulako, Palu, Indonesia.

*Corresponding Author e-mail: budiarsa.bio@gmail.com

Received: February 2025; Revised: February 2025; Accepted: March 2025; Published: March 2025

Abstrak: *Apis cerana* merupakan anggota kelas Insecta yang dikelompokkan dalam ordo Hymenoptera. Analisis filogenetik digunakan untuk menggambarkan hubungan kekerabatan makhluk hidup melalui pohon filogeni. Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan hubungan filogenetik *cryptic species* pada *Apis cerana* berdasarkan gen 16S rRNA. Pengambilan sampel menggunakan metode jelajah di berbagai daerah, kemudian dilakukan isolasi DNA, amplifikasi DNA, *sequencing*, dilanjutkan dengan analisis bioinformatika dengan menggunakan GeneStudio, DNASTAR, MESQUITE, dan MEGA 11. Hasil penelitian menunjukkan bahwa analisis filogenetik dengan metode Neighbor-Joining (NJ) dan Maximum Likelihood (ML) menghasilkan pohon filogenetik yang menggambarkan hubungan evolusi yang jelas. *A. cerana* dari Sulawesi Tengah lebih dekat kekerabatannya dengan spesies *A. cerana* lain dalam satu *clade* yang sama, sementara spesies lainnya terpisah. Hasil penelitian ini menunjukkan pola kekerabatan yang jelas antar populasi *A. cerana*.

Kata Kunci: *Apis cerana*; filogenetik; 16S rRNA

Abstract: *Apis cerana* is a member of the Insecta class grouped in the order Hymenoptera. Phylogenetic analysis is used to describe the kinship of living things through phylogeny trees. This study aims to describe the phylogenetic relationship of cryptic species in *Apis cerana* based on the 16S rRNA gene. Sampling use the cruising method in various regions, the DNA isolation, DNA amplification, sequencing, followed by bioinformatics analysis using GeneStudio, DNASTAR, MESQUITE, and MEGA 11. The result showed that phylogenetic analysis with the Neighbor-Joining (NJ) and Maximum Likelihood (ML) methods produced a phylogenetic tree that illustrates clear evolutionary relationship. *A. cerana* from Central Sulawesi is more closely related to other *A. cerana* species in the same *clade*, while other species are separated. The result of this study show a clear pattern of kinship between *A. cerana* populations.

Keywords: *Apis cerana*, phylogenetics, 16S rRNA

How to Cite: Puspitasari, A., Budiarsa, I., Ashari, A., Dhafir, F., Windarsih, Y., & Trianto, M. (2025). Analisis Filogenetik Cryptic species *Apis cerana* Fabricius, 1793 Berdasarkan Gen 16S rRNA. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 13(1), 521-530. doi:<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i1.14967>



<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i1.14967>

Copyright© 2025, Puspitasari et al

This is an open-access article under the CC-BY-SA License.



PENDAHULUAN

Lebah madu adalah serangga penghasil madu yang hidup berkelompok dalam satu sarang (Taye, 2020) dan biasanya terdiri dari satu lebah ratu, ratusan lebah jantan, dan ribuan lebah pekerja di dalam koloni (Bovo et al., 2020). Jenis-jenis lebah madu di Indonesia ialah *Apis dorsata* (lebah hutan), *A. andreniformis* (lebah kerdil), *A. koschevnikovi* (lebah merah), *A. nigrocincta* (lebah lokal Sulawesi), dan *A. cerana* (lebah lokal) (Lamarkabel et al., 2023). *Apis cerana* merupakan anggota kelas Insecta (Gao et al., 2020) yang dikelompokkan dalam ordo Hymenoptera dan termasuk famili Apidae (Rajkumari et al., 2020). Dilihat dari morfologinya, *A. cerana* memiliki ukuran tubuh lebih kecil, tubuhnya berwarna hitam, dengan *clipeus* dan *femur* kaki belakangnya berwarna hitam (Nuraini & Purwanto, 2021). *A. cerana* dapat menghasilkan madu, propolis, *royal jelly*, dan lilin lebah yang mengandung nutrisi dan bermanfaat bagi kesehatan (Hasam et al., 2020). Selain itu, *A. cerana* juga mampu

meningkatkan hasil panen dan ketersediaan pangan melalui penyerbukan (Chauhan & Joshi, 2024). Lebah ini termasuk dalam kelompok *cryptic species* karena kemiripan morfologi (Mamuaya et al., 2024) dengan *A. nigrocincta* (Nuraini & Purwanto, 2021).

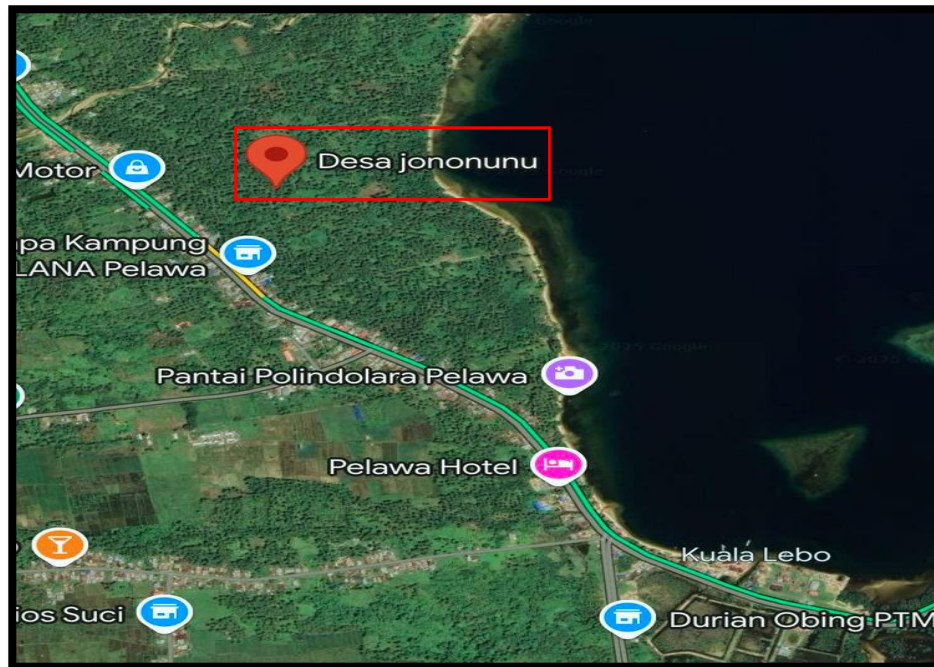
Cryptic species merupakan kelompok spesies yang memiliki kemiripan morfologi sehingga sulit dibedakan sebagai spesies tunggal. Hal ini dapat menyebabkan permasalahan dalam penentuan identitas spesies (Triandiza & Maddupa, 2018). Kesalahan dalam *cryptic species* pada *Apis cerana* dapat menyebabkan permasalahan taksonomi dan identifikasi (Jourdan et al., 2023). Oleh karena itu, untuk membedakan *cryptic species* dapat menggunakan analisis filogenetik dengan penanda molekuler DNA mitokondria (mtDNA) (Vaamonde et al., 2021). DNA mitokondria (mtDNA) dipilih karena genom haploidnya yang jelas, tidak mengalami rekombinasi, pewarisan maternal yang efektif, replikasi yang terus menerus, dan perubahan genetik yang terjadi secara cepat (Kamarudin et al., 2016). Salah satu gen pada DNA mitokondria yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi *cryptic species* pada *A. cerana* adalah gen *16S rRNA* (Mas'ud et al., 2023). Gen *16S rRNA* adalah molekul *ubiquitous* yang memiliki fungsi yang sama disetiap organisme, sehingga dapat digunakan sebagai penanda molekuler (Abellan et al., 2021). Sekuens gen *16S rRNA* mampu memberikan informasi mengenai hubungan evolusi spesies dan populasi yang berkerabat dekat sehingga dapat menjadi Solusi terhadap tantangan morfologi untuk spesies yang sulit dibedakan (*cryptic species*) (Mamuaya et al., 2024).

Analisis filogenetik merupakan analisis yang bertujuan untuk menggambarkan hubungan kekerabatan dari makhluk hidup yang digambarkan dalam suatu pohon filogeni (Subari et al., 2021). Selain itu, analisis ini dapat memberikan gambaran mengenai proses perubahan evolusi yang terjadi pada suatu spesies. Evolusi organisme yang dapat diidentifikasi dalam hal ini yaitu perubahan karakter yang sama antara satu spesies dengan spesies yang lainnya (Shakya et al., 2020). Informasi mengenai analisis filogenetik gen *16S rRNA* *A. cerana* masih jarang dan terbatas dilaporkan, Penelitian yang berkaitan dengan analisis filogenetik *A. cerana* berdasarkan gen *16S rRNA* dapat menambah serta melengkapi data informasi genetik yang selanjutnya dapat dijadikan sebagai acuan dalam pengembangan budidaya lebah madu. Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan hubungan filogenetik pada *A. cerana* berdasarkan gen *16S rRNA*.

METODE

Penelitian ini menggunakan analisis deskriptif eksploratif dengan pendekatan kualitatif dan kuantitatif. Penelitian jenis deskripsi eksploratif bertujuan untuk menggambarkan keadaan suatu fenomena. Data kualitatif merupakan data deskriptif yang diperoleh dari hasil isolasi, amplifikasi dan analisis *sequencing* DNA *Apis cerana* berdasarkan gen *16S rRNA* serta analisis bioinformatika. Data kuantitatif adalah data numerik yang diperoleh dari persentase identitas hasil BLAST.

Penelitian ini dilakukan dengan pengambilan sampel *Apis cerana* di Desa Jononunu, Kecamatan Parigi Tengah, Kabupaten Parigi Moutong, Sulawesi Tengah (Gambar 1). Sampel *Apis cerana* dikumpulkan menggunakan metode jelajah dengan mencatat koordinat sarang menggunakan GPS. Larutan gula disemprotkan sebagai umpan di titik sampling dengan pengecekan pagi, siang, dan sore. Spesimen ditangkap menggunakan *insect net*. Isolasi, amplifikasi, dan sekuensing DNA dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada, sedangkan analisis bioinformatika dilaksanakan di Kota Palu.



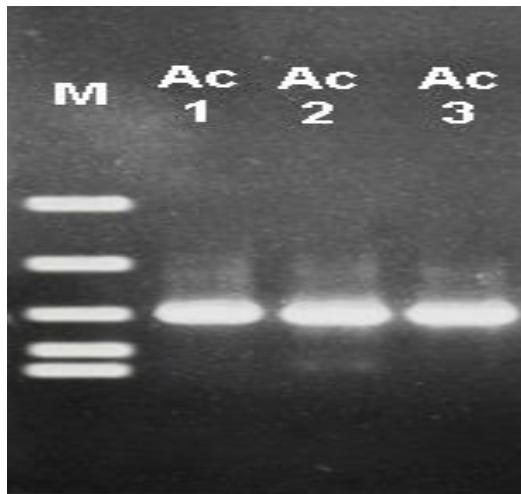
Gambar 1. Lokasi pengambilan sampel

Sampel *Apis cerana* dikumpulkan dengan metode jelajah, ditandai dengan koordinat GPS. Koleksi sampel dilakukan berdasarkan Trianto & Purwanto (2020). Sepuluh titik sampling dibuat, disemprot larutan gula, dan diperiksa tiga kali sehari sebelum lebah ditangkap dengan *insect net*. Isolasi DNA dilakukan pada *Apis cerana* tanpa kepala dan sayap menggunakan *gSYNSTM DNA Extraction Kit*. Sampel diinkubasi dengan reagen pada 60°C selama 2,5 jam, lalu supernatant diproses dengan GSB, EtOH absolut dan GS column. DNA diekstraksi dari tubuh *Apis cerana* dengan proses lisis, sentrifugasi, pencucian, dan elusi menggunakan buffer elusi, lalu disimpan pada suhu -20°C. Amplifikasi DNA dan sekuensing dilakukan menggunakan primer 16S *rRNA* (LR13107 forward & LR12647 reverse) dengan PCR dalam volume 25 µL. Siklus PCR mencakup *pre-denaturation* (95°C, 5 menit), 35 siklus *denaturation* (94°C, 35 detik), *annealing* (50°C, 30 detik), *extension* (72°C, 30 detik), dan *post-extension* (72°C, 7 menit). Hasil amplifikasi dikirim ke LPPT UGM untuk sekuensing menggunakan *Genetic Analyzer 3500* (Applied Biosystem). Elektroforesis DNA dilakukan dengan gel agarose 1% dan dijalankan pada tegangan 50V selama 17-20 menit. Hasil diamati menggunakan UV transiluminator dan gel *documentation system* untuk melihat pita DNA.

Data sekuensing (file *ab1 forward* dan *reverse*) diedit menggunakan GeneStudio dan DNASTAR. Konsensus sekuen dianalisis dengan *Nucleotide BLAST* (NCBI) untuk identifikasi spesies. Pensejajaran dilakukan dengan MESQUITE dan diubah ke format FASTA untuk analisis di MEGA11. Estimasi jarak genetik dihitung dengan model Kimura 2-parameter, sedangkan pohon filogeni direkonstruksi menggunakan metode *Neighbor-Joining* dan *Maximum Likelihood* (MEGA11).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tiga sampel *Apis cerana* berhasil diamplifikasi menggunakan gen mitokondria 16S *rRNA* dengan primer *forward* LR13107-F dan primer *reverse* LR12647-R yang menghasilkan pita DNA tunggal berukuran 470 bp. Hasil elektroforesis gen mitokondria 16S *rRNA* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil Amplifikasi gen mitokondria *16S rRNA*. Sampel Ac adalah *A. cerana* dari Desa Jononunu, Kecamatan Parigi Tengah, Kabupaten Parigi Moutong, Sulawesi Tengah, dan M merupakan penanda (*marker*)

Hasil sekuen dianalisis menggunakan *nucleotide* BLAST (NCBI) untuk melihat kemiripan nilai *query cover* dan *similarity* pada tiga sekuens DNA yang diperoleh. Nilai – nilai ini menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai *query cover* dan *similarity* maka semakin besar kemiripan antara sekuen sampel dengan sekuen *database* (Aprilianto & Sembiring, 2016). Hasil analisis *online nukleotide* BLAST yang digunakan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisis BLAST sekuen gen mitokondria *16S rRNA* *A. cerana* Sulawesi Tengah dengan database *GenBank* Sulawesi Tengah

Kode	BLAST		Accession Number <i>GenBank</i>	Verifikasi spesies	Lokasi
	% Identity	% Query Cover			
ACST.01	99,01	100	KX113623.1	<i>Apis cerana</i>	Sulawesi Tengah
ACST.02	98,62	100	KX113623.1	<i>Apis cerana</i>	Sulawesi Tengah
ACST.03	98,59	100	KX113623.1	<i>Apis cerana</i>	Sulawesi Tengah

Hasil analisis BLAST gen mitokondria *16S rRNA* menunjukkan bahwa sekuen DNA *Apis cerana* dari Sulawesi Tengah memiliki nilai *query cover* 100% dan persentase identitas di atas 98% ketika dibandingkan dengan data referensi di *Genbank*. Semakin tinggi nilai parameter ini maka semakin besar kemiripan urutan *database* dengan *query* yang di analisis (Nuraini & Purwanto, 2021). Berdasarkan hasil analisis, sampel yang diteliti teridentifikasi sebagai *Apis cerana*.

Variasi Genetik Sekuen *Apis cerana*

Analisis variasi genetik menunjukkan bahwa lima spesies *Apis cerana* memiliki 470 bp dengan 5 *haplotype*, 12 *variable site*, dan 6 *parsimony site*. Selain itu, lima sekuen ini menunjukkan *haplotype diversity* sebesar $1,000 \pm 0,126$ dan *nucleotide diversity* sebesar $0,01111 \pm 0,00236$ yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Variasi genetik intraspesies antar sampel *Apis cerana* (ACST.01 - JQ317307.1) dengan *Apis cerana* dari GenBank berdasarkan gen mitokondria 16S rRNA

Kode Sampel	bp	Jumlah Individu	Jumlah Haplotipe	Variabel Site	Parsimony Site	Haplotype Diversity (Hd)	Nucleotide Diversity (π)
ACST.01							
ACST.02							
ACST.03	470	5	5	12	6	1,000 $\pm$ 0,126	0,01111 $\pm$ 0,00236
KX113623.1							
JQ317307.1							

Haplotype diversity dikatakan tinggi karena berada dalam rentang $0,5 < Hd \leq 1$ menunjukkan adanya variasi genetik yang tinggi diantara individu-individu dalam populasi *A. cerana*. Sementara itu, tingkat *nucleotide diversity* dikatakan rendah karena nilainya kurang dari 0,10 menunjukkan bahwa populasi *A. cerana* menghadapi tantangan dalam adaptasi terhadap perubahan lingkungan seperti fenomena *cryptic species* yang dapat menyulitkan pemahaman keragaman variasi genetik dalam populasi. (Kurniawan et al., 2023).

Komposisi Nukelotida

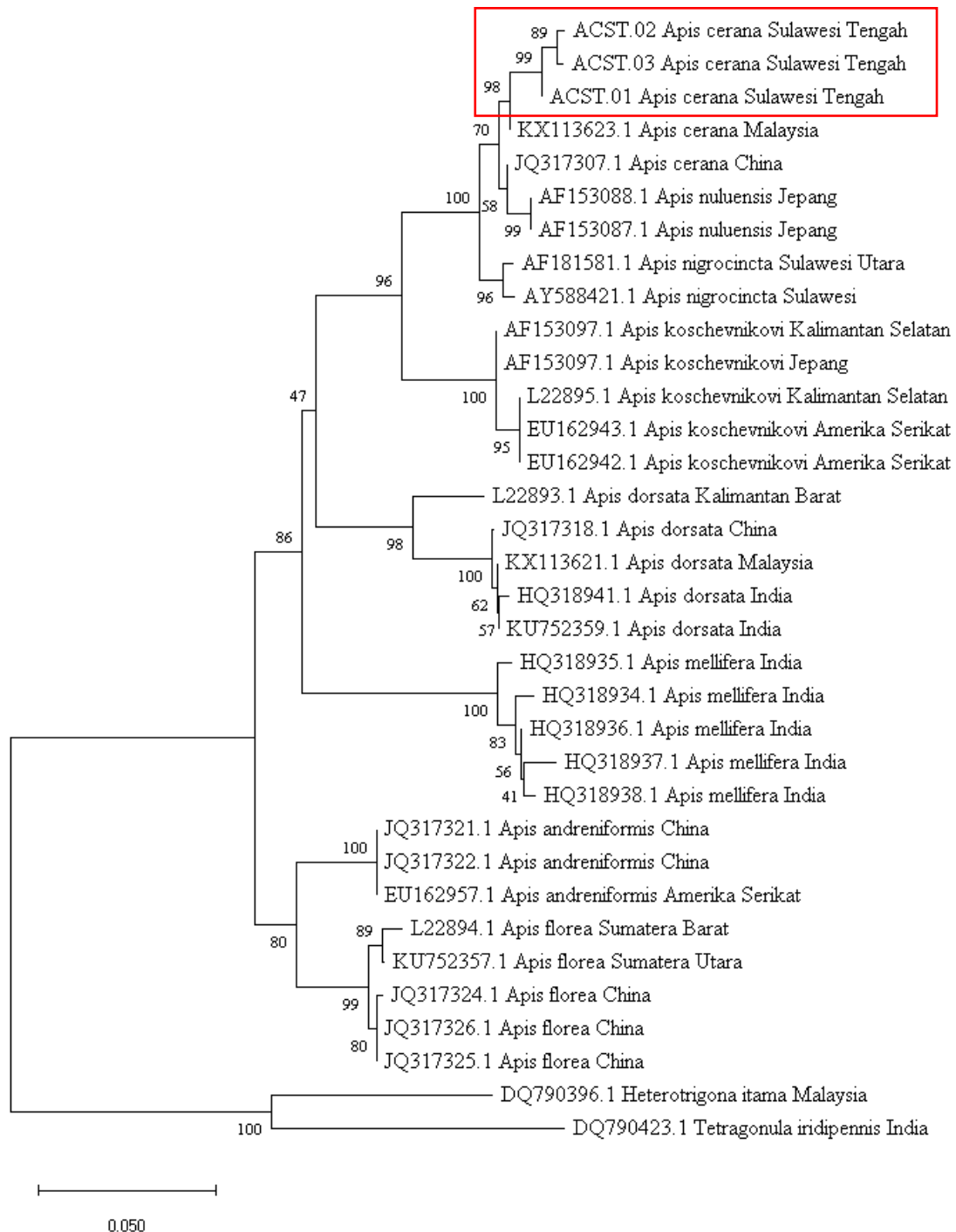
DNA tersusun atas empat jenis basa nitrogen, yaitu *Thymine* (T), *Cytosine* (C), *Adenine* (A), dan *Guanine* (G). Pasangan basa *Guanine* (G) dan *Cytosine* (C) membentuk ikatan yang lebih kuat karena dihubungkan oleh tiga ikatan hidrogen, sedangkan pasangan *Adenine* (A) dan *Thymine* (T) hanya dihubungkan oleh dua ikatan hidrogen (Saleky & Dailami, 2021). Komposisi nukleotida *A. cerana* terdiri dari yaitu (T) 37,87%, (C) 8,02%, (A) 38,85%, dan (G) 15,27%. Pasangan basa nukleotida A+T mempunyai kandungan nukleotida 76,72% sedangkan G+C 23,28%. Komposisi nukleotida untuk setiap sampel dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Komposisi nukleotida gen mitokondria 16S rRNA *Apis cerana*

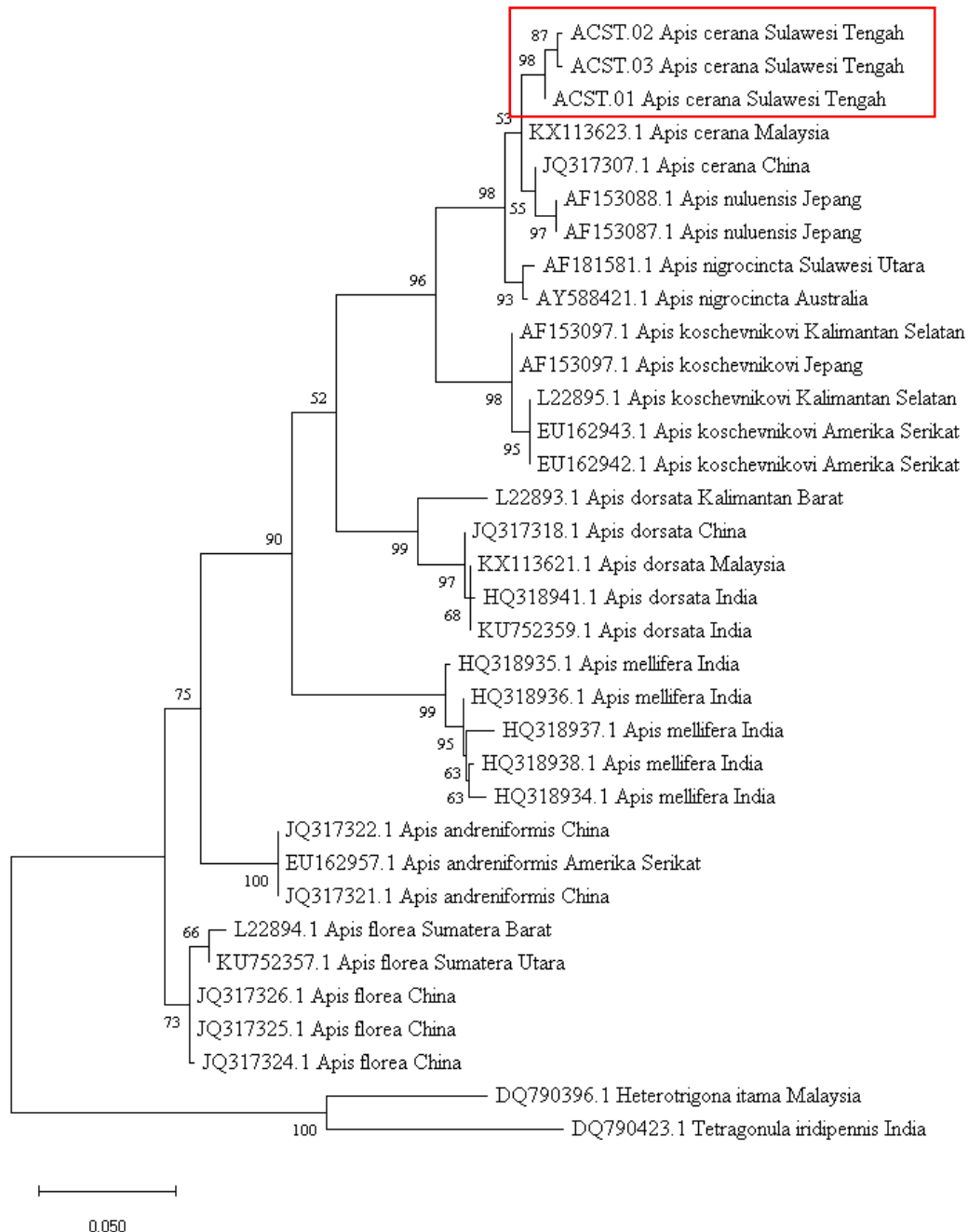
Kode	T(U)	C	A	G	A+T	G+C	Lokasi	Referensi
ACST.01	37,95	7,89	38,81	15,35	76,76	23,24	Sulawesi tengah	Data penelitian
ACST.02	37,74	8,10	38,38	15,78	76,12	23,88	Sulawesi Tengah	Data penelitian
ACST.03	37,95	7,89	38,59	15,57	76,55	23,45	Sulawesi Tengah	Data Penelitian
KX113623.1	37,74	8,10	39,45	14,71	77,19	22,81	Malaysia	Nuraini & Purwanto (2021)
JQ317307.1	37,95	8,10	39,02	14,93	76,97	23,03	China	Nuraini & Purwanto (2021)
Rata-rata	37,87	8,02	38,85	15,27	76,72	23,28		

Pohon Filogenetik dan Jarak Genetik

Pohon filogenetik direkonstruksi menggunakan MEGA11 dengan metode *Neighbor-Joining* (NJ) dan *Maximum Likelihood* (ML), serta model evolusi *Kimura 2-Parameter* dengan *bootstrap* 10.000 kali. Analisis menggunakan 34 sekuen 16S rRNA termasuk tiga sekuen *A. cerana* dari Sulawesi Tengah dan outgroup *Heterotrigona itama* serta *Tetragonula iridipennis*.



Gambar 3. Pohon Filogenetik menggunakan metode *Neighbor-Joining* (NJ) dengan model Kimura 2-Parameter, bootstrap 10.000x.



Gambar 4. Pohon filogenetik menggunakan metode *Maximum Likelihood* (ML) dengan model Kimura 2-Parameter, bootstrap 10.000x.

Rekonstruksi pohon filogenetik dengan metode *Neighbor-Joining* (NJ) dan *Maximum Likelihood* (ML) berdasarkan gen mitokondria 16S *rRNA* membentuk beberapa *clade* dengan masing-masing spesies berada pada *clade* yang sama. Tiga sekuen *Apis cerana* yang dianalisis memiliki hubungan genetik paling dekat dengan spesies sejenis yang datanya berasal dari *GenBank* dengan nilai bootstrap yang tinggi. Hal ini didukung oleh penelitian Nuraini & Purwanto (2021), Semakin tinggi nilai bootstrap, maka semakin besar tingkat akurasi topologi pohon yang dihasilkan dari rekonstruksi tersebut (Oktafia & Badruzsaufari, 2021). Sementara itu, sekuen *Heterotrigona itama* dan *Tetragonula iridipennis* digunakan sebagai kelompok

outgroup dan membentuk percabangan terpisah. Kelompok *outgroup* dapat memberikan polarisasi karakter atau ciri, yaitu karakter plesiomorfik yang merupakan karakter primitif pada kelompok *outgroup* (Pangestika *et al.*, 2015).

Tabel 4. Jarak genetik gen mitokondria 16S *rRNA* *Apis cerana*

[illegible]

Analisis jarak genetik menunjukkan bahwa jarak genetik antara spesies *A. cerana* dari Sulawesi Tengah yaitu 0,43% - 0,64%. Sedangkan, spesies *A. cerana* yang berasal dari lokasi lain yaitu, 0,43% - 1,95%. Ambang batas yang digunakan untuk membedakan spesies berdasarkan perbedaan genetik adalah 3%. Dengan demikian, jika perbedaan genetik antara dua individu atau kelompok melebihi 3%, maka mereka dianggap berasal dari spesies yang berbeda. Sebaliknya, jika perbedaan genetiknya 3% atau kurang, mereka dianggap dalam spesies yang sama (Zhang & Bu, 2022). Populasi dari Sulawesi Tengah masih termasuk dalam spesies *A. cerana*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa analisis filogenetik dengan metode *Neighbor-Joining* (NJ) dan *Maximum Likelihood* (ML) menghasilkan pohon filogenetik yang menunjukkan hubungan evolusi yang jelas. *Apis cerana* dari Sulawesi Tengah lebih dekat kekerabatannya dengan spesies *Apis cerana* lain dalam satu klaster internal, sementara spesies lainnya terpisah. Hasil penelitian menunjukkan pola kekerabatan yang jelas antar populasi *Apis cerana*.

REKOMENDASI

Penelitian lebih lanjut dapat dilakukan dengan menggunakan penanda genetik lain, seperti gen *COI* atau gen *cyt b*, untuk mendapatkan analisis yang lebih komprehensif terkait hubungan evolusi dan variasi genetik *A. cerana*. Selain itu, perlu dilakukan pengambilan sampel dari berbagai daerah agar pola distribusi dan adaptasi populasi *A. cerana* di Indonesia dapat dipahami secara lebih mendalam.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pembimbing, tim peneliti, serta semua pihak yang telah memberikan dukungan, baik berupa bimbingan, fasilitas, maupun motivasi yang telah membantudalam menyelesaikan penelitian yang berjudul “Analisis Filogenetik *Cryptic Species Apis Cerana* Fabricius, 1793 Berdasarkan Gen 16S rRNA”.

DAFTAR PUSTAKA

- Abellan, S.I., Matchado, M.S., Reitmeier, S., Sommer, A., Sewald, Z., Baumbach, J., List, M., & Neuhaus, K. (2021). Primer, Pipelines, Parameters: Issues in 16S rRNA Gene Sequencing. *American Society for Microbiology*, 6(1): 1-22. <https://doi.org/10.1128/msphere.01202-20>
- Aprilianto, V., & Sembiring, L. (2016). *Filogenetik Molekuler: Teori dan Aplikasi*. Innosain, Yogyakarta.
- Bovo, S., Utzeri, V.J., Ribani, A., Cabbri, R., & Fontanesi, L. (2020). Shotgun Sequencing of Honey DNA can Describe Honey Bee Derived Environmental Signatures and The Honey Bee Hologenome Complexity. *Scientific Reports*, 10(1): 1–17. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66127-1>
- Chauhan, D.S., & Joshi, R. (2024). Effect of Honey Bee (*Apis cerana*) Dominated Insect Pollination on Yield and Quality of Mustard , Buckwheat and Plum in Central Himalayan Agro Ecosystem. *International Journal of Ecology and Enviromental Sciences*, 5199(4): 543–556. <https://ojs.nieindia.org/index.php/ijeas/article/view/69>
- Gao, J., Jin, S.S., He, Y., Luo, J.H., Xu, C.Q., Wu, Y.Y., Hou, C.S., Wang, Q., & Diao, Q.Y. (2020). Physiological Analysis and Transcriptome Analysis of Asian Honey Bee (*Apis cerana*) in Response to Sublethal Neonicotinoid Imidacloprid. *Insects*, 11(11): 1–20. <https://doi.org/10.3390/insects11110753>
- Hasam, S., Qarizada, D., & Azizi, M. (2020). A Review: Honey and its Nutritional Composition. *Asian Journal of Research in Biochemistry*, 7(3): 34–43. <https://doi.org/10.9734/ajrb/2020/v7i330142>
- Jourdan, J., Bundschuh, M., Ciocianu, D.C, Fiser, C., Grabowski, M., Hupało, K., Kokalj, A.J., Kabus, J., Rombke, J., Soose, L. J., & Oehlmann, J. (2023). *Cryptic species* in Ecotoxicology. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 42(9): 1889–1914. <https://doi.org/10.1002/etc.5696>
- Kamarudin, K.R., Rehan, M.M., Noor, H.M., Ramly, N.Z., & Rehan, A.M. (2016). 16S rRNA Barcoding Technique for Species Identification of Processed Sea cucumbers from Selected Malaysian Markets. *Journal of Science and Mathematics Letters*, 4(1): 10–23. <http://irep.iium.edu.my/58238/>
- Kurniawan, A., Apriyanti, R., Safitri, A.M., Almaghribi, S.P.N., Syarif, A.F., & Kurniawan, A. (2023). Filogeografi *Trigonopoma gracile* dari Sungai Gedong, Bangka dan Catatan di Paparan Sunda berdasarkan Gen COI. *Samakia : Jurnal Ilmu Perikanan*, 14(1): 47–53. <https://journal.ibrahimy.ac.id/index.php/JSAPI/article/view/2349>
- Lamerkabel, J.S.A., Rumthe, R.Y., & Sarkol, M.E. (2023). Species Diversity and Nesting Descriptions of Stingless Bees (Apidae; Meliponini) on Ambon Island. *Jurnal Budidaya Pertanian*, 19(1): 79–86. <https://doi.org/10.30598/jbdp.2023.19.1.79>
- Mamuaya, T., Samuel, M.Y., & Christine, A.C. (2024). Morphology, Morphometry and Analysis of The COI Gene in Silico *Apis dorsata* Binghami from Southeast Minahasa. *Jurnal Pendidikan Tambusai*, 8: 8777–8785.

- <https://doi.org/10.31004/jptam.v8i1.13716>
 Mas'ud, A., Hasan, S., & Sundari, S. (2023). Identifikasi Jenis Lebah Madu Asal Kepulauan Sula menggunakan Aplikasi DNA Barcode LCO Gen. *Jurnal Biosilampari: Jurnal Biologi*, 5(2): 163–168. <https://doi.org/10.31540/biosilampari.v5i2.1888>
- Nuraini, N., & Purwanto, H. (2021). Morphology, Morphometrics, and Molecular Characteristics of *Apis cerana* and *Apis nigrocincta* from Central Sulawesi, Indonesia. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(2): 368–382. <https://doi.org/10.29303/jbt.v21i2.2614>
- Oktafia, R.E., & Badruzsaufari. (2021). Analisis Filogenetik *Garcinia* Spp. berdasarkan Sekuens Gen rRNA. *Ziraa'ah*, 46(2): 259–264. <http://dx.doi.org/10.31602/zmip.v46i2.4526>
- Pangestika, Y., Budiarjo, A., & Kusumaningrum, H.P. (2015). Analisis Filogenetik *Curcuma zedaria* (Temu putih) berdasarkan Gen Internal Transcribed Spacer (ITS), *Jurnal Biologi*, 4(4): 8-13. <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/biologi/article/view/19424>
- Rajkumari, P., Krishi, M. B., Kendra, V., Corresponding, I., Rahman, A., & Rajkumari, P., Krishi, M.B., Kendra, V., Corresponding, I., Rahman, A., & Bathari, M. (2020). Morphometric and Molecular Characterization of Eastern Honey Bee, *Apis cerana* F. Populations in The Northeast Himalayas. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 8(1): 1273–1280. <http://www.entomoljournal.com>
- Shakya, M., Ahmed, S.A., Davenport, K.W., Flynn, M.C., Lo, C.C., & Chain, P.S.G. (2020). Standardized Phylogenetic and Molecular Evolutionary Analysis Applied to Species Across The Microbial Tree of Life. *Scientific Reports*, 10(1): 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58356-1>
- Subari, A., Razak, A., & Sumarmin, R. (2021). Phylogenetic Analysis of *Rasbora* Spp. Based on The Mitochondrial DNA COI Gene in Harapan Forest. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(1): 89–94. <https://doi.org/10.29303/jbt.v21i1.2351>
- Taye, R.R. (2020). An Overview on The Diversity, Nesting Behaviour and Importance of Stingless Bees (Hymenoptera; Apidae). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9(1): 529–532. <http://www.phytojournal.com>
- Triandiza, T., & Maddupa, H. (2018). Application of Morphological Analysis and DNA Barcode in Determination of The Porcelain Crab Species (*Pisidia* Sp.) from The Tunda Island, Banten. *Jurnal Sumberdaya Akuatik Indopasifik*, 2(2): 81-90. <https://doi.org/10.30862/jsai-fpik-unipa.2018.vol.2.no.2.51>
- Trianto, M., & Purwanto, H. (2020). Morphological characteristics and morphometrics of stingless bees (Hymenoptera: Meliponini) in Yogyakarta, Indonesia. *Biodiversitas*, 21(6): 2619–2628. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210633>
- Vaamonde, C.L., Kirichenko, N., Cama, A., Doorenweerd, C., Godfray, H.C.J., Guiguet, A., Gomboc, S., Huemer, P., Landry, J.F., Lastuvka, A., Lastuvka, Z., Lee, K.M., Lees, D.C., Mutanen, M., Van Nieukerken, E.J., Segerer, A.H., Triberti, P., Wieser, C., & Rougerie, R. (2021). Evaluating DNA Barcoding for Species Identification and Discovery in European Gracillariid Moths. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9(2): 1-16. <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.626752>
- Zhang, H., & Bu, W. (2022). Exploring Large Scale Patterns of Genetic Variation in The COI Gene Among Insecta: Implications for DNA Barcoding and Threshold-Based Species Delimitation Studies. *Insects*, 13(5): 1-11. <http://dx.doi.org/10.3390/insects13050425>