

Analisis Filogenetik dan Jarak Genetik Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Berdasarkan Sekuen Internal Transcribed Spacer (ITS)

Phylogenetic and Genetic Distance Analysis of Robusta Coffee (Coffea canephora) Using Internal Transcribed Spacer (ITS) Sequences

Rani Yosilia^{1*}, Husna Fii Karisma Jannah¹, Adawiah²

¹Jurusan Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Bandar Lampung 35145, Indonesia

²Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Bandar Lampung 35145, Indonesia

*corresponding author, Email: raniyosilia@fp.unila.ac.id

Rekam Jejak Artikel:

Diterima : 16/03/2026

Disetujui : 12/06/2026

Abstract

Robusta coffee (*Coffea canephora*) is an important plantation commodity with high economic value and a major role in global coffee production. Information on genetic diversity and phylogenetic relationships among robusta coffee genotypes is needed to support breeding, germplasm conservation, and the development of superior varieties. This study aimed to analyze the phylogenetic relationships and genetic distances of *C. canephora* based on Internal Transcribed Spacer (ITS) sequences. The study was conducted using DNA sequence data obtained from the GenBank database of the National Center for Biotechnology Information (NCBI). The samples consisted of 18 *C. canephora* accessions from Brazil, Uganda, Mexico, Sierra Leone, the Philippines, and the United Kingdom, with *Psilanthus ebracteolatus* as the outgroup. The initial sequence lengths ranged from 657 to 842 bp, indicating that the dataset represented the complete ITS fragment. Phylogenetic analysis was performed using MEGA 12 with the Maximum Likelihood method under the Tamura-Nei substitution model and 1000 bootstrap replications. Pairwise genetic distance analysis was also conducted to calculate sequence divergence. The results showed that *C. canephora* accessions formed a major cluster with several subclades. Most accessions had low genetic distances, indicating high genetic similarity, whereas the Ugandan accessions formed a distinct group. However, the large distance between Ugandan and non-Ugandan accessions should be interpreted with caution, as it may reflect both genuine African genetic differentiation and technical effects arising from comparing untrimmed ITS fragments of unequal length. These findings provide preliminary molecular evidence for prioritizing robusta coffee accessions in germplasm conservation and breeding.

Key Words : *Coffea canephora*, genetic distance, ITS, MEGA 12, phylogenetic analysis

Abstrak

Kopi robusta (*Coffea canephora*) merupakan komoditas perkebunan penting yang memiliki nilai ekonomi tinggi dan berperan besar dalam produksi kopi dunia. Informasi mengenai keragaman genetik dan hubungan kekerabatan antar genotipe kopi robusta diperlukan untuk mendukung program pemuliaan tanaman, konservasi plasma nutfah, dan pengembangan varietas unggul. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan filogenetik dan jarak genetik *C. canephora* berdasarkan sekuens Internal Transcribed Spacer (ITS). Penelitian ini menggunakan data sekuens DNA dari database GenBank NCBI. Sampel yang digunakan terdiri atas 18 akses *C. canephora* dari Brazil, Uganda, Meksiko, Sierra Leone, Filipina, dan Inggris, serta satu spesies outgroup, yaitu *Psilanthus ebracteolatus*. Panjang awal sekuens berkisar antara 657 dan 842 bp. Rentang ini menunjukkan bahwa data yang dianalisis merupakan fragmen ITS lengkap. Analisis filogenetik dilakukan menggunakan MEGA 12 dengan metode Maximum Likelihood, model substitusi Tamura-Nei, dan uji *bootstrap* 1000 replikasi. Analisis *pairwise genetic distance* dilakukan untuk menghitung jarak genetik antar sekuens. Hasil analisis menunjukkan bahwa akses *C. canephora* membentuk satu kelompok utama yang terbagi menjadi beberapa subclade. Sebagian besar akses memiliki jarak genetik rendah, yang menunjukkan kemiripan genetik tinggi. Akses Uganda membentuk kelompok tersendiri dan memperlihatkan jarak yang tinggi terhadap akses non-Uganda. Nilai jarak yang tinggi tersebut perlu ditafsirkan secara hati-hati karena dapat dipengaruhi oleh diferensiasi genetik alami populasi Afrika dan oleh faktor teknis akibat perbandingan fragmen ITS yang belum sama. Temuan ini memberi dasar awal untuk pemilihan akses dalam konservasi plasma nutfah dan pemuliaan kopi robusta.

Kata kunci : analisis filogenetik, *Coffea canephora*, ITS, jarak genetik, MEGA 12

PENDAHULUAN

Kopi merupakan salah satu komoditas perkebunan yang memiliki nilai ekonomi tinggi dan menjadi produk perdagangan penting di dunia. Permintaan kopi global terus meningkat seiring

dengan berkembangnya industri minuman berbasis kopi serta meningkatnya konsumsi masyarakat di berbagai negara. Tanaman kopi termasuk dalam genus *Coffea* yang terdiri dari lebih dari 100 spesies

yang tersebar terutama di wilayah Afrika tropis (Ferreira et al., 2019). Namun, hanya beberapa spesies yang memiliki nilai ekonomi tinggi dan dibudidayakan secara luas, di antaranya adalah *Coffea arabica* (Kopi Arabika) dan *Coffea canephora* (Kopi Robusta) (Abimanyu et al., 2018).

Kopi robusta (*Coffea canephora*) merupakan salah satu spesies kopi yang memiliki peranan penting dalam produksi kopi dunia (Putri, 2022). Spesies ini dikenal memiliki tingkat adaptasi yang tinggi terhadap berbagai kondisi lingkungan, termasuk toleransi terhadap suhu yang lebih tinggi serta kemampuan tumbuh pada ketinggian yang lebih rendah dibandingkan dengan kopi arabika (Andani et al., 2025). Selain itu, kopi robusta juga memiliki ketahanan yang relatif lebih baik terhadap beberapa penyakit tanaman, sehingga banyak dibudidayakan di wilayah tropis, termasuk di Indonesia yang merupakan salah satu produsen kopi utama di dunia (Firly, 2024). Keunggulan tersebut menjadikan kopi robusta sebagai sumber plasma nutfah penting dalam program pengembangan dan pemuliaan tanaman kopi.

Keragaman genetik merupakan faktor penting dalam pengembangan tanaman budidaya, termasuk kopi. Variasi genetik dalam suatu populasi tanaman dapat menjadi sumber sifat unggul yang dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan produktivitas, kualitas biji, serta ketahanan terhadap berbagai tekanan biotik maupun abiotik (Pertiwi et al., 2025). Informasi mengenai tingkat keragaman genetik dan hubungan kekerabatan antar genotipe kopi sangat diperlukan untuk mendukung program pemuliaan tanaman, konservasi sumber daya genetik, serta pengelolaan plasma nutfah secara berkelanjutan. Oleh karena itu, studi mengenai hubungan genetik antar genotipe kopi menjadi aspek penting dalam penelitian tanaman kopi (Syafaruddin et al., 2017).

Seiring dengan perkembangan teknologi biologi molekuler, pendekatan berbasis DNA telah banyak digunakan untuk mempelajari keragaman genetik dan hubungan evolusioner antar organisme. Analisis filogenetik berbasis sekuens DNA dapat merekonstruksi hubungan kekerabatan antar spesies atau genotipe secara lebih akurat dibandingkan dengan pendekatan morfologi. Salah satu wilayah DNA yang sering dipakai pada tumbuhan adalah Internal Transcribed Spacer (ITS) dari DNA ribosomal inti. Wilayah ITS terdiri atas ITS1, gen 5.8S rRNA, dan ITS2 (Yosilia et al., 2024). Wilayah ini memiliki variasi nukleotida yang cukup informatif untuk analisis identifikasi, hubungan kekerabatan, dan filogenetik pada banyak kelompok tanaman (Keller et al., 2008; Yao et al., 2010).

Meskipun kopi robusta memiliki peranan penting dalam sistem produksi kopi dunia, informasi mengenai hubungan filogenetik dan tingkat jarak genetik antar genotipe kopi robusta berdasarkan

marker ITS masih relatif terbatas, khususnya pada populasi yang dibudidayakan di berbagai wilayah. Pengetahuan mengenai keragaman genetik dan hubungan kekerabatan antar genotipe kopi robusta sangat penting untuk mendukung upaya konservasi plasma nutfah serta pengembangan varietas unggul yang memiliki produktivitas tinggi dan ketahanan terhadap berbagai tekanan lingkungan (Budiasih et al., 2025). Penelitian ini penting karena dapat memanfaatkan data publik untuk memperoleh gambaran awal keragaman genetik lintas wilayah, mengidentifikasi aksesori yang berkerabat dekat atau berbeda jauh, dan memberi dasar seleksi data untuk penelitian lanjutan berbasis *trimming* yang lebih spesifik. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk menganalisis hubungan filogenetik dan jarak genetik kopi robusta (*Coffea canephora*) berdasarkan sekuens ITS menggunakan analisis filogenetik dan jarak genetik dari software MEGA 12 dengan input data dari GenBank NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

MATERI DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi laptop sebagai perangkat utama untuk analisis data serta alat tulis kantor (ATK) untuk pencatatan hasil penelitian. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa data sekuens nukleotida dari berbagai isolat *Coffea canephora* yang diperoleh dari basis data *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) melalui GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Sampel yang digunakan terdiri dari 18 isolat *Coffea canephora* serta 1 spesies *outgroup*, yaitu *Psilanthus ebracteolatus* yang juga diperoleh dari database NCBI. Berikut merupakan daftar sampel nukleotida yang digunakan dalam penelitian ini.

Prosedur Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode *in silico*. Seluruh data sekuens yang digunakan diperoleh dari basis data *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) melalui GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Sekuens yang dipilih memiliki kriteria panjang 600–800 *base pair* (bp). Data sekuens diunduh dari GenBank NCBI dalam format FASTA berdasarkan accession number yang tercantum pada Tabel 1. Setiap sekuens diperiksa berdasarkan nama takson, accession number, panjang fragmen, dan keterangan asal. Karena panjang fragmen menunjukkan ITS lengkap, analisis dilakukan pada fragmen ITS yang disejajarkan.

Tabel 1. Data sampel isolat Kopi robusta dan *outgroup* dari GenBank

Nama isolat	Accession Number	Panjang bp	Negara Asal
<i>C. canephora</i> strain Conillon	AY780425	663	Brazil
<i>C. canephora</i> _EWU20	PV829563	734	Uganda
<i>C. canephora</i> _EWU18	PV829562	671	Uganda
<i>C. canephora</i> _EWU15	PV829560	758	Uganda
<i>C. canephora</i> isolate 1-sn	MF417755	657	Meksiko
<i>C. canephora</i> voucher SL1a	MN719952	739	Sierra Leone
<i>C. canephora</i> voucher SL2Ken	MN719951	738	Sierra Leone
<i>C. canephora</i> voucher SL1Ken	MN719950	738	Sierra Leone
<i>C. canephora</i> voucher 014870	MK615738	745	Filipina
<i>C. canephora</i> voucher 014869	MK615737	790	Filipina
<i>C. canephora</i> voucher 014868	MK615736	767	Filipina
<i>C. canephora</i> voucher 014867	MK615735	770	Filipina
<i>C. canephora</i> voucher 014866	MK615734	767	Filipina
<i>C. canephora</i> voucher 014865	MK615733	842	Filipina
<i>C. canephora</i> voucher 014864	MK615732	770	Filipina
<i>C. canephora</i> voucher 014863	MK615731	781	Filipina
<i>C. canephora</i> voucher 014862	MK615730	817	Filipina
<i>C. canephora</i>	DQ153593	784	Inggris
<i>C. canephora</i>	AF542982	690	India
<i>Psilanthus ebracteolatus</i>	DQ153510	776	Inggris

Analisis Filogenetik dan Jarak Genetik *Coffea canephora*

Data sekuens disejajarkan menggunakan metode ClustalW. Rekonstruksi pohon filogenetik dilakukan menggunakan perangkat lunak MEGA 12 dengan metode *Maximum Likelihood* untuk menghasilkan pohon filogenetik awal (*original tree*) (Kumar et al., 1994; Kumar et al., 2024). Ujung *alignment* yang mengandung gap dominan perlu dipotong agar hanya situs homolog yang dibandingkan. Model yang digunakan adalah Tamura-Nei. Untuk menguji tingkat kepercayaan cabang pada pohon filogenetik, dilakukan analisis *bootstrap* dengan 1000 kali pengulangan. Selain itu, analisis *pairwise distance* (Ningsih et al., 2024) menggunakan MEGA 12 dilakukan untuk menghitung jarak genetik antar sekuens berdasarkan perbedaan nukleotida pada masing-masing isolat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Filogenetik *Coffea canephora*

Analisis filogenetik dilakukan untuk mengetahui hubungan kekerabatan antara beberapa sekuens *Coffea canephora* yang berasal dari berbagai wilayah dunia. Sekuens yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari beberapa negara, yaitu Brazil (AY780425), Uganda (PV829563, PV829562, PV829560), Meksiko (MF417755), Sierra Leone (MN719952, MN719951, MN719950), Filipina (MK615738–MK615730), Inggris (DQ153593),

serta satu spesies lain yaitu *Psilanthus ebracteolatus* (DQ153510) yang digunakan sebagai *outgroup*.

Berdasarkan pohon filogenetik yang dihasilkan, sebagian besar sekuens *Coffea canephora* membentuk satu kelompok besar yang kemudian terbagi menjadi beberapa subclade. Pengelompokan ini menunjukkan bahwa meskipun berasal dari lokasi geografis yang berbeda, sekuens tersebut masih memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dan termasuk dalam spesies yang sama (Maurin et al., 2007). Clade pertama terdiri dari beberapa sekuens *Coffea canephora* seperti MF417755 (Meksiko), MK615733, MK615730, MN719952 (Sierra Leone), MK615737, dan MK615732 (Filipina). Kelompok ini menunjukkan hubungan genetik yang cukup dekat yang ditunjukkan oleh panjang cabang yang relatif pendek pada pohon filogenetik (Subari et al., 2021).

Clade berikutnya mencakup beberapa isolat *Coffea canephora* dari Filipina seperti MK615736, MK615735, MK615734, dan MK615731 serta beberapa sekuens dari Sierra Leone yaitu MN719951 dan MN719950. Selain itu terdapat juga sekuens AY780425 yang berasal dari Brazil yang berada dalam kelompok *Coffea canephora* tetapi membentuk subkelompok tersendiri. Hal ini menunjukkan adanya variasi genetik dalam spesies *Coffea canephora* yang kemungkinan dipengaruhi oleh faktor geografis maupun sejarah domestikasi tanaman kopi (Gomez et al., 2009). Aksesori dari Uganda, yaitu PV829563, PV829562, dan PV829560, membentuk kelompok tersendiri yang



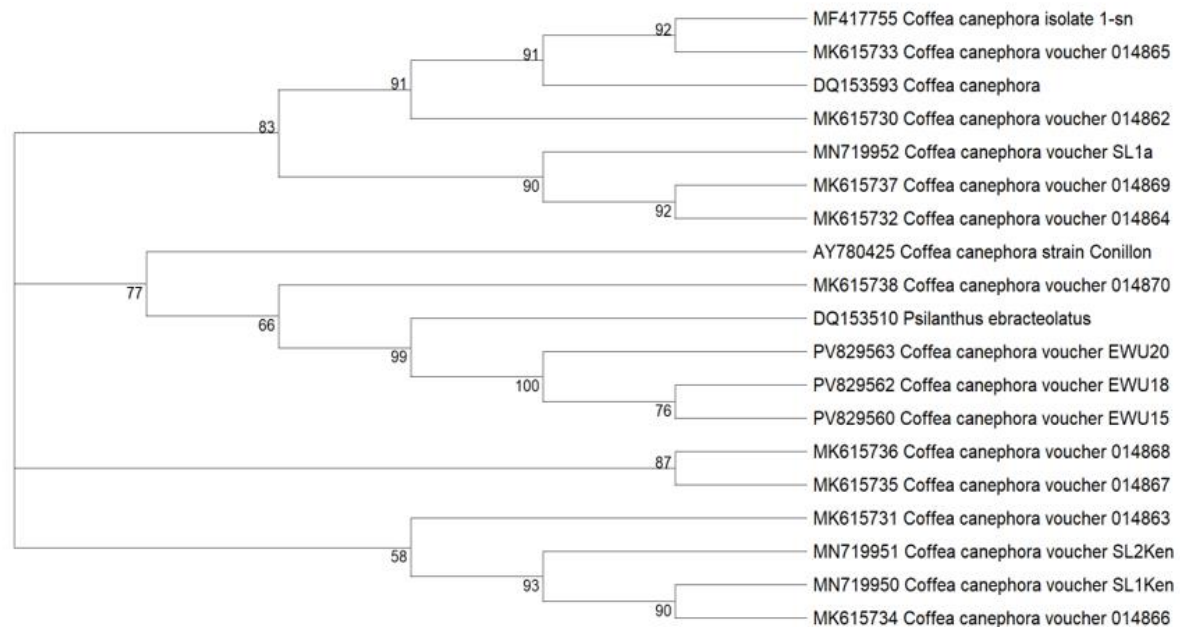
Gambar 1. Pohon filogenetik (*original tree*) *Coffea canephora* berdasarkan sekuens ITS yang direkonstruksi menggunakan metode *Maximum Likelihood* model *Tamura-Nei* pada perangkat lunak MEGA 12. Pohon menunjukkan hubungan kekerabatan antar isolat *C. canephora* yang berasal dari berbagai negara. Spesies *Psilanthus ebracteolatus* digunakan sebagai *outgroup* untuk menentukan arah evolusi pada analisis filogenetik

terpisah dengan jelas dari sebagian besar aksesori lain. Pola ini dapat berkaitan dengan posisi Uganda sebagai bagian dari wilayah keragaman alami *C. canephora* di Afrika. Studi sebelumnya menunjukkan bahwa keragaman robusta Uganda memiliki struktur genetik khas dan dapat berbeda dari beberapa kelompok genetik *C. canephora* lain (Kiwuka et al., 2021). Sebagai pembanding, digunakan *Psilanthus ebracteolatus* (DQ153510) yang berada di luar kelompok *Coffea canephora* pada pohon filogenetik. Posisi ini menunjukkan bahwa spesies tersebut memiliki hubungan evolusioner yang lebih jauh sehingga dapat digunakan sebagai *outgroup* untuk menentukan arah evolusi pada analisis filogenetik (Kholqiyah et al., 2022).

Analisis Bootstrap tree

Untuk menguji tingkat kepercayaan dari pohon filogenetik yang dihasilkan, dilakukan analisis *bootstrap* dengan 1000 replikasi yang merupakan metode statistik yang digunakan untuk mengevaluasi stabilitas atau keandalan cabang pada pohon filogenetik (Hillis & Bull, 1993). Hasil analisis menunjukkan bahwa sebagian besar cabang pada pohon filogenetik memiliki nilai *bootstrap* yang cukup tinggi. Beberapa cabang bahkan memiliki nilai *bootstrap* lebih dari 90, seperti 91, 92, 93, 99, dan 100. Nilai *bootstrap* yang tinggi menunjukkan bahwa pengelompokan sekuens pada cabang tersebut sangat stabil dan didukung kuat oleh data yang dianalisis (Huang et al., 2020).

Kelompok sekuens dari Uganda, yaitu PV829563, PV829562, dan PV829560, memiliki nilai *bootstrap* sebesar 100. Hal ini menunjukkan bahwa hubungan kekerabatan antara ketiga sekuens tersebut sangat kuat dan kemungkinan besar berasal dari nenek moyang yang sama (Sudradjat & Kusri, 2016). Nilai ini menunjukkan bahwa ketiga aksesori Uganda memiliki pola sekuens yang sangat konsisten satu sama lain. Nilai *bootstrap* tersebut mendukung kestabilan kelompok Uganda dalam dataset yang digunakan, bukan mencerminkan variasi biologis. Selain itu, beberapa kelompok sekuens dari Filipina juga menunjukkan nilai *bootstrap* yang cukup tinggi, seperti nilai 87 dan 90. Hal ini menunjukkan bahwa isolat *Coffea canephora* dari wilayah tersebut memiliki hubungan genetik yang cukup stabil. Pada pohon filogenetik terdapat pula beberapa cabang yang memiliki nilai *bootstrap* yang relatif rendah, seperti nilai 58 dan 66. Nilai *bootstrap* yang rendah menunjukkan bahwa hubungan kekerabatan pada cabang tersebut kurang stabil dan mungkin akan berubah apabila jumlah sekuens yang dianalisis ditambah atau metode analisis yang digunakan berbeda (Katsura et al., 2016). Hasil *bootstrap* menunjukkan bahwa sebagian besar hubungan kekerabatan pada pohon filogenetik memiliki tingkat kepercayaan yang baik sehingga hasil analisis filogenetik dapat dianggap cukup valid.



Gambar 2. Pohon filogenetik *Coffea canephora* berdasarkan sekuens ITS dengan uji *bootstrap* 1000 replikasi menggunakan metode *Maximum Likelihood* model *Tamura-Nei* pada MEGA 12. Nilai *bootstrap* yang ditampilkan pada setiap cabang menunjukkan tingkat kepercayaan atau kestabilan pengelompokan isolat dalam pohon filogenetik.

	AY780425	PV829563	PV829562	PV829560	MF417755	MN719952	MN719951	MN719950	MK615738	MK615737	MK615736	MK615735	MK615734	MK615733	MK615732	MK615731	MK615730	DQ153593
PV829563	0,34441																	
PV829562	0,33933	0,02528																
PV829560	0,34483	0,02350	0,00498															
MF417755	0,00497	0,34421	0,33913	0,34462														
MN719952	0,00333	0,34029	0,33521	0,34070	0,00000													
MN719951	0,00498	0,34352	0,33846	0,34394	0,00664	0,00166												
MN719950	0,00498	0,34352	0,33846	0,34394	0,00664	0,00166	0,00000											
MK615738	0,00331	0,33806	0,33302	0,33846	0,00498	0,00333	0,00498	0,00498										
MK615737	0,00331	0,34156	0,33649	0,34197	0,00165	0,00000	0,00498	0,00498	0,00331									
MK615736	0,01845	0,35527	0,35014	0,35570	0,02015	0,01681	0,01672	0,01672	0,01847	0,01845								
MK615735	0,02365	0,35838	0,35319	0,35589	0,02192	0,02032	0,02540	0,02540	0,02368	0,02021	0,02537							
MK615734	0,00664	0,34637	0,34130	0,34679	0,00831	0,00333	0,00165	0,00165	0,00665	0,00664	0,01842	0,02713						
MK615733	0,00497	0,34421	0,33913	0,34462	0,00000	0,00000	0,00664	0,00664	0,00498	0,00165	0,02015	0,02192	0,00831					
MK615732	0,00331	0,34156	0,33649	0,34197	0,00165	0,00000	0,00498	0,00498	0,00331	0,00000	0,01845	0,02021	0,00664	0,00165				
MK615731	0,00497	0,34421	0,33913	0,34462	0,00331	0,00000	0,00331	0,00331	0,00498	0,00165	0,02015	0,02192	0,00498	0,00331	0,00165			
MK615730	0,00497	0,34421	0,33913	0,34462	0,00000	0,00000	0,00664	0,00664	0,00498	0,00165	0,02015	0,02192	0,00831	0,00000	0,00165	0,00331		
DQ153593	0,00497	0,34421	0,33913	0,34462	0,00000	0,00000	0,00664	0,00664	0,00498	0,00165	0,02015	0,02192	0,00831	0,00000	0,00165	0,00331	0,00000	
DQ153510	0,04847	0,35538	0,35290	0,35582	0,04667	0,04319	0,04659	0,04659	0,04481	0,04667	0,06110	0,06517	0,04838	0,04667	0,04667	0,04845	0,04667	0,04667

Gambar 3. Matriks *pairwise genetic distance* antar sekuens *Coffea canephora* berdasarkan analisis MEGA 12. Nilai pada tabel menunjukkan tingkat perbedaan nukleotida antar isolat yang digunakan untuk mengukur kedekatan hubungan genetik antar sekuens.

Analisis Jarak genetik (*Pairwise Genetic Distance*)

Analisis jarak genetik dilakukan untuk mengetahui tingkat perbedaan nukleotida antara setiap pasangan sekuens yang dianalisis. Nilai jarak genetik yang dihasilkan pada matriks pairwise distance berkisar antara 0.00000 hingga sekitar 0.35582. Nilai jarak genetik yang sangat kecil menunjukkan bahwa dua sekuens memiliki tingkat kemiripan yang sangat tinggi (Syahrudin, 2021). Sebagian besar aksesori non-Uganda memiliki jarak rendah, misalnya MF417755, MN719952, MK615733, MK615730, dan DQ153593 yang menunjukkan nilai 0,00000 pada beberapa pasangan. Nilai ini menunjukkan bahwa sekuens tersebut sangat mirip dengan wilayah yang dibandingkan. Sebaliknya, aksesori Uganda menunjukkan jarak tinggi terhadap sebagian besar aksesori non-Uganda, misalnya AY780425 terhadap PV829563 sebesar 0,34441.

Nilai jarak rendah pada beberapa aksesori Sierra Leone dan Filipina menunjukkan kedekatan genetik yang kuat pada fragmen ITS yang dianalisis. Namun, jarak tinggi antara aksesori Uganda dan aksesori non-Uganda harus diperlakukan sebagai temuan problematis yang memerlukan verifikasi. *C. canephora* asal Afrika, termasuk Uganda, memang memiliki keragaman genetik tinggi dan dapat membentuk kelompok khas akibat sejarah evolusi, isolasi geografis, domestikasi, dan aliran gen lokal (Gomez et al., 2009; Kiwuka et al., 2021). Sebagai contoh, nilai jarak genetik antara AY780425 (Brazil) dan PV829563 (Uganda) mencapai sekitar 0.34441. Nilai ini menunjukkan bahwa kedua sekuens tersebut memiliki perbedaan genetik yang cukup besar meskipun masih termasuk dalam spesies yang sama (Kairupan et al., 2015). Nilai jarak genetik yang relatif besar juga terlihat antara beberapa sekuens *Coffea canephora* dan sekuens outgroup *Psilanthus ebracteolatus* (DQ153510). Hal ini menunjukkan bahwa spesies tersebut memiliki hubungan evolusioner yang lebih jauh dibandingkan dengan *Coffea canephora*.

Hubungan Variasi Genetik dengan Distribusi Geografis

Hasil analisis menunjukkan adanya kecenderungan pengelompokan berdasarkan asal geografis, terutama pada aksesori Uganda yang terpisah dari aksesori lain. Sekuens yang berasal dari wilayah yang sama cenderung memiliki jarak genetik yang lebih kecil dibandingkan dengan sekuens yang berasal dari wilayah yang berbeda (Hermawan, 2023). Secara biologis, pola ini dapat dijelaskan oleh diversifikasi alami *C. canephora* di Afrika, perbedaan kelompok genetik, dan sejarah domestikasi robusta. Penelitian di zona Afrika Guineo-Kongolian menunjukkan bahwa diferensiasi genetik *C. canephora* dipengaruhi oleh sejarah iklim lama dan aktivitas manusia (Gomez et al., 2009). Penelitian lain pada robusta Uganda juga menunjukkan adanya struktur genetik khas dan

potensi keragaman adaptif yang penting untuk pemuliaan dan konservasi (Kiwuka et al., 2021). Sebaliknya, *Coffea canephora* yang ditemukan di wilayah lain seperti Brazil, Filipina, dan Meksiko kemungkinan merupakan hasil introduksi dari Afrika yang kemudian mengalami proses adaptasi di lingkungan baru. Proses tersebut dapat menyebabkan munculnya variasi genetik yang terlihat pada pohon filogenetik.

SIMPULAN

Berdasarkan analisis filogenetik, bootstrap, dan jarak genetik, aksesori *C. canephora* yang dianalisis membentuk kelompok utama dengan beberapa *subclade*. Sebagian besar aksesori non-Uganda memiliki jarak genetik rendah, yang menunjukkan kemiripan genetik tinggi pada fragmen ITS yang dibandingkan. Aksesori Uganda membentuk kelompok tersendiri dengan dukungan bootstrap tinggi dan memiliki jarak tinggi terhadap aksesori non-Uganda. Nilai *bootstrap* yang relatif tinggi pada sebagian besar cabang menunjukkan bahwa hasil rekonstruksi pohon filogenetik memiliki tingkat kepercayaan yang baik. Analisis *pairwise genetic distance* menunjukkan bahwa sebagian besar sekuens *Coffea canephora* memiliki jarak genetik yang rendah, yang menandakan adanya kemiripan genetik yang tinggi antar isolat. Sementara itu, sekuens *Psilanthus ebracteolatus* yang digunakan sebagai outgroup menunjukkan jarak genetik yang lebih besar sehingga berada di luar kelompok *Coffea canephora* pada pohon filogenetik.

DAFTAR REFERENSI

- Abimanyu, W., Hadi, S. and Ridho, A.A., 2018. Studi Komparatif Usaha Perkebunan Kopi Robusta Dan Kopi Arabika Di Kecamatan Panti Kabupaten Jember. *Jurnal Agribest*, 2(1). <https://doi.org/10.32528/agribest.v2i1.1370>.
- Andani, T.R., Analianasari, A. and Agassi, T.N., 2025. Karakteristik Fisiko Kimia Dan Cita Rasa Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Pengolahan Black Honey Pada Ketinggian Dan Tingkatan (Level) Penyangraian Berbeda. *Jurnal Pengembangan Agroindustri Terapan*, 3(2). <https://doi.org/10.25181/jupiter.v3i2.3287>.
- Budiasih, R.B., Mustopa, A.S. and Julianti, A., 2025. Identifikasi dan Karakterisasi Morfologi Tanaman Kopi (*Coffea* Sp.) Beserta Kekerabatannya di Kawasan Gunung Manglayang Timur Petak 9b Kab. Sumedang Jawa Barat. *Jurnal Greenation Pertanian Dan Perkebunan*, 2(3), pp.55–71. <https://doi.org/10.38035/jgpp.v2i3.184>.
- Fajarningsih, N.D., 2016. Internal Transcribed Spacer (ITS) as Dna Barcoding to Identify Fungal Species: a Review. *SQUALEN Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and*

- Biotechnology*, 11(2), p.37. <https://doi.org/10.15578/squalen.v11i2.213>.
- Ferreira, T., Shuler, J., Guimarães, R. and Farah, A., 2019. CHAPTER 1. Introduction to Coffee Plant and Genetics. In: *Coffee: Production, Quality and Chemistry*. pp.1–25. <https://doi.org/10.1039/9781782622437-00001>.
- Firly, F.R.R., 2024. Pengaruh Modal, Luas Lahan, Pupuk, dan Tenaga Kerja terhadap Produksi Kopi Robusta BSIP-TRI. *Jurnal Agribisnis Dan Pembangunan Pertanian (JAPP)*, 2(1), pp.48–56. <https://doi.org/10.37150/japp.v2i1.2536>.
- Gomez, C., Dussert, S., Hamon, P., Hamon, S., De Kochko, A. and Poncet, V., 2009. Current genetic differentiation of *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehn in the Guineo-Congolian African zone: cumulative impact of ancient climatic changes and recent human activities. *BMC Evolutionary Biology*, 9(1), p.167. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-9-167>.
- 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(01), pp.26–46. <https://doi.org/10.36526/biosense.v6i01.2602>.
- Hillis, D.M. and Bull, J.J., 1993. An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biology*, 42(2), pp.182–192. <https://doi.org/10.1093/sysbio/42.2.182>.
- Huang, J., Liu, Y., Zhu, T. and Yang, Z., 2020. The asymptotic behavior of bootstrap support values in molecular phylogenetics. *Systematic Biology*, 70(4), pp.774–785. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syaa100>.
- Kairupan, C.F., Koneri, R. and Tallei, T.E., 2015. Variasi Genetik *Troides helena* (Lepidoptera: Papilionidae) Berdasarkan Gen COI (Cytochrome C Oxydase I). *Jurnal MIPA*, 4(2), p.141. <https://doi.org/10.35799/jm.4.2.2015.9039>.
- Katsura, Y., Stanley, C.E., Kumar, S. and Nei, M., 2016. The Reliability and Stability of an Inferred Phylogenetic Tree from Empirical Data. *Molecular Biology and Evolution*, 34(3), p.msw272. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw272>.
- Keller, A., Schleicher, T., Schultz, J., Müller, T., Dandekar, T. and Wolf, M., 2008. 5.8S-28S rRNA interaction and HMM-based ITS2 annotation. *Gene*, 430(1–2), pp.50–57. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2008.10.012>.
- Kholqiyah, S.F., Wahyudi, D. and Hapsari, L., 2022. Kekerabatan Fenetik *Heliconia* spp. Koleksi Kebun Raya Purwodadi Berdasarkan Deskriptor Kualitatif. *Buletin Plasma Nutfah*, 28(1), p.45. <https://doi.org/10.21082/blpn.v28n1.2022.p45-56>.
- Kiwuka, C., Goudsmit, E., Tournebize, R., De Aquino, S. O., Douma, J. C., Bellanger, L., Crouzillat, D., Stoffelen, P., Sumirat, U., Legnaté, H., Marraccini, P., De Kochko, A., Andrade, A. C., Mulumba, J. W., Musoli, P., Anten, N. P. R., & Poncet, V. (2021). Genetic diversity of native and cultivated Ugandan Robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner): Climate influences, breeding potential and diversity conservation. *PLoS ONE*, 16(2), e0245965. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245965>.
- Kumar, S., Stecher, G., Suleski, M., Sanderford, M., Sharma, S. and Tamura, K., 2024. MEGA12: Molecular Evolutionary Genetic Analysis Version 12 for Adaptive and Green Computing. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2024.12.10.627672>.
- Kumar, S., Tamura, K. and Nei, M., 1994. MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software for microcomputers. *Computer Applications in the Biosciences*, 10(2), pp.189–191. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/10.2.189>.
- Maurin, O., Davis, A.P., Chester, M., Mvungi, E.F., Jaufeerally-Fakim, Y. and Fay, M.F., 2007. Towards a phylogeny for *Coffea* (Rubiaceae): identifying well-supported lineages based on nuclear and plastid DNA sequences. *Annals of Botany*, 100(7), pp.1565–1583. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm257>.
- Ningsih, S., Idami, Z. and Manalu, K., 2024. Keragaman Genetik Ikan Glodok (*Periophthalmus* sp.) Di Sungai Padang Kabupaten Batu Bara Menggunakan Gen CO1. *Eduproxima Jurnal Ilmiah Pendidikan IPA*, 6(4), pp.1306–1317. <https://doi.org/10.29100/v6i4.5706>.
- Pertiwi, A., Putri, A.K., Zains, A.R., Pratiwi, F.P. and Sandi, R.B., 2025. Studi Deskriptif Variabilitas Genetik Tanaman Kedelai sebagai Strategi Pertanian Berkelanjutan. *RIGGS Journal of Artificial Intelligence and Digital Business*, 4(4), pp.2628–2636. <https://doi.org/10.31004/riggs.v4i4.3951>.
- Putri, M., 2022. Pengaruh Daerah Tempat Tumbuh Terhadap Kadar Kafein Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*). *Jurnal Ilmu Kesehatan Bhakti Setya Medika*, 7(1), pp.33–42. <https://doi.org/10.56727/bsm.v7i1.83>.

- Subari, A., Razak, A. and Sumarmin, R., 2021. Phylogenetic Analysis of Rasbora spp. Based on the Mitochondrial DNA COI gene in Harapan Forest. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(1), pp.89–94. <https://doi.org/10.29303/jbt.v21i1.2351>.
- Sudradjat, A. and Kusriani, E., 2016. Hubungan Kekerabatan Beberapa Populasi Kerang Hijau (*Perna viridis*) di Indonesia Berdasarkan Sekuen Cytochrome B mtDNA. *Jurnal Riset Akuakultur*, 5(1), pp.155–164. <https://doi.org/10.15578/jra.5.1.2010.155-164>.
- Su'udi, M., Ulum, F.B., Ardiyansah, M. and Fitri, N.E., 2024. Evaluasi Lokus Potensial matK dan ITS2 Untuk DNA Barcoding Anggrek *Bulbophyllum lobbiai* Lindl. *AL-Kauniyah Jurnal Biologi*, 17(2), pp.406–418. <https://doi.org/10.15408/kauniyah.v17i2.33897>.
- Syafaruddin, S., Dani, D. and Pabendon, M.B., 2017. Keragaman Genetik antar Klon Kopi Robusta Lokal Pagar Alam berdasarkan Analisis Marka SSR. *Jurnal Tanaman Industri Dan Penyegar*, 4(3), p.133. <https://doi.org/10.21082/jtidp.v4n3.2017.p133-144>.
- Syahrudin, K., 2021. Keragaman genetik koleksi plasmanutfah jewawut (*Setaria italica* (L.) P. Beauv.) berkerabat dekat menggunakan markah SSR. *Kultivasi*, 20(3). <https://doi.org/10.24198/kultivasi.v20i3.34843>.
- Yao, H., Song, J., Liu, C., Luo, K., Han, J., Li, Y., Pang, X., Xu, H., Zhu, Y., Xiao, P. and Chen, S., 2010. Use of ITS2 region as the universal DNA barcode for plants and animals. *PLoS ONE*, 5(10), p.e13102. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013102>.
- Yosilia, R., Afandi, A., Hoya, A.L., Cahyani, C.N. and Hieno, A., 2024. Phytophthora palmivora Relationship Analysis on ITS rDNA Primers Using MEGA11 Software (NCBI DNA Sequencing Library Study). *Jurnal Agrotek Tropika*, 12(4). <https://doi.org/10.23960/jat.v12i4.9532>.