



Analisis Filogenetik Lebah Madu Endemik Sulawesi *Apis nigrocincta* Smith, 1860 Berdasarkan Gen 16S rRNA

¹Dhea Hidyana, ²I Made Budiarsa, ³Abdul Ashari, ⁴Manap Trianto, ⁵Musdalifah Nurdin, ⁶Yulia Windarsih

^{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 nigrocincta* adalah lebah madu endemik yang hanya terdapat di dua wilayah di Indonesia yaitu Kepulauan Sangihe dan Pulau Sulawesi. Analisis filogenetik digunakan untuk menggambarkan hubungan kekerabatan makhluk hidup melalui pohon filogeni. Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan hubungan filogenetik lebah madu endemik Sulawesi *A. nigrocincta* berdasarkan gen 16S rRNA. Pengambilan sampel menggunakan metode jelajah diberbagai daerah, kemudian dilakukan isolasi DNA, amplifikasi DNA, *sequencing*, dan dilanjutkan 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. nigrocincta* dari Sulawesi Tengah lebih dekat kekerabatannya dengan spesies *A. nigrocincta* lain dalam satu *clade* yang sama, sementara spesies lainnya terpisah. Hasil penelitian ini menunjukkan pola kekerabatan yang jelas antar populasi *A. nigrocincta*.

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

Abstract: *Apis nigrocincta* is an endemic honey bee that is only found in two regions in Indonesia, namely the Sangihe Islands and Sulawesi Islands. Phylogenetic analysis is used to describe the phylogenetic relationship of Sulawesi endemic honey bee *A. nigrocincta* based on the 16S rRNA gene. Sampling using the cruising method in various regions, then DNA isolation, DNA amplification, sequencing, and continued bioinformatics analysis using GeneStudio, DNASTAR, MESQUITE, and MEGA 11. The results showed that phylogenetic analysis with the Neighbor-Joining (NJ) and Maximum Likelihood (ML) methods produced a phylogenetic tree that illustrates clear evolutionary relationships. *A. nigrocincta* from Central Sulawesi is more closely related to other *A. nigrocincta* species in the same *clade*, while other species are separated. The results of this study show a clear pattern of kinship between *A. nigrocincta* populations.

Keywords: *Apis nigrocincta*; phylogenetics; 16S rRNA

How to Cite: Hidyana, D., Budiarsa, I., Ashari, A., Trianto, M., Nurdin, M., & Windarsih, Y. (2025). Analisis Filogenetik Lebah Madu Endemik Sulawesi *Apis nigrocincta* Smith, 1860 Berdasarkan Gen 16S rRNA. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 13(1), 542-551. doi:<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i1.14968>



<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i1.14968>

Copyright© 2025, First Hidyana et al

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



PENDAHULUAN

Lebah madu memiliki banyak spesies yang tersebar luas di pulau-pulau Indonesia (Jayadi & Susandarini, 2020), salah satunya adalah pulau Sulawesi. Pulau Sulawesi adalah pulau besar di Indonesia dan termasuk dalam kawasan *Wallacea*. Pulau ini memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi dan beberapa diantaranya bersifat endemik termasuk lebah madu (Raffiudin *et al.*, 2022). Jenis lebah madu endemik yang ada di pulau Sulawesi salah satunya ialah *Apis nigrocincta* (Raffiudin *et al.*, 2022). Secara morfologis dapat dilihat bahwa tubuh *A. nigrocincta* memiliki ukuran sedang, memiliki warna tubuh yang lebih kuning dengan clipeus serta femur pada kaki belakang yang juga berwarna kuning (Nuraini & Purwanto, 2021).

Pola penyebaran *A. nigrocincta* hanya terdapat di dua wilayah di Indonesia yaitu Kepulauan Sangihe dan Pulau Sulawesi (Sulawesi Tengah) (Raffiudin *et al.*, 2022). Karena pola penyebarannya yang terbatas, maka lebah madu *A. nigrocincta* termasuk

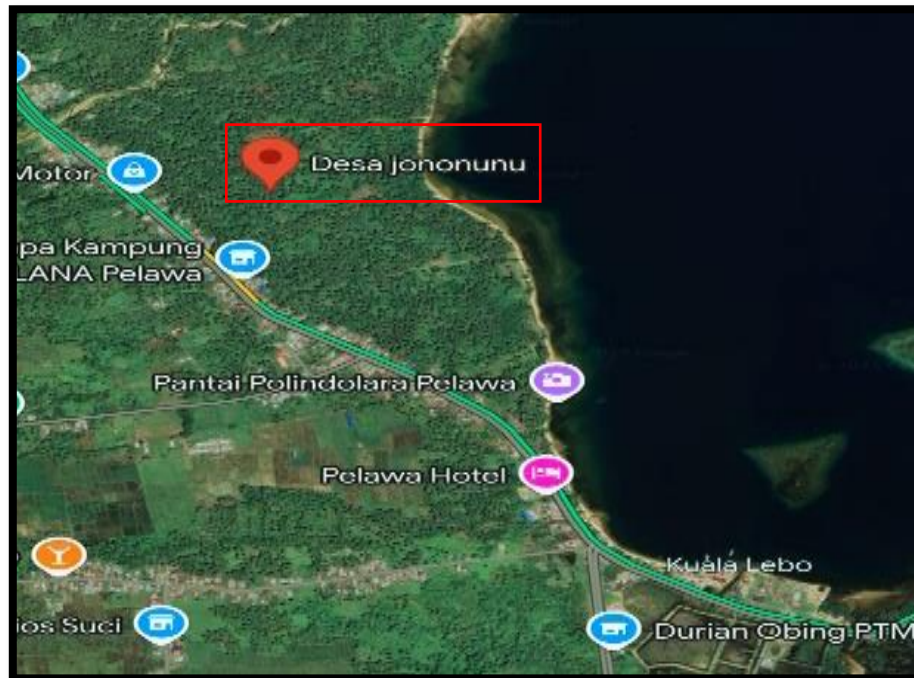
dalam spesies endemik Sulawesi yang perlu dijaga dan dilestarikan (Harianja *et al.*, 2023). Bentuk konservasi yang dapat dilakukan adalah konservasi secara molekuler yang berfungsi agar spesies tersebut tidak punah (Lombogia *et al.*, 2020). Konservasi secara molekuler dapat dilakukan dengan menggunakan DNA mitokondria (mtDNA) (Elyasigorji *et al.*, 2022). DNA mitokondria dipilih karena memiliki beberapa karakteristik diantaranya yaitu dapat diwariskan secara maternal, ukurannya yang lebih kecil, jumlah salinan yang banyak dan lebih peka terhadap mutasi (Wallace, 2018). Salah satu penanda molekuler yang berasal dari DNA mitokondria dan umum digunakan adalah gen 16S rRNA (Mandal *et al.*, 2014). Gen 16S rRNA adalah gen yang bersifat *ubiquitous* yang artinya terdapat disemua makhluk hidup dan melakukan fungsi yang sama disemua organisme (Church *et al.*, 2020). Selain itu, gen 16S rRNA juga memiliki informasi genetik yang cukup lengkap pada *data base Genbank* sehingga banyak digunakan dalam analisis filogenetik (Wanigatunge *et al.*, 2014).

Analisis filogenetik merupakan suatu analisis yang memiliki tujuan untuk menyusun hubungan kekerabatan dan biasanya digambarkan dalam suatu pohon yang memiliki garis bercabang-cabang (Subari *et al.*, 2021). Analisis ini dapat memberikan gambaran tentang proses evolusi spesies. Evolusi organisme yang dapat diidentifikasi dalam hal ini adalah perubahan yang sama antar spesies (Shakya *et al.*, 2020). Informasi mengenai analisis filogenetik dari gen 16S rRNA pada lebah madu endemik Sulawesi *A. nigrocincta* masih jarang dan terbatas dilaporkan. Penelitian ini dapat menambah serta melengkapi data informasi genetik yang selanjutnya dapat dijadikan sebagai acuan dalam pengembangan konservasi. Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan hubungan filogenetik lebah madu endemik Sulawesi *Apis nigrocincta* berdasarkan gen 16S rRNA.

METODE

Penelitian ini menggunakan analisis deskriptif eksploratif dengan pendekatan kualitatif dan kuantitatif. Penelitian jenis deskriptif eksploratif bertujuan untuk menggambarkan keadaan suatu fenomena. Data kualitatif merupakan data deskriptif yang diperoleh dari hasil isolasi, amplifikasi dan analisis *sequencing* DNA *Apis nigrocincta* 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 nigrocincta* di Desa Jononunu, Kecamatan Parigi Tengah, Kabupaten Parigi Moutong, Sulawesi Tengah (Gambar 1). Sampel *Apis nigrocincta* 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. Penelitian ini termasuk ke dalam deskriptif eksploratif dengan pendekatan kualitatif dan kuantitatif.



Gambar 1. Lokasi pengambilan sampel

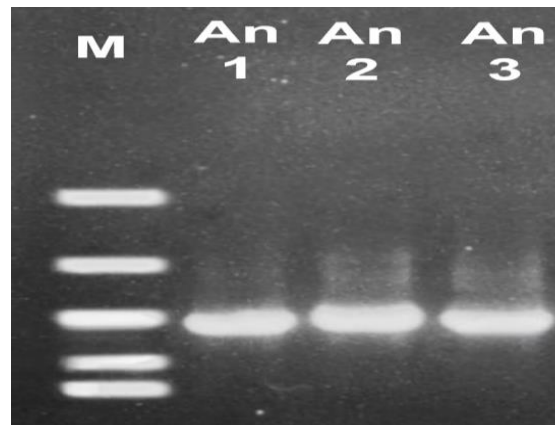
Sampel *Apis nigrocincta* dikumpulkan dengan metode jelajah, ditandai dengan koordinat GPS. Koleksi sampel dilakukan berdasarkan metode Trianto & Purwanto (2020). Sepuluh titik sampling dibuat, disemprot larutan gula, dan diperiksa tiga kali sehari sebelum lebah ditangkap dengan *insect net*. Isolasi DNA dilakukan pada *Apis nigrocincta* 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 nigrocincta* 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 transluminator 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*, *Maximum Likelihood* (MEGA11).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tiga sampel gen mitokondria 16S rRNA *Apis nigrocincta* dari Desa Jononunu, Parigi Tengah, Sulawesi Tengah berhasil diamplifikasi menggunakan PCR dengan primer *forward* LR13107-F dan primer *reverse* LR12647-R. Elektroforesis

menunjukkan fragmen sekitar 453 bp. Hasil elektroforesis gen mitokondria 16S rRNA dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil amplifikasi gen mitokondria 16S Rrna, sampel An adalah *A. nigrocincta* dari Desa Jononunu, Kecamatan Parigi Tengah, Kabupaten Parigi Moutong, Sulawesi Tengah, dan M merupakan penanda (*marker*)

Hasil sekuen dianalisis menggunakan nucleotide BLAST (NCBI) untuk menentukan nilai similaritas dan *query cover* dengan data di *GenBank*. Hasil analisis *online nukleotide BLAST* yang digunakan disajikan pada Tabel 1.

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

Kode	BLAST			Verifikasi Spesies	Lokasi
	% Identity	% Query Cover	Accession Number GenBank		
ANST.01	99,12	100	AF181581.1	<i>Apis nigrocincta</i>	Sulawesi Tengah
ANST.02	98,01	100	AF181581.1	<i>Apis nigrocincta</i>	Sulawesi Tengah
ANST.03	98,26	100	AF181581.1	<i>Apis nigrocincta</i>	Sulawesi Tengah

Hasil analisis BLAST gen mitokondria 16S rRNA menunjukkan bahwa sekuen DNA *Apis nigrocincta* dari Sulawesi Tengah memiliki nilai *query cover* 100% dan persentase identitas diatas 98% menunjukkan tingkat akurasi yang tinggi dalam identifikasi *Apis nigrocincta* yang berasal dari Sulawesi Tengah. Semakin tinggi nilai parameter tersebut, semakin besar tingkat kemiripan sekuens database dengan *query* yang dianalisis (Nuraini & Purwanto, 2021). Berdasarkan hasil analisis, sampel yang diteliti teridentifikasi sebagai *Apis nigrocincta*.

Variasi Genetik Sekuen *Apis nigrocincta*

Analisis genetik *Apis nigrocincta* menunjukkan *Haplotype Diversity* (H_d) $1,000 \pm 0,126$ dengan 5 haplotipe dan *Nucleotide Diversity* (π) $0,01479 \pm 0,00295$, menandakan keragaman nukleotida yang tinggi. Ditemukan 13 *variabel site* dan 6 *parsimony site*. Polimorfisme intraspecies ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Variasi genetik intraspesies antar sampel *Apis nigrocincta* (ANST.01 – AY588421.1) dengan *Apis nigrocincta* dari GenBank berdasarkan gen mitokondria 16S *rRNA*

Kode Sampel	bp	Jumlah Individu	Jumlah Haplotipe	Variabel Site	Parsimony Site	Haplotype Diversity (Hd)	Nucleotide Diversity (π)
ANST.01 ANST.02 ANST.03 AF181581.1 AY588421.1	453	5	5	13	6	1,000 $\pm$ 0,126	0,01479 $\pm$ 0,00295

Haplotype diversity yang tinggi karena berada dalam rentang $0,5 < Hd \leq 1$ menunjukkan adanya variasi genetik yang tinggi diantara individu-individu dalam populasi *A. nigrocincta*. Sementara itu, tingkat *nucleotide diversity* dikatakan rendah karena nilainya kurang dari 0,10 menunjukkan bahwa populasi *A. nigrocincta* mengalami kesulitan dalam distribusi geografis karena merupakan hewan endemik, sehingga dapat menyulitkan pemahaman tentang variasi genetik dalam populasi tersebut (Kusumah *et al.*, 2023).

Komposisi Nukleotida

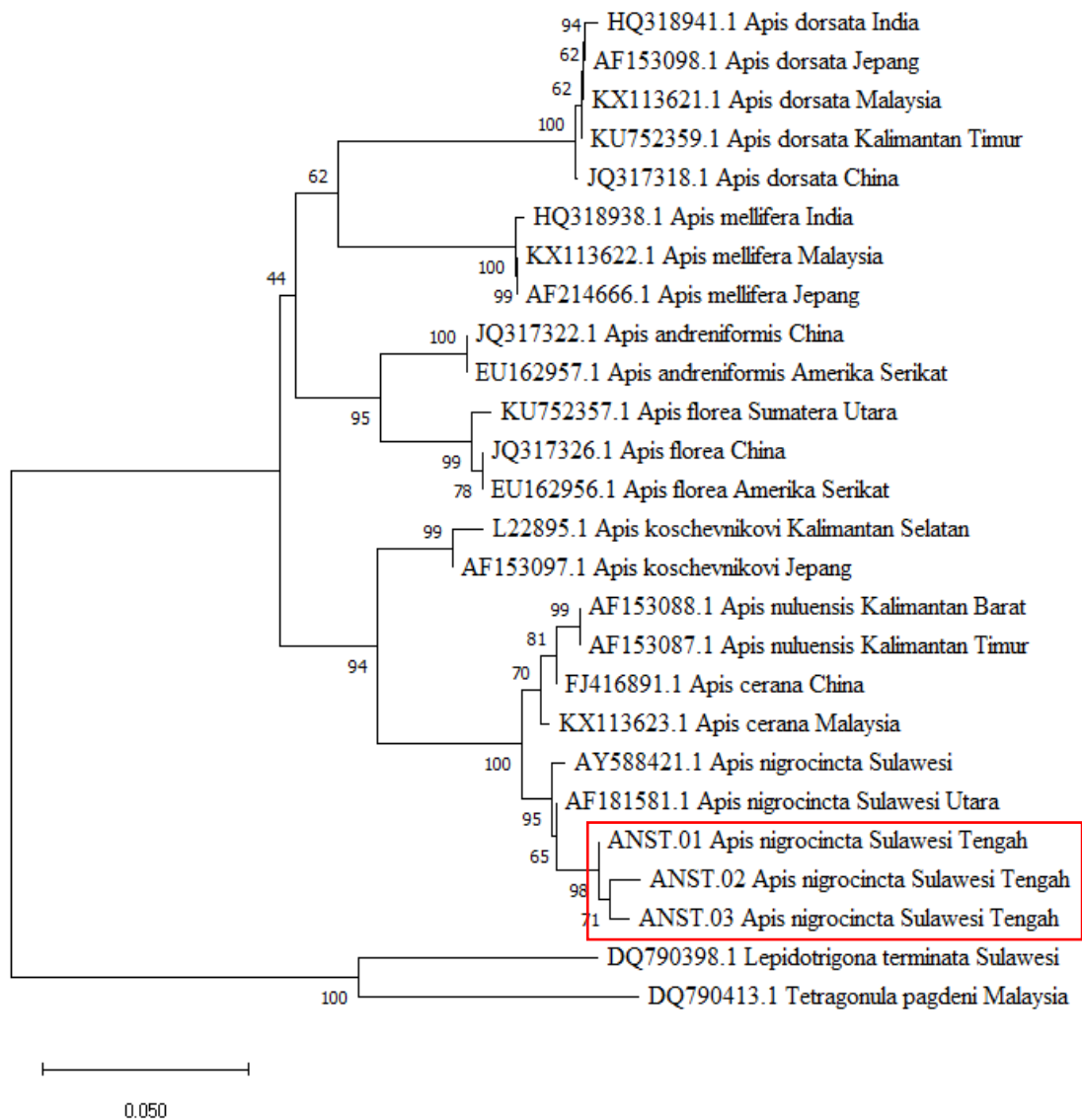
Komponen penyusun DNA terdiri dari empat jenis basa nitrogen, yaitu Timin (T), Sitosin (C), Adenin (A), dan Guanin (G). Ikatan antara basa (G) dan (C) lebih kuat karena dihubungkan oleh tiga ikatan hidrogen, berbeda dengan pasangan (A) dan (T) yang hanya memiliki dua ikatan hidrogen (Saleky & Dailami, 2021). Komposisi nukleotida *A. nigrocincta* terdiri dari yaitu (T) 37,48%, (C) 7,90%, (A) 39,89%, dan (G) 14,71%. Pasangan basa nukleotida A+T mempunyai kandungan nukleotida 77,38% sedangkan G+C 22,61%. Komposisi nukleotida untuk setiap sampel dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Komposisi Nukleotida gen mitokondria 16S *rRNA* *Apis nigrocincta*

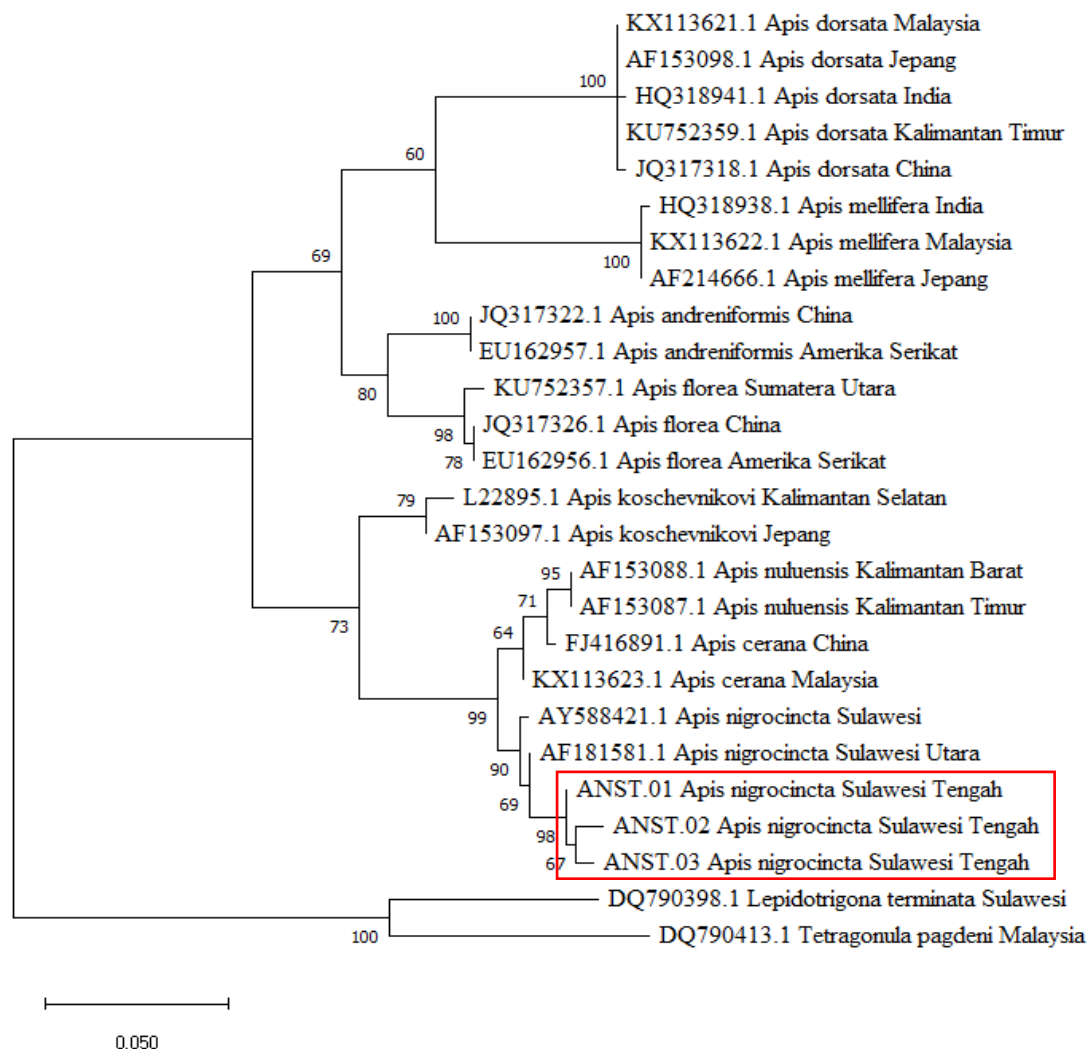
Kode	T(U)	C	A	G	A+T	G+C	Lokasi	Referensi
ANST.01	37,27	8,06	40,05	14,60	77,33	22,67	Sulawesi Tengah	Data Penelitian
ANST.02	37,02	8,56	39,29	15,11	76,32	23,67	Sulawesi Tengah	Data Penelitian
ANST.03	37,27	8,31	39,54	14,86	76,82	23,17	Sulawesi Tengah	Data Penelitian
AF181581.1	38,03	7,30	40,30	14,35	78,33	21,66	Sulawesi Utara	Nuraini & Purwanto (2021)
AY588421.1	37,78	7,30	40,30	14,60	78,08	21,91	Sulawesi	Raffiudin & Crozier (2007)
Rata-rata	37,48	7,90	39,89	14,71	77,38	22,61		

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 24 sekuen 16S *rRNA*, termasuk tiga sekuen *A. nigrocincta* dari Sulawesi Tengah dan 2 *outgroup* *Lepidotrigona terminata* dan *Tetragonula pagdeni*.



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



Gambar 4. Pohon filogenetik metode *Maximum Likelihood* (NJ) 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* menunjukkan topologi yang sama, dengan perbedaan nilai *bootstrap* yang tidak signifikan serta membentuk beberapa *clade* dengan masing-masing spesies berada pada *clade* yang sama. Tiga sekuen *Apis nigrocincta* yang dianalisis memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan *A. nigrocincta* dari *GenBank*, ditunjukkan oleh 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). Sekuen *Lepidotrigona terminata* dan *Tetragonula pagdeni* digunakan sebagai kelompok *outgroup* dan membentuk percabangan yang terpisah. *Outgroup* berfungsi sebagai acuan untuk menentukan hubungan evolusi dalam kelompok *ingroup*, sehingga dapat digunakan sebagai dasar dalam membangun pohon filogenetik dan membantu mengenali karakteristik leluhur yang sama (Sahadeva & Pertiwi, 2023). Pernyataan tersebut sesuai dengan pohon filogenetik *Apis nigrocincta* yang terbentuk.

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

	ANST.01_Apis_nigrocincta_Sulawesi_Tengah	ANST.02_Apis_nigrocincta_Sulawesi_Tengah	ANST.03_Apis_nigrocincta_Sulawesi_Tengah	AF181581.1_Apis_nigrocincta_Sulawesi_Utara	AY588421.1_Apis_nigrocincta_Sulawesi	AF153087.1_Apis_nuluensis_Kalimantan_Timur	AF153088.1_Apis_nuluensis_Kalimantan_Barat	HQ318941.1_Apis_dorsata_India	KX113621.1_Apis_dorsata_Malaysia	IQ317318.1_Apis_dorsata_China	KU752357.1_Apis_dorsata_Kalimantan_Timur	AF153098.1_Apis_dorsata_Jepang	IQ317322.1_Apis_andreniformis_China	EU162957.1_Apis_andreniformis_Amerika_Serikat	IQ317326.1_Apis_florea_China	KU752357.1_Apis_florea_Sumatera_Utara	EU162956.1_Apis_florea_Amerika_Serikat	KX113622.1_Apis_mellifera_Malaysia	AF214666.1_Apis_mellifera_Jepang	HQ318938.1_Apis_mellifera_India	KX113623.1_Apis_cerana_Malaysia	FI416891.1_Apis_cerana_China	L22895.1_Apis_koschevnikovi_Kalimantan_Selatan	AF153097.1_Apis_koschevnikovi_Jepang	DQ790398.1_Lepidodrigona_terminata_Sulawesi	DQ790413.1_Tetragonia_pagleri_Malaysia
ANST.01_Apis_nigrocincta_Sulawesi_Tengah																										
ANST.02_Apis_nigrocincta_Sulawesi_Tengah	1,02%																									
ANST.03_Apis_nigrocincta_Sulawesi_Tengah	0,76%	1,27%																								
AF181581.1_Apis_nigrocincta_Sulawesi_Utara	1,02%	2,05%	1,79%																							
AY588421.1_Apis_nigrocincta_Sulawesi	1,53%	2,31%	2,31%	0,51%																						
AF153087.1_Apis_nuluensis_Kalimantan_Timur	3,35%	4,42%	4,15%	2,30%	2,82%																					
AF153088.1_Apis_nuluensis_Kalimantan_Barat	3,36%	4,43%	4,16%	2,31%	2,83%	0,00%																				
HQ318941.1_Apis_dorsata_India	15,72%	16,03%	16,66%	14,80%	14,49%	14,17%	14,21%																			
KX113621.1_Apis_dorsata_Malaysia	15,10%	15,40%	16,03%	14,19%	13,88%	13,87%	13,91%	0,25%																		
IQ317318.1_Apis_dorsata_China	14,79%	15,41%	15,72%	13,88%	13,87%	13,56%	13,60%	0,51%	0,25%																	
KU752359.1_Apis_dorsata_Kalimantan_Timur	15,10%	15,40%	16,03%	14,19%	13,88%	13,87%	13,91%	0,25%	0,00%	0,25%																
AF153098.1_Apis_dorsata_Jepang	15,10%	15,40%	16,03%	14,19%	13,88%	13,87%	13,91%	0,25%	0,00%	0,25%	0,00%															
IQ317322.1_Apis_andreniformis_China	12,29%	13,20%	12,59%	11,70%	11,40%	11,11%	11,14%	10,88%	10,30%	10,59%	10,30%	10,30%														
EU162957.1_Apis_andreniformis_Amerika_Serikat	12,29%	13,20%	12,59%	11,70%	11,40%	11,11%	11,14%	10,88%	10,30%	10,59%	10,30%	10,30%	0,00%													
IQ317326.1_Apis_florea_China	12,96%	13,89%	13,27%	11,76%	12,06%	11,47%	11,50%	9,77%	9,20%	9,49%	9,20%	9,20%	4,42%	4,42%												
KU752357.1_Apis_florea_Sumatera_Utara	12,93%	13,85%	13,24%	11,73%	12,03%	11,44%	11,47%	10,91%	10,32%	10,62%	10,32%	10,32%	4,95%	4,95%	0,76%											
EU162956.1_Apis_florea_Amerika_Serikat	12,96%	13,89%	13,27%	11,76%	12,06%	11,47%	11,50%	9,77%	9,20%	9,49%	9,20%	9,20%	4,42%	4,42%	0,00%	0,76%										
KX113622.1_Apis_mellifera_Malaysia	12,96%	13,88%	13,87%	11,76%	11,47%	11,76%	11,80%	10,30%	10,01%	10,30%	10,01%	10,01%	11,47%	11,47%	10,06%	10,91%	10,06%									
AF214666.1_Apis_mellifera_Jepang	12,96%	13,88%	13,87%	11,76%	11,47%	11,76%	11,80%	10,30%	10,01%	10,30%	10,01%	10,01%	11,47%	11,47%	10,06%	10,91%	10,06%	0,00%								
HQ318938.1_Apis_mellifera_India	13,26%	14,19%	14,18%	12,06%	11,76%	12,06%	12,10%	10,59%	10,30%	10,59%	10,30%	10,30%	11,76%	11,76%	9,78%	10,62%	9,78%	0,25%	0,25%							
KX113623.1_Apis_cerana_Malaysia	2,58%	3,64%	3,37%	1,53%	1,53%	1,27%	1,28%	14,83%	14,22%	13,91%	14,22%	14,22%	10,56%	10,56%	12,09%	12,06%	12,09%	12,39%	12,39%	12,69%						
FI416891.1_Apis_cerana_China	2,58%	3,64%	3,37%	1,53%	2,05%	0,51%	0,51%	14,83%	14,48%	14,18%	14,48%	14,48%	11,44%	11,44%	11,80%	11,76%	11,80%	12,39%	12,39%	12,69%	0,51%					
L22895.1_Apis_koschevnikovi_Kalimantan_Selatan	8,05%	9,20%	8,91%	6,91%	7,20%	6,90%	6,92%	13,94%	13,60%	13,30%	13,60%	13,60%	9,14%	9,14%	10,65%	10,62%	10,65%	11,83%	12,13%	7,18%	6,90%					
AF153097.1_Apis_koschevnikovi_Jepang	7,19%	8,32%	8,04%	6,07%	6,35%	6,06%	6,08%	13,34%	13,00%	12,70%	13,00%	13,00%	8,86%	8,86%	10,35%	10,91%	10,35%	11,24%	11,24%	11,53%	6,34%	6,06%	0,77%			
DQ790398.1_Lepidodrigona_terminata_Sulawesi	28,02%	29,56%	29,17%	27,64%	27,65%	28,01%	27,72%	28,77%	28,01%	27,64%	28,01%	28,01%	25,34%	25,34%	26,53%	27,57%	26,53%	27,18%	27,18%	27,55%	26,89%	26,98%	23,33%	23,69%		
DQ790413.1_Tetragonia_pagleri_Malaysia	29,55%	31,13%	29,96%	28,78%	29,55%	29,93%	30,03%	29,54%	28,77%	28,39%	28,77%	28,77%	26,44%	26,44%	24,34%	24,64%	24,34%	28,68%	28,68%	28,30%	29,16%	28,88%	26,24%	26,61%	12,67%	

Analisis jarak genetik antara spesies *Apis nigrocincta* yang berasal dari Sulawesi Tengah yaitu 0,76% - 1,27%. Apabila dibandingkan dengan spesies *Apis nigrocincta* dari lokasi geografis lainnya yaitu antara 0,76% - 2,31%. Batas umum yang digunakan untuk membedakan spesies adalah 3%. Dengan demikian, jika perbedaan genetik antara dua individu atau kelompok lebih dari 3%, maka mereka dianggap berasal dari spesies yang berbeda. Sebaliknya, jika perbedaan genetik antara mereka kurang dari atau sama dengan 3%, maka mereka dianggap sebagai bagian dari spesies yang sama (Zhang & Bu, 2022). Populasi dari Sulawesi Tengah masih termasuk dalam spesies *A. nigrocincta*.

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 nigrocincta* dari Sulawesi Tengah lebih dekat kekerabatannya dengan spesies *Apis nigrocincta* lain dalam satu klaster internal, sementara spesies lainnya terpisah. Hasil penelitian menunjukkan pola kekerabatan yang jelas antar populasi *Apis nigrocincta*.

REKOMENDASI

Penelitian selanjutnya dapat dilakukan terkait memperluas cakupan sampel *Apis nigrocincta* dari berbagai wilayah di Sulawesi untuk memperoleh pemahaman yang lebih komprehensif mengenai variasi genetik dan hubungan filogenetiknya. Selain itu, penggunaan penanda genetik lain, seperti CO1 atau ITS, dapat dilakukan untuk mendukung hasil analisis filogenetik yang lebih akurat.

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 membantu dalam menyelesaikan penelitian yang berjudul “Analisis Filogenetik Lebah Madu Endemik Sulawesi *Apis nigrocincta* Smith, 1860 Berdasarkan Gen 16S *rRNA*.”

DAFTAR PUSTAKA

- Church, D.L., Cerutti, L., Gürtler, A., Griener, T., Zelazny, A., & Emler, S. (2020). Performance and Application of 16S *rRNA* Gene Cycle Sequencing for Routine Identification of Bacteria in the Clinical Microbiology Laboratory. *American Society for Microbiology*, 33(4): 1–74. <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/cmr.00053-19>
- Elyasigorji, Z., Izadpanah, M., Hadi, F., & Zare, M. (2023). Mitochondrial Genes as Strong Molecular Markers for Species Identification. *The Nucleus*, 66(1): 81–93. <https://link.springer.com/article/10.1007/s13237-022-00393-4>
- Harianja, A.H., Adalina, Y., Pasaribu, G., Winarni, I., Maharani, R., Fernandes, A., Saragih, G.S., Fauzi, R., Tampubolon, A.P., Njurumana, G.N., Sukito, A., Aswandi, A., Kholibrina, C.R., Siswadi, S., Kurniawan, H., Hidayat, M.Y., Wahyuni, R., Koeslulat, E.E., Heryanto, R.B., Basuki, T., Silva, H.D., Ngongo, Y., Rosari, B.D., Waluyo, T.K., Turjaman, M., Prabawa, S.B., & Kuspradini, H. (2023). Potential of Beekeeping to Support The Livelihood, Economy, Society, and Environment of Indonesia. *Forests*, 14(2): 1–37. <https://doi.org/10.3390/f14020321>
- Jayadi, L.Z., & Susandarini, R. (2020). Melissopalynological Analysis of Honey Produced by Two Species of Stingless Bees in Lombok Island, Indonesia. *Nusantara Bioscience*, 12(2): 97–108. <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/N120203>
- Kusumah, Y.M., Kurniawati, F., Kristanto, E.D., Parasian, F., & Christian, M. (2023). Analisis Filogenetik *Hyposidra talaca* nucleopolyhedrovirus (*HytaNPV*) yang Diisolasi dari Perkebunan Teh Gunung Mas, Bogor, Jawa Barat dan Virulensinya Terhadap *Hyposidra talaca* Walker. *Jurnal Entomologi Indonesia*, 20(2): 151–160. <https://doi.org/10.5994/jei.20.2.151>
- Lombogia, C.A., Tulung, M., Posangi, J., & Tallei, T.E. (2020). Bacterial Composition, Community Structure, and Diversity in *Apis nigrocincta* Gut. *International Journal of Microbiology*, 2020: 1–8. <https://doi.org/10.1155/2020/6906921>
- Mandal, S.D., Chhakchhuak, L., Gurusubramanian, G., & Kumar, N.S. (2014). Mitochondrial Markers for Identification and Phylogenetic Studies in Insects – A Review. *DNA Barcodes*, 2(1): 1–9. <https://doi.org/10.2478/dna-2014-0001>
- 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 Majalah Ilmiah Pertanian*, 46(2): 259–264. <https://doi.org/10.31602/zmip.v46i2.4526>
- Raffiudin, R., Ariyanti, N.S., Aprilianingrum, I., Anwar, H., Shullia, N.I., Bening, S., Wiyati, S.Y., Priawandiputra, W., Saleh, S., Suardi, Fahri, F., Putra, R.E., Soesilohadi, R.C.H., & Purnobasuki, H. (2022). Flight Activity and Pollen Resources of *Apis nigrocincta* and *Apis cerana* in Central Sulawesi, Indonesia.

- Agriculture and Natural Resources*, 56: 463-472. <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/anres/article/view/254978>
- Raffiudin, R., & Crozier, R.H. (2007). Phylogenetic Analysis Of Honey Bee Behavioral Evolution. *Molecular Phylogenetics And Evolution*, 43: 543-552. <https://doi.org/10.1051/apido>
- Sahadeva, M.L., Pertiwi, N.P.D. (2023). Konstruksi Pohon Filogenetik Spesies dalam Famili Orchidaceae Berdasarkan Marka Gen matK Kloroplas: Studi in Silico. *Jurnal Matematika, Sains, dan Pembelajarannya*, 17(3): 12-27. <https://ejournal.undiksha.ac.id/index.php/jpm/article/view/87986>
- Saleky, D., & Dailami, M. (2021). Konservasi Genetik Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*, Bloch, 1790) melalui Pendekatan DNA *Barcoding* dan Analisis Filogenetik di Sungai Kumbes Merauke Papua. *Jurnal Kelautan Tropis*, 24(2): 141–150. <https://doi.org/10.14710/jkt.v24i2.10760>
- 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 CO1 Gene in Harapan Forest. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(1): 89–94. <https://doi.org/10.29303/jbt.v21i1.2351>
- 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>
- Wallace, D.C. (2018). Mitochondrial Genetic Medicine. *Nature Genetics*, 50(12): 1642–1649. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0264-z>
- Wanigatunge, R.P., Arachchi, D.N.M., Chandrasekharan, N.V., & Kulasooriya, S.A. (2014). Genetic Diversity and Molecular Phylogeny of Cyanobacteria from Sri Lanka Based on 16S rRNA Gene. *Environmental Engineering Research*, 19(4): 317–329. <https://doi.org/10.4491/eer.2014.035>
- 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. <https://doi.org/10.3390/insects13050425>