



Analisis *In Silico* Filogenetik *Coffea* sp. Berdasarkan Gen *matK* dan *rbcL*: Dasar Pemuliaan Profil Sensorik

¹Firnanda Ayu Rizki, ²*Isnawati

^{1,2}Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Surabaya, Indonesia.

*Corresponding Author e-mail: isnawati@unesa.ac.id

Received: October 2025; Revised: November 2025; Accepted: December 2025; Published: December 2025

Abstrak: Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan filogenetik, jarak genetik, dan potensi keberhasilan hibridisasi berbasis sekuens *concatenated* *matK* dan *rbcL*. Penelitian dilakukan secara *in silico* pada 11 spesies kopi, diperoleh melalui database NCBI GenBank. Data sekuens dianalisis melalui perangkat bioinformatika dalam *alignment*, *concatenated* sekuens, rekonstruksi filogenetik, dan perhitungan jarak genetik. Filogenetik menghasilkan topologi stabil dan akurat. Spesies menunjukkan tiga kategori kompatibilitas hibridisasi berdasarkan nilai jarak genetik; tinggi menjamin stabilitas introgesi gen, moderat menghasilkan hibrida heterosis, dan rendah berisiko terjadi hambatan genetik. Penelitian menyimpulkan potensi keberhasilan hibridisasi spesies dengan jarak genetik rendah dan berkerabat dekat. Integrasi filogenetik dan jarak genetik berbasis sekuens *matK* dan *rbcL* terbukti efektif memetakan kompatibilitas antarspesies berorientasi pengembangan profil sensorik. Temuan ini menjadi landasan strategis dalam efisiensi program pemuliaan kopi modern dengan karakter rasa dan aroma unggul.

Kata Kunci: DNA kloroplas; filogenetik; kompatibilitas; pemuliaan kopi; profil sensoris

Abstract: This study aimed to analyze phylogenetic relationships, genetic distances, and the potential for successful hybridization based on concatenated *matK* and *rbcL* sequences. The study was conducted *in silico* on 11 coffee species obtained from the NCBI GenBank database. Sequence data were analyzed using bioinformatics tools for alignment, concatenated sequences, phylogenetic reconstruction, and genetic distance calculation. Phylogenetics produced a stable and accurate topology. Species showed three categories of hybridization compatibility based on genetic distance values; high ensured gene introgression stability, moderate produced heterotic hybrids, and low risked incompatibility and genetic barriers. The study concluded that species with low genetic distance and close kinship have the potential for successful hybridization. The integration of phylogenetics and genetic distance based on *matK* and *rbcL* sequences proved effective in mapping interspecies compatibility oriented towards sensory profile development. These findings provide a strategic foundation for the efficiency of modern coffee breeding programs with superior taste and aroma characteristics.

Keywords: Chloroplast DNA; phylogenetic; compatibility; coffee breeding; sensory profile

How to Cite: Rizki, F. A., & Isnawati. (2025). Analisis *In Silico* Filogenetik *Coffea* sp. Berdasarkan Gen *matK* dan *rbcL*: Dasar Pemuliaan Profil Sensorik. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 13(4), 3230–3241. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i4.18204>



<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i4.18204>

Copyright© 2025, Rizki et al
This is an open-access article under the [CC-BY-SA](#) License.



PENDAHULUAN

Kopi (*Coffea* sp.) merupakan komoditas perkebunan global penting, berkontribusi signifikan secara sosial dan ekonomi bagi 12,5 juta petani dengan luas lahan produksi hingga 10 juta hektar (Wright *et al.*, 2024). Tingginya nilai ekonomi kopi domestik didukung oleh studi Fudjaja *et al.* (2023) pada pengolahan bubuk kopi Robusta meningkatkan produksi bernilai tambah. Harga jual dan permintaan pasar tinggi menempatkan profil sensoris sebagai faktor utama nilai pasar dan preferensi konsumen. Fluktuasi harga komoditas global dan tingginya biaya produksi menekan petani kopi domestik dalam penggunaan varietas berkualitas tinggi atau metode pengolahan konvensional menyebabkan penurunan profil sensoris yang tidak memenuhi standar pasar global dan berdampak negatif terhadap pendapatan petani dan devisa ekspor (Hartati *et al.*, 2023). Selain itu, keterbatasan literasi teknis dalam mitigasi tantangan produktivitas terhadap perubahan iklim dan praktik pasca-panen

menurunkan kualitas panen seperti tahap pengeringan tidak merata berdampak pada senyawa volatil penentu aroma (Ibnu, 2022).

Profil rasa dan aroma merupakan parameter evaluasi kualitas kopi yang dipengaruhi faktor genetik berbeda setiap varietas (Paterek *et al.*, 2024). Faktor genetik mempengaruhi karakteristik aroma, rasa, keasaman, dan *aftertaste* oleh biosintesis senyawa tertentu (Sakata *et al.*, 2022). Biosintesis *volatile*, kafein, dan terpen sintase diatur oleh gen spesifik serta berkontribusi terhadap kompleksitas rasa (Marie *et al.*, 2024). Studi Merot-L'anthoene *et al.* (2019) menghubungkan faktor genetik dengan karakteristik rasa dan aroma melalui *resequencing* genom dan analisis SNP *C. arabica* untuk identifikasi gen kandidat fungsional. Lebih lanjut, analisis polimorfisme dengan sifat sensoris melalui pemetaan QTL menjadi peluang riset strategis dalam menargetkan gen kandidat spesifik (Priyono & Putranto, 2015). Optimalisasi kualitas kopi berkelanjutan diperlukan melalui integrasi pemuliaan dan budidaya optimal (Wang *et al.*, 2024). Strategi pemuliaan difokuskan terhadap pengembangan varietas unggul dengan profil sensorik optimal, serta ketahanan adaptasi tinggi terhadap cekaman perubahan iklim (Al-Abdulkader *et al.*, 2018; Todhanakasem *et al.*, 2024). Penggunaan penanda molekuler berbagai analisis krusial pada pemuliaan selektif untuk mengembangkan kultivar unggul, seperti spesies *wild-type C. stenophylla* toleran terhadap lingkungan ekstrim dan karakteristik fenotip khas (Davis *et al.*, 2020; Tran *et al.*, 2018).

Analisis filogenetik *in silico* membandingkan sekuens skala besar dan luas secara efisien tanpa sampel fisik sebagai strategi pemuliaan (Pratiwi *et al.*, 2023). Oleh karena itu, analisis filogenetik merupakan instrumen krusial untuk memetakan hubungan genetik, memprediksi kompatibilitas persilangan, dan mengoptimalkan keragaman plasma nutfah (Kumar *et al.*, 2024). Studi ini merekonstruksi filogenetik secara komprehensif berdasarkan gen penanda kloroplas (cpDNA) *matK* dan *rbcl*. Penggunaan cpDNA sebagai marker filogenetik dipilih karena sifat pewarisan uniparental yang meminimalisir efek rekombinasi (Goswami *et al.*, 2022) dan karakteristik konservatif (Cheek *et al.*, 2018). DNA *barcoding* *matK* dan *rbcl* dapat mengidentifikasi variasi genetik antarspesies; *matK* memiliki resolusi lebih spesifik pada taksa spesies, dan *rbcl* efektif pada taksa lebih tinggi (Mishra *et al.*, 2022; George *et al.*, 2023). Integrasi kedua gen (multilokus) dengan laju mutasi moderat (Tran, 2022) meningkatkan akurasi identifikasi hubungan kekerabatan spesies sebagai dasar seleksi induk hibridisasi, pencegahan seleksi *bottleneck*, dan efisiensi pengembangan kultivar unggul dengan karakter sensoris unggul (de Almeida *et al.*, 2021). Studi filogenetik *Coffea* sp. oleh Khemira *et al.* (2023) berbasis cpDNA *matK*, *rbcl*, dan *trnL* terbukti efektif mengelompokkan genotip berdasarkan variasi genetik antar-spesies.

Tantangan utama pengembangan karakter unggul varietas *Coffea* sp. adalah rendahnya efisiensi pemuliaan akibat kurangnya pemetaan genetik molekuler. Keterbatasan informasi kekerabatan berbasis marker spesifik dan eksplorasi profil sensorik berbagai spesies. Hal ini dapat memicu penyempitan basis genetik spesies komersial, meningkatkan kerentanan terhadap cekaman biotik, dan menghambat optimalisasi potensi ekonomi. Kesenjangan penelitian teridentifikasi belum adanya analisis filogenetik komprehensif berdasarkan data sekuens gen *matK* dan *rbcl* secara *concatenation* pada berbagai spesies *Coffea*. Selain itu, minimnya studi analisis kekerabatan yang mengintegrasikan data molekuler dengan fokus peningkatan sifat organoleptik sebagai strategi pemuliaan tanaman.

Penelitian ini memberi kontribusi informasi dasar genetik melalui pendekatan *in silico* menggunakan gen *marker matK* dan *rbcl* secara multilokus pada *Coffea* sp.

untuk merekonstruksi hubungan kekerabatan dengan efisien dan akurat. Aplikasi hasil filogenetik dapat menjadi model penelitian awal untuk mengintegrasikan data molekuler dan profil fenotipik dalam hibridisasi. Penelitian dapat dianalisis lebih lanjut untuk mengidentifikasi gen kandidat sifat sensoris. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan kekerabatan dan jarak genetik beberapa *Coffea* sp. berbasis multilokus gen *matK* dan *rbcL* melalui rekonstruksi filogenetik, serta menganalisis prediksi tingkat keberhasilan persilangan hibrida.

METODE

Lokasi dan Desain Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya. Desain penelitian meliputi eksperimental deskriptif kuantitatif secara komputasi *in silico* melalui analisis molekuler data sekuens DNA. Pendekatan dipilih guna menganalisis data genetik skala besar secara efisien untuk tujuan pemuliaan (Crossa *et al.*, 2017). Variabel respon meliputi hubungan kekerabatan berbasis pohon filogenetik dan jarak genetik gen *matK* dan *rbcL* antarspesies, serta prediksi tingkat keberhasilan hibrida terhadap orientasi rasa dan aroma. Variabel kontrol studi ini meliputi sekuens valid dengan panjang <1000bp dan berasal dari spesimen terverifikasi.

Sumber Data

Jenis data berupa data sekunder sekuens DNA *barcoding* dari gen *matK* dan *rbcL* setiap spesies *Coffea* sp. Data sekuens lokus diperoleh dari *database GenBank* (NCBI) melalui filter *Nucleotide* dengan kata kunci spesifik berdasarkan nama spesies dan gen marker. Data *barcoding* diunduh dalam format *FASTA*.

Pemilihan Spesies

Data sekuens gen *matK* dan *rbcL* diambil dari 11 spesies kopi (Tabel 1), serta 2 spesies *outgroup* famili Rubiaceae. Spesies yang digunakan diseleksi berdasarkan ketersediaan gen *matK* dan *rbcL* pada *database*, kelengkapan sekuens, dan informasi taksonomi yang jelas.

Tabel 1. Data sekuens gen *matK* dan *rbcL* dari NCBI

Spesies	<i>matK</i>		<i>rbcL</i>	
	Akresi	Panjang (bp)	Akresi	Panjang (bp)
<i>Coffea arabica</i>	OL689937.1	830	OL536829.1	553
<i>Coffea benghalensis</i>	MZ668318.1	870	MZ668329.1	594
<i>Coffea canephora</i>	MK855098.1	725	JX127310.1	588
<i>Coffea congensis</i>	JQ653021.1	840	JX310071.1	543
<i>Coffea eugenioides</i>	MZ668317.1	870	ON951168.1	755
<i>Coffea liberica</i>	MK722257.1	846	MZ668325.1	594
<i>Coffea liberica</i> var. <i>dewevrei</i>	KC758278.1	786	KC758290.1	647
<i>Coffea mannii</i>	KC627639.1	536	KC628267.1	706
<i>Coffea myrtifolia</i>	GQ248102.1	792	GQ248573.1	553
<i>Coffea racemosa</i>	JX517631.1	768	JX572420.1	552
<i>Coffea stenophylla</i>	MZ668312.1	870	MZ668323.1	594
<i>Emmenopterys henryi</i>	MN433389.1	752	MN204934.1	689
<i>Ixora javanica</i>	KJ708965.1	797	KJ594756.1	518

Analisis Bioinformatika

Analisis bioinformatika meliputi *alignment* sekuens antarspesies masing-masing gen *matK* dan *rbcL* melalui *software* BioEdit. Hasil *alignment* lokus tunggal dipastikan seluruh posisi nukleotida sejajar dan tidak ada gap atau *mismatch*. Tahap *alignment* bertujuan mengidentifikasi variasi mutasi dan pola konservasi sekuens (Edi,

2016). Penggabungan dua lokus gen digabung menjadi satu sekuens panjang (multilokus) setelah disinkronisasi format dan urutan taksa melalui *software* MEGA12. Selanjutnya, komposisi nukleotida dianalisis melalui BioEdit sebagai indikator pola variasi genetik antarspesies, dan validasi kualitas sekuens.

Analisis Filogenetik

Sekuens multilokus direkonstruksi filogenetik melalui *software* MEGA12 dengan metode *Maximum Likelihood* (ML) berdasarkan model evolusi molekuler yang memperhitungkan variasi laju substitusi nukleotida. Tingkat validitas filogenetik setiap klade diuji melalui analisis *bootstrap* 1000 replikasi. Nilai *bootstrap* >70% dikategorikan dukungan kuat (Sahadeva & Pertiwi, 2024), sedangkan >50-69% sebagai dukungan sedang (Lestari *et al.*, 2018). Parameter ini menjadi dasar statistik menentukan hubungan kekerabatan antarspesies untuk strategi pemuliaan tanaman profil rasa dan aroma.

Analisis Jarak Genetik

Jarak genetik dihitung berdasarkan pemodelan substitusi nukleotida dari sekuens multilokus melalui MEGA12 menggunakan model *Maximum Composite Likelihood*. Hasil perhitungan berupa matriks jarak genetik dengan nilai desimal 0 – 1 yang merepresentasi tingkat divergensi spesies dan pemetaan hubungan kekerabatan antarspesies secara statistik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Terdapat total 13 sekuens DNA gen *matK* dan *rbcL* (Tabel 1) dipilih dan berasal dari spesimen *voucher* yang meningkatkan akurasi filogenetik karena sampel tersimpan di lembaga resmi sehingga meminimalisir kesalahan identifikasi molekuler (Buckner *et al.*, 2021). Analisis karakteristik sekuens (Tabel 2) multilokus sepanjang 963 bp menunjukkan variasi polimorfisme dengan tingkat konservasi 61,4% dan komposisi G+C 40,6%. Secara komparatif, lokus *matK* memiliki situs polimorfik (350) tertinggi, meningkatkan akurasi jarak genetik, sedangkan lokus *rbcL* menunjukkan stabilitas *alignment* pada situs konservasi (95,0%) tertinggi. Penggabungan gen cpDNA secara signifikan meningkatkan data informatif dan resolusi filogenetik, didukung nilai situs *Pi* (50) tinggi.

Tabel 2. Data karakteristik sekuens

Karakteristik sekuens	<i>matK</i>	<i>rbcL</i>	<i>matK+rbcL</i>
Panjang (bp)	521	442	963
<i>Conserved sites</i> (%)	32,8	95,0	61,4
<i>Variable sites</i>	350	22	372
<i>Parsimony-informative</i> (<i>Pi</i>) <i>sites</i>	44	6	50
G+C content (%)	35,4	46,6	40,6

Rata-rata komposisi nukleotida multilokus *Coffea* sp. (Tabel 3) menunjukkan dominasi basa AT (61,40%), sesuai dengan pola genom kloroplas (cpDNA) tumbuhan (Sun *et al.*, 2025). Homogenitas basa AT sebagian besar spesies menunjukkan filogenetik tidak dipengaruhi *compositional bias*. Divergensi filogeni *C. congensis* ditunjukkan komposisi basa GC tertinggi (44,83%), sedangkan kesamaan komposisi basa AT (sekitar 62%) antara *C. eugenioides* dengan *C. arabica* memperkuat analisis kekerabatan secara kuantitatif (Bawin *et al.*, 2020).

Tabel 3. Komposisi nukleotida *Coffea* sp. concatenated matK dan rbcL

No.	Spesies	Komposisi Nukleotida (%)					
		A	T	G	C	A+T	G+C
1.	<i>Coffea arabica</i>	28,63	33,55	18,73	19,09	62,18	37,82
2.	<i>Coffea benghalensis</i>	28,76	33,27	18,44	19,54	62,02	37,98
3.	<i>Coffea canephora</i>	28,48	33,43	18,96	19,12	61,92	38,08
4.	<i>Coffea congensis</i>	26,03	29,14	24,08	20,75	55,17	44,83
5.	<i>Coffea eugenioides</i>	28,68	32,86	19,08	19,38	61,54	38,46
6.	<i>Coffea liberica</i>	28,96	33,06	18,96	19,03	62,01	37,99
7.	<i>Coffea liberica</i> var. <i>dewevrei</i>	32,80	29,03	19,96	18,21	61,83	38,17
8.	<i>Coffea mannii</i>	28,26	31,88	20,37	19,48	60,14	39,86
9.	<i>Coffea myrtifolia</i>	29,07	33,61	18,59	18,74	62,68	37,32
10.	<i>Coffea racemosa</i>	28,79	33,79	18,56	18,86	62,58	37,42
11.	<i>Coffea stenophylla</i>	28,76	33,40	18,17	19,67	62,16	37,84
12.	<i>Emmenopterys henryi</i>	29,63	31,99	19,15	19,22	61,62	38,38
13.	<i>Ixora javanica</i>	28,37	33,99	18,33	19,24	62,36	37,57
	Rata-rata	28,86	32,54	19,34	19,26	61,40	38,59

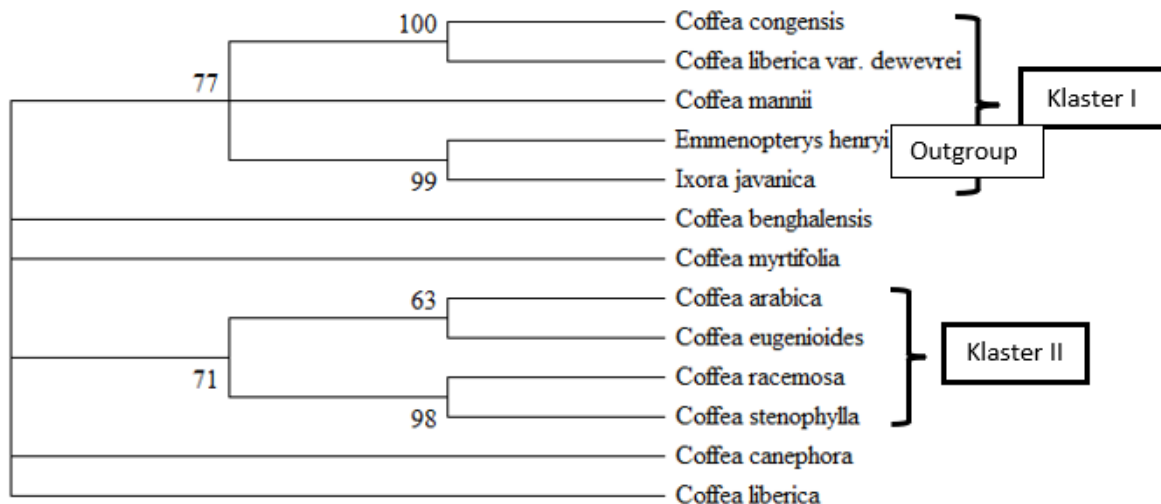
Nilai jarak genetik (Tabel 4) menunjukkan tiga pola kekerabatan utama antarspesies *Coffea* sp. Pola hubungan kekerabatan terdekat antara *C. arabica* dengan *C. eugenioides* (0,00151), dan *C. racemosa* dengan *C. stenophylla* (0,00233) mengindikasikan kompatibilitas genetik tinggi dalam hibridisasi (Glombik *et al.*, 2020). Pola jarak genetik moderat (0,00461-0,00485) antara *C. canephora*, *C. myrtifolia*, dan *C. mannii* berpotensi menghasilkan hibrida optimal dan heterosis serta meminimalisir inkompatibilitas genom (Wei & Zhang, 2018). Sementara, pola divergensi genetik signifikan terdapat pada spesies *Coffea* sp. dengan *C. congensis* dan *C. liberica* var. *dewevrei* (rentang 0,14 – 0,47) berisiko inkompatibel dalam persilangan (Würschum *et al.*, 2023).

Tabel 4. Jarak genetik *Coffea* sp. dengan penanda matK dan rbcL secara concatenated

	<i>Coffea arabica</i>	<i>Coffea benghalensis</i>	<i>Coffea canephora</i>	<i>Coffea congensis</i>	<i>Coffea eugenioides</i>	<i>Coffea liberica</i>	<i>Coffea liberica</i> var. <i>dewevrei</i>	<i>Coffea mannii</i>	<i>Coffea myrtifolia</i>	<i>Coffea racemosa</i>	<i>Coffea stenophylla</i>	<i>Emmenopterys henryi</i>	<i>Ixora javanica</i>
<i>Coffea arabica</i>													
<i>Coffea benghalensis</i>	0,00954												
<i>Coffea canephora</i>	0,00647	0,00882											
<i>Coffea congensis</i>	0,18349	0,18288	0,16445										
<i>Coffea eugenioides</i>	0,00151	0,01156	0,00848	0,17386									
<i>Coffea liberica</i>	0,00301	0,00738	0,00319	0,18707	0,00466								
<i>Coffea liberica</i> var. <i>dewevrei</i>	0,39084	0,37367	0,37009	0,47114	0,37768	0,39337							
<i>Coffea mannii</i>	0,00645	0,00909	0,00805	0,14522	0,00672	0,00453	0,30435						
<i>Coffea myrtifolia</i>	0,00461	0,00854	0,00485	0,18544	0,00642	0,00298	0,39838	0,00831					
<i>Coffea racemosa</i>	0,00697	0,01412	0,00892	0,18740	0,00646	0,00838	0,39769	0,01111	0,00838				
<i>Coffea stenophylla</i>	0,00439	0,01170	0,00641	0,17878	0,00504	0,00590	0,36989	0,00817	0,00620	0,00233			
<i>Emmenopterys henryi</i>	0,03466	0,03818	0,03639	0,19427	0,03771	0,03206	0,38280	0,03462	0,03445	0,04061	0,03817		
<i>Ixora javanica</i>	0,03282	0,03601	0,03069	0,21399	0,03565	0,03113	0,41523	0,03198	0,03261	0,03536	0,03361	0,03797	

Berdasarkan rekonstruksi Gambar 1, filogenetik membentuk dua klaster utama dengan dukungan *bootstrap* (BS) stabil. Klaster 1 (BS 77%) memisahkan *outgroup*

dan sub-klaster *C. congensis* dan *C. liberica* var. *dewevrei* (BS 100%). Klaster 2 (BS 71%) membentuk hubungan kekerabatan erat *C. arabica* dengan *C. eugenioides* (BS 63%) yang menguatkan temuan Salojärvi *et al.* (2024) *C. arabica* sebagai hibrida allotetraploid. Kekerabatan *C. racemosa* dengan *C. stenophylla* (BS 98%) pada klaster 2 dan jarak genetik rendah (0,00233) berpotensi tinggi kompatibel dalam hibridisasi. Sementara, *C. benghalensis*, *C. myrtifolia*, *C. canephora*, dan *C. liberica* membentuk *basal lineages* yang terpisah dari klaster utama.



Gambar 1. Pohon Filogenetik *Coffea* sp. sekuens *concatenated* matK dan rbcL berdasarkan metode *Maximum Likelihood*

Komposisi Nukleotida

Berdasarkan Analisis komposisi nukleotida pada sekuens multilokus (Tabel 3) menunjukkan variasi proporsi basa antarspesies sebagai gambaran awal hubungan kekerabatan dan validasi karakteristik genetik sebelum rekonstruksi filogenetik. *Coffea* sp. dengan komposisi basa serupa cenderung memiliki kekerabatan lebih dekat dibandingkan spesies dengan komposisi berbeda. Hal ini sejalan dengan studi Akter *et al.* (2023) bahwa profil basa memprediksi jarak genetik, kemiripan komposisi basa menunjukkan nilai divergensi lebih kecil dan klasterisasi yang konsisten. Pada program pemuliaan, perbandingan komposisi nukleotida relevan sebagai dasar pertimbangan prediksi induk hibridisasi. Integrasi analisis komposisi basa dan perhitungan jarak genetik berupa matriks berbasis DNA *barcoding* secara kuantitatif menghasilkan divergensi genetik.

Analisis Jarak Genetik

Berdasarkan matriks jarak genetik (Tabel 4), hubungan kekerabatan tinggi dengan komposisi nukleotida serupa meliputi *C. arabica* – *C. eugenioides*, dan *C. racemosa* – *C. stenophylla* mengindikasikan kompatibilitas gen tinggi dan ideal sebagai induk hibridisasi. Tingginya kesamaan genom secara evolusioner berpotensi besar menghasilkan kultivar unggul yang stabil melalui tahap generatif secara fisiologis dan molekuler (Glombik *et al.*, 2020). Spesies *Coffea* sp. dengan nilai jarak genetik moderat berpotensi menghasilkan hibrida heterosis yang optimal melalui rekombinasi gen induk untuk memunculkan fenotipik baru (Engida *et al.*, 2024; Wei & Zhang, 2018). Sedangkan divergensi evolusi yang signifikan berisiko inkompatibilitas genom tinggi dapat menghasilkan hibrida infertil dan kegagalan pertumbuhan (Würschum *et al.*, 2023).

Hubungan Evolusioner Filogenetik

Rekonstruksi filogenetik dengan metode ML menghasilkan topologi stabil dengan klasterisasi berbasis sekuens multilokus. Persentase *bootstrap* yang tinggi pada sebagian besar klade menunjukkan reliabilitas dan akurasi tinggi pada sekuens cpDNA secara *concatenated*. Pengelompokkan *C. arabica* dengan salah satu induk (*C. eugenoides*) pada satu klaster mengonfirmasi studi terhadap hubungan kedua spesies sebagai progenitor dan turunan (Salojärvi *et al.*, 2024; Scalabrin *et al.*, 2024), didukung nilai *bootstrap* moderat (O'Reilly *et al.*, 2018). Selain itu, pemisahan klasterisasi spesies membentuk *basal lineage* dalam pemuliaan mempengaruhi stabilisasi karakter dan risiko kegagalan pada introgesi gen antar-parental. Strategi pemuliaan melalui filogenetik memungkinkan pemilihan induk secara optimal berdasarkan kedekatan evolusioner dan efektif memitigasi risiko inkompatibilitas melalui identifikasi awal hambatan genetik. Analisis filogenetik membantu pemetaan gen secara QTL dalam identifikasi gen kandidat karakter seleksi induk lebih lanjut.

Prediksi Potensi Persilangan dan Implikasi Terhadap Pemuliaan

Berdasarkan analisis filogenetik dan jarak genetik, prediksi persilangan (*cross-breeding*) *Coffea* sp. dikategorikan menjadi tiga tingkat peluang. Peluang kompatibilitas tinggi ditemukan pada *C. arabica* dan *C. eugenoides* (0,00151; BS 63), serta *C. racemosa* dan *C. stenophylla* (0,00233; BS 98). Kekerabatan genetik tinggi pada tingkat kromosom dan regulasi gen meningkatkan stabilitas hibrida serta efisiensi introgesi gen target (Jiang *et al.*, 2017). Induk berkompatibel meminimalisir risiko sterilitas dan hambatan genetik, sehingga transmisi sifat unggul tetap stabil dalam populasi (Hao *et al.*, 2020). Peluang keberhasilan hibridisasi kategori moderat antara lain pasangan spesies *Coffea* sp. dari cabang filogenetik berbeda yang memiliki jarak genetik moderat (sekitar 0,004 – 0,009) ideal menghasilkan vigor hibrida (heterosis), sehingga memungkinkan introgesi alel saling menutup gen resesif merugikan (Liu *et al.*, 2019), serta berpotensi menghasilkan fenotip lebih unggul dibandingkan sifat progenitor (Li *et al.*, 2024). Seleksi induk pada jarak genetik moderat bersifat krusial untuk menyeimbangkan variabilitas genetik dan mitigasi risiko inkompatibel (Geng *et al.*, 2021; Rajan *et al.*, 2023). Prediksi kompatibilitas rendah ditemukan pada *C. congensis* dan *C. liberica* var. *dewevrei* (0,47114), meskipun dalam satu klaster (BS 100), besarnya nilai divergensi akibat akumulasi mutasi mengindikasikan ketidakcocokan hibridisasi secara konvensional dan membutuhkan bioteknologi seperti fusi protoplas (Würschum *et al.*, 2023).

Secara praktis, integrasi sifat induk berkompatibilitas tinggi menghasilkan profil unggul secara fisiologis dan sensoris. *C. arabica* memiliki profil aromatik kompleks dan kemampuan adaptasi suhu rendah (Partelli & Vieira, 2024; Reis *et al.*, 2022). Introgesi gen kedua spesies dapat melengkapi karakter *C. eugenoides* berkadar kafein rendah (0,3%) karena rendahnya ekspresi gen enzim NMT (Huded *et al.*, 2022). Sementara, potensi persilangan *C. racemosa* dan *C. stenophylla* dapat mengintegrasikan sifat toleran terhadap kekeringan melalui efisiensi fotosintesis (Partelli & Vieira, 2024). Kedua spesies memiliki biosintesis kafein rendah (0,4-0,9%) dengan konsentrasi senyawa aromatik aldehid dan ester tinggi sehingga profil rasa berkualitas tinggi setara dengan *C. arabica* (de Sousa *et al.*, 2021).

Pemilihan pasangan progenitor berkerabat dekat, seperti *C. arabica* dan *C. eugenoides* bertujuan untuk mempertahankan introgesi gen fungsional biosintesis terpen (CaTPS10) (Budi *et al.*, 2020). Studi oleh Budi *et al.* (2020) menunjukkan *C. canephora* mengekspresi gen CS dengan kandungan kafein tinggi sebesar 2,2-2,7% sedangkan *C. arabica* sebesar 1,2-1,5%. Profil rasa pahit *C. canephora* dipengaruhi aktivitas jalur metilasi purin yang tinggi. Perbedaan genetik jalur enzimatik

mempengaruhi konsentrasi prekursor aroma (karbohidrat dan asam amino) melalui reaksi *Maillard* dan karamelisasi (Marie *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2024). Dengan demikian, pendekatan filogenetik menjadi instrumen strategis untuk meminimalkan risiko inkompatibel dan menjaga stabilitas karakter unggul fenotip hibrida. Penelitian berkontribusi pada pengembangan marka molekuler sebagai model awal studi evolusi dan divergensi genetik spesies kopi. Hasil penelitian memberikan prediksi potensi persilangan antarspesies untuk pengembangan kultivar unggul melalui pemanfaatan data sekuens multilokus, dan plasma nutfah spesies *wild-type*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, analisis filogenetik multilokus menghasilkan dua klaster utama dan *basal lineage*. Spesies *Coffea* berkerabat dekat dan nilai jarak genetik rendah adalah *C. arabica* dengan *C. eugenoides*, serta *C. racemosa* dengan *C. stenophylla* berbasis hasil rekonstruksi filogenetik dan sekuens cpDNA (matK & rbcL) secara multilokus. Prediksi tingkat keberhasilan hibridisasi ditunjukkan kompatibilitas genetik tinggi pada induk *C. arabica* dengan *C. eugenoides*, dan *C. racemosa* dengan *C. stenophylla*, serta kompatibilitas moderat oleh pasangan spesies *Coffea* sp. berjarak genetik menengah (sekitar 0,004 – 0,009) ideal menghasilkan hibrida heterosis dan tidak mengurangi variabilitas genetik. Penelitian mengintegrasikan filogenetik molekuler dan bioinformatika melalui pemanfaatan sekuens DNA *barcoding* yang akurat dalam memetakan kekerabatan antarspesies. Secara praktis, temuan ini berimplikasi sebagai landasan strategis pemuliaan modern untuk peningkatan kualitas produk pertanian melalui efisiensi waktu dan biaya tanpa koleksi tanaman ekstensif.

REKOMENDASI

Temuan ini memberikan pemahaman dasar dalam program pemuliaan tanaman dengan fokus pengembangan profil rasa dan aroma kopi. Namun, diperlukan penelitian lebih lanjut terkait analisis gen fungsional yang terlibat dalam biosintesis seluler rasa dan aroma seperti, kafein, terpenoid, volatil, dan sebagainya untuk mengoptimalkan strategi pemuliaan dan menghasilkan karakteristik kultivar yang ditargetkan secara efektif dan efisien.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pembimbing dan seluruh pihak yang telah memberi dukungan dan saran, bimbingan, serta motivasi yang telah berkontribusi dalam penyelesaian penelitian yang berjudul “Analisis In Silico Filogenetik *Coffea* sp. Berdasarkan Gen matK dan rbcL: Dasar Pemuliaan Profil Sensorik”.

DAFTAR PUSTAKA

- Akter, K., Meem, S. M., Islam, S., Mamun, M. A. A., Abedin, M. S., Borsha, F. S., Ghosh, A., & Hossain, M. M. (2023). Utilizing COI gene for the identification of thirteen Hesperidae butterflies and determining their genetic relationship. *J. Biodivers. Conserv. Bioresour. Manag.*, 9(2), 21–28.
- Al-Abdulkader, A. M., Al-Namazi, A. A., AlTurki, T. A., Al-Khuraish, M. M., & Al-Dakhil, A. I. (2018). Optimizing coffee cultivation and its impact on economic growth and export earnings of the producing countries: The case of Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(4), 776–782. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.08.016>
- Bawin, Y., Ruttink, T., Staelens, A., Haegeman, A., Stoffelen, P., Mwanga, J. I. M.,

- Roldán-Ruiz, I., Honnay, O., & Janssens, S. (2020). Phylogenomic analysis clarifies the evolutionary origin of *Coffea arabica*. *Journal of Systematics and Evolution*, 59. <https://doi.org/10.1111/jse.12694>
- Buckner, J. C., Sanders, R. C., Faircloth, B. C., & Chakrabarty, P. (2021). The critical importance of vouchers in genomics. *ELife*, 10, 1–7. <https://doi.org/10.7554/eLife.68264>
- Budi, D., Mushollaeni, W., & Rahmawati, A. (2020). Karakterisasi Kopi Bubuk Robusta (*Coffea canephora*) Tulungrejo Terfermentasi Dengan Ragi *Saccharomyces cerevisiae* Characterization Of Robusta Coffee (*Coffea canephora*) From Tulungrejo Fermented With *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Agroindustri*, 10, 129–138. <https://ejournal.unib.ac.id/index.php/agroindustri>
- Cheek, M., Alvarez-Aguirre, M. G., Grall, A., Sonke, B., Howes, M. J. R., & Larridon, I. (2018). *Kupeantha* (Coffeeae, Rubiaceae), a new genus from Cameroon and Equatorial Guinea. *PLoS ONE*, 13(6), 1–22. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199324>
- Crossa, J., Pérez-Rodríguez, P., Cuevas, J., Montesinos-López, O., Jarquín, D., de Los Campos, G., Burgueño, J., González-Camacho, J. M., Pérez-Elizalde, S., Beyene, Y., Dreisigacker, S., Singh, R., Zhang, X., Gowda, M., Roorkiwal, M., Rutkoski, J., & Varshney, R. K. (2017). Genomic Selection in Plant Breeding: Methods, Models, and Perspectives. *Trends in Plant Science*, 22(11), 961–975. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.08.011>
- Davis, A. P., Gargiulo, R., Fay, M. F., Sarmu, D., & Haggard, J. (2020). Lost and Found: *Coffea stenophylla* and *C. affinis*, the Forgotten Coffee Crop Species of West Africa. *Frontiers in Plant Science*, 11(May), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00616>
- de Almeida, D. P., Caixeta, E. T., Moreira, K. F., de Oliveira, A. C. B., de Freitas, K. N. P., Pereira, A. A., Rosado, R. D. S., Zambolim, L., & Cruz, C. D. (2021). Marker-assisted pyramiding of multiple disease resistance genes in coffee genotypes (*Coffea arabica*). *Agronomy*, 11(9), 1–18. <https://doi.org/10.3390/agronomy11091763>
- de Sousa, L. P., Guerreiro Filho, O., & Costa Mondego, J. M. (2021). Differences between the leaf mycobiome of *coffea arabica* and wild coffee species and their modulation by caffeine/chlorogenic acid content. *Microorganisms*, 9(11). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112296>
- Edi. (2016). Using Profile Hidden Markov Models in Multiple Sequence Alignment. *TIMES*, 5(2), 55–27.
- Engida, B. T., Wegary, D., Keno, T., & Mekonnen, T. W. (2024). Combining ability and genetic distance analysis of mid altitude sub-humid agroecology adapted maize inbred lines for high grain yield. *Heliyon*, 10(11), e32267. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e32267>
- Fudjaja, L., Viantika, N. M., Ridwan, M., Saad, A. R. R., & Riwu, M. (2023). Revenue Cost Ratio and Value-Added Household Industry Robusta Powder Coffee Company. *Agriekonomika*, 12(1), 103–116. <https://doi.org/10.21107/agriekonomika.v12i1.16927>
- Geng, X., Qu, Y., Jia, Y., He, S., Pan, Z., Wang, L., & Du, X. (2021). Assessment of heterosis based on parental genetic distance estimated with SSR and SNP markers in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *BMC Genomics*, 22(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12864-021-07431-6>
- George, K., Johnson, K., & Fred, W. (2023). Phylogenetic Analysis of *Acacia nilotica* and *Coffea arabica* Using Protein Sequences from the Chloroplast RBCL Gene.

- Asian Journal of Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*, 15(1), 1–9. <https://doi.org/10.9734/ajbgmb/2023/v15i1323>
- Glombik, M., Bačovský, V., Hobza, R., & Kopecký, D. (2020). Competition of Parental Genomes in Plant Hybrids. *Frontiers in Plant Science*, 11(February). <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00200>
- Goswami, M., Attri, K., & Goswami, I. (2022). Applications of Molecular Markers in Fruit Crops: A Review. *International Journal of Economic Plants*, 9(2), 121–126. <https://doi.org/10.23910/2/2022.0459>
- Hao, M., Zhang, L., Ning, S., Huang, L., Yuan, Z., Wu, B., Yan, Z., Dai, S., Jiang, B., Zheng, Y., & Liu, D. (2020). The Resurgence of Introgression Breeding, as Exemplified in Wheat Improvement. *Frontiers in Plant Science*, 11(March), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00252>
- Hartati, D. S., Oktaviarni, F., & Windarto, W. (2023). Rethinking the future of Indonesian coffee: Legal, social, and political perspectives. *Jambe Law Journal*, 6(1), 69–84.
- Huded, A. K. C., Jingade, P., Mishra, M. K., Ercisli, S., Ilhan, G., Marc, R. A., & Vodnar, D. (2022). Comparative genomic analysis and phylogeny of NAC25 gene from cultivated and wild Coffea species. *Frontiers in Plant Science*, 13(September), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1009733>
- Ibnu, M. (2022). A systemic approach for a sustainable coffee production in Indonesia. *SOCA: Jurnal Sosial, Ekonomi Pertanian*, 16(1), 15.
- Jiang, H. J., Underwood, T. C., Bell, J. G., Ranjan, S., Sassellov, D., & Whitesides, G. M. (2017). Mimicking Lighting-Induced Electrochemistry on the Early Earth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120, 2017. <https://doi.org/10.1073/pnas>
- Khemira, H., Mahdhi, M., Afzal, M., Oteef, M. D. Y., Tounekti, T., AL-Faifi, Z., & Alsolami, W. (2023). Assessment of genetic diversity and phylogenetic relationship of local coffee populations in southwestern Saudi Arabia using DNA barcoding. *PeerJ*, 11. <https://doi.org/10.7717/peerj.16486>
- Kumar, R., Das, S. P., Choudhury, B. U., Kumar, A., Prakash, N. R., Verma, R., Chakraborti, M., Devi, A. G., Bhattacharjee, B., Das, R., Das, B., Devi, H. L., Das, B., Rawat, S., & Mishra, V. K. (2024). Advances in genomic tools for plant breeding: harnessing DNA molecular markers, genomic selection, and genome editing. *Biological Research*, 57(1), 1–23. <https://doi.org/10.1186/s40659-024-00562-6>
- Lestari, D. A., Azrianingsih, R., & Hendrian, H. (2018). Filogenetik Jenis-jenis Annonaceae dari Jawa Timur Koleksi Kebun Raya Purwodadi Berdasarkan Coding dan Non-coding sekuen DNA. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 3(1), 1. <https://doi.org/10.22146/jtbb.28308>
- Li, Z., Zhao, Y., & Luo, K. (2024). Molecular Mechanisms of Heterosis and Its Applications in Tree Breeding: Progress and Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(22), 1–12. <https://doi.org/10.3390/ijms252212344>
- Liu, J., Li, M., Zhang, Q., Wei, X., & Huang, X. (2019). Exploring the molecular basis of heterosis for plant breeding. *Journal of Integrative Plant Biology*, 62(3), 287–298. <https://doi.org/10.1111/jipb.12804>
- Marie, L., Breitler, J. C., Bamogo, P. K. A., Bordeaux, M., Lacombe, S., Rios, M., Lebrun, M., Boulanger, R., Lefort, E., Nakamura, S., Motoyoshi, Y., Mieulet, D., Campa, C., Legendre, L., & Bertrand, B. (2024). Combined sensory, volatilome and transcriptome analyses identify a limonene terpene synthase as a major contributor to the characteristic aroma of a Coffea arabica L. specialty coffee.

- BMC Plant Biology*, 24(1), 1–19. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-04890-3>
- Merga Sakata, W., Gebreselassie Abteu, W., & Garedew, W. (2022). Organoleptic Quality Attributes and Their Association with Morphological Traits in Arabica Coffee (*Coffea arabica* L.) Genotypes. *Journal of Food Quality*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/2906424>
- Merot-L'anthoene, V., Tournebize, R., Darracq, O., Rattina, V., Lepelley, M., Bellanger, L., Tranchant-Dubreuil, C., Coulée, M., Pégard, M., Metairon, S., Fournier, C., Stoffelen, P., Janssens, S. B., Kiwuka, C., Musoli, P., Sumirat, U., Legnaté, H., Kambale, J. L., Ferreira da Costa Neto, J., ... Poncet, V. (2019). Development and evaluation of a genome-wide Coffee 8.5K SNP array and its application for high-density genetic mapping and for investigating the origin of *Coffea arabica* L. *Plant Biotechnology Journal*, 17(7), 1418–1430. <https://doi.org/10.1111/pbi.13066>
- Mishra, M. K., Jingade, P., & Huded, A. K. C. (2022). DNA barcoding analysis and phylogenetic relationships of Indian wild coffee species. *Turkish Journal of Botany*, 46(2), 109–122. <https://doi.org/10.55730/1300-008x.2675>
- O'Reilly, J. E., Puttick, M. N., Pisani, D., & Donoghue, P. C. J. (2018). Probabilistic methods surpass parsimony when assessing clade support in phylogenetic analyses of discrete morphological data. *Palaeontology*, 61(1), 105–118. <https://doi.org/10.1111/pala.12330>
- Partelli, F. L., & Vieira, H. D. (2024). Coffee Breeding and Stress Biology. *Plants*, 13(14), 10–13. <https://doi.org/10.3390/plants13141912>
- Paterek, R., Geoghegan, S., Creaven, B. S., & Power, A. (2024). Coffee: Lighting Its Complex Ground Truth and Percolating Its Molecular Brew. *Beverages*, 10(4), 1–17. <https://doi.org/10.3390/beverages10040119>
- Pratiwi, A., Kinasih, A., Meidianing, M. I., Kurniawan, F. Y., & Semiarti, E. (2023). In Silico Approach for DNA Barcoding using Phylogenetic Analysis of *Coelogyne* spp. based on the matK, rpoC1, rbcL and nrDNA Markers. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 8(3), 1–14. <https://doi.org/10.22146/jtbb.73130>
- Priyono, & Putranto, R. A. (2015). Genetic mapping studies in *Coffea* sp using molecular marker methods. *Menara Perkebunan*, 83(2), 95–104.
- Rajan, N., Debnath, S., Perveen, K., Khan, F., Pandey, B., Srivastava, A., Khanam, M. N., Subramaniyan, V., Kumarasamy, V., Paul, P. J., & Lal, M. (2023). Optimizing hybrid vigor: a comprehensive analysis of genetic distance and heterosis in eggplant landraces. *Frontiers in Plant Science*, 14(August), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1238870>
- Reis, A. M., Mendes, A. N. G., Abrahão, J. C. de R., Santos, M. de O., & Silva, V. A. (2022). Early selection of drought-tolerant *Coffea arabica* genotypes at the seedling stage using functional divergence. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 52. <https://doi.org/10.1590/1983-40632022v5272412>
- Sahadeva, M. L., & Pertiwi, N. P. D. (2024). 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>
- Salojärvi, J., Rambani, A., Yu, Z., Guyot, R., Strickler, S., Lepelley, M., Wang, C., Rajaraman, S., Rastas, P., Zheng, C., Muñoz, D. S., Meidanis, J., Paschoal, A. R., Bawin, Y., Krabbenhoft, T. J., Wang, Z. Q., Fleck, S. J., Aussel, R., Bellanger, L., ... Descombes, P. (2024). The genome and population genomics of allopolyploid *Coffea arabica* reveal the diversification history of modern coffee cultivars. *Nature Genetics*, 56(4), 721–731. <https://doi.org/10.1038/s41588-024->

01695-w

- Scalabrin, S., Magris, G., Liva, M., Vitulo, N., Vidotto, M., Scaglione, D., Del Terra, L., Ruosi, M. R., Navarini, L., Pellegrino, G., Berny Mier y Teran, J. C., Toniutti, L., Suggi Liverani, F., Cerutti, M., Di Gaspero, G., & Morgante, M. (2024). A chromosome-scale assembly reveals chromosomal aberrations and exchanges generating genetic diversity in *Coffea arabica* germplasm. *Nature Communications*, 15(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-44449-8>
- Sun, L., Liu, J., Liu, F., Wang, W., Chang, Y., & Yao, D. (2025). Complete Chloroplast Genome Sequences of Three Canna Species: Genome Characterization, Comparative Analyses, and Phylogenetic Relationships Within Zingiberales. *Current Issues in Molecular Biology*, 47(4), 1–16. <https://doi.org/10.3390/cimb47040222>
- Todhanakasem, T., Van Tai, N., Pornpukdeewattana, S., Charoenrat, T., Young, B. M., & Wattanachaisaereekul, S. (2024). The Relationship between Microbial Communities in Coffee Fermentation and Aroma with Metabolite Attributes of Finished Products. *Foods*, 13(15). <https://doi.org/10.3390/foods13152332>
- Tran, D. M. (2022). Taxonomic and functional profiles of *Coffea canephora* endophytic microbiome in the Central Highlands region, Vietnam, revealed by analysis of 16S rRNA metagenomics sequence data. *Data in Brief*, 43, 108372. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2022.108372>
- Tran, H. T. M., Ramaraj, T., Furtado, A., Lee, L. S., & Henry, R. J. (2018). Use of a draft genome of coffee (*Coffea arabica*) to identify SNPs associated with caffeine content. *Plant Biotechnology Journal*, 16(10), 1756–1766. <https://doi.org/10.1111/pbi.12912>
- Wang, Y., Wang, X., Quan, C., Al-Romaima, A., Hu, G., Peng, X., & Qiu, M. (2024). Optimizing commercial Arabica coffee quality by integrating flavor precursors with anaerobic germination strategy. *Food Chemistry: X*, 23, 101684. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101684>
- Wei, X., & Zhang, J. (2018). The optimal mating distance resulting from heterosis and genetic incompatibility. *Science Advances*, 4(11), 1–7. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aau5518>
- Wright, D. R., Bekessy, S. A., Lentini, P. E., Garrard, G. E., Gordon, A., Rodewald, A. D., Bennett, R. E., & Selinske, M. J. (2024). Sustainable coffee: A review of the diverse initiatives and governance dimensions of global coffee supply chains. *Ambio*, 53(7), 984–1001. <https://doi.org/10.1007/s13280-024-02003-w>
- Würschum, T., Zhu, X., Zhao, Y., Jiang, Y., Reif, J. C., & Maurer, H. P. (2023). Maximization through optimization? On the relationship between hybrid performance and parental genetic distance. *Theoretical and Applied Genetics*, 136(9), 1–13. <https://doi.org/10.1007/s00122-023-04436-5>