



MOLECULAR AND MORPHOLOGICAL IDENTIFICATION OF *Psychotria* sp. BOGOR BOTANICAL GARDENS COLLECTION

Alifah Nur Anzani¹⁾, Nia Yuliani^{1)*} dan Irfan Martiansyah²⁾

¹⁾ Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Nusa Bangsa
Jl. K.H. Sholeh Iskandar Km. 4 Cimanggu Tanah Sareal, Bogor 16166, Jawa Barat, Indonesia;

²⁾ Pusat Riset Konservasi Tumbuhan, Kebun Raya dan Kehutanan – BRIN
Jl. Ir. H. Juanda No.13 Bogor 16122, Jawa Barat, Indonesia

ARTICLE INFO

Article history:

Received 30 Sep 2025,

Revised 21 Dec 2025,

Accepted 31 Dec 2025

Available online 09 Feb 2026

Keywords:

- ✓ DNA barcoding;
- ✓ herbarium;
- ✓ *Psychotria*;
- ✓ *rbcl*;
- ✓ phylogenetic

*corresponding author:

niayuliani0412@gmail.com

Phone: +62 8121115731;

[https://doi.org/10.31938/jsn.v](https://doi.org/10.31938/jsn.v15i4.907)

[15i4.907](https://doi.org/10.31938/jsn.v15i4.907)

ABSTRACT

Psychotria is the largest genus in the Rubiaceae family and is considered taxonomically complex due to the limited availability of diagnostic morphological characters. This study aimed to identify a *Psychotria* sp. specimen from the Bogor Botanical Gardens using molecular and morphological approaches. The methods included DNA barcoding using the chloroplast *rbcl* marker, computational analysis with MEGA X, and morphological comparison with *Psychotria* herbarium specimens at the Herbarium Bogoriense. BLAST analysis revealed that the *Psychotria* sp. sample is genetically closely related to *P. marginata*, *P. racemosa*, and *P. viridis*, with each exhibiting 100% identity. Phylogenetic reconstruction placed the specimen within the same clade as *P. marginata*, supported by a bootstrap value of 54%. Morphological observations revealed similarities in fruit and flower characteristics with those of *P. viridis* and *P. racemosa*.

ABSTRAK

Identifikasi Molekuler dan Morfologi *Psychotria* sp. Koleksi Kebun Raya Bogor

Psychotria merupakan genus terbesar dalam famili Rubiaceae dan dikenal sebagai kelompok takson yang kompleks karena keterbatasan karakter morfologi yang tersedia. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi *Psychotria* sp. dari koleksi Kebun Raya Bogor menggunakan pendekatan molekuler dan morfologi. Metode yang digunakan meliputi analisis DNA barcoding menggunakan penanda kloroplas *rbcl*, analisis komputasional dengan MEGA X, serta perbandingan karakter morfologi dengan spesimen herbarium *Psychotria* di Herbarium Bogoriense. Hasil analisis BLAST menunjukkan bahwa *Psychotria* sp memiliki kedekatan genetik tinggi dengan *P. marginata*, *P. racemosa*, dan *P. viridis*, masing-masing dengan persen identitas 100%. Hasil rekonstruksi pohon filogenetik menempatkan *Psychotria* spp berada satu klade dengan *P. marginata* dengan nilai *bootstrap* 54%. Hasil pengamatan morfologi didapatkan *Psychotria* sp memiliki karakter buah dan bunga mirip *P. viridis* dan *P. racemosa*.

Kata kunci : DNA barcoding; herbarium; *Psychotria*; *rbcl*; filogenetik

PENDAHULUAN

Psychotria merupakan genus dengan jumlah spesies terbanyak di antara tumbuhan berbunga (Angiospermae) dan termasuk dalam famili Rubiaceae (subfamili Rubioideae, suku Psychotrieae) (Calixto et al., 2016; Taylor, 2020). Menurut *Plants of The World Online* (POWO), genus ini bersifat pantropis dengan sekitar 3.400 nama takson, menjadikannya genus terbesar dalam keluarga Rubiaceae dan ketiga terbesar di antara seluruh Angiospermae (Razafimandimbison et al., 2014). Anggota *Psychotria* memiliki habitus bervariasi, meliputi

herba, semak, pohon kecil, dan liana, yang tersebar di hutan tropis dan subtropis (Taylor Charlotte M., 2016). Ciri-ciri morfologinya antara lain tanaman perenial berkayu dengan jaringan mengandung rafida, daun gugur dengan stipula *bilobus*, perbungaan terminal berbentuk *cymosa*, bunga *distilus* biasanya berjumlah kelipatan lima, korola dengan *aestivasi valvat*, ovarium *bilokular* dengan satu *ovula basal* di setiap lokulus, buah bertipe *drupa* dengan daging berwarna merah saat matang, biasanya dengan dua *pyrene* (lapisan endocarp yang keras), biji berpigmen merah yang larut dalam alkohol, serta



endosperma *ruminata* (Biag & Grecebio, 2020). Secara taksonomi, *Psychotria* termasuk genus yang kompleks karena keterbatasan karakter morfologi, sehingga identifikasi spesies sulit dilakukan. Beberapa genus besar lain seperti *Galium*, *Ixora*, *Pavetta*, *Ophiorrhiza*, dan *Palicourea* juga memerlukan penelitian lanjutan (Bremer, 2009). Karakter morfologi cenderung dipengaruhi oleh faktor lingkungan sehingga tidak selalu stabil (Azizah et al., 2019). Oleh karena itu, pendekatan molekuler menjadi penting untuk memperoleh informasi taksonomi yang lebih akurat.

Pendekatan molekuler dapat dilakukan menggunakan penanda *Deoxyribonucleic Acid* (DNA), salah satunya teknik DNA *barcoding*, yang memanfaatkan sekuens gen spesifik dan terstandarisasi untuk mengidentifikasi organisme (Hollingsworth et al., 2011; Hariri et al., 2021). Sumber data genetik untuk DNA *barcoding* pada tumbuhan dapat berasal dari DNA inti (nDNA), kloroplas (cpDNA), atau mitokondria (mtDNA), dengan cpDNA sering dipilih karena sifatnya yang relatif stabil dan adaptif (Chetia, et al., 2016; Sagala & Sogandi, 2022). Salah satu gen pada cpDNA yang umum digunakan adalah gen *rbcL*, yang mengkode enzim Rubisco. Gen ini bersifat universal, sekuens yang baik, laju mutasi rendah, serta mudah diisolasi dan dianalisis (Moura et al., 2019; Clegg Michael T., 1993).

Kebun Raya Bogor memiliki sekitar 14 spesimen *Psychotria* yang berasal dari Pulau Jawa, Sumatra, Kalimantan, hingga Papua. Enam spesimen telah teridentifikasi hingga tingkat spesies, antara lain *Psychotria angulata* Korth., *Psychotria angulata* forma *brevistylis*, *Psychotria cathagenensis* Jacq., *Psychotria rubra* Müll.Arg., *Psychotria viridiflora* Reinw. ex Blume, dan *Psychotria viridiflora* var. *bancana* (Ariati & Widiatmoko, 2019). Namun, salah satu spesimen dari Kalimantan Barat masih berstatus *Psychotria* sp. dan belum teridentifikasi hingga tingkat spesies. Penelitian bertujuan untuk mengidentifikasi *Psychotria* sp yang belum teridentifikasi di Kebun Raya Bogor dengan menggunakan pendekatan DNA *barcoding* dan analisis morfologi untuk mengungkap kedekatannya dengan spesies lain dalam genus ini.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah spesimen *Psychotria* koleksi Kebun Raya Bogor

dan spesimen herbarium yang berasal dari referensi di *Global Biodiversity Information Facility* (GBIF), pasir silika, Kit GeneJET K0791, bufer Tris-asetate EDTA (TAE) ThermoScientific B49 50x, Primers *rbcL* aF (*forward*) dan *rbcL* aR (*reverse*), MyTaq HS Red Mix MTHRX-8182084, *Water Double-distilled* (ddH₂O), Biotium *GelRed* 41003, *DNA Ladder* 1 kb SM0311 ThermoScientific, agarosa ThermoScientific 100 gr R049, etanol 96% (pa).

Alat-alat yang digunakan adalah neraca analitik *precisa-XT* 220A, pipet mikro *PhysioCare*, vortex (*VWR-Digital Vortex Mixer*), *heatblock* (*VWR-Digital Heatblock*), sentrifuse (*spectrafuge* 24D–Labnet), PCR –*Thermal Cycler* TAKARA, elektroforensis *Nyxtechnik*, *microwave-GRILL*, *Gel Doc* (BIO-RAD EZ imager), *spindown* (EMS-*myfuge*), mortar dan pestle, *Gel tray* (cetakan elektroforensis), *filter column* dan tabung mikro *AxygenMCTI50C*, tip *ThermoScientific*, dan beberapa peralatan kaca.

Metode

Pengambilan Sampel

Sampel diambil langsung dari cabang daun *Psychotria* sp. yang sedang berbunga di Kebun Raya Bogor dengan No.Vak V.E.168, yang berasal dari koleksi Kalimantan Barat. Sampel dikumpulkan dan dimasukkan ke dalam plastik klip.

Ekstraksi DNA (Kit GeneJET)

Ekstraksi sampel mengikuti prosedur kerja dari *Kit GeneJET* K079. Sampel daun digerus menggunakan pasir silika, dimasukkan ke dalam tabung mikro dan ditambahkan bufer lisis A, bufer lisis B, serta RNase. Sampel dicampur menggunakan alat vortex dan diinkubasi pada suhu 65 °C selama 20 menit, lalu dilakukan presipitasi, sentrifugasi, dan supernatan dicampurkan dengan *Binding Solution*, serta etanol sebelum dimasukkan ke *spin column*. Proses pencucian dilakukan menggunakan buffer pencuci I dan II, DNA dielusi dengan buffer elusi. Hasil akhir berupa DNA isolat digunakan untuk tahap analisis selanjutnya.

Amplifikasi DNA

Amplifikasi DNA dilakukan menggunakan primer *rbcL* aF (*forward*) dan *rbcL* aR (*reverse*). Reaksi PCR berjumlah total 50 µL yang terdiri atas 5 µL DNA templat, 2 µL primer forward, 2 µL primer reverse, 16 µL ddH₂O, dan 25 µL MyTaq. Kondisi PCR meliputi denaturasi awal

pada 94 °C selama 1 menit 30 detik, diikuti 35 siklus denaturasi pada 94 °C selama 15 detik, *annealing* pada 52 °C selama 15 detik, dan ekstensi pada 72 °C selama 20 detik, dengan ekstensi akhir pada 72 °C selama 4 menit.

Elektroforesis dan Visualisasi DNA (Gel Electrophoresis dan DNA Visualization)

Gel agarosa 1% dibuat dengan melarutkan 0,6 g agarosa dalam 60 mL larutan *Tris-acetate-EDTA* (TAE) di dalam erlenmeyer yang ditutup aluminium foil. Larutan dipanaskan dalam microwave selama 1 menit, dan didinginkan selama 1 menit pada suhu ruang. Selanjutnya, *GelRed* sebanyak 1 µL ditambahkan dan larutan dituangkan ke dalam cetakan. Setelah mengeras, gel ditempatkan pada alat elektroforesis yang telah diisi larutan buffer TAE. Produk PCR dimasukkan ke dalam sumuran gel, sedangkan DNA *ladder* dimasukkan pada sumuran kontrol. Elektroforesis dilakukan selama 30 menit dan pemisahan fragmen DNA divisualisasi di bawah sinar UV menggunakan *Gel Doc* (BIO-RAD EZ imager).

Sekuensing (Sequencing)

Sekuensing DNA dilakukan dengan mengirimkan produk PCR *Psychotria* sp. melalui jasa PT. Genetika Science Indonesia dan di sekuensing di *First Base* Singapura. Sekuensing dilakukan menggunakan metode Sanger.

Pengamatan Morfologi

Data diperoleh dari seluruh label spesimen herbarium kering *Psychotria* yang terdapat di Laboratorium Treub. Karakter morfologi yang diamati pada setiap spesimen meliputi: panjang helai daun, lebar daun, bentuk pangkal daun, bentuk ujung daun, permukaan adaksial, permukaan abaksial, warna daun muda, warna daun dewasa, bentuk daun, habitus, permukaan batang, warna batang, tipe perbungaan, warna mahkota bunga, warna kelopak bunga, tinggi tumbuhan, tepi daun, tipe buah, dan keberadaan stipula.

Analisis Data

Analisis hasil sekuensing dilakukan menggunakan perangkat lunak *Molecular Evolutionary Genetics Analysis X (MEGA X)* yang digunakan untuk analisis genetika evolusioner dan filogenetik Program *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) pada basis data *National Center for Biotechnology Information* (NCBI)

digunakan untuk membandingkan sekuens DNA sampel dengan data yang tersedia di GenBank. Jarak genetik dihitung menggunakan metode Kumar et al., (2018) dan pohon filogenetik direkonstruksi dengan menggunakan perangkat lunak MEGA X.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik molekuler pada tumbuhan *Psychotria* sp. dapat diamati dari hasil sekuensing dan DNA *barcoding* menggunakan gen *rbcL*. Hasil tahapan dari karakteristik molekuler yang telah dilakukan terhadap *Psychotria* sp. meliputi hasil amplifikasi dan visualisasi DNA, analisis hasil sekuensing, analisis filogeni, analisis komposisi nukleotida dan koefisien similaritas (jarak genetik).

Isolasi, Amplifikasi dan Visualisasi DNA *Psychotria*

DNA genom *Psychotria* sp. berhasil diisolasi menggunakan *GeneJet Genomic DNA Purification Kit* (Thermo Scientific, USA). Visualisasi menggunakan *UV-transilluminator* GelDOC menunjukkan pita DNA dengan ukuran fragmen sekitar 500 pasangan basa (pb) (Figure 1). Pita DNA yang teramplifikasi terlihat jelas tanpa adanya *smear*, yang menunjukkan kualitas DNA yang baik. Hal ini sesuai dengan standar kualitas yang dijelaskan oleh Ardiana (2009) bahwa DNA berkualitas ditandai dengan pita yang tebal, dan tidak terdegradasi pada hasil elektroforesis.

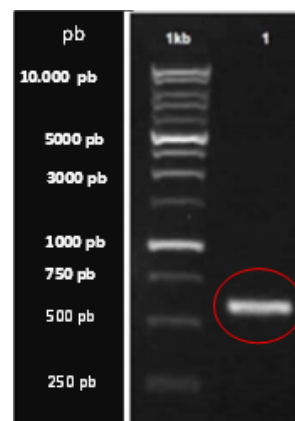


Figure 1. Visualization of DNA Extraction from *Psychotria* sp

Amplifikasi DNA dilakukan menggunakan primer *rbcL-aF* (*forward*) dan *rbcL-aR* (*reverse*) untuk mengevaluasi keberhasilan isolasi DNA.

Kedua primer ini menargetkan gen *rbcL* pada genom kloroplas (cpDNA). Gen *rbcL* dipilih karena memiliki tingkat keberhasilan amplifikasi PCR yang tinggi dibandingkan penanda cpDNA lainnya (Moura, et al., 2019), sehingga menjadi penanda yang sesuai untuk analisis molekuler *Psychotria* sp.

Hasil sekuensing *Psychotria*

Hasil sekuensing sampel *Psychotria* sp. didapatkan berupa kromatogram yang terdiri dari sekuen *forward* dan sekuen *reverse*. Hasil sekuensing fragmen DNA yang menunjukkan panjang 571 pb yang teramplifikasi primer *forward*, dan 573 pb yang teramplifikasi primer *reverse*. Hasil kromatogram DNA *Psychotria* sp. terlihat pada Figure 2.

Kromatogram hasil sekuensing DNA *Psychotria* sp. menunjukkan kualitas yang sangat

baik dengan puncak basa yang teridentifikasi dengan jelas. Puncak untuk Adenin (A) berwarna hijau, Timin (T) berwarna merah, Guanin (G) berwarna hitam dan Sitosin (C) berwarna biru. Meskipun terdapat data saling tumpang tindih pada bagian awal dan akhir sekuens, data ini tetap dapat dianalisis lebih lanjut dengan menggunakan perangkat lunak MEGA X, sehingga diperoleh sekuens DNA *Psychotria* sp. yang utuh dan lengkap (Figure 3).

Analisis Homologi

Berdasarkan hasil data BLAST sekuen gen *rbcL* pada *Psychotria* sp didapatkan 22 spesies yang diduga mirip dengan *Psychotria* sp. dan sekuen *Chiococca alba* yang dijadikan *outgroup* pada penelitian ini. Hasil BLAST *Psychotria* sp. yang terdata pada basis data gen NCBI dapat dilihat pada Table 1.



Figure 2. DNA Chromatogram of *Psychotria* sp (a) Forward *Psychotria* sp.; (b) Reverse *Psychotria* sp.

```
>Contig_Psychotria
GACTAAAGCTTTTGTGGATTCAAAGCTGGTGTAAAGAGTACAAATT
GAATTATTATACTCCTGAATACCAAACCAAAGATACTGATATCTTGGC
AGCATTCCGAGTAACTCCCCAACCTGGAGTTCGCGCGGAAGAAGCTGG
GGCCGCGGTAGCTGCCGAGTCTTCTACTGGTACATGGACAACCTGTATG
GACGGATGGGCTTACCAGTCTTGATCGTTACAAAGGGCGATGCTACCA
CATCGAGCCAGTTGTCGGAGAAGAAAATCAATATATTGCTTATGTAGC
TTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACT
TCTATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCCCTGCGCGCTCTGCGTC
TGGAAGATTTGCGAATTCACATTTTCGTATGTTAAAACCTTCCAAGTCC
GCCTCATGGCATTCAAGTCGAGAGAGATAAAATTGAACAAGTATGGTTCG
TCCCCTGTTGGGATGTAATAAACCTAAATTAGGTTTATCCGCTAAA
AACTACGGTAGAGCAGTTTATGAATGCCTTCGCG
```

Figure 3. Sequence of *Psychotria* sp.

Table 1. BLAST Analysis of *Psychotria* sp. Based on NCBI Database Records

No	Spesies	Query coverage	E- value	% Ident	Accession Number
1	<i>Psychotria viridis</i>	97%	0.0	100%	LC651165.1
2	<i>Psychotria racemosa</i>	97%	0.0	100%	JQ593827.1
3	<i>Psychotria marginata</i>	97%	0.0	100%	GQ981857.1
4	<i>Psychotria horizontalis</i>	97%	0.0	99.82%	JQ594616.1
5	<i>Psychotria horizontalis</i>	97%	0.0	99.82%	JQ593775.1
6	<i>Psychotria rubra</i>	100%	0.0	98.94%	JN407374.2
7	<i>Psychotria graciliflora</i>	97%	0.0	99.64%	JQ594676.1
8	<i>Psychotria panamensis</i>	97%	0.0	99.64%	JQ593806.1
9	<i>Psychotria capensis</i>	97%	0.0	99.64%	KF147506.1
10	<i>Psychotria asiatica</i>	97%	0.0	99.46%	LC693772.1
11	<i>Psychotria asiatica</i>	97%	0.0	99.46%	LC692560.1
12	<i>Psychotria panamensis</i>	97%	0.0	99.46%	JQ593809.1
13	<i>Psychotria rubra</i>	97%	0.0	99.46%	JN407371.1
14	<i>Psychotria mapourioides</i>	99%	0.0	98.76%	MG718581.1
15	<i>Psychotria mapourioides</i>	99%	0.0	98.76%	MG718391.1
16	<i>Psychotria graciliflora</i>	96%	0.0	99.64%	GQ981853.1
17	<i>Psychotria capensis</i>	97%	0.0	99.45%	JX572896.1
18	<i>Psychotria nervosa</i>	97%	0.0	99.45%	JQ593797.1
19	<i>Psychotria micrococci</i>	97%	0.0	99.27%	MH826913.1
20	<i>Psychotria micrococci</i>	97%	0.0	99.27%	MH826866.1
21	<i>Psychotria murmurensis</i>	97%	0.0	99.27%	MH826781.1
22	<i>Psychotria murmurensis</i>	97%	0.0	99.27%	MH826722.1
23	<i>Chiococca alba</i>	95%	0.0	99.63%	JQ593632.1

Hasil analisis BLAST menunjukkan bahwa pencocokan sekuens gen *rbcL* dari sampel *Psychotria* sp. memiliki nilai *query coverage* yang tinggi, yaitu 95–100%. Nilai *query coverage* menggambarkan persentase sekuens sampel yang sejajar dengan sekuens pada basis data BLAST (Fadel et al., 2014). Menurut Jannah et al. (2021), tingkat homologi 94–99% dengan sekuens GenBank menunjukkan kesesuaian sekuens yang tinggi. Sedangkan, Daniels et al. (2013) menyatakan bahwa *query coverage* $\geq 40\%$ sudah dapat dinyatakan identik. Berdasarkan hasil tersebut, sekuens sampel pada penelitian ini dapat dikategorikan identik dengan spesies dalam basis data NCBI.

Hasil analisis BLAST menunjukkan bahwa sekuens *Psychotria* sp. memiliki persentase identitas (% identity) 100% dengan *P. viridis* (LC651165.1), *P. racemosa* (JQ593827.1), dan *P. marginata* (GQ981857.1), dan ketiganya memiliki *query average* 97%, sehingga sekuens sampel *Psychotria* hampir seluruhnya mirip dengan tiga spesies tersebut. Persentase identitas sampel secara keseluruhan berkisar 98,76–100%, yang mengindikasikan tingkat kecocokan yang sangat tinggi dengan sekuens pada basis data.

Persentase identitas menggambarkan tingkat kesamaan nukleotida antara sampel dan sekuens pembanding. Sementara itu, *query coverage* menunjukkan kesamaan panjang nukleotida antara sampel dan sekuens pembanding (Newell et al., 2013). *Psychotria rubra* (Acc.JN407374.2) menunjukkan *query coverage* 100% dengan persentase identitas 98,94%, hal ini menandakan bahwa seluruh sekuens sampel tersusun sejajar, tetapi persentase identitas sedikit lebih rendah dibandingkan yang lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa sampel masih berada dalam genus *Psychotria*. Namun, kemungkinan tidak terlalu dekat dengan *P. rubra* dibandingkan tiga spesies lainnya yang memiliki persentase identitas 100%. Nilai *E-value* yang diperoleh untuk semua sampel adalah 0,0 yang menunjukkan tingkat signifikansi pencocokan yang sangat tinggi, dan mengindikasikan homologi kuat antara sekuens sampel dan sekuens pada basis data NCBI (Hall., 2018).

Analisis komposisi basa nukleotida menunjukkan bahwa *Psychotria* sp. memiliki proporsi nukleotida Adenosin Timin (AT) sebesar 56,7% dan Guanin Cytosin (GC) sebesar 43,3%, yang sama dengan komposisi *P. viridis* dan *P.*

racemosa. Analisis komposisi nukleotida pada 24 sekuens gen *rbcL*, yang terdiri atas 22 jenis *Psychotria*, *Chiococca alba*, dan *Psychotria* sp., menunjukkan rata-rata proporsi basa sebagai berikut: T: 29,2%; A: 27,5%, C: 20,7%, dan G: 22,7%. Data lengkap komposisi basa nukleotida dari seluruh sampel ditampilkan pada Table 2.

Hasil penyejajaran (*alignmment*) sekuens menunjukkan bahwa sekuens *Psychotria* memiliki kesamaan susunan nukleotida yang tinggi dengan spesies-spesies hasil identifikasi BLAST, dengan panjang sekuens ± 570 pb. Hasil ini sesuai dengan karakteristik DNA *barcoding* gen *rbcL* yang dilaporkan oleh Wang et al. (2017), yaitu mudah disejajarkan tanpa pengeditan manual, memiliki urutan nukleotida yang pendek (<1000 pb), serta mudah diamplifikasi dan disekuensing. Penyejajaran sekuens dilakukan menggunakan metode ClustalW yang terintegrasi pada perangkat lunak MEGA X (Kumar et al.,

2018). Metode ini umum digunakan untuk menyelaraskan sekuens nukleotida homolog, sehingga setiap posisi basa menjadi ekuivalen dan memudahkan analisis tingkat homologi antar sampel.

Analisis jarak genetik

Persamaan (*similarity*) dan jarak genetik merupakan parameter kuantitatif yang digunakan untuk menggambarkan tingkat kedekatan atau perbedaan antar individu, sehingga dapat menjadi dasar dalam analisis hubungan genetik (S. Kumar et al., 2018; Nurmayanti et al., 2023). Nilai persamaan berkisar antara 0 (nol) hingga 1 (satu), semakin tinggi nilai persamaan menunjukkan semakin besar tingkat kemiripan (*likeness value*) antar individu. Semakin tinggi nilai kemiripan, maka nilai jarak genetiknya akan semakin rendah (Andayani et al., 2017). Hasil jarak genetik ditunjukkan pada Table 3.

Table 2. Nucleotide Composition

No	Spesies	Komposisi Nukleotida (%)						Total
		T	C	A	G	A+T	C+G	
1	LC651165.1 <i>P. viridis</i>	29,3	20,7	27,4	22,6	56,7	43,3	552
2	JQ593827.1 <i>P. racemosa</i>	29,3	20,7	27,4	22,6	56,7	43,3	552
3	GQ981857.1 <i>P. marginata</i>	29,1	20,7	27,5	22,7	56,6	43,4	550
4	JQ594616.1 <i>P. horizontalis</i>	29,2	20,5	27,5	22,8	56,7	43,3	552
5	JQ593775. <i>P. horizontalis</i>	29,3	20,8	27,2	22,6	56,5	43,4	552
6	JN407374.2 <i>P. rubra</i>	29,0	20,7	27,7	22,6	56,7	43,3	552
7	JQ594676.1 <i>P. graciliflora</i>	29,2	20,7	27,5	22,6	56,7	43,3	552
8	JQ593806.1 <i>P. panamensis</i>	29,3	20,7	27,2	22,6	56,5	43,3	552
9	KF147506.1 <i>P. capensis</i>	29,2	20,7	27,4	33,8	56,6	54,5	552
10	LC693772.1 <i>P. asiatica</i>	29,0	20,7	27,7	22,6	56,7	43,3	552
11	LC692560.1 <i>P. asiatica</i>	29,0	20,7	27,7	22,6	56,7	43,3	552
12	JQ593809.1 <i>P. panamensis</i>	29,5	20,7	27,2	22,6	56,7	43,3	552
13	JN407371.1 <i>P. rubra</i>	29,0	20,7	27,7	22,6	56,7	43,3	552
14	MG718581.1 <i>P. mapourioides</i>	29,2	20,5	27,7	22,6	56,9	43,1	552
15	MG718391.1 <i>P. mapourioides</i>	29,2	20,5	27,7	22,6	56,9	43,1	552
16	GQ981853.1 <i>P. graciliflora</i>	28,9	20,7	27,6	22,7	56,5	43,4	550
17	JX572896.1 <i>P. capensis</i>	29,3	20,7	27,4	22,6	56,7	43,3	552
18	JQ593797.1 <i>P. nervosa</i>	28,8	20,7	27,5	23,0	56,3	43,7	552
19	MH826913.1 <i>P. micrococci</i>	29,0	20,8	27,2	23,0	56,2	43,8	552
20	MH826866.1 <i>P. micrococci</i>	29,0	20,8	27,2	23,0	56,2	43,8	552
21	MH826781.1 <i>P. murmurensis</i>	29,0	20,8	27,5	22,6	56,5	43,4	552
22	MH826722.1 <i>P. murmurensis</i>	29,0	20,8	27,5	22,6	56,5	43,4	552
23	JQ593632.1 <i>Chiococca alba</i>	29,5	20,8	27,0	22,6	56,5	43,4	552
24	<i>Psychotria</i> sp.	29,3	20,7	27,4	22,6	56,7	43,3	552
	Rata-rata	29,2	20,7	27,5	22,7	56,6	43,8	551,8

Table 3. Genetic Distance

No.	Spesies	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1	LC651165_ <i>P. viridis</i>																								
2	JQ593827_ <i>P. racemosa</i>	0,000																							
3	GQ981857_ <i>P. marginata</i>	0,000	0,000																						
4	JQ594616_ <i>P. horizontalis</i>	0,005	0,005	0,005																					
5	JQ593775_ <i>P. horizontalis</i>	0,002	0,002	0,002	0,007																				
6	JN407374_ <i>P. rubra</i>	0,009	0,009	0,009	0,007	0,011																			
7	JQ594676_ <i>P. gracilliflora</i>	0,005	0,005	0,005	0,009	0,007	0,005																		
8	JQ593806_ <i>P. panamensis</i>	0,004	0,004	0,004	0,009	0,005	0,005	0,002																	
9	KF147506_ <i>P. capensis</i>	0,007	0,007	0,007	0,005	0,009	0,004	0,007	0,007																
10	LC693772_ <i>P. asiatica</i>	0,009	0,009	0,009	0,007	0,011	0,000	0,005	0,005	0,004															
11	LC692560_ <i>P. asiatica</i>	0,009	0,009	0,009	0,007	0,011	0,000	0,005	0,005	0,004	0,000														
12	JQ593809_ <i>P. panamensis</i>	0,005	0,005	0,005	0,011	0,007	0,007	0,004	0,002	0,009	0,007	0,007													
13	JN407371_ <i>P. rubra</i>	0,009	0,009	0,009	0,007	0,011	0,000	0,005	0,005	0,004	0,000	0,000	0,007												
14	MG718581_ <i>P. mapouriooides</i>	0,011	0,011	0,011	0,009	0,013	0,005	0,007	0,007	0,007	0,005	0,005	0,009	0,005											
15	MG718391_ <i>P. mapouriooides</i>	0,011	0,011	0,011	0,009	0,013	0,005	0,007	0,007	0,007	0,005	0,005	0,009	0,005	0,000										
16	GQ981853_ <i>P. gracilliflora</i>	0,005	0,005	0,005	0,009	0,007	0,005	0,000	0,002	0,007	0,005	0,005	0,004	0,005	0,007	0,007									
17	JX572896_ <i>P. capensis</i>	0,009	0,009	0,009	0,007	0,011	0,005	0,009	0,009	0,002	0,005	0,005	0,011	0,005	0,009	0,009	0,009								
18	JQ593797_ <i>P. nervosa</i>	0,009	0,009	0,009	0,007	0,011	0,004	0,005	0,005	0,005	0,004	0,004	0,007	0,004	0,005	0,005	0,005	0,007							
19	MH826913_ <i>P. micrococca</i>	0,011	0,011	0,011	0,009	0,009	0,013	0,015	0,015	0,011	0,013	0,013	0,017	0,013	0,015	0,015	0,015	0,013	0,013						
20	MH826866_ <i>P. micrococca</i>	0,011	0,011	0,011	0,009	0,009	0,013	0,015	0,015	0,011	0,013	0,013	0,017	0,013	0,015	0,015	0,015	0,013	0,013	0,000					
21	MH826781_ <i>P. murmurensis</i>	0,011	0,011	0,011	0,009	0,009	0,013	0,015	0,015	0,011	0,013	0,013	0,017	0,013	0,015	0,015	0,015	0,013	0,013	0,004	0,004				
22	MH826722_ <i>P. murmurensis</i>	0,011	0,011	0,011	0,009	0,009	0,013	0,015	0,015	0,011	0,013	0,013	0,017	0,013	0,015	0,015	0,015	0,013	0,013	0,004	0,004	0,000			
23	JQ593632_ <i>Chiococca alba</i>	0,013	0,013	0,013	0,011	0,015	0,011	0,013	0,013	0,009	0,011	0,011	0,015	0,011	0,013	0,013	0,013	0,011	0,011	0,017	0,017	0,017			
24	<i>Psychotria</i> sp.	0,000	0,000	0,000	0,005	0,002	0,009	0,005	0,004	0,007	0,009	0,009	0,005	0,009	0,011	0,011	0,005	0,009	0,009	0,011	0,011	0,011	0,011	0,013	

Jarak genetik antara sampel tumbuhan dengan kerabat *Psychotria* dihitung menggunakan model Jukes-Cantor pada MEGA X (Kumar et al., 2018) Berdasarkan hasil analisis jarak genetik, jarak genetik antara *Psychotria* sp. dengan *P. viridis*, *P. racemosa*, dan *P. marginata* adalah 0.000, yang berarti memiliki susunan sekuen yang identik. Jarak genetik yang kecil menunjukkan kekerabatan yang dekat, sedangkan jarak genetik yang besar menunjukkan hubungan yang lebih jauh (Nurmayanti et al., 2023; Hidayat & Pancoro, 2016). Hasil jarak genetik mengindikasikan bahwa kemungkinan besar *Psychotria* sp. memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan ketiga jenis *Psychotria* tersebut, bahkan berpotensi sebagai spesies yang sama termasuk dalam satu subspecies.

Pohon Filogenetik

Pohon filogenetik dibuat dengan menambahkan spesies *Chiococca alba* yang masih merupakan spesies dari famili Rubiaceae yang berperan sebagai *outgroup* pada pohon filogenetik. Menurut Hidayat & Pancoro (2016), penambahan *outgroup* dilakukan untuk mendapatkan informasi yang menyakinkan dari sekuen yang berhubungan. Hasil rekonstruksi pohon filogenetik *Psychotria* sp. ditunjukkan pada Figure 4.

Sebuah kelompok organisme yang anggotanya memiliki banyak kesamaan karakter atau ciri dianggap memiliki hubungan yang sangat dekat, dan diperkirakan diturunkan dari satu nenek moyang dan semua turunannya akan membentuk sebuah kelompok monofiletik (Hidayat & Pancoro, 2016). Berdasarkan analisis pohon filogenetik menggunakan gen *rbcL*, genus *Psychotria* terbagi menjadi dua klad utama (klad I

dan II). *Psychotria* sp. berada pada klad II bersama dengan *P. marginata*, *P. viridis*, *P. horizontalis*, dan *P. racemosa*. Jarak genetik *Psychotria* sp., *P. marginata*, *P. viridis* dan *P. racemosa* memiliki nilai 0,000 yang bermakna bahwa ketiga jenis ini memiliki kekerabatan yang dekat. Nilai jarak genetik semakin rendah menunjukkan adanya kekerabatan yang semakin dekat (Sahadeva & Pertiwi, 2023). Hubungan kekerabatan terdekat ditunjukkan antara *Psychotria* sp. dengan *P. marginata*, yang berada pada percabangan yang sama dengan nilai *bootstrap* sebesar 54%. Percabangan pohon filogenetik menunjukkan kedekatan suatu sampel yang dilihat dari nilai jarak genetiknya (Pertiwi, 2022). Apabila percabangan memiliki nilai *bootstrap* >90% dianggap sebagai satu klad yang sama, dan dinyatakan sebagai satu spesies yang sama (De Moraes Russo & Selvatti, 2018).

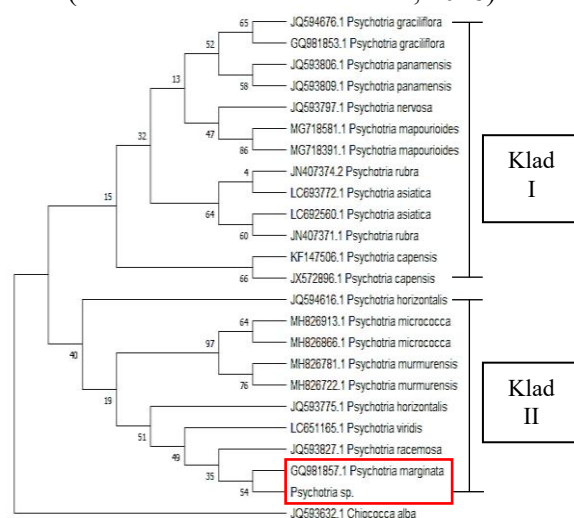


Figure 4. Phylogenetic Tree of *Psychotria* sp. Pohon filogenetik dikonstruksi menggunakan metode *Neighbor-Joining Tree*, dan hasilnya

menunjukkan bahwa takson sampel (*Psychotria* sp.) tergabung dalam kelompok *Psychotria* spp. yang berasal dari basis data NCBI. Hal ini mengindikasikan bahwa *Psychotria* sp. termasuk dalam kelompok monofiletik bersama *Psychotria* spp. Pada konstruksi pohon filogenetik ini, *Chiococca alba* digunakan sebagai *outgroup*, yang berada pada percabangan berbeda dengan genus *Psychotria*. Kehadiran *outgroup* penting untuk menjadi pembanding dalam analisis kekerabatan (Rahayu & Nugroho, 2015).

Tumbuhan *Psychotria* memiliki habitus semak dan memiliki arah tumbuh batang secara simpodial karena memiliki ukuran yang sama antara batang utama dengan cabang dari tumbuhan, sehingga sulit dibedakan antara batang utamanya. *Psychotria* memiliki sistem perakaran tunggang sehingga akar utamanya dapat terlihat dengan jelas dan mudah dibedakan. Tipe batang pada tumbuhan *Psychotria* ini berkayu karena mempunyai batang yang keras tersusun dari jaringan lignin sehingga bersifat keras dan kuat. Hasil pengamatan morfologi batang, daun, buah dan bunga tumbuhan *Psychotria* terdapat pada Tables 5, 6, 7 dan 8.

Morfologi *Psychotria*

Table 5. Habit and Stem of *Psychotria*

Spesies	Perawakan	Karakter		
		Permukaan batang	Warna batang	Tinggi tumbuhan (m)
<i>Psychotria</i> sp.	Semak	Kasar	Coklat	3-5
<i>P. angulata</i> forma <i>brevistylis</i>	Semak	Kasar	Coklat	3-5
<i>P. viridiflora</i>	Semak	Kasar	Coklat muda	3-5
<i>P. viridiflora</i> var. <i>Bacana</i>	Semak	Kasar	Coklat	3-5
<i>P. rubra</i>	Semak	Kasar	Coklat	2-3
<i>P. horizontalis</i>	Semak	Kasar	Coklat	3-5,3
<i>P. viridis</i>	Semak	Kasar	Coklat muda	1,5-5
<i>P. racemosa</i>	Semak	Kasar	Coklat	3-4
<i>P. marginata</i> *	Semak	Kasar	Coklat	2-4

Table 6. Leaf Morphology of *Psychotria*

Spesies	Karakter Morfologi Daun					
	Panjang helai (cm)	Lebar (cm)	Pangkal daun	Ujung daun	Bangun daun	Tepi daun
<i>Psychotria</i> sp.	8	3-4	Attenuate	Acuminate	Obovate	Crenate
<i>P. angulata</i> forma <i>brevistylis</i>	9	5-6	Attenuate	Acuminate	Obovate	Integer
<i>P. viridiflora</i>	8-10	4-6	Attenuate	Acuminate	Obovate	Crenate
<i>P. viridiflora</i> var. <i>Bacana</i>	8-10	4-6	Obtuse	Acuminate	Lanceolate	Crenate
<i>P. rubra</i>	9-11	3-4	Attenuate	Acuminate	Obovate	Crenate
<i>P. horizontalis</i>	10-13	4-6	Attenuate	Acuminate	Obovate	Crenate
<i>P. viridis</i>	5-15	4-6	Attenuate	Acuminate	Eliips	Crenate
<i>P. racemosa</i>	8-13	4-6	Attenuate	Acuminate	Obovate	Crenate
<i>P. marginata</i> *	8-10	3-4	Attenuate	Acuminate	Eliips	Crenate

Berdasarkan Table 6, diperoleh panjang helai daun berkisar 8-13 cm, lebar daun 5-6 cm, pangkal daun *attenuate* dan *obtusus*, ujung daun *acuminate*, bangun daun *obovate*, *lanceolate* dan *ellips*, tepi daun *crenatus* dan *integer*. Tumbuhan

Psychotria memiliki daun tunggal, karena satu tangkai hanya terdapat satu daun. Posisi daun berlawanan (*opposite*) dengan pertulangan daun menyirip.

Table 7. Leaf Surface of *Psychotria*

Spesies	Karakter Morfologi			
	Permukaan adaksial	Permukaan abaksial	Warna daun muda	Warna daun dewasa
<i>Psychotria</i> sp.	Halus	Halus	Hijau muda	Hijau tua
<i>P. angulata</i> forma <i>brevistylis</i>	Licin	Halus	Hijau	Hijau
<i>P. viridiflora</i>	Halus	Kasar	Hijau kekuningan	Hijau
<i>P. viridiflora</i> var. <i>Bacana</i>	Halus	Kasar	Hijau muda	Hijau tua
<i>P. rubra</i>	Licin	Halus	Hijau	Hijau
<i>P. horizontalis</i>	Halus	Halus	Hijau	Hijau
<i>P. viridis</i>	Halus	Halus	Hijau muda	Hijau tua
<i>P. racemosa</i>	Halus licin	Halus	Hijau muda	Hijau
<i>P. marginata</i> *	Halus	Halus	Hijau muda	hijau tua

Berdasarkan Table 7, *Psychotria* sp memiliki permukaan adaksial daun halus dan licin, sedangkan permukaan daun abaksial halus dan kasar. Warna daun muda hijau, hijau muda dan hijau kekuningan. Sedangkan, warna daun dewasa berwarna hijau dan hijau tua. Tampilan permukaan adaksial tumbuhan *Psychotria* cenderung halus dan licin, hal ini disebabkan oleh adanya lignin pada permukaan daunnya, sehingga permukaan adaksial pada tumbuhan *P. angulata* akan mengkilap ketika terkena paparan sinar matahari dan tampilan

permukaan abaksial dominan memiliki permukaan yang halus, kecuali pada *P. viridiflora* yang memiliki permukaan abaksial cenderung kasar karena adanya trikoma. Daun pada tumbuhan *Psychotria* merupakan daun yang tidak lengkap karena tidak mempunyai pelepah daun. Daun dari tumbuhan *Psychotria* ini hanya terdiri dari tangkai daun dan helaian daun saja yang biasa disebut dengan daun bertangkai. Morfologi daun *Psychotria* ditunjukkan pada Figure 5.



Figure 5. Leaf Morphology of *Psychotria*
(a) *P. angulata* ; (b) *Psychotria* sp. ; (c) *P. viridiflora*; (d) *P. viridiflora* var *bacana*

Table 8. Fruit and Flower of *Psychotria*

Spesies	Tipe perbungaan	Warna mahkota bunga	Karakter Morfologi		Tipe Buah	Stipula
			Warna kelopak bunga			
<i>Psychotria</i> sp.	Majemuk	Putih	Hijau muda		Majemuk	Interpetiolar
<i>P. angulata</i> forma <i>brevistylis</i>	Majemuk	Putih	Hijau muda		Majemuk	Interpetiolar
<i>P. viridiflora</i>	Majemuk	Putih merah muda	Putih		Majemuk	Interpetiolar
<i>P. viridiflora</i> var. <i>bacana</i>	Majemuk	Putih	Hijau muda		Majemuk	Interpetiolar
<i>P. rubra</i>	Majemuk	Putih	Hijau kekuningan		Majemuk	Interpetiolar
<i>P. horizontalis</i>	Majemuk	Putih	Hijau muda		Majemuk	Interpetiolar
<i>P. viridis</i>	Majemuk	Putih	Hijau		Majemuk	Interpetiolar
<i>P. racemosa</i>	Majemuk	Putih	Hijau muda		Majemuk	Interpetiolar
<i>P. marginata</i> *	Majemuk	Putih	Hijau muda		Majemuk	Interpetiolar

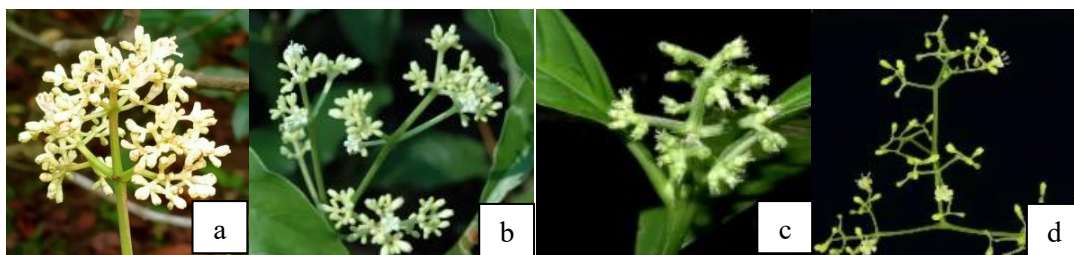


Figure 6. Flower Morphology of *Psychotria*
(a) *Psychotria* sp; (b) *P. viridis*; (c). *P. racemose*; (d) *P. marginata*

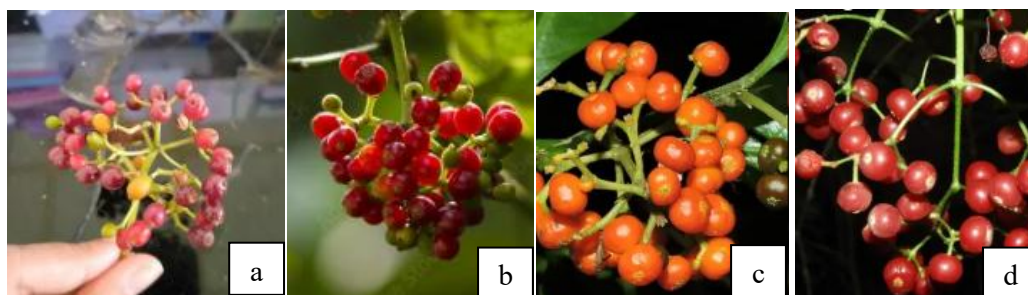


Figure 7. Fruit Morphology of *Psychotria*
(a) *P. racemose*; (b) *P. marginata*; (c) *P. viridis*; (d) *Psychotria* sp

Berdasarkan Table 8, tipe pembungaan tumbuhan *Psychotria* memiliki tipe pembungaan majemuk. *P. viridiflora* memiliki warna mahkota bunga yaitu putih dan putih merah muda dan memiliki warna kelopak bunga berwarna putih, hijau muda, dan hijau kekuningan. *Psychotria* memiliki buah majemuk dengan bentuk buah bulat buni. Buah berwarna hijau pada buah yang masih muda serta berwarna orange pada buah yang sudah matang. Stipula pada tumbuhan *Psychotria* berbentuk *interpeltolar*.

Hasil pengamatan dari herbarium, tumbuhan *Psychotria* sp yang ada di Kebun Raya Bogor memiliki bentuk daun, bunga, buah serta batang yang beragam. Hasil karakterisasi morfologi spesimen *Psychotria* sp. memiliki kemiripan bentuk secara morfologi dengan *P. marginata*, *P. viridis* dan *P. racemose*. Pendekatan secara molekuler *Psychotria* sp memiliki kekerabatan yang sangat dekat dengan *P. marginata*, *P. viridis* dan *P. racemose*. Karakter morfologi buah dan bunga *Psychotria* sp. memiliki persamaan bentuk buah dan bunga dengan *P. viridis* dan *P. marginata*, dengan bentuk buah buni kecil berwarna hijau pada buah yang masih muda dan oranye hingga merah pada buah yang sudah matang. Akan tetapi, pada *P. viridis* memiliki tangkai bunga yang lebih panjang dibandingkan dengan *P. marginata* dan *Psychotria* sp. Morfologi bunga dan buah *Psychotria* ditunjukkan pada Figure 6 dan 7.

SIMPULAN

Pendekatan molekuler menggunakan DNA *barcoding* gen *rbcL* berhasil mengidentifikasi *Psychotria* sp. asal Kalimantan Barat. Hasil analisis BLAST menunjukkan bahwa *Psychotria* sp. memiliki kekerabatan yang sangat dekat dengan *P. marginata*, *P. racemosa*, dan *P. viridis* dengan nilai *identity* mencapai 100%. Rekonstruksi pohon filogenetik menempatkan *Psychotria* sp. dalam satu klad dengan *P. marginata*, dengan nilai *bootstrap* 54%. Selain itu, karakter morfologi buah dan bunga *Psychotria* sp. juga menunjukkan kemiripan yang signifikan dengan *P. viridis* dan *P. marginata*.

DAFTAR PUSTAKA

- Andayani Nining Nurini, Aqil, M., & Pabendon, M. (2017). Aplikasi Bioinformatika pada Studi Genetik Jagung Provitamin A. *Informatika Pertanian*, 26(2), 91–98.
- Ardiana Dwi Wahyuni. (2009). Teknik Isolasi DNA Genom Tanaman Pepaya dan Jeruk dengan Menggunakan Modifikasi Bufer CTAB. *Buletin Teknik Pertanian*, 14(1), 12–16.
- Ariati, S. R., & Widyatmoko, D. (2019). Botanic Garden Profile: Bogor Botanic Gardens. *The Journal of Botanic Garden Horticulture*, 17, 11–28.

- Azizah, U. D. L., Yulianti F., Adiredjo A. L., & Sitawati. (2019). Analisis Kekerabatan Plasma Nutfah Tanaman Stroberi (*Fragaria* Sp) Berdasarkan Karakter Morfologi dan Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Plantropica*, *4*(1), 77–85.
- Biag, R. D., & Alejandro G.J.D. (2020). Rediscovery of *Psychotria* Species, Subspecies, and Varieties Collected in the 1990s and New Records of *Antirhea benguetensis* (Elmer) Valetton and *Ixora longifolia* Smith (Rubiaceae) in Northern Sierra Madre Natural Park, Luzon, Philippines. *Biodiversitas*, *21*(10), 4524–4535. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d211059>
- Bremei, B. (2009). A Review of Molecular Phylogenetic Studies of Rubiaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, *96*(1), 4–26. <https://doi.org/10.3417/2006197>
- Calixto, N. O., Pinto M.E.F., Ramalho S.D., Burger M.C.M., Bobey A.F., Young M.C. M., Bolzani V.S., & Pinto A.C. (2016). The Genus *Psychotria*: Phytochemistry, Chemotaxonomy, Ethnopharmacology and Biological Properties. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, *27*(8), 1355–1378. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20160149>
- Chetia, P., Chetia Phukan, B., & Tamang, D. (2016). rbcL Gene Based Molecular Phylogenetic Studies of Certain Pteridophytes of Assam. *STM Journals*, *3*(1), 18–21. www.stmjournals.com
- Clegg Michael T. (1993). Chloroplast Gene Sequences and The Study of Plant Evolution. *Proc.Natl.Acad.Sci*, *90*, 363–367.
- Daniels, N. M., Gallant, A., Peng, J., Cowen, L. J., Baym, M., & Berger, B. (2013). Compressive Genomics for Protein Databases. *Bioinformatics*, *29*(13), 283–290. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt214>
- Hall Barry G. (2018). *Phylogenetic Trees Made Easy* (5th ed.). Oxford University Press.
- Hariri, M. R., Irsyam Arifin Surya Dwipa, Setiawan Ashari Bagus, Setiawan Eko, Irwanto Rina Ratnasih, & Atria Mega. (2021). Identifikasi Molekuler dan Karakterisasi Morfologi Kamandin Saebo, Tumbuhan Obat dari Madura. *Biotika*, *19*(2), 41–48. <https://doi.org/10.24198/biotika.v19i2.35627>
- Hidayat, T., & Pancoro, A. (2016). Ulasan Kajian Filogenetika Molekuler dan Peranannya dalam Menyediakan Informasi Dasar untuk Meningkatkan Kualitas Sumber Genetik Anggrek. *AgroBiogen*, *4*(1), 35–40. <https://doi.org/10.21082/jbio.v4n1.2008.p35-40>
- Hollingsworth, P. M., Graham, S. W., & Little, D. P. (2011). Choosing and Using a Plant DNA Barcode. *PLoS ONE*, *6*(5), 1–6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019254>
- Jannah, M., Hariri, M. R., Kasiamdari, R. S., & Handayani, N. S. N. (2021). The Use of DNA Barcoding and Phylogenetic Analysis to Improve Identification of *Usnea* spp. Based on ITS rDNA. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, *6*(1), 1–12. <https://doi.org/10.22146/JTBB.58635>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Across Computing Platforms. *Molecular Biology and Evolution*, *35*(6), 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Moura Carina Carneiro de Melo, Brambach, F., Bado, K. J. H., Krutovsky, K. V., Kreft, H., Tjitroedirdjo, S. S., Siregar, I. Z., & Gailing, O. (2019). Integrating DNA Barcoding and Traditional Taxonomy for the Identification of Dipterocarps in Remnant Lowland Forests of Sumatra. *Plants*, *8*(11), 1–14. <https://doi.org/10.3390/plants8110461>
- Newell, P. D., Fricker, A. D., Roco, C. A., Chandrangsu, P., & Merkel, S. M. (2013). A Small-Group Activity Introducing the Use and Interpretation of BLAST. *Journal of Microbiology & Biology Education*, *14*(2), 238–243. <https://doi.org/10.1128/jmbe.v14i2.637>
- Nugraha Fadel, Roslim D.I., Ardilla Y.P., & Herman. (2014). Analisis Sebagian Sekuen Gen Ferritin2 pada Padi (*Oryza sativa* L.) Indragiri Hilir, Riau. *Article in Biosaintifika Journal of Biology & Biology Education*,

- 6(2), 70–79.
<https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v6i2.3102>
- Nurmayanti, K., Azizah E., Supriadi D.R., & Susanto U. (2023). Hubungan Kekerbatan Beberapa Varietas Unggul Padi (*Oryza sativa* L) Terpilih Berdasarkan Karakterisasi Kualitas Biji. *Klorofil*, 7(1), 42.
<https://doi.org/10.30821/kfl:jibt.v7i1.13851>
- Pertiwi Ni Putu Dian. (2022). Identifikasi Spesies Ikan Pelagis yang Dijual di Pasar Kota Denpasar Menggunakan Marka Control Region Mitokondria (mtDNA). *Pendidikan Biologi Undiksha*, 9(1), 95–102.
- Rahayu, F., Saryono, & Nugroho, T. T. (2015). Isolasi DNA dan Amplifikasi PCR Daerah ITS rDNA Fungi Endofit Umbi Tanaman (*Dahlia variabilis*) LBKURCC69. *JOM FMIPA*, 2(1), 100–106.
- Razafimandimbison, S. G., Taylor C.M., Wikstrom N., Pailler T., Khodabandeh A., & Bremer B. (2014). Phylogeny and Generic Limits in the Sister Tribes Psychotriaceae and Palicoureae (Rubiaceae): Evolution of Schizocarps in *Psychotria* and Origins of Bacterial Leaf Nodules of the Malagasy Species. *American Journal of Botany*, 101(7), 1102–1126.
<https://doi.org/10.3732/ajb.1400076>
- Russo Claudia Augusta de Moraes, & Selvatti A.P. (2018). Bootstrap and rogue identification tests for phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution*, 35(9), 2327–2333.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msy118>
- Sagala Zuraida, & Sogandi. (2022). DNA Barcoding Tanaman Mangga Kasturi (*Mangifera casturi*) Asal Kalimantan Selatan Berbasis DNA Kloroplas Gen *rbcl* dan *matK*. *Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 20(1), 38–43. <http://blast>.
- Sahadeva, M. L., & Pertiwi, N. P. D. (2023). Konstruksi Pohon Filogenetik Spesies dalam Famili Orchidaceae Berdasarkan Marka Gen *matK* Kloroplas: Studi in Silico. *Matematika, Sains, Dan Pembelajarannya*, 17(3), 1858–0629.
- Taylor Charlotte M. (2016). Rubiacearum Americanarum Magna Hama Pars XXXI: More New Neotropical Species and Morphological Notes for *Psychotria* (Psychotriaceae). *Novon*, 24(4), 413–434.
<https://doi.org/10.3417/2015021>
- Taylor Charlotte M. (2020). Overview of *Psychotria* in Madagascar (Rubiaceae, Psychotriaceae), and of Bremekamp's Foundational Study of This Group. *Candollea*, 75(1), 51–70.
<https://doi.org/10.15553/c2020v751a5>
- Wang De Yi, Wang, Q., Wang, Y. L., Xiang, X. G., Huang, L. Q., & Jin, X. H. (2017). Evaluation of DNA Barcodes in Codonopsis (Campanulaceae) and in some Large Angiosperm Plant Genera. *PLOS ONE*, 12(2), 1–14.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170286>