



## Konstruksi Filogenetik Spesies Lebah Tanpa Sengat di Lampung Timur Berdasarkan Gen 16S rRNA

### Phylogenetic Construction of Stingless Bee Species in East Lampung Based on the 16S rRNA Gene

Aulia Imtisal<sup>1</sup>, Priyambodo<sup>1\*</sup>, Elly Lestari Rustiati<sup>1</sup>, Dian Neli Pratiwi<sup>2</sup>, Alvin Wiwiet Susanto<sup>3</sup>, Viki Ramadhan<sup>1</sup>, Aditya Fahrezi<sup>1</sup>, Muhammad Febrisansyah<sup>1</sup>, Andriyani Wijaya Kusuma<sup>1</sup>, Eko Agus Srihanto<sup>4</sup>, Enny Saswiyanti<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Lampung

Jalan Prof.Dr.Sumantri Brojonegoro No.1, Bandar Lampung, Lampung, Indonesia 35144

<sup>2</sup>Yayasan Akar Lestari Indonesia, Bandar Lampung, Indonesia

Bumi Puspa Kencana Blok H. 20 Bandar Lampung, Indonesia 35145

<sup>3</sup>Master programme in Biology, Evolutionary Biology Centre, Uppsala University

Norbyvägen 18 D 752 36 Uppsala, Sweden

<sup>4</sup>Balai Veteriner Lampung

Jalan Untung Suropati No.2, Labuhan Ratu, Kec. Kedaton, Kota Bandar Lampung, Lampung, Indonesia 35142

Email: [priyambodo@fmipa.unila.ac.id](mailto:priyambodo@fmipa.unila.ac.id) \*Penulis Korespondensi

#### Abstract

Indonesia's flora and fauna are very diverse. One of Indonesia's well-known fauna is the stingless bee, which is found throughout Indonesia. Information on the diversity of stingless bees and the relatedness of each group of bees will provide information related to population data. Molecular analysis is a useful science and tool for species identification. Molecular analysis of stingless bee diversity can be done using mitochondrial DNA (mtDNA) from bees. One of the genes that codes for mitochondrial DNA is the 16S rRNA gene. This study aims to molecularly analyse the sequence of stingless bee samples and create a phylogenetic map to provide genetic data and information on the diversity of stingless bee species in East Lampung Regency. The methods used were isolation and amplification of DNA genes, electrophoresis and visualisation, sequencing and analysis of sequencing results using Basic Local Alignment Search Tool (BLAST), and phylogenetic tree construction using Molecular Evolution Genetic Analysis (MEGA11). This study identified three samples of stingless bees from East Lampung Regency as *Heterotrigona itama*. These bees were closely related to *Sundatrigona sp.* and were most distantly related to *Paratrigona lineatifrons*. This matches the results of BLAST and molecular data analysis using Mega 11 software.

**Keywords:** Stingless bee, molecular analysis, 16S rRNA gene, phylogenetic map

#### Abstrak

Keanekaragaman flora dan fauna Indonesia sangat beragam. Jenis fauna yang terkenal di Indonesia adalah lebah tanpa sengat yang tersebar di seluruh wilayah di Indonesia. Informasi keragaman lebah tanpa sengat dan hubungan kekerabatan masing-masing kelompok lebah akan memberikan informasi terkait data populasi. Analisis molekuler berguna sebagai ilmu dan alat untuk melakukan identifikasi spesies. Analisis molekuler keragaman lebah tanpa sengat dapat menggunakan DNA mitokondria (mtDNA) pada lebah. Salah satu gen pengkode DNA mitokondria adalah gen 16S rRNA. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis sekuen sampel lebah tanpa sengat secara molekuler dan menyusun peta kekerabatan sehingga dapat menjadi data genetik dan informasi keanekaragaman spesie lebah tanpa sengat di Kabupaten Lampung Timur. Metode yang digunakan adalah isolasi dan amplifikasi gen DNA, elektroforesis dan visualisasi, sekruensing dan analisis hasil sekruensing menggunakan Basic Local Alignment Search Tool (BLAST), dan konstruksi pohon filogenetik menggunakan Molecular Evolution Genetic Analysis (MEGA11). Berdasarkan penelitian ini 3 sampel lebah tanpa sengat yang didapatkan dari eksplorasi di Kabupaten Lampung Timur terdeteksi sebagai spesies *Heterotrigona itama* dan memiliki kekerabatan yang dekat dengan spesies *sundatrigona sp* dan paling jauh dengan *Paratrigona lineatifrons*. Hal ini sesuai dengan hasil uji BLAST dan analisis data molekuler menggunakan software Mega 11.

**Kata kunci:** Lebah tanpa sengat, analisis molekuler, gen 16s rRNA, peta filogenetik

Disubmit: 06 Juli 2024; Direvisi: 24 Oktober 2025; Diterima: 30 Oktober 2025



## Pendahuluan

Keanekaragaman flora dan fauna Indonesia sangat beragam. Salah satu jenis fauna yang paling terkenal di Indonesia adalah spesies lebah tanpa sengat yang tersebar di seluruh wilayah di Indonesia. Jenis lebah tanpa sengat menjadi sumber kekayaan hayati yang banyak diupayakan untuk dibudidaya karena dapat menghasilkan propolis dan madu sebagai sarana peningkatan kesejahteraan masyarakat (Herwina et al., 2022). Salah satu keunggulan yang dimiliki lebah tanpa sengat yaitu menghasilkan propolis lebih banyak dibandingkan lebah bersengat (Harjanto et al., 2020).

Peningkatan minat budidaya lebah tanpa sengat terus meningkat. Informasi keragaman lebah tanpa sengat dan hubungan kekerabatan masing-masing kelompok lebah dapat memberikan informasi terkait data populasi, potensi pengembangan atau pendayagunaan dari lebah tanpa sengat dan akan menguntungkan bagi pembudidaya lebah (Trianto & Purwanto, 2020). Adaptasi morfologi adalah cara lebah tanpa sengat menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungannya. Perubahan suhu atau kondisi lingkungan memengaruhi aktivitas terbang dan mencari makan (Mamuaya et al., 2024). Lebah tanpa sengat memiliki peran penting dalam menjaga keseimbangan ekosistem melalui aktivitas penyerbukan, tetapi ancaman terhadap habitat alami dan penurunan populasi membuat identifikasi dan konservasi spesies ini menjadi sangat penting. Analisis molekuler berguna sebagai ilmu dan alat untuk melakukan identifikasi spesies dalam kegiatan konservasi seperti memberikan data genetik yang akurat untuk pelestarian plasma nutfah lebah tanpa sengat, sehingga dapat menjaga kelangsungan populasi dan keanekaragaman genetiknya di alam. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan informasi yang akurat dan berperan dalam dunia konservasi lebah tanpa sengat.

Analisis molekuler keragaman lebah tanpa sengat dapat menggunakan DNA mitokondria (mtDNA) pada lebah. DNA mitokondria memiliki keunikan karena dapat diturunkan dari induk betina tanpa mengalami rekombinasi. Penelitian keragaman genetik yang menggunakan DNA mitokondria dapat

menghasilkan peta filogenik dari spesies yang berdekatan. Gen 16S rRNA adalah salah satu gen pengkode DNA mitokondria. Whitfield dan Cameron (1998) mendukung gen 16S rRNA mitokondria sebagai gen yang paling informatif untuk analisis filogenetik antara spesies atau populasi yang dekat.

Beberapa penelitian mengenai kekerabatan spesies lebah tanpa sengat menggunakan gen 16S rRNA telah dilakukan di Indonesia yaitu di Taman Nasional Halimun Salak, Jawa Barat (Pratama et al., 2023) dan Yogyakarta (Trianto & Purwanto, 2020), tetapi belum tercatat adanya penelitian tentang keragaman genetik lebah tanpa sengat di Kabupaten Lampung Timur. Perbedaan lokasi penelitian dapat menjadi unsur kebaruan karena variasi kondisi ekologis dan geografis berpotensi menghasilkan perbedaan genetik pada populasi lebah tanpa sengat. Penelitian di Taman Nasional Halimun Salak, Jawa Barat, yang merupakan kawasan pegunungan berhutan lebat dengan kelembapan tinggi dan suhu relatif rendah, serta di Yogyakarta yang memiliki iklim tropis dengan bentang lahan campuran antara hutan sekunder, agroforestri, dan permukiman berbeda dengan kondisi Kabupaten Lampung Timur yang berupa dataran rendah pesisir dengan suhu lebih tinggi dan ekosistem pertanian. Variasi lingkungan tersebut dapat memicu adaptasi lokal dan divergensi genetik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengumpulkan data genetik dan informasi tentang keanekaragaman spesies lebah tanpa sengat di Kabupaten Lampung Timur melalui analisis molekuler sekuen sampel dan pembuatan peta filogenetik.

## Metode Penelitian

Alat yang dipakai dalam penelitian ini terbagi menjadi dua kategori, yaitu peralatan untuk pengambilan sampel dan alat untuk analisis molekuler. Alat pengambilan sampel yang digunakan meliputi botol vial 10 ml, spidol, plastik, dan kotak es. Peralatan analisis molekuler di laboratorium meliputi *microtube*, *spin column*, *mikropipet*, *vortex*, *tip*, *collection tube*, *water bath*, *centrifuge*, *chamber*, *power supply*, cetakan agar, *laminar air flow* (LAF), dan kamera. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terbagi menjadi dua yakni bahan yang digunakan di lapangan dan di

laboratorium. Bahan yang digunakan di lapangan yaitu larutan *Phosphate-buffer saline* (PBS) sebagai zat fiksatif sampel *stingless bee*.

Bahan yang digunakan di laboratorium untuk melakukan analisis molekuler diantaranya yaitu QIAamp® Fast DNA Tissue and Blood kit (50) dari QIAGEN untuk ekstraksi DNA, yang terdiri dari proteinase K, buffer AL, buffer AW1, buffer AW2, dan buffer ATE, bahan elektroforesis terdiri dari DNA hasil ekstraksi, gel agarosa sebagai fase diam, bufferTri-Asetat EDTA (TAE), loading dye, SYBR safe, marker 100 bp sebagai penanda, dan bahan untuk amplifikasi terdiri dari MyTaq TMHS Red Mix (*Bioline*) 10  $\mu$ l dengan primer forward 16S rRNA 0,8  $\mu$ l dan reverse 16S rRNA 0,8  $\mu$ l dan Nuclease-Free Water.

## Prosedur Penelitian

### Pengambilan Sampel

Kegiatan pengambilan sampel lebah tanpa sengat dilakukan di Kabupaten Lampung Timur. Pengambilan sampel dilakukan dengan menyiapkan botol vial yang sudah berisi larutan *Phosphate-buffer saline* (PBS), dan kemudian dimasukkan mulut botol vial kedalam pintu masuk sarang lebah dan beberapa ekor lebah tanpa sengat yang terbang di sekitar pintu sarang akan masuk ke dalam botol secara alami akibat reaksi defensif mereka terhadap benda asing di sekitar sarang. Setelah individu lebah masuk ke dalam botol vial, botol segera ditutup rapat untuk mencegah lebah keluar dan menjaga kondisi sampel tetap steril.

### Preparasi Sampel

Preparasi bertujuan untuk mendapatkan sampel yang homogen dan mudah dilarutkan. Preparasi sampel dilakukan dengan menghaluskan sampel lebah sebanyak 3-5 ekor yang sudah didapatkan pada proses pengambilan sampel dan ditambahkan sedikit PBS dengan menggunakan mortar dan alu, preparasi sampel dilakukan di Laminar air Flow (LAF).

### Isolasi DNA

Proses pengambilan DNA lebah dimulai dengan menyiapkan microtube. Selanjutnya, ditambahkan sampel lebah 200  $\mu$ l, proteinase K 20  $\mu$ l, dan Buffer AL 200  $\mu$ l. Campuran tersebut kemudian dihomogenisasi menggunakan vortex. Setelah itu, suspensi yang dihasilkan

diinkubasi di waterbath pada suhu 56°C selama 5 menit. Setelah proses inkubasi, dimasukkan 200  $\mu$ l alkohol absolut dan dihomogenisasi kembali campuran tersebut. Berikutnya, suspensi dipindahkan ke dalam tabung spin column yang telah disiapkan bersama tabung koleksi, ditambahkan larutan buffer AW 1 500  $\mu$ l diperlukan dan kemudian dilakukan centrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 1 menit. Setelahnya, DNA dalam tabung spin column dipindahkan ke tabung koleksi yang baru. Kemudian, ditambahkan larutan buffer AW2 500  $\mu$ l dan lakukan centrifugasi selama 4 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Selanjutnya, ganti tabung koleksi dengan microtube, lalu masukkan buffer AE sebanyak 100  $\mu$ l ke dalam spin column yang berisi DNA lebah dan inkubasi pada suhu ruang selama 1 menit. Setelah itu, lakukan centrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 8.000 rpm. Ekstrak DNA yang ada dalam *microtube* kemudian disimpan dalam *freezer* dengan suhu -4°C.

### Amplifikasi DNA

Daerah target gen 16S rRNA dari lebah tanpa sengat diaktifkan dengan menggunakan thermo cycler dengan program berikut: predenaturasi pada suhu 95°C selama 5 menit; denaturasi pada suhu 95°C selama 1 menit, annealing pada suhu 57° C selama 1 menit, ekstensi pada suhu 72°C selama 1 menit, ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 7 menit, dan suhu penyimpanan pada tahap akhir 4°C. Primer yang digunakan adalah primer yang spesifik pada gen 16S rRNA pada lebah tanpa sengat. Sekuen primer (5'-TGG CTG CAG TAT AAC TGA CTG TAC AAA GG-3') sebagai *primer forward* dan sekuen primer (5'-GAA ACC AAT CTG ACT TAC GTC GAT TTG A-3') sebagai *primer reverse* (Wang et al., 2020). Komponen reaksi PCR diantaranya 10  $\mu$ l MyTaqTM HS Red Mix, 4,4  $\mu$ l *nuclease-free water* dan 0,8  $\mu$ l forward primer, 0,8  $\mu$ l reverse primer. Primer yang digunakan merupakan primer yang spesifik pada gen 16S rRNA lebah tanpa sengat.

### Elektroforesis DNA

Elektroforesis adalah metode yang digunakan untuk memisahkan fragmen DNA dan menentukan ukurannya dan membandingkannya dengan ukuran panjang fragmen pada DNA marker (Parista et al., 2024). Proses elektroforesis pada gel agarosa 1%

dilakukan dengan menggunakan tegangan 100 V selama 40 menit untuk menganalisis hasil amplifikasi. Pita yang terbentuk kemudian diamati dengan alat *UV Transiluminator*.

### Analisis Sekuen

Tahap ini berguna untuk memperoleh data urutan nukleotida dari area target pada sampel lebah tanpa sengat melalui layanan PT Genetika Science Indonesia. Sampel tersebut akan dikemas dan dikirim di dalam kotak berisi silica gel, menggunakan primer spesifik yaitu primer Gen 16S rRNA. Dalam bidang ilmu pengetahuan yang dikenal sebagai sekuensing DNA, bertujuan untuk mengidentifikasi urutan basa nitrogen (adenin, guanin, sitosin, dan timin) yang terdapat dalam sampel DNA. Hasil dari sekuensing DNA juga dapat dimanfaatkan untuk mengevaluasi sejauh mana kecocokan urutan nukleotida DNA dengan organisme lainnya (Shofa et al., 2019).

### Analisis Data Molekuler

Analisis data molekuler dimulai dengan pengecekan urutan sekuen yang telah diperoleh dari hasil sekuensing dan menganalisis kesamaan sekuen sampel pada data *genbank* dengan *Basic Local Alignment Searcher Tool* (BLAST) pada situs NCBI. Hasil dari BLAST dapat memberikan data tentang spesies yang memiliki kesamaan dengan urutan DNA dari sampel, sehingga dapat dimanfaatkan untuk mengenali spesies tersebut (Jamaluddin et al., 2024). Pensejajaran sekuen (*sequence alignment*), analisis jarak genetik dan konstruksi pohon filogenetik menggunakan MEGA 11. Pensejajaran atau alignment sekuen gen dilakukan pada aplikasi MEGA 11 yang berfungsi untuk menyusun sekuen forward dan reverse menjadi consensus, urutan DNA yang dihasilkan dari proses penjajaran pembacaan primer reverse dan forward dikenal sebagai consensus.

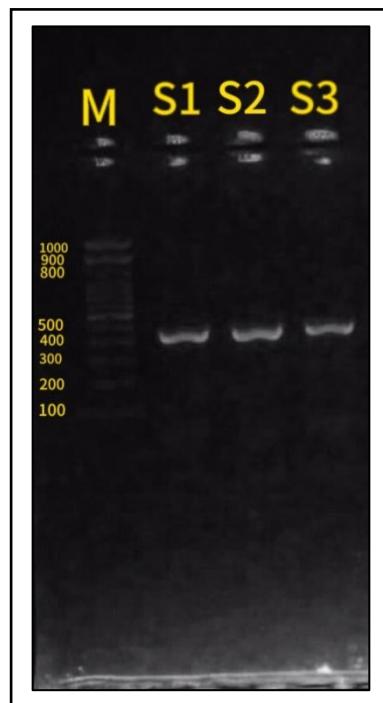
## Hasil dan Pembahasan

Sampel lebah tanpa sengat dikoleksi sebanyak tiga sampel dari Desa Tanjung Sari, Kecamatan Batanghari Nuban, Kabupaten Lampung Timur. Tempat penelitian ini merupakan lokasi dengan ekosistem

mendukung bagi keberadaan spesies, kemudian dibawa ke Laboratorium Bioteknologi Balai Veteriner Lampung untuk diidentifikasi melalui metode molekuler. Hasil visualisasi sampel DNA lebah tanpa sengat yang telah diekstraksi dan diamplifikasi melalui metode PCR dapat dilihat pada Gambar 1.

Terdapat pita DNA pada masing-masing lintasan sampel DNA lebah tanpa sengat berukuran amplikon sekitar 400-500 bp, menurut hasil PCR menunjukkan yang divisualisasikan dengan elektroforesis (Gambar 1). Garis putih tebal menunjukkan DNA berkualitas tinggi. Metode penggerusan sampel yang buruk dan suhu yang tinggi saat pemanasan *waterbath* mungkin menjadi penyebab smear DNA tertentu. (Budi & Mawardi, 2021). Identifikasi molekuler lebah tanpa sengat dilanjutkan pada tahap sekuensing untuk mengetahui susunan basa sampel tersebut.

Hasil sekuensing berupa elektroforegram urutan nukleotida dalam bentuk *ABI file*. Analisis hasil sekuensing untuk mengetahui tingkat kesamaan sekuen menggunakan database *GenBank* pada NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). Teknik pencarian berdasarkan kesamaan urutan nukleotida dengan program *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST). Dari program tersebut didapatkan bahwa sekuen nukleotida gen 16S rRNA sampel 1 (S1) memiliki tingkat kemiripan 97,27%, dan sampel 2 dan 3 (S2 dan S3) memiliki tingkat kemiripan sebesar 97,95% dengan spesies *Heterotrigona itama* (Tabel 1). Presentase kemiripan sekuen dengan sekuen *database* dikatakan signifikan apabila memiliki nilai 97%-100%, nilai 92%-96% dikatakan cukup, dan nilai lebih kecil dari 91% tidak signifikan. *Query Cover* adalah persentase kesesuaian sekuen masukan yang dibandingkan dengan sekuen DNA target (Gaffar & Sumarlin, 2020). Database pada NCBI menampung semua urutan DNA yang dikumpulkan oleh para peneliti di seluruh dunia. (Aisyah, 2020). Presentase kesamaan antara kedua spesies ini menunjukkan bahwa penggunaan DNA molekuler untuk identifikasi spesies sangat akurat.



**Gambar 1.** Hasil PCR DNA lebah tanpa sengat  
(M: marker 100bp, S1: sampel 1, S2 : Sampel 2, S3: Sampel 3)

**Tabel 1.** Hasil uji BLAST gen mitokondria 16S rRNA

Deskripsi	Accession Number	Acc. Length	Query Cover (%)			Percent Identity (%)		
			S1	S2	S3	S1	S2	S3
<i>Heterotigona itama</i>	KU571761	528	94	94	94	97, 27	97, 95	97, 95

Analisis hasil sekuensing dilanjutkan untuk mendapatkan peta filogenetik sebagai informasi kekerabatan spesies *H. itama* dengan menggunakan *Mega Software 11*. Beberapa tahap dilakukan untuk mendapatkan peta filogenetik diantaranya pensejajaran sekuen gen, analisis jarak genetik, dan konstruksi peta filogenetik. Pada penelitian ini untuk mengetahui tingkat kemiripan sekuen dengan sekuen spesies lain yang disimpan di GenBank, sekuen data pembanding ingroup digunakan. Tingkat kemiripan 9 sekuen teratas dengan sampel dari hasil analisis menggunakan metode *Basic Local Alignment Search Tool nucleotide* (BLASTn). BLASTn merupakan *tool* yang berfungsi membandingkan suatu sekuen nukleotida (*query sequence*) yang kita miliki dengan database sekuen nukleotida pada basis data (Genbank: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) (Kusuma et al., 2023). Sekuen pembanding *ingroup* ditentukan berdasarkan hasil analisis BLASTn dengan urutan teratas dan *outgroup*

adalah spesies yang memiliki hubungan kekerabatan dengan *ingroup*, tetapi berada diluar kelompok *ingroup*, pada analisis ini *Apis mellifera* digunakan sebagai *outgroup* (Butet et al., 2019). Pada penelitian ini digunakan 9 sekuen pembanding *ingroup* dan 1 sekuen *outgroup* (Tabel 2).

Sekuen sampel menunjukkan bahwa terdapat sedikit perbedaan basa nukleotida antara sampel 1,2, dan 3 dengan *H. itama*. Jarak genetik menentukan kedekatan antar spesies. Hubungan genetik antara populasi diwakili oleh ukuran jarak genetik, di mana jarak genetik yang kecil menunjukkan adanya kedekatan dalam hubungan genetik. Hasil konstruksi peta filogenetik menunjukkan bahwa sampel yang didapatkan memiliki cabang yang berdekatan dengan spesies *H. itama*. Hal ini sesuai dengan hasil uji BLAST dan nilai jarak genetik menunjukkan bahwa semakin banyak kesamaan dalam urutan nukleotida, maka persentase identitas akan meningkat, dan semakin rendah

nilai jarak genetiknya, maka posisi dalam cabang pohon filogenetik akan semakin dekat (Aisyah, 2020). Berdasarkan hasil analisis, sampel dapat dikonfirmasi sebagai spesies *H. itama*.

Gen mitokondria 16S rRNA digunakan untuk melakukan analisis filogenetik. Gen mitokondria 16S rRNA memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan gen pengkode lainnya, terutama dalam ordo Hymenoptera. Penelitian sebelumnya mendukung gagasan bahwa gen mitokondria 16S rRNA adalah gen yang paling informatif untuk filogenetik (Trianto dan Purwanto, 2020). Gen mitokondria adalah gen yang paling banyak memberikan informasi untuk studi filogenetik di antara spesies atau populasi yang memiliki hubungan dekat, di antara suku, subfamili, dan keluarga (Nuraini & Purwanto, 2021). Semua informasi yang diwariskan dikodekan dalam ciri morfologi DNA, pendekatan genetik yang menggunakan sekuen DNA molekuler dianggap lebih akurat dan konsisten daripada pendekatan morfologi. (Kristianlie Ekajaya et al., 2023).

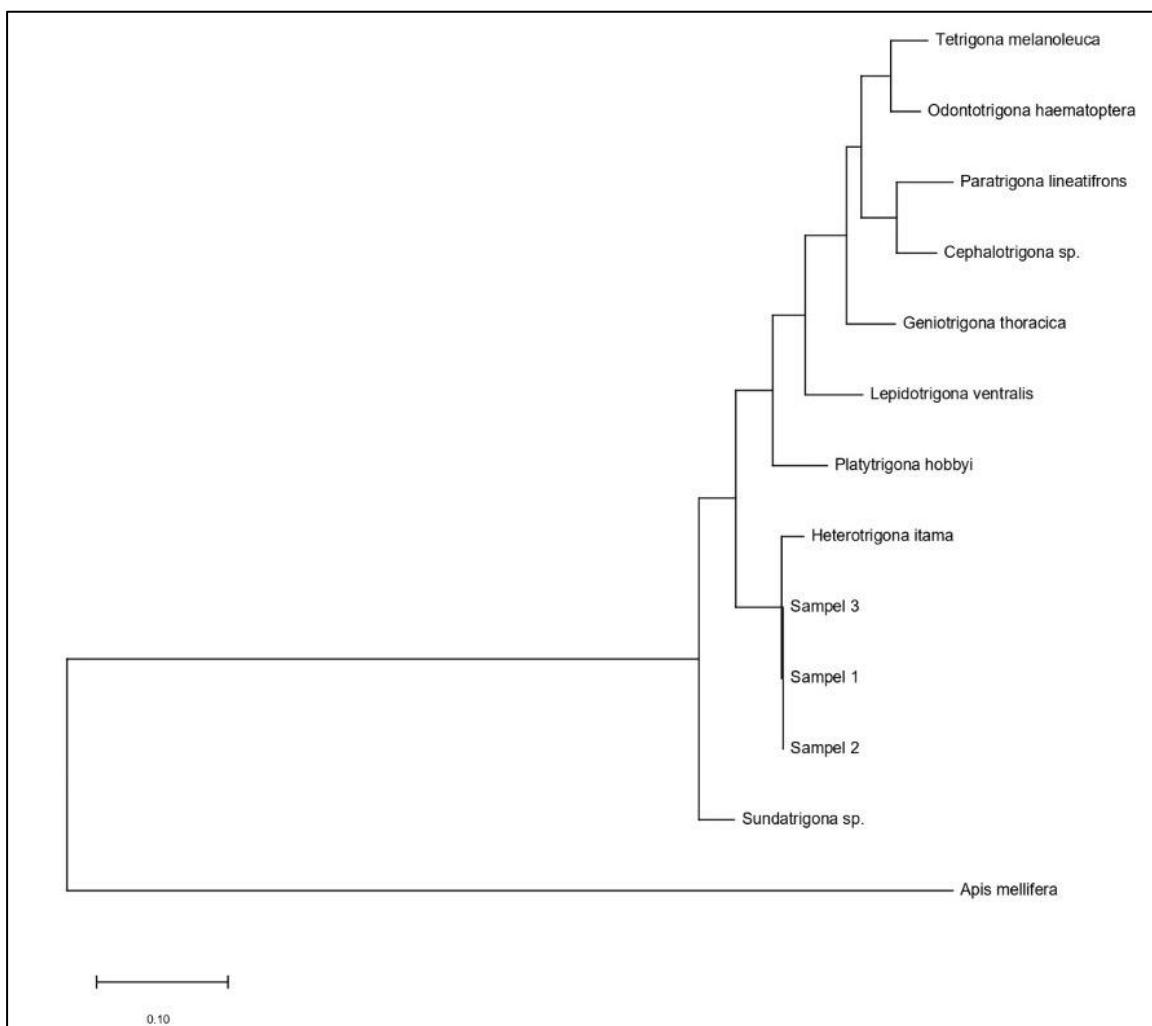
Berdasarkan peta filogenetik diatas sampel 1, 2, dan 3 lebah tanpa sengat dari Kabupaten Lampung Timur dengan sekuen *H. itama* yang didapatkan dari *GeneBank* terletak pada cabang yang sama memberikan fakta secara molekuler bahwa sampel yang

didapatkan berasal dari lebah tanpa sengat dengan spesies *H. itama*, dan spesies yang berkerabat dekat dengan *H. itama* yaitu spesies *Sundatrigona sp.* dan *Platytrigona hobbyi*.

Penelitian ini dapat menjadi data tambahan analisis molekuler keberadaan dan kekerabatan spesies lebah tanpa sengat di salah satu wilayah Indonesia. Penggunaan DNA mitokondria (mtDNA) biasanya dilakukan untuk mengenali spesies hewan (Mas'ud et al., 2023). Berbagai informasi seperti bioekologi dan taksonomi, termasuk informasi genetik, diperlukan untuk kegiatan konservasi dalam rangka menentukan metode konservasi yang tepat (Saleky & Dailami, 2021). Penelitian ini merupakan salah satu usaha dalam penandaan molekuler pada DNA mitokondria yang diterapkan untuk pengenalan spesies secara molekuler dengan cepat dan akurat melalui urutan gen dari bagian spesifik genom organisme (Studi et al., 2024). Data yang akurat dan terpercaya ini akan saling melengkapi untuk menganalisis keragaman lebah tanpa sengat dan dapat membuktikan jumlah spesies lebah tanpa sengat yang saat ini tercatat ada 52 spesies di Indonesia, yang terdiri dari 27 spesies di Sumatera, 13 spesies di Jawa, 1 spesies di Nusa Tenggara, 34 spesies di Kalimantan, 8 spesies di Sulawesi, 1 spesies di Bali, 4 spesies di Maluku, dan 12 spesies di Papua (Priyambodo et al., 2023).

**Tabel 2.** Informasi sekuen pembanding *ingroup* dan *outgroup* pada laman NCBI.

No.	Spesies	Accession Number	Panjang (bp)	Percent Identity (%)
1.	<i>Heterotrigona itama</i>	KU571761	529	97,95
2	<i>Sundatrigona sp.</i>	KU571795	506	91,34
3	<i>Platytrigona hobbyi</i>	DQ790401.1	527	90,66
4	<i>Lepidotrigona ventralis</i>	DQ790400.1	530	89,77
5	<i>Geniotrigona thoracica</i>	KU571732.1	536	88,46
6	<i>Tetrigona melanoleuca</i>	DQ790407.1	526	94
7	<i>Odontotrigona haematoptera</i>	DQ790405.1	526	94
8	<i>Paratrigona lineatifrons</i>	FJ041966.1	525	87,73
9	<i>Cephalotrigona sp.</i>	EU162995.1	536	87,05
10	<i>Apis mellifera</i>	NM_001011601.1	1830	-



Gambar 2. Peta filogenetik lebah tanpa sengat

## Simpulan dan Saran

Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini adalah 3 sampel lebah tanpa sengat yang didapatkan dari eksplorasi di Kabupaten Lampung Timur terdeteksi sebagai spesies *Heterotrigona itama* dan memiliki kekerabatan yang dekat dengan spesies *sundatrigona sp* dan paling jauh dengan *Paratrigona lineatifrons*. Hal ini sesuai dengan hasil uji BLAST dan analisis data molekuler menggunakan software *Mega 11*. Keberadaan spesies *H. itama* menandakan bahwa kondisi ekosistem dilokasi penelitian memiliki kedekatan ekologis antara spesies dan lingkungan, ketersediaan sumber pakan melimpah sepanjang tahun akan memberikan dukungan optimal terhadap keberlangsungan hidup dan stabilitas populasi lebah tanpa sengat. Spesies *H. itama* memiliki

peran penting dalam proses penyerbukan berbagai jenis tanaman, keberadaan spesies ini memberikan dampak positif bagi kelestarian lingkungan serta keseimbangan ekosistem.

## Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Lampung (Unila) atas hibah penelitian dengan Kontrak Nomor 724/UN26.21/PN/2023. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Balai Veteriner Lampung, khususnya Laboratorium Bioteknologi.

## Daftar Pustaka

- Aisyah, S. (2020). Dna *JFMR-Journal of Fisheries and Marine Research* 4(3): 316–323.

- https://doi.org/10.21776/ub.jfmr.2020.004. 03.1.
- Budi, I. M., & Mawardi, A. (2021). Identifikasi molekular kekerabatan genetik kopi wamena berbasis marka random amplified of polymorphic DNA (RAPD) *Jurnal Biologi Papua* 13(1): 8–18. <https://doi.org/10.31957/jbp.1322>.
- Butet, N. A., Anggraeni, I., Dewi, B. P., Zairion, A., Alim, H., Manajemen, D., Perairan, S., Perikanan, F., Kelautan, I., & Pertanian Bogor, I. (2019). Validasi spesies undur-undur laut berdasarkan penanda molekuler 16s rrna dari perairan bantul dan purworejo. *Jurnal Pengelolaan Perikanan Tropis*, 3(2):28-35.
- Gaffar, S., & Sumarlin. (2020). Analisis sekuen mtDNA coi pari totol biru yang didaratkan di tempat pendaratan ikan kota Tarakan. *Jurnal Harpodon Borneo* 13(2) 80–89.
- Harjanto, S., Mujianto, M., Arbainsyah, & Ramlan, A. (2020). *Budidaya Lebah Madu Kelulut Sebagai Alternatif Mata Pencaharian Masyarakat*. Swaraowa: Sleman, DIY.
- Herwina, H., Janra, M. N., Salmah, S., Jasmi, M., Biologi, J., Mipa, F., Andalas, U., & Barat, P. S. (2022). Analisis cepat terhadap budidaya galo-galo (Apidae: Meliponini) di Desa Suntur , Kecamatan Barangin , Kota Sawahlunto. *Aksiologi : Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat* 6: 388–399.
- Jamaluddin, S. N., Fitriana, F., & Amira, S. (2024). Molecular identification of endophytic fungi isolated from bidara root (*Ziziphus mauritiana* lam.) using polymerase chain reaction (PCR). *Journal Microbiology Science* 4(1): 11–21. <https://doi.org/10.56711/jms.v4i1.994>.
- Kristianlie Ekajaya, R., Endlessa, C., Putri Salsabila, A., Ratu Rahayu Ningrum, S., & Hidayat, T. (2023). Klasifikasi accipitriformes dan falconiformes berdasarkan penanda DNA parsial cytochrome oxidase 1 (CO1) secara in silico. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati* 8(3): 148–158. <https://doi.org/10.24002/biota.v8i3.6761>.
- Kusuma, W. E., Sufaichusan, I., Lestari, B. F. H. A., & Widyawati, Y. (2023). Identifikasi molekuler dan posisi filogenetik ikan sili (mastacembelidae: macrognathus) dari sungai brantas, jawa timur, berdasarkan DNA mitokondria gen COI. *Jurnal Sumberdaya Akuatik Indopasifik* 7(2): 161–174. <https://doi.org/10.46252/jsai-fpik> unipa.2023.vol.7.no.2.308.
- Mamuaya, T., Samuel, M. Y., & Christine, A. C. (2024). Morphology , morphometry and analysis of the CO1 gene in silico apis dorsata binghami from Southeast Minahasa. *Jurnal Pendidikan Tambusai* 8(1): 8777–8785.
- 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>.
- Parista, N. M. S., Julyasih, K. S. M., & Arnyana, I. B. P. (2024). Analisis molekuler bakteri liberobacter asiaticus penyebab penyakit citrus vein phloem degeneration (CVPD) dengan teknik polymerase chain reaction (PCR) pada tanaman jeruk siam (*Citrus nobilis*). *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati* 9(2): 120–131. <https://doi.org/10.24002/biota.v9i2.8372>.
- Pratama, M. N., Agus, A., Umami, N., Agussalim, & Purwanto, H. (2023). Morphometric and molecular identification, domestication, and potentials of stingless bees (Apidae: Meliponini) in Mount Halimun Salak National Park, West Java, Indonesia. *Biodiversitas* 24(11): 6107–6118. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d241132>.
- Priyambodo, P., Rustiati, E. L., Pratiwi, D. N., Susanto, A. W., Imtitsal, A., Fahrezi, A., Febriansyah, M., Kusuma, A. W., Srihanto, E. A., Saswiyanti, E., Sidik, M., Sa'uddah, L. D., Lestari, I. A., Yani, A. A., & Ramadhan, V. (2023). Qualitative analysis of Partial 16S rRNA Amplicon of mitochondrial gene of stingless bees in Pesawaran. *Jurnal Biologi Tropis* 23(1): 557–563. <https://doi.org/10.29303/jbt.v23i1.6470>.
- Saleky, D., & Dailami, M. (2021). Konservasi genetik ikan kakap putih (*Lates calcarifer*, bloch, 1790) melalui pendekatan dna barcoding dan analisis filogenetik di Sungai Kumbe Merauke Papua. *Jurnal Kelautan Tropis* 24(2): 141–150.

<https://doi.org/10.14710/jkt.v24i2.10760>.

Shofa, A. F., Hariyanti, H., & Wahyudi, P. (2019). Penggunaan DNA mitokondria sebagai penanda sumber gelatin sediaan gummy dengan teknik polymerase chain reaction dan sekuisensi DNA. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis* 6(1): 25. <https://doi.org/10.25077/jsfk.6.1.25-31.2019>.

Studi, P., Perairan, B., Perikanan, J., Pertanian, F., Sriwijaya, U., & Selatan, S. (2024). Filogenetik ikan sumatra (puntius tetrazona) alam dan budidaya berdasarkan gen COI. *Jurnal Riset Akuakultur* 18(2): 105–116. <http://doi.org/10.15578/jra.18.2.2023.105-116>.

Trianto, M., & Purwanto, H. (2020). Molecular phylogeny of stingless bees in the special region of yogyakarta revealed using partial 16s RNA mitochondrial gene. *Buletin Peternakan* 44(4): 186–193. <https://doi.org/10.21059/buletinpeternak.v44i4.55539>.

Wang, C. Y., Zhao, M., Xu, H. L., Zhang, F. L., Zhong, Y. H., Feng, Y., & Wang, S. J. (2020). Complete mitochondrial genome of the stingless bee *Lepidotrigona terminata* (Hymenoptera: Meliponinae) and phylogenetic analysis. *Mitochondrial DNA Part B: Resources* 5(1): 752–753. <https://doi.org/10.1080/23802359.2020.1715298>.