



Analisis Filogenetik Lebah Tukang Kayu *Xylocopa appendiculata* Smith, 1852 Berdasarkan Gen *Cytochrome Oxidase 1* (CO1)

¹Irma Septi Rahayu, ²I Made Budiarsa, ³Abdul Ashari, ⁴Manap Trianto, ⁵Masrianih, ⁶Rafiq

^{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: *Xylocopa appendiculata* merupakan serangga yang berasal dari ordo Hymenoptera dan memiliki ciri morfologi kuning cerah pada toraks, sementara bagian tubuh lainnya berwarna hitam. Analisis filogenetik digunakan untuk menggambarkan hubungan kekerabatan makhluk hidup melalui pohon filogeni. Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan hubungan filogenetik lebah tukang kayu *Xylocopa appendiculata* berdasarkan gen *cytochrome oxidase 1* (CO1). Pengambilan sampel menggunakan metode jelajah di berbagai daerah, kemudian dilakukan isolasi DNA, amplifikasi DNA, *sequencing*, 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 *X. appendiculata* dari Sulawesi Tengah lebih dekat kekerabatannya dengan spesies *X. appendiculata* lain dalam satu *clade* yang sama. Hasil penelitian ini menunjukkan pola kekerabatan yang jelas antar populasi *X. appendiculata*.

Kata Kunci: *Xylocopa appendiculata*; filogenetik; *Cytochrome Oxidase 1* (CO1)

Abstract: *Xylocopa appendiculata* is an insect from the order Hymenoptera and has bright yellow morphological characteristics on the thorax, while the rest of the body is black. Phylogenetic analysis is used to describe the kinship of living things through phylogeny trees. This study aims to describe the phylogenetic relationship of carpenter bees *Xylocopa appendiculata* based on the cytochrome oxidase 1 (CO1). DNA isolation, DNA amplification, sequencing, followed by bioinformatics analysis using GeneStudio, DNASTAR, MESQUITE, and MEGA 11. The results showed that phylogenetic analysis using *Neighbor-Joining* (NJ) and *Maximum Likelihood* (ML) methods produced a phylogenetic tree that illustrates a clear evolutionary relationship *X. appendiculata* from Central Sulawesi is more closely related to other *X. appendiculata* species in the same *clade*. The results of this study show a clear kinship pattern between populations of *X. appendiculata*.

Keywords: *Xylocopa appendiculata*; Phylogenetics; *Cytochrome Oxidase 1* (CO1)

How to Cite: Rahayu, I., Budiarsa, I., Ashari, A., Trianto, M., Masrianih, M., & Rafiq, R. (2025). Analisis Filogenetik Lebah Tukang Kayu *Xylocopa appendiculata* Smith, 1852 Berdasarkan Gen *Cytochrome Oxidase 1* (CO1). *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 13(1), 531-541. doi:<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i1.14969>



<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i1.14969>

Copyright© 2025, Rahayu et al

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



PENDAHULUAN

Xylocopa atau biasa disebut sebagai lebah tukang kayu merupakan jenis serangga yang berasal dari ordo Hymenoptera dan famili Anthophoridae (Marchiori, 2023). Lebah tukang kayu tersebar luas diseluruh dunia dan berkembang di lingkungan tropis, subtropis, serta lingkungan yang beriklim sedang (Farook *et al.*, 2022). Lebah ini dapat membantu dalam penyerbukan tanaman sehingga termasuk ke dalam kategori polinator (Giannini *et al.*, 2020). Di Indonesia terdapat 5 spesies lebah tukang kayu yaitu *Xylocopa confusa*, *X. latipes*, *X. caerulea* (Hidayat *et al.*, 2016), *X. violacea* (Pujiastuti & Putri, 2021), dan *X. appendiculata* (Dahlberg *et al.*, 2013). Lebah tukang kayu *Xylocopa appendiculata* memiliki ciri morfologi kuning cerah pada toraks, sementara bagian tubuh lainnya semuanya berwarna hitam. Perilaku mempertahankan wilayahnya pada musim kawin dilakukan dengan cara terbang diatas wilayah dekat sumber nektar dan serbuk sari. Wilayah ini sering dilewati oleh

lebah betina untuk mencari makan atau tempat istirahat (Sasaki *et al.*, 2020). Berdasarkan penelitian yang ada masih sebatas kajian morfologi dan morfometri, sedangkan analisis molekuler menggunakan gen *Cytochrome Oxidase 1* (CO1) masih jarang digunakan. Penelitian ini penting dilakukan untuk menambah informasi mengenai identifikasi karakter genetik lebah tukang kayu.

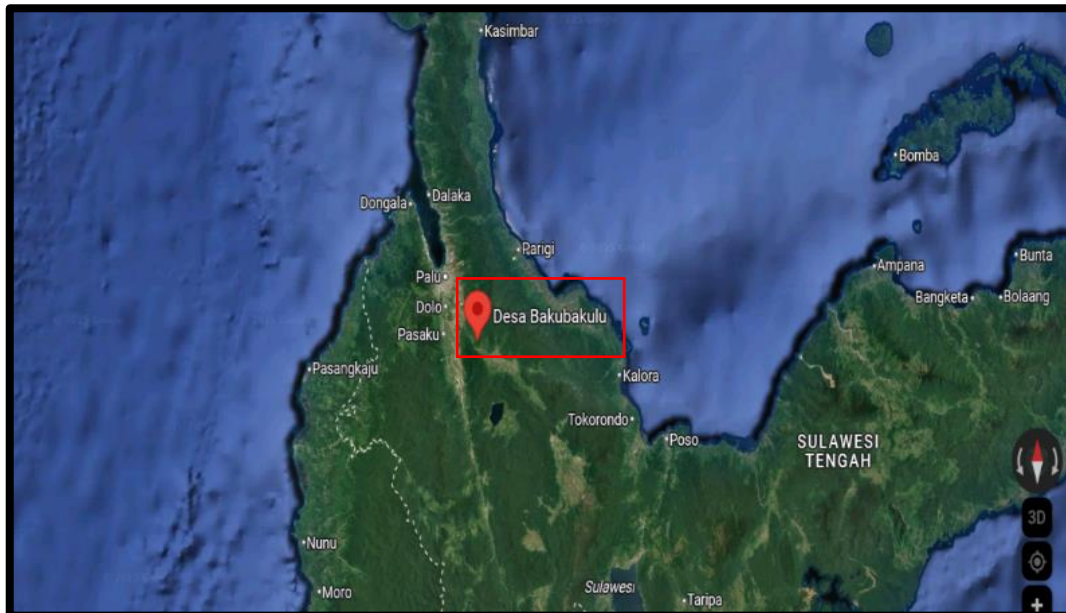
Salah satu metode identifikasi secara molekuler yang dapat digunakan yaitu dengan analisis filogenetik. Analisis filogenetik merupakan salah satu cara yang umum digunakan untuk merekonstruksi pohon evolusi, sehingga memungkinkan untuk memahami hubungan kekerabatan dan keanekaragaman hayati. Analisis filogenetik seringkali melibatkan penggunaan gen untuk menentukan hubungan evolusioner antar spesies, salah satunya dengan penanda gen *Cytochrome Oxidase 1* (CO1) (Partiwi *et al.*, 2023). Gen *Cytochrome Oxidase 1* (CO1) merupakan bagian dari DNA mitokondria (mtDNA) yang memiliki peran penting dalam proses produksi energi, sehingga memiliki basis yang bersifat konservatif (Hermawan *et al.*, 2022). Sebagai salah satu gen penyandi pada genom mtDNA, gen *Cytochrome Oxidase 1* (CO1) memiliki karakteristik unggul, seperti rendahnya tingkat delesi dan insersi dalam sekuens (Tindi *et al.*, 2017). Penggunaan marka gen *Cytochrome Oxidase 1* (CO1) yang terletak di segmen mitokondria memungkinkan analisis variasi basa nukleotida di setiap spesies, sehingga hubungan kekerabatan antar spesies dapat diketahui (Kamal *et al.*, 2019).

DNA mitokondria memiliki keunggulan dalam menganalisis keragaman genetik karena memiliki sel yang jumlahnya sangat banyak dibandingkan dengan DNA inti dan juga mutasi gen pada DNA mitokondria jauh lebih banyak daripada DNA inti (Hendiari *et al.*, 2020). DNA mitokondria saat ini digunakan secara luas dalam identifikasi penyakit, studi genetika populasi, identifikasi spesies, dan filogeni kedokteran hewan. DNA mitokondria digunakan sebagai pewarisan secara maternal, tingkat mutasi, dan replikasi terus menerus (Mohapatra *et al.*, 2019). Informasi mengenai analisis filogenetik *Xylocopa appendiculata* dengan menggunakan gen *Cytochrome Oxidase 1* (CO1) masih jarang atau terbatas dan belum pernah dilaporkan sebelumnya sehingga penelitian ini perlu dilakukan untuk menambah atau melengkapi data informasi genetik yang selanjutnya dapat dijadikan acuan untuk pengembangan budidaya lebah dengan pendekatan molekuler. Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan hubungan filogenetik lebah tukang kayu *Xylocopa appendiculata* berdasarkan gen *Cytochrome Oxidase 1* (CO1).

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 *Xylocopa appendiculata* berdasarkan gen *Cytochrome Oxidase 1* (CO1) serta analisis bioinformatika. Data kuantitatif adalah data numerik yang diperoleh dari persentase identitas hasil BLAST.

Penelitian ini dilakukan dengan pengambilan sampel *Xylocopa appendiculata* di Desa Bakubakulu, Kecamatan Palolo, Kabupaten Sigi, Sulawesi Tengah (Gambar 1). Sampel *Xylocopa appendiculata* 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.



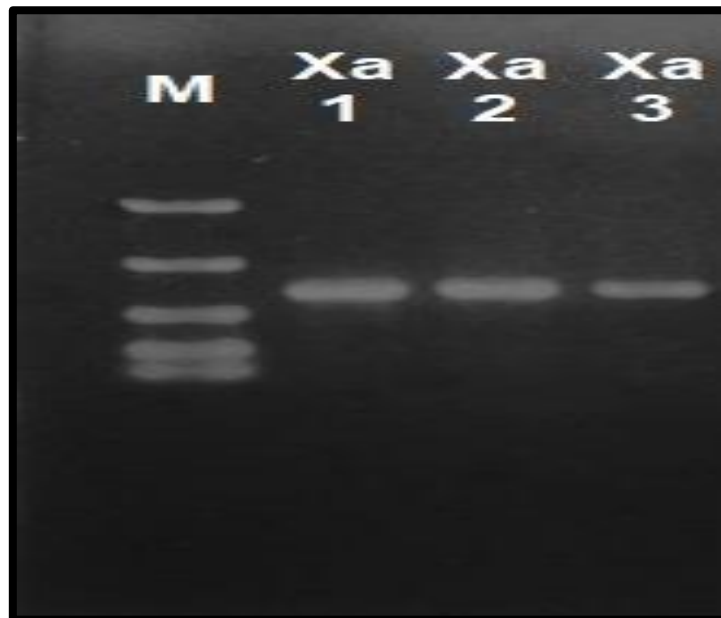
Gambar 1. Lokasi pengambilan sampel

Sampel *Xylocopa appendiculata* 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 *Xylocopa appendiculata* tanpa kepala dan sayap menggunakan GS 100gSYNCTM 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 dicuci, dikeringkan, dielusasi pada 60°C, dan disimpan pada -20°C. amplifikasi DNA menggunakan primer CO1 (LCO1490 forward & HCO2198 reverse) dengan PCR dalam volume 25 µL. Proses 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 gen mitokondria CO1 *Xylocopa appendiculata* dari Desa Bakubakulu, Kecamatan Palolo, Kabupaten Sigi, Sulawesi Tengah berhasil diamplifikasi menggunakan PCR dengan promer LCO1490 (*forward*) dan HCO2198 (*reverse*). Elektroforesis menunjukkan fragmen sekitar 467 bp. Hasil elektroforesis gen mitokondria CO1 *X. appendiculata* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil amplifikasi gen mitokondria CO1, sampel Xa adalah *X. appendiculata* dari Desa Bakubakulu, Kecamatan Palolo, Kabupaten Sigi, 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 CO1 *X. Appendiculata* Sulawesi Tengah dengan *database GenBank* Sulawesi Tengah

Kode	BLAST			Verifikasi spesies	Lokasi
	% Identity	% Query Cover	Accession Number <i>GenBank</i>		
XAST.01	99,22	100	LC492865.1	<i>Xylocopa appendiculata</i>	Sulawesi Tengah
XAST.02	98,94	100	LC492865.1	<i>Xylocopa appendiculata</i>	Sulawesi Tengah
XAST.03	99,06	100	LC492865.1	<i>Xylocopa appendiculata</i>	Sulawesi Tengah

Analisis BLAST gen mitokondria CO1 *Xylocopa appendiculata* dari Sulawesi Tengah menunjukkan tingkat similaritas 98-100% dengan data di *GenBank*. Similaritas digunakan untuk mengidentifikasi hubungan evolusioner antar spesies atau kelompok organisme. Tingkat similaritas menunjukkan seberapa erat hubungan kekerabatan antara spesies. Semakin tinggi nilai similaritas, maka semakin dekat hubungan antara spesies tersebut (Hermawan, 2023). Berdasarkan hasil analisis, sampel yang diteliti teridentifikasi sebagai *Xylocopa appendiculata*.

Variasi Genetik Sekuen *Xylocopa appendiculata*

Analisis genetik *Xylocopa appendiculata* menunjukkan *Haplotype Diversity* (Hd) $0,978 \pm 0,054$ dengan 9 haplotipe dan *Nucleotide Diversity* (π) $0,01018 \pm 0,00184$, menandakan keragaman nukleotida yang tinggi. Ditemukan 16 *variabel site* dan 5 *parsimony site*. Polimorfisme intraspesies ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Variasi genetik intraspesies antar sampel *Xylocopa appendiculata* (XAST.01-LC492865.1) dengan *Xylocopa appendiculata* dari GenBank berdasarkan gen mitokondria CO1

Kode Sampel	bp	Jumlah Individu	Jumlah Haplotipe	Variabel Site	Parsimony Site	Haplotype Diversity (Hd)	Nucleotide Diversity (π)
XAST.01							
XAST.02							
XAST.03							
KM362697.1							
KM362696.1	467	10	9	16	5	0,978±	0,01018±
KM362700.1						0,054	0,00184
KM362695.1							
EU861273.1							
EU861274.1							
LC492865.1							

Jika nilai keragaman haplotipe berada pada $0,5 < Hd \leq 1$ maka menunjukkan tingkat keragaman yang tinggi. Sebaliknya, nilai keragaman haplotipe berada pada nilai $0 \leq Hd < 0,5$ menandakan keragaman yang rendah. Sedangkan pada keragaman nukleotida memiliki kisaran nilai dari 0,00 yang menunjukkan tidak adanya perbedaan. Sementara nilai lebih dari 0,10 menunjukkan tingkat keragaman yang tinggi. Dengan demikian, nilai Hd yang tinggi menunjukkan bahwa adanya variasi yang tinggi diantara individu-individu dalam populasi *X. appendiculata*. Tingkat keragaman nukleotida yang rendah pada *X. appendiculata* dapat diakibatkan oleh penurunan populasi akibat peristiwa alam, yang menyebabkan variasi genetik menurun (Devy et al., 2021).

Komposisi Nukleotida

Basa nitrogen penyusun DNA terdiri dari empat jenis yaitu *Thymine* (T), *Cytosine* (C), *Adenin* (A), dan *Guanine* (G). Pasangan basa A dan T dihubungkan oleh dua ikatan hidrogen, sedangkan pasangan basa C dan G dihubungkan oleh tiga ikatan hidrogen sehingga memiliki ikatan yang lebih kuat dibandingkan pasangan A dan T (Anisa et al., 2016). Komposisi nukleotida *X. appendiculata* terdiri dari yaitu (T) 42,26%, (C) 14,07%, (A) 35,38%, dan (G) 8,27%. Komposisi nukleotida pasangan basa A+T memiliki rata-rata 77,65%, sedangkan pasangan basa C+G memiliki rata-rata 22,34%. Komposisi nukleotida untuk setiap sampel dapat dilihat pada Tabel 3.

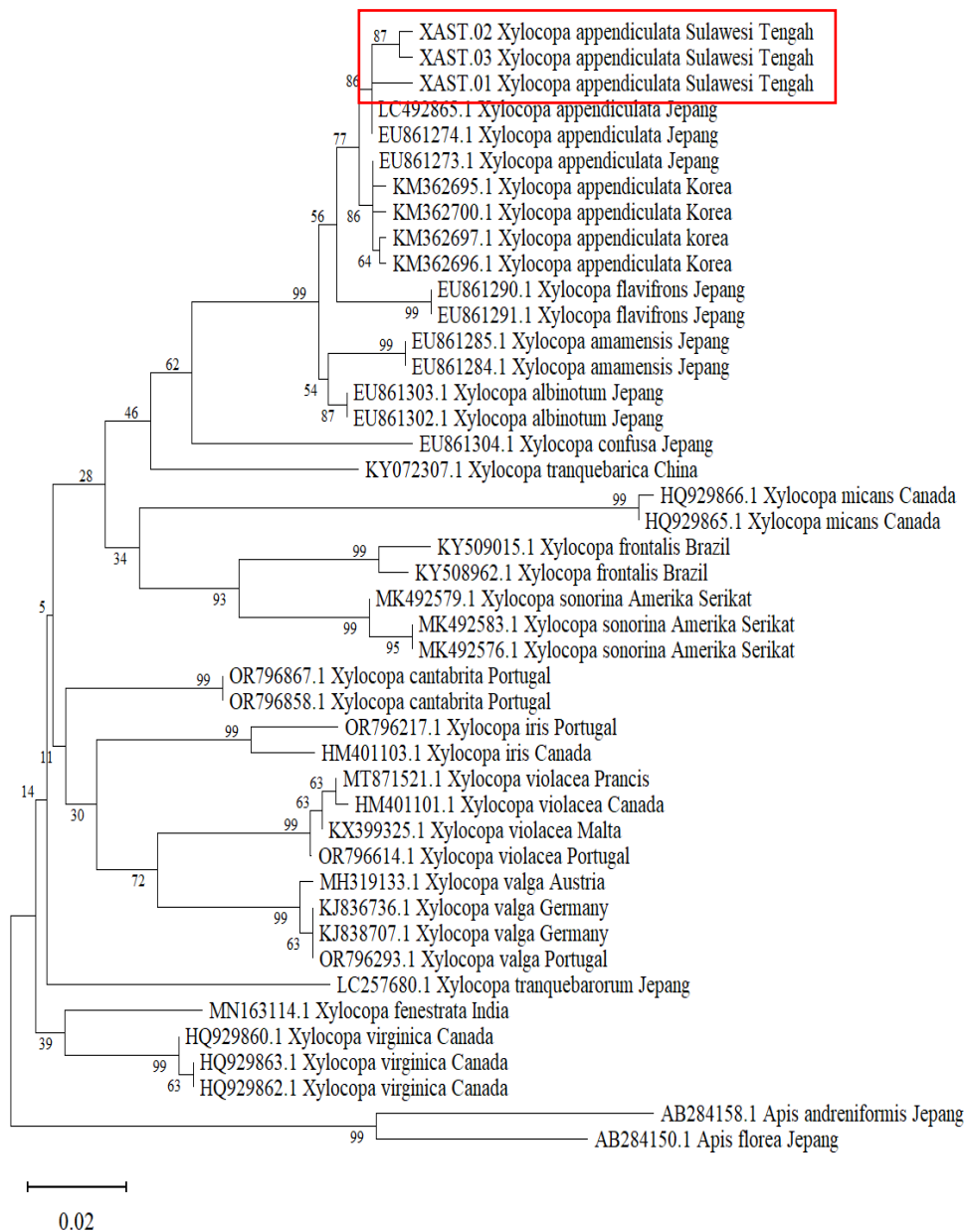
Tabel 3. Komposisi Nukleotida gen mitokondria CO1 *Xylocopa appendiculata*

Kode	T(U)	C	A	G	A+T	G+C	Lokasi	Referensi
XAST.01	42,62	13,93	34,97	8,46	77,59	22,40	Sulawesi Tengah	Data Penelitian
XAST.02	42,62	13,66	35,24	8,46	77,86	22,13	Sulawesi Tengah	Data Penelitian
XAST.03	42,34	13,93	35,51	8,19	77,86	22,13	Sulawesi Tengah	Data Penelitian
KM362697.1	41,80	14,20	35,51	8,46	77,32	22,67	Korea	Kang et al. (2016)
KM362696.1	41,80	14,48	35,51	8,19	77,32	22,67	Korea	Kang et al. (2016)
KM362700.1	42,34	14,20	35,24	8,19	77,59	22,40	Korea	Kang et al. (2016)
KM362695.1	41,80	14,20	35,79	8,19	77,59	22,40	Korea	Kang et al. (2016)
EU861273.1	42,07	14,20	35,51	8,19	77,59	22,40	Jepang	Kawazoe et al. (2008)
EU861274.1	42,62	13,93	35,24	8,19	77,86	22,13	Jepang	Kawazoe et al. (2008)
LC492865.1	42,62	13,93	35,24	8,19	77,86	22,13	Jepang	Kawazoe et al. (2008)
Rata-rata	42,26	14,07	35,38	8,27	77,65	22,34		

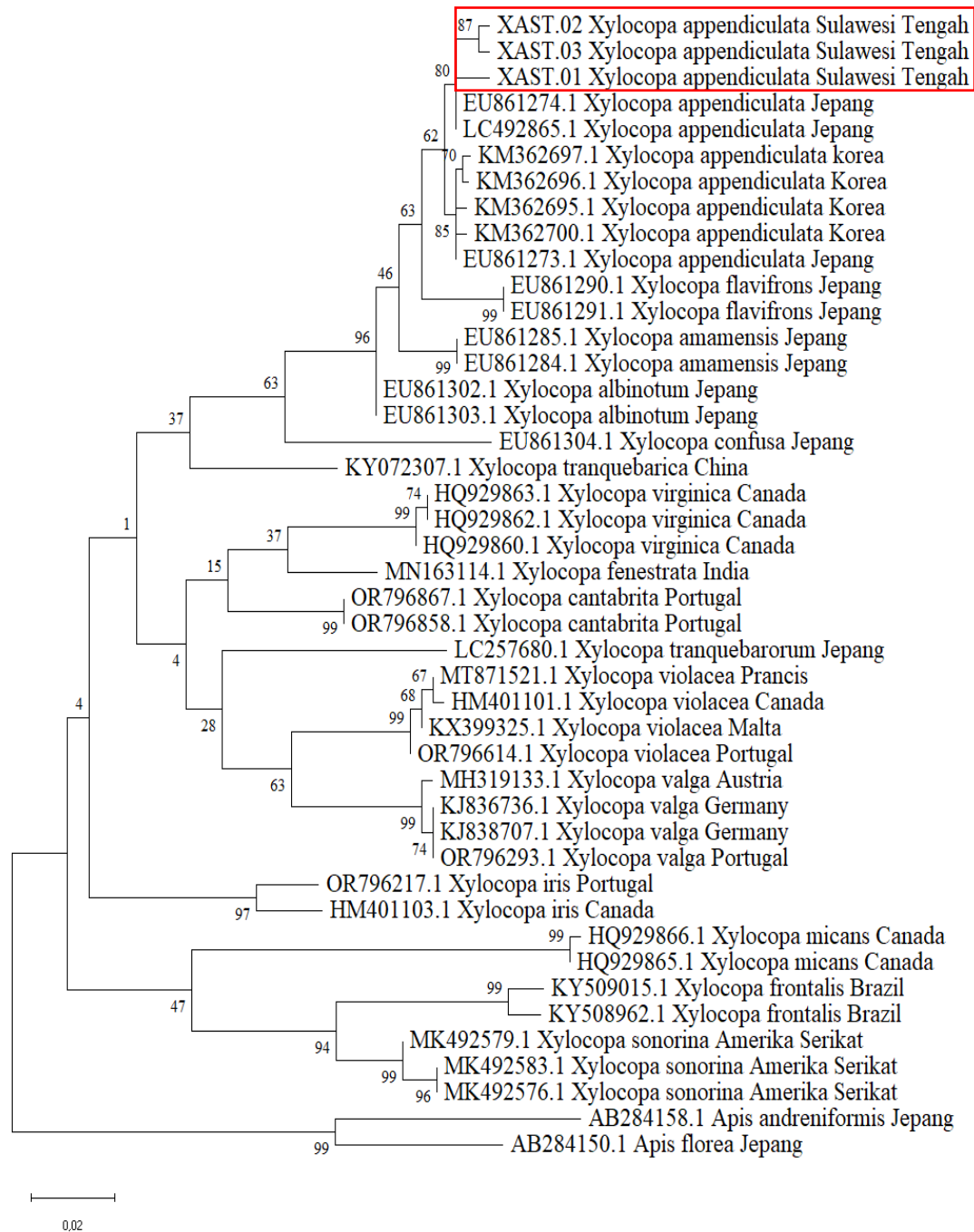
Pohon Filogenetik dan Jarak Genetik

Analisis pohon filogenetik dilakukan menggunakan software MEGA 11. Metode yang digunakan dalam analisis ini yaitu *Neighbor Joining* (NJ) dan *Maximum*

Likelihood (ML) dengan model kimura 2-parameter dan 10000 kali *bootstrap*. Analisis ini menggunakan 44 sekuen *CO1*, termasuk tiga sekuen *X. appendiculata* dari Sulawesi Tengah dan *outgroup* *Apis andreniformis* serta *A. florea*.



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* dengan model Kimura 2-Parameter, *bootstrap* 10.000x.

Dalam konstruksi pohon filogenetik, metode *Neighbor Joining* (NJ) digunakan pada jarak filogenetik dan evolusi antar *clade* (taksa). Setiap cabang menunjukkan laju evolusi yang berbeda, dengan hasil pohon yang umumnya lebih akurat (Idami, 2024). Sedangkan, metode *Maximum Likelihood* (ML) digunakan untuk merekonstruksi kekerabatan antar spesies dengan mengacu pada panjang cabang. Panjang cabang yang bervariasi menunjukkan tingkat evolusi, di mana cabang yang lebih panjang menggambarkan jarak evolusi yang lebih jauh dan cabang yang pendek menggambarkan jarak evolusi yang lebih dekat (Fietri *et al.*, 2021). Rekonstruksi

Tabel 4. Jarak Genetik gen mitokondria *CO1* *Xylocopa appendiculata*

[illegible]

| 538

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

REKOMENDASI

Penelitian selanjutnya dapat dilakukan mengenai variasi genetik dan hubungan filogenetik dengan memperluas cakupan sampel *Xylocopa appendiculata* dari berbagai wilayah untuk memperoleh gambaran yang lebih lengkap. Selain itu, penggunaan penanda gen tambahan seperti *Cytochrome b* atau *16S rRNA* dapat meningkatkan ketepatan analisis filogenetik.

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 Tukang Kayu *Xylocopa appendiculata* Smith, 1852 Berdasarkan Gen *Cytochrome Oxidase 1* (CO1)".

DAFTAR PUSTAKA

- Anisa., Jaya, A.K., & Sunarti. (2016). Analisis Hidden Markov Model untuk Segmentasi Barisan DNA. *Jurnal Matematika, Statistika dan Komputasi*, 13(1):55-65. <https://doi.org/10.20956/jmsk.v13i1.3484>
- Dahlberg, L., Hauser, M., & Yanega, D. (2013). Japanese Carpenter Bee, *Xylocopa appendiculata* Smith 1852 (Hymenoptera: Apidae) Potentially Established in Santa Clara County, first record for North America. *Pan-Pacific Entomologist*, 89(4):226-229. <https://doi.org/10.3956/2013-22.1>
- Devy, S., Astarini, I.A., Putra, I.N.G., Sembiring, A., Yusmalinda, L.A., Malik, M.D.A., & Pertiwi, N.P.D. (2021). Keragaman Genetik Ikan Tongkol Abu-Abu (*Thunnus tonggol*) yang Didaratkan di Pasar Ikan Sagulung, Batam, Kepulauan Riau Berdasarkan DNA Mitokondria. *Journal of Marine and Aquatic Sciences*, 7(2): 176-183. <https://doi.org/10.24843/jmas.2021.v07.i02.p06>
- Farook, U.B., Yaqoob, M., Gani, M., Mughal, N., Jeelani, F., & Wani, T.A. (2022). Floral Resources and Foraging Ecology of Large Carpenter (*Xylocopa valga*, *Xylocopa pubescence*, *Xylocopa fenestrata* and *Xylocopa dejeanii*) of Jammu and Kashmir and Ladakh region. *The Pharma Innovation Journal*, 11(11):1411-1414. https://www.researchgate.net/publication/365451218_Floral_resources_and_foraging_ecology_of_large_carpenter_bees_of_Jammu_and_Kashmir_and_Ladakh_region
- Fietri, W.A., Razak, A., & Ahda, Y. (2020). Analisis Filogenetik Ikan Tuna (*Thunnus* spp) di Perairan Maluku Utara Menggunakan COI (Cytocrome Oxydase I). *Jurnal Biologi Makasar*, 5(1):69-78. <https://doi.org/10.20956/bioma.v6i2.14053>
- Giannini, T.C., Alves, D.A., Alves, R., Cordeiro, G.D., Campbell, A.J., Awade, M., Bento, J.M.S., Saraiva, A.M., & Fonseca, V.L.I. (2020). Unveiling the contribution of bee pollinators to Brazilian crops with implications for bee management. *Apidologie*, 51(3):406-421. <https://doi.org/10.1007/s13592-019-00727-3>

- Hendiari, I.G.A.D., Sartimbul, A., Arthana, I.W., & Kartika, G.R.A. (2020). Keragaman Genetik Ikan Lemuru (*Sardinella lemuru*) di Wilayah Perairan Indonesia. *Acta Aquatica: Aquatic Sciences Journal*, 7(1):28-36.
<https://doi.org/10.29103/aa.v7i1.2405>
- Hermawan, C. (2023). Analisis Filogeni Kura-Kura Batok (*Cuora amboinensis*) Wilayah Indonesia Timur (Ambon, Luwu, Dan Gorontalo) Berbasis Sekuen Gen Cytochrome B. *Jurnal Biosense*, 6(1):26-46.
<https://doi.org/10.36526/biosense.v6i01.2602>
- Hermawan, I., Amin, M., & Suhadi. (2022). Genetic Diversity of Springtails (Collembola Subclass) Based on Cytochrome oxidase Subunit I (COI) Genes in Malang. *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 10(1):67-77.
<https://doi.org/10.21776/ub.biotropika.2022.010.01.09>
- Hidayat, P.A., Pratiknyo, H., & Basuki, D.E. (2016). Keragaman Serangga Polinator pada Tumbuhan Edelweiss Jawa (*Anaphalis javanica*) di Gunung Slamet Jawa Tengah. *Seminar Nasional Pendidikan dan Sainstek*, 2016:481-491.
<https://proceedings.ums.ac.id/snpbs/article/view/515/511>
- Idami, Z. (2024). Identifikasi DNA Barcoding Tumbuhan Balakka (*Phyllanthus emblica* L.) berdasarkan Lokus Gen rbcL. *Biogenerasi*. 10(1):541-546.
<https://doi.org/10.30605/biogenerasi.v10i1.5145>
- Kamal, M.M., Hakim, A.A., Butet, N.A., Fitrianiingsih, Y., & Astuti, R. (2019). Autentikasi Spesies Ikan Kerapu berdasarkan Marka Gen Mt-Coi dari Perairan Peukan Bada, Aceh. *Jurnal Biologi Tropis*, 19(2):116-123.
<https://doi.org/10.29303/jbt.v19i2.1245>
- Kang, A.R., Kim, M.J., Park, I.A., Kim, K.Y., & Kim, I. (2016). Extent and Divergence of Heteroplasmy of the DNA Barcoding Region in *Anapodisma miramae* (Orthoptera: Acrididae). *Mitochondrial DNA*, 27(5):3405-3414.
<https://doi.org/10.3109/19401736.2015.1022730>
- Kawazoe, K., Kawakita, A., Kameda, Y., & Kato, M. (2008). Redundant Species, Cryptic Host-Associated Divergence, and Secondary Shift in Sennertia Mites (Acari: Chaetodactylidae) Associated With Four Large Carpenter Bees (Hymenoptera: Apidae: Xylocopa) in the Japanese Island arc. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49(2):503-513.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.07.024>
- Marchiori, C.H. (2023). Verification of The peculiarities of The Anthophoridae Family (Insecta: Hymenoptera). *World Journal of Biological and Pharmaceutical Research*, 5(1):015-027. <https://doi.org/10.53346/wjbpr.2023.5.1.0059>
- Mohapatra, S.K., Nayak, V.K., Paul, A., & Adhikary, S. (2019). Mitochondrial DNA: A Molecular Tool for Assessment of Genetic Diversity. *International Journal of Livestock Research*, 9(8):49-58. <https://doi.org/10.5455/ijlr.20190404113609>
- Pangestika, Y., Budiharjo, A., & Kusumaningrum, H.P. (2015). Analisis Filogenetik *Curcuma Zedoaria* (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>
- Partiwi, S., Idrus, A.A., Zulkifli, L., Mahrus., & Sedijani, P. (2023). Isolation and Molecular Characterization of Brotowali (*Tinospora crispa*) Rhizosphere Bacteria Producing Siderophore from Dry Lands of Lombok Island. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(2):275-284. <https://doi.org/10.29303/jbt.v23i2.6138>
- Pujiastuti, Y., & Putri, K.U. (2021). Keanekaragaman Spesies Lebah (Hymenoptera : Apidae) pada Berbagai Jenis Tanaman Berbunga di Kota Pagaram Sumatera

- Selatan. *Seminar Nasional Lahan Suboptimal*, 9(2021):603-610. <https://conference.unsri.ac.id/index.php/lahansuboptimal/article/view/2428/1396>
- Sahadeva, M.L., & Pertiwi, N.P.D. (2023). Konstruksi Pohon Filogenetik Spesies dalam Famili Orchidaceae Berdasarkan Marka Gen matK Kloroplas : Studi in Silico. *Wahana Matematika dan Sains: Jurnal Matematika, Sains, dan Pembelajarannya*, 17(3):12-27. <https://doi.org/10.23887/wms.v17i3.87986>
- Sasaki, K., Goto, K., & Harano, K.I. (2020). Timing of Male Territorial Flight and Foraging of The Large Carpenter Bee *Xylocopa appendiculata* Related to Serotonin in The Brain. *Science of Nature*, 107(3):1-9. <https://doi.org/10.1007/s00114-020-01681-2>
- Tindi, M., Mamangkey, N.G.F., & Wullur, S. (2017). The DNA Barcode and Molecular Phylogenetic Analysis Several Bivalve Species from North Sulawesi Waters based on COI gene. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 1(2):32–38. <https://doi.org/10.35800/jplt.5.2.2017.15050>
- 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>
- 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>