

**ANALISIS FILOGENETIK MOLEKULER *Orthosiphon* spp. (LAMIACEAE)  
BERDASARKAN URUTAN DNA DARI *INTERGENIC SPACER TRNL-F***

**SKRIPSI**

Diajukan untuk memenuhi sebagai dari syarat untuk memperoleh gelar Sarjana  
Sains pada Program Studi Biologi



Oleh:

Lisa Aslamiah

2000953

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS PENDIDIKAN MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS PENDIDIKAN INDONESIA  
BANDUNG  
2024**

**ANALISIS FILOGENETIK MOLEKULER *Orthosiphon* spp.  
(LAMIACEAE) BERDASARKAN URUTAN DNA DARI *INTERGENIC  
SPACER TRNL-F***

Oleh

Lisa Aslamiah

Skripsi yang diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Biologi Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

©Lisa Aslamiah 2024

Universitas Pendidikan Indonesia

April 2024

Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Skripsi ini tidak boleh diperbanyak seluruhnya ataupun sebagian, dengan dicetak ulang, di-photocopy atau dengan cara lainnya tanpa seizin dari penulis.

**LEMBAR PENGESAHAN**  
**ANALISIS FILOGENETIK MOLEKULER**  
*Orthosiphon* spp. (LAMIACEAE) BERDASARKAN URUTAN DNA  
DARI *INTERGENIC SPACER TRNL-F*

Oleh

Lisa Aslamiah

Disetujui dan disahkan oleh:

Pembimbing I,



Prof. Topik Hidayat, M.Si., Ph.D.

NIP. 197004101997021001

Pembimbing II,



Didik Priyandoko, M.Si., Ph.D.

NIP. 197212301999031001

Pembimbing III,




Dr. Ir. Sudarmono, M.Sc

NIP. 196608151994031005

Mengetahui,

Koordinator DBS



Dr. R. Kusdianti, M.Si.

NIP. 196402261989032004

## LEMBAR PEPRNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Analisis Filogenetik Molekuler *Orthosiphon* spp. (Lamiaceae) Berdasarkan Urutan DNA dari *Intergenic Spacer trnL-F*” ini beserta seluruh isinya adalah benar-benar karya saya sendiri. Saya tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan dengan cara-cara yang tidak sesuai dengan etika ilmu yang berlaku dalam masyarakat keilmuan. Atas pernyataan ini saya siap menanggung risiko/sanksi apabila di kemudian hari ditemukan adanya pelanggaran etika keilmuan atau ada klaim dari pihak lain terhadap keaslian karya saya ini.

Bandung, April 2024

Pembuat Pernyataan,

Lisa Aslamiah

NIM 2000953

## KATA PENGANTAR

Puji syukur senantiasa penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, Allah SWT. atas rahmat, dan karunia-Nya penulis telah dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Analisis Filogenetik Molekuler *Orthosiphon* spp. (Lamiaceae) Berdasarkan Urutan DNA dari *Intergenic Spacer trnL-F*”. Skripsi yang dibuat membahas mengenai identifikasi variasi genetik dan analisis filogenetik molekuler untuk mengetahui keanekaragaman genetik dan hubungan kekerabatan *Orthosiphon* spp. yang berasal dari berbagai wilayah di Jawa Barat dan Kalimantan Timur. Adapun maksud dan tujuan dari penulisan skripsi ini adalah untuk memenuhi salah satu syarat untuk mengikuti sidang skripsi Program Studi Biologi Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia.

Penulis menyadari selama penelitian dan penulisan skripsi ini banyak sekali hambatan dan kekurangan yang penulis alami, namun berkat bantuan, dorongan serta bimbingan dari berbagai pihak, skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Oleh karena itu, Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat, baik berupa inspirasi maupun motivasi serta bagi pembaca dapat memberikan kritik dan saran yang membangun untuk dijadikan sebagai pembelajaran.

Bandung, April 2024

Lisa Aslamiah

NIM 2000953

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyadari bahwa terselesaikannya skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan dorongan dari berbagai pihak. Penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada seluruh pihak yang turut membantu dalam penyelesaian skripsi ini. Penulis mengucapkan terima kasih dengan segala hormat kepada:

1. Bapak Prof. Topik Hidayat, M.Si., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing I yang telah meluangkan waktu dan pikirannya, selalu memberikan semangat, saran serta motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi. Terima kasih banyak atas kebaikan yang telah bapak berikan baik selama perkuliahan, magang, penelitian, dan dalam penyusunan skripsi ini. Semoga Allah selalu memberikan Kesehatan pada bapak, membalas kebaikan bapak jauh lebih besar, memberkahi ilmu, waktu, dan aktivitas bapak dan keluarga.
2. Bapak Didik Priyandoko, M.Si., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan saran, motivasi dan meluangkan waktu serta pikirannya untuk membimbing penulis dalam menyelesaikan skripsi. Terima kasih atas segala ilmu, dukungan, bimbingan, doa, kesabaran, motivasi dan kebaikan yang bapak berikan. Semoga Allah membalas semua kebaikan bapak, memberkahi ilmu, waktu, dan aktivitas bapak dan keluarga.
3. Bapak Dr. Ir. Sudarmono, M.Sc., selaku pembimbing III yang telah memberikan pengalaman berharga bagi penulis untuk melakukan penelitian dengan segala fasilitas yang ada di BRIN, serta selalu membimbing dan memberikan saran saat penulisan skripsi. Semoga Allah membalas kebaikan bapak selalu diberikan Kesehatan dan limpahan karunia-Nya.
4. Ibu Hj. Tina Safaria Nilawati, M.Si., selaku pembimbing akademik atas segala dan bantuannya selama perkuliahan.
5. Kepada Dr. Wahyu Surakusumah, M.T., selaku Ketua Program Studi Biologi Universitas Pendidikan Indonesia.
6. Kepada Ibu Dr. R. Kusdianti, M.Si., selaku Dewan Bimbingan Skripsi (DBS) yang telah mengatur jalannya sidang dan kelulusan
7. Ibu Dr. Diah Kusumawaty, M.Si., selaku Dosen Reviewer yang telah memberikan saran dan masukkan dalam proses penulisan skripsi.

8. Seluruh Bapak dan ibu dosen biologi FPMIPA UPI yang telah memberikan ilmu kepada penulis selama masa perkuliahan.
9. Yang saya hormati, Rektor Universitas Pendidikan Indonesia, Prof. Dr. M. Solehuddin, M.Pd., dan Bapak Prof. Dr. Tatang Herman, M.Ed., selaku Dekan Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang telah memfasilitasi kelancaran studi penulis di kampus ini.
10. Kepada orangtua tercinta Bapak Jumaidi dan Ibu Elmiyati yang turut memberikan dukungan moral dan materi kepada penulis serta turut mendoakan yang terbaik untuk terselesaikannya skripsi ini.
11. Seluruh Manager dan keluarga di asrama UPI Bapak Maftuhin Ridha, M.Si., Bapak Drs. H. Sugihartono, M.A., Bapak Dr. Andhy Setiawan, S.Pd., M.Si., Ibu Dr. Hj. Kokom St. Komariah, M.Pd., Ibu Finna, Emak Ella, dan Pak Agus yang telah menjadi orang tua dan keluarga penulis selama di Bandung. Terima kasih telah banyak membantu penulis selama beraktivitas di Bandung, menjadi rumah dan tempat berpulang ternyaman dari awal perkuliahan hingga bisa menyelesaikan studi tepat waktu. Terima kasih atas semua kebaikan dan dukungannya. Semoga Allah membalas kebaikan bapak ibu dengan balasan yang lebih besar.
12. Aa Tendi Noer Ramadhan sebagai partner terbaik dalam banyak kegiatan. Terima kasih telah turut mendampingi, menginspirasi, memotivasi, dan menguatkan penulis sejak perkuliahan hingga menulis skripsi ini. Semoga Allah membalas kebaikan yang diberikan dengan balasan yang jauh lebih besar.
13. Akang Tete Angkatan 19 terutama Kang Fakhri dan Teh Vini, terima kasih telah banyak membantu, memberikan arahan, dan semangat yang luar biasa sehingga bisa menyelesaikan skripsi ini
14. Teman-teman seperjuangan selama penelitian dan penulisan skripsi ini, Chayra Endlessa dan Maria Engzelita Sihombing. Terima kasih atas kerja samanya, terima kasih telah menjadi tim yang saling menguatkan di kala sulit. Semoga Allah membalas kebaikan kalian dan mempermudah segala urusan.

15. Keluarga besar Adilaya Angrahatana dan teman-teman Biologi C 2020 yang menjadi teman baik penulis selama masa perkuliahan yang selalu memberikan *support* dan menjadi keluarga bagi penulis selama menempuh pendidikan.
16. Keluarga Asrama UPI dan adik-adik tingkat: Zuhra Azkiana, Kania Ryana Nisa, Riska, Ria Jelita, Aqilla Fara Zeta, Nur Afipah, Sopa Ulkarimah, Azmi Hani, Mayaza, dan teman-teman yang lainnya. Terima kasih telah memberikan semangat dan dukungan. Semoga kalian juga selalu dimudahkan dalam setiap urusannya.
17. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas bantuan dan motivasinya.

Bandung, April 2024  
Pembuat Pernyataan,

Lisa Aslamiah  
NIM 2000953



**ANALISIS FILOGENETIK MOLEKULER *Orthosiphon* spp.  
(LAMIACEAE) BERDASARKAN URUTAN DNA DARI *INTERGENIC  
SPACER TRNL-F***

**ABSTRAK**

*Orthosiphon* Spp. (Kumis Kucing) termasuk tanaman yang banyak digunakan daunnya oleh masyarakat untuk pengobatan, sehingga keberadaannya perlu dilestarikan salah satunya dengan melakukan pemuliaan tanaman. Di samping itu, saat ini telah ditemukan adanya *Orthosiphon* sp nov. yang memiliki warna daun putih kehijauan dan belum adanya identifikasi taksonomi lebih lanjut sampai ke tingkat spesies. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan informasi hubungan filogenetik *Orthosiphon* Spp. menggunakan DNA barcoding pada marka *Intergenic Spacer trnL-F* dan informasi identitas molekuler dari *Orthosiphon* sp nov.. Tahapan penelitian diawali dengan proses preparasi sampel, isolasi DNA, uji kualitatif dan kuantitatif DNA hasil isolasi, amplifikasi DNA dengan menggunakan PCR, dan elektroforesis hasil PCR. Hasil amplifikasi DNA disekuensing dengan menggunakan jasa sekuensing Apical Scientific Laboratory, Malaysia. Analisis data dilakukan menggunakan *software Molecular Evolutionary Genetics Analysis* (MEGA 11). Rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan metode *Neighbor Joining* (NJ) model *p-distance* dengan nilai *bootstrap* 1000 kali. Hasil analisis filogenetik menunjukkan bahwa spesies *Orthosiphon* saling berkerabat dekat, dengan jarak genetik rata-rata sebesar 0,02. Dalam pohon filogenetik yang direkonstruksi, terbentuk dua *clade* utama dengan tingkat kepercayaan (*bootstrap*) sebesar 72%. *Orthosiphon* sp. nov. mengelompok bersama *Orthosiphon aristus* dalam *clade* 1, sesuai dengan hasil analisis homologi menggunakan BLAST yang menunjukkan tingkat kesamaan sebesar 100%. Lebih lanjut, sekuen ini memiliki nilai indeks konsistensi (CI) 1 dan indeks keteraturan (RI) 1, menandakan tingkat homoplasi yang sangat rendah. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa *Orthosiphon* sp nov secara genetik berkaitan erat dengan *Orthosiphon aristus*, yang mendukung hasil analisis homologi.

**Kata kunci:** *Orthosiphon* sp. nov., *Orthosiphon aristatus*, *Intergenic Spacer trnL-F*, Variasi Genetik.

**MOLECULAR PHYLOGENETIC ANALYSIS *Orthosiphon* spp.  
(LAMIACEAE) BASED ON THE DNA SEQUENCE OF THE  
INTERGENIC SPACER TRNL-F**

**ABSTRACT**

*Orthosiphon* Spp. (Cat's Whisker) is a plant that is widely used by people for medicine, so its existence needs to be preserved, one of which is through plant breeding. Apart from that, currently *Orthosiphon* sp nov has been discovered. which has greenish white leaves and there is no further taxonomic identification to the species level. This research was conducted with the aim of obtaining information on the phylogenetic relationship of *Orthosiphon* spp. using DNA barcoding on the Intergenic Spacer marker trnL-F and molecular identity information from *Orthosiphon* sp nov. The research stages begin with the sample preparation process, DNA isolation, qualitative and quantitative testing of isolated DNA, DNA amplification using PCR, and electrophoresis of PCR results. The DNA amplification results were sequenced using the sequencing services of Apical Scientific Laboratory, Malaysia. Data analysis was carried out using Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA 11) software. Phylogenetic tree reconstruction using the Neighbor Joining (NJ) method p-distance model with bootstrap values 1000 times. The results of the phylogenetic analysis show that the *Orthosiphon* species are closely related, with an average genetic distance of 0.02. In the reconstructed phylogenetic tree, two main clades were formed with a confidence level (bootstrap) of 72%. *Orthosiphon* sp. nov. grouped together with *Orthosiphon aristus* in clade 1, according to the results of homology analysis using BLAST which showed a similarity level of 100%. Furthermore, this sequence has a consistency index (CI) value of 1 and regularity index (RI) 1, indicating a very low level of homoplasy. Thus, it can be concluded that *Orthosiphon* sp nov is genetically closely related to *Orthosiphon aristus*, which supports the results of homology analysis.

**Keywords:** *Orthosiphon* sp. nov., *Orthosiphon aristatus*, Intergenic Spacer trnL-F, Genetic Variation.

## DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
LEMBAR PEPRNYATAAN .....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
UCAPAN TERIMA KASIH .....	vi
ABSTRAK.....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xv
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	3
1.5. Struktur Organisasi Skripsi .....	4
BAB II. ANALISIS FILOGENETIK <i>ORTHOSIPHON</i> SPP. (LAMIACEAE) MENGUNAKAN <i>DNA BARCODING TRNL-F INTERGENIC SPACER</i> .....	7
2.1. Analisis Filogenetik.....	7
2.1.1. Metode dalam Merekonstruksi Pohon Filogenetik.....	8
2.2. Keanekaragaman Genetik.....	12
2.3. Famili Lamiaceae .....	13
2.4. <i>Orthosiphon</i> Spp. (Kumis Kucing) .....	14
2.5. DNA Barcoding.....	17
2.6. <i>Intergenic Spacer trnL-F</i> .....	18
2.7. Teknik Molekuler .....	21
2.7.1. Isolasi DNA .....	21
2.7.2. Elektroforesis DNA Isolasi.....	22
2.7.3. Amplifikasi DNA.....	22
2.7.4. Elektroforesis Hasil PCR.....	26
2.8. Kajian Penelitian Relevan .....	27
BAB III. METODE PENELITIAN.....	29
3.1. Jenis Penelitian .....	29
3.2. Sampel Penelitian .....	29
3.3. Waktu dan Lokasi Penelitian.....	30
3.4. Prosedur Penelitian.....	30
3.4.1. Preparasi Sampel .....	31

3.4.2.	Ekstraksi DNA.....	31
3.4.3.	Uji Kualitatif dan Kuantitatif DNA .....	34
3.4.4.	Amplifikasi DNA.....	35
3.4.5.	Elektroforesis Produk PCR.....	36
3.4.6.	Sequencing.....	37
3.4.7.	Analisis Data.....	37
BAB IV.	TEMUAN DAN PEMBAHASAN.....	39
4.1.	Temuan Penelitian .....	39
4.1.1.	Morfologi <i>Orthosiphon</i> Sp. nov. ....	39
4.1.2.	Kualifikasi dan Kuantifikasi DNA <i>Orthosiphon</i> Spp. ....	41
4.1.3.	Amplifikasi Daerah <i>Intergenic Spacer trnL-F</i> .....	42
4.1.4.	Konsensus Sekuens DNA, Komposisi Nukleotida, dan Jarak Genetik .....	43
4.1.5.	Konstruksi Pohon Filogenetik dan Nilai Indeks Konsistensi ..	46
4.2.	Pembahasan .....	47
4.2.1.	Kualifikasi dan Kuantifikasi DNA <i>Orthosiphon</i> .....	47
4.2.2.	Amplifikasi dan Sequencing Daerah <i>trnL-F Intergenic Spacer</i> .....	49
4.2.3.	Analisis Homologi Sekuens DNA, Komposisi Nukleotida, dan Jarak Genetik .....	51
4.2.4.	Analisis Filogenetik.....	52
BAB V.	SIMPULAN, IMPLIKASI, DAN REKOMENDASI.....	56
A.	Simpulan.....	56
B.	Implikasi.....	56
C.	Rekomendasi .....	56
DAFTAR PUSTAKA	.....	58
DAFTAR LAMPIRAN	.....	65

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1.</b> Distribusi Lamiaceae di seluruh dunia (Frezza <i>et al.</i> , 2019). .....	13
<b>Gambar 2.2.</b> (a) <i>Orthosiphon</i> bunga putih, (b) <i>Orthosiphon</i> bunga ungu, (c) <i>Orthosiphon</i> sp. nov. (Dokumentasi pribadi, 2023).....	15
<b>Gambar 2.3.</b> (a), (b).Morfologi Bunga <i>Orthosiphon aristatus</i> (Febjislami <i>et al.</i> , 2019) .....	16
<b>Gambar 2.4.</b> Genom Plastida (Abdullah <i>et al.</i> , 2020) .....	19
<b>Gambar 2. 5.</b> Lokasi primer <i>trnL-F</i> yang digunakan (Taberlet <i>et al.</i> , 1991).....	20
<b>Gambar 3.1.</b> Langkah Penghancuran Jaringan .....	31
<b>Gambar 3.2.</b> Langkah ekstraksi DNA tahap lisis.....	32
<b>Gambar 3.3.</b> Langkah pengikatan DNA dalam ekstraksi .....	33
<b>Gambar 3.4.</b> Langkah ekstraksi DNA tahap pencucian.....	34
<b>Gambar 3.5.</b> Langkah elusi DNA dalam ekstraksi .....	34
<b>Gambar 3.6.</b> Kondisi PCR .....	36
<b>Gambar 4.1.</b> Morfologi Daun. Keterangan: (a) <i>Orthosiphon aristatus</i> bunga putih, (b) <i>Orthosiphon aristatus</i> bunga umgu, (c) <i>Orthosiphon</i> sp. nov.....	40
<b>Gambar 4.2.</b> Morfologi Bunga. Keterangan: (a) <i>Orthosiphon aristatus</i> bunga ungu, (b) <i>Orthosiphon</i> sp. nov .....	40
<b>Gambar 4.3.</b> Elektroforegram hasil isolasi sampel.....	41
<b>Gambar 4.4.</b> Hasil Amplifikasi .....	43
<b>Gambar 4. 5.</b> Hasil BLAST sampel.....	45
<b>Gambar 4.6.</b> Hasil Rekonstruksi pohon filogenetik Neighbor-Joining .....	46
<b>Gambar 4.7.</b> Nilai CI dan RI.....	47

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 3.1.</b> Sampel yang akan diekstraksi.....	29
<b>Tabel 3.2.</b> Sampel <i>Orthosiphon</i> spp. dari <i>Genbank</i> .....	30
<b>Tabel 3.3.</b> Primer <i>trnL-F</i> intergenic spacer yang digunakan .....	35
<b>Tabel 3.4.</b> Komposisi <i>master mix</i> PCR primer <i>trnL-F</i> .....	36
<b>Tabel 3.5.</b> Tahapan amplifikasi DNA primer <i>trnL-F</i> .....	36
<b>Tabel 4.1.</b> Hasil Uji Kuantitatif DNA Sampel.....	42
<b>Tabel 4.2.</b> Panjang basa nitrogen setiap sekuens setelah <i>sequencing</i> .....	44
<b>Tabel 4.3.</b> Persentase basa nukleotida sekuen <i>trnL-F intergenic spacer</i> .....	45

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1.</b> Dokumentasi Penelitian .....	65
<b>Lampiran 2.</b> Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian .....	66
<b>Lampiran 3.</b> Tabel matriks jarak genetik ( <i>pairwise distance</i> ) .....	68
<b>Lampiran 4.</b> Hasil elektroferogram daerah <i>trnL-F Intergenic Spacer</i> .....	69
<b>Lampiran 5.</b> Gambar hasil <i>multiple alignment</i> sekuen <i>trnL-F Intergenic Spacer</i> 76	

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, B. (2006). Keragaman genetik tanaman sagu di Indonesia berdasarkan marka molekuler genom kloroplas dan genom inti [disertasi]. *Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor*.
- Abdel-Latif, A., & Osman, G. (2017). Comparison of three genomic DNA extraction methods to obtain high DNA quality from maize. *Plant Methods*, *13*, 1–9.
- Abdullah, Mehmood, F., Shahzadi, I., Waseem, S., Mirza, B., Ahmed, I., & Waheed, M. T. (2020). Chloroplast genome of *Hibiscus rosa-sinensis* (Malvaceae): Comparative analyses and identification of mutational hotspots. *Genomics*, *112*(1), 581–591. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2019.04.010>
- Adrienne E. Ng., Sandoval, E., & Murphy, T. M. (2016). Identification and Individualization of *L. ophophora* using DNA Analysis of the trn L/trn F Region and rbc L Gene. *Journal of Forensic Sciences*, *61*, S226–S229.
- Ahlering, M. A., Hedges, S., Johnson, A., Tyson, M., Schuttler, S. G., & Eggert, L. S. (2011). Genetic diversity, social structure, and conservation value of the elephants of the Nakai Plateau, Lao PDR, based on non-invasive sampling. *Conservation Genetics*, *12*, 413–422.
- Amoah, S., Sandjo, L., Kratz, J., & Biavatti, M. (2016). Rosmarinic acid—pharmaceutical and clinical aspects. *Planta Medica*, *82*(05), 388–406.
- Andriani, T. (2016). *Aplikasi Metode UPGMA untuk Identifikasi Kekerbatan Jenis Virus dan Penyebaran Epidemi Ebola melalui Pembentukan Pohon Filogenetik*. Thesis Program Magister. Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
- Arbi, U. Y. (2016). Analisis kladistik berdasar karakter morfologi untuk studi filogeni: contoh kasus pada Conidae (Gastropoda: Mollusca). *Oseana*, *41*, 54–69.
- Ardiyani, M., Sulistyaningsih, L. D., & Esthi, Y. N. (2014). Keragaman genetik *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze (Taccaceae) dari beberapa provenansi di Indonesia berdasarkan marka inter simple sequence repeats (ISSR). *Berita Biologi*, *13*(1), 85–96.
- Borsch, T., & Quandt, D. (2009). Mutational dynamics and phylogenetic utility of noncoding chloroplast DNA. *Plant Systematics and Evolution*, *282*, 169–199.
- Buerki, S., Callmander, M. W., Devey, D. S., Chappell, L., Gallaher, T., Munzinger, J., Haevermans, T., & Forest, F. (2012). Straightening out the screwpines: A first step in understanding phylogenetic relationships within Pandanaceae. *Taxon*, *61*(5), 1010–1020.
- Cahyandari, R., & Nursolihah, R. (2015). Penerapan Model Markov Tersembunyi untuk Mengetahui Persentase Kecocokan dari Deoxyribonucleic Acid pada Pohon Filogenetik Ursidae (Beruang). *Statistika*, *15*(2), 73–86.
- Callmander, M. W., Booth, T. J., Beentje, H., & Buerki, S. (2013). Update on the systematics of *Benstonea* (Pandanaceae): When a visionary taxonomist foresees phylogenetic relationships. *Phytotaxa*, *112*(2), 57–60.
- Chase, M. W., Christenhusz, M. J. M., Fay, M. F., Byng, J. W., Judd, W. S., Soltis, D. E., Mabberley, D. J., Sennikov, A. N., & Soltis, P. S. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, *181*(1),



1–20.

- Chatrou, L. W., Pirie, M. D., Erkens, R. H. J., Couvreur, T. L. P., Neubig, K. M., Abbott, J. R., Mols, J. B., Maas, J. W., Saunders, R. M. K., & Chase, M. W. (2012). A new subfamilial and tribal classification of the pantropical flowering plant family Annonaceae informed by molecular phylogenetics. *Botanical Journal of the Linnean Society*, *169*(1), 5–40.
- Chen, C. W., Huang, Y. M., Kuo, L. Y., Nguyen, Q. D., Luu, H. T., Callado, J. R., Farrar, D. R., & Chiou, W. L. (2013). trnL-F is a powerful marker for DNA identification of field vittarioid gametophytes (Pteridaceae). *Annals of Botany*, *111*(4), 663–673.
- Daniyati, F. A. (2021). *Analisis filogenetik Percil Jawa (Microhyla achatina Tscudi 1838) di Jawa Tengah dan Jawa Barat secara in-silico menggunakan software MEGA6 dan mrBayes*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- de Groot, G. A., During, H. J., Maas, J. W., Schneider, H., Vogel, J. C., & Erkens, R. H. J. (2011). Use of rbcL and trnL-F as a two-locus DNA barcode for identification of NW-European ferns: an ecological perspective. *PLoS One*, *6*(1), e16371.
- Dharmayanti, N. (2011). Filogenetika molekuler: metode taksonomi organisme berdasarkan sejarah evolusi. *Wartazoa*, *21*(1), 1–10.
- Diekmann, K., Hodkinson, T. R., Wolfe, K. H., van den Bekerom, R., Dix, P. J., & Barth, S. (2009). Complete chloroplast genome sequence of a major allogamous forage species, perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *DNA Research*, *16*(3), 165–176.
- Faramayuda, F., Mariani, T. S., Elfahmi, E., & Sukrasno, S. (2021). Potential of *Orthosiphon aristatus* Blume Miq as Antiviral: A Review: doi.org/10.26538/tjnpr/v5i3. 1. *Tropical Journal of Natural Product Research (TJNPR)*, *5*(3), 410–419.
- Faramayuda, F., MARIANI, T. S. R. I., ELFAHMI, E., & SUKRASNO, S. (2020). Callus induction in purple and white-purple varieties of *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, *21*(10).
- Fatchiyah, E. L. A., Widyarti, S., & Rahayu, S. (2011). Biologi molekuler: Prinsip dasar analisis. In *Penerbit Erlangga.Malang*.
- Febjislami, S., Kurniawati, A. N. I., Melati, M., & Wahyu, Y. (2019). Morphological characters, flowering and seed germination of the Indonesian medicinal plant *Orthosiphon aristatus*. *Biodiversitas*, *20*(2), 328–337. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200204>
- Fitmawati, F., FAUZIAH, R., HAYATI, I., SOFIYANTI, N., INOUE, E., & MATRA, D. D. (2017). Phylogenetic analysis of Mangifera from central region of Sumatra using trnL-F intergenic spacer. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, *18*(3), 1035–1040.
- Frezza, C., Venditti, A., Serafini, M., & Bianco, A. (2019). Phytochemistry, Chemotaxonomy, Ethnopharmacology, and Nutraceuticals of Lamiaceae. In *Studies in Natural Products Chemistry* (1st ed., Vol. 62). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64185-4.00004-6>
- Gernandt, D. S., Vining, T. F., Campbell, C. S., Piñero, D., & Liston, A. (1999). Molecular phylogeny of Pinaceae and Pinus. *IV International Conifer Conference 615*, 107–114.

- Gosline, G., Marshall, A. R., & Larridon, I. (2019). Revision and new species of the African genus *Mischogyne* (Annonaceae). *Kew Bulletin*, 74(2), 28.
- Graur, D., & Li, W.-H. (1997). *Molecular evolution*. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Habibah, N. A., Anggraito, Y. U., Abdullah, M., Sidiq, H. A., Angeliena, A., Ma'ruf, A., Huyop, F., & Retnoningsih, A. (2019). Morphological-based diversity analysis of durian from Kundur Island, Indonesia. *AIP Conference Proceedings*, 2155(1).
- Halide, E. S., & Paserang, A. P. (2020). KERAGAMAN GENETIK, HERITABILITAS DAN KORELASI ANTAR KENTANG (*Solanum tuberosum* L.) YANG DIBUDIDAYAKAN DI NAPU. *Biocelebes*, 14(1), 94–104. <https://doi.org/10.22487/bioceb.v14i1.15090>
- Hariri, M. R., Peniwidiyanti, P., Irsyam, A. S. D., Irwanto, R. R., Martiansyah, I., Kusnadi, K., & Yuhaeni, E. (2021). Molecular Identification and Morphological Characterization of *Ficus* sp.(Moraceae) in Bogor Botanic Gardens. *Jurnal Biodjati*, 6(1), 36–44. doi: 10.15575/biodjati.v6i1.10852
- Harsono, T., Pasaribu, N., & Prasetya, E. (2017). Phylogenetic analysis of Indonesian *gandaria* (*Bouea*) using molecular markers of cpDNA trnL-F intergenic spacer. *Jurnal Biodiversitas*, 18(01), 51–57.
- Hartana, A. (2010). Phylogenetic study of *Mangifera laurina* and its related species using cpDNA trnL-F spacer markers. *Hayati Journal of Biosciences*, 17(1), 9–14.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., & DeWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1512), 313–321.
- Hidayat, T., & Pancoro, A. (2016). Ulasan kajian filogenetika molekuler dan peranannya dalam menyediakan informasi dasar untuk meningkatkan kualitas sumber genetik anggrek. *Jurnal AgroBiogen*, 4(1), 35–40.
- Horiike, T. (2016). An introduction to molecular phylogenetic analysis. *Reviews in Agricultural Science*, 4, 36–45.
- Isaev, A. (2004). *Introduction to mathematical methods in bioinformatics*. Springer.
- Izzah, N. K. (2019). Pemilihan Tetua Persilangan Pada Kubis (*Brassica Oleracea* Var. *Capitata*) Melalui Analisis Keragaman Genetik [Parental Line Selection in Cabbage (*Brassica Oleracea* Var. *Capitata*) Through Genetic Diversity Analysis]. *Jurnal Hortikultura*, 28(1), 33–40.
- Kasi, P. D., Ariandi, A., & Tenriawaru, E. P. (2019). Identifikasi bakteri asam laktat dari limbah cair sugu dengan gen 16s rna. *Majalah Ilmiah Biologi BIOSFERA: A Scientific Journal*, 36(1), 35–40.
- Kocyan, A., Qiu, Y.-L., Endress, P. K., & Conti, E. (2004). A phylogenetic analysis of *Apostasioideae* (Orchidaceae) based on ITS, trn LF and mat K sequences. *Plant Systematics and Evolution*, 247, 203–213.
- Kowalska, Z., Pniewski, F., & Latała, A. (2019). DNA barcoding—A new device in phycologist's toolbox. *Ecology & Hydrobiology*, 19(3), 417–427.
- Kress, W. J., Wurdack, K. J., Zimmer, E. A., Weigt, L. A., & Janzen, D. H. (2005). Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(23), 8369–8374.
- Laltanpuui, N., Kumar, S., & Mathai, M. T. (2014). Molecular and phylogenetic

- analysis of the genus *Orthetrum* (Odonata: anisoptera: Libellulidae) using mitochondrial COI gene. *Science Vision*, 14(3), 152–157.
- Lee, S.-C., Wang, C.-H., Yen, C.-E., & Chang, C. (2017). DNA barcode and identification of the varieties and provenances of Taiwan's domestic and imported made teas using ribosomal internal transcribed spacer 2 sequences. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(2), 260–274.
- Li, C., Lu, S., & Barrington, D. S. (2008). Phylogeny of Chinese *Polystichum* (Dryopteridaceae) based on chloroplast DNA sequence data (trnL-F and rps4-trnS). *Journal of Plant Research*, 121, 19–26.
- Li, Cantino, P. D., Olmstead, R. G., Bramley, G. L. C., Xiang, C.-L., Ma, Z.-H., Tan, Y.-H., & Zhang, D.-X. (2016). A large-scale chloroplast phylogeny of the Lamiaceae sheds new light on its subfamilial classification. *Scientific Reports*, 6(1), 34343.
- Lipscomb, D. (1998). Basics of cladistic analysis. *George Washington University, Washington DC, 20052*.
- Martiansyah, I. (2021). Mini Review: Pendekatan Molekuler DNA Barcoding: Studi Kasus Identifikasi dan Analisis Filogenetik *Syzygium* (Myrtaceae). *Sustainable Development Goals with Biodiversity in Confronting Climate Change Gowa*. <http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb>
- Maruf, A. (2020). *Analisis Filogeni Durian Pulau Kundur Kepulauan Riau Berdasarkan Sekuen trnL-F Intergenic Spacer*.
- Matsubara, T., Bohgaki, T., Watarai, M., SUZUKI, H., OHASHI, K., & SHIBUYA, H. (1999). Antihypertensive actions of methylripariochromene A from *Orthosiphon aristatus*, an Indonesian traditional medicinal plant. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 22(10), 1083–1088.
- MELLY, M. (2021). *BARCODE DNA PADA TANAMAN GAMBIR (Uncaria Gambir (Hunter) Roxb.) BERDASARKAN GEN INTERNAL TRANSCRIBED SPACER-1 (ITS-1)*. Universitas Perintis Indonesia.
- Muladno, I. (2021). *Teknologi Rekayasa Genetika Edisi Kedua*.
- Mullis, K. B. (1990). The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Scientific American*, 262(4), 56–65.
- Muzzazinah. (2017). Metode Filogenetik pada Indigofera. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi Dan Biologi, Rifai 2011*, 25–40.
- NCBI. (2021). *Eupatorin*. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/97214>
- Nurkholidah. (2019). *Karakterisasi morfologi dan barkoding DNA Globba atrosanguinea teijsm. & binn.(zingiberaceae) aksesi Kalimantan* [Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah ...]. <https://repository.uinjkt.ac.id/dspace/handle/123456789/48315>
- Olmstead, R. (2005). A synoptical classification of the Lamiales. *University of Washington*, 16.
- Pangestika, Y., Budiharjo, A., & Kusumaningrum, H. P. (2015). Analisis filogenetik *Curcuma zedoaria* (temu putih) berdasarkan gen Internal Transcribed Spacer (ITS). *Jurnal Akademika Biologi*, 4(4), 8–13.
- Pervaiz, Z. H., Turi, N. A., Khaliq, I., Rabbani, M. A., & Malik, S. A. (2011). Methodology: a modified method for high-quality DNA extraction for molecular analysis in cereal plants. *Genetics and Molecular Research: GMR*,

- 10(3), 1669–1673.
- Petersen, M., Abdullah, Y., Benner, J., Eberle, D., Gehlen, K., Hücherig, S., Janiak, V., Kim, K. H., Sander, M., & Weitzel, C. (2009). Evolution of rosmarinic acid biosynthesis. *Phytochemistry*, 70(15–16), 1663–1679.
- Primiani, C. N., & Pujiati, P. (2017). Leguminosae kacang gude (*Cajanus cajan*) dan manfaatnya untuk kesehatan. *Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian LPPM Universitas PGRI Madiun*, 31–35.
- Puspitaningrum, R., & Adhiyanto, C. (2018). *Genetika Molekuler Dan Aplikasinya*. Deepublish.
- Restu, M., Mukrimin, M., & Gusmiaty, G. (2012). Optimalisasi teknik ekstraksi dan isolasi DNA tanaman suren (*Toona Sureni Merr.*) untuk analisis keragaman genetik berdasarkan Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Jurnal Natur Indonesia*, 14(1), 138–142.
- Retnaningati, D. (2017). Hubungan Filogenetik Intraspesies Cucumis melo L. berdasarkan DNA Barcode Gen matK. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 62–67.
- Retnoningsih, A., Megia, R., & Hartana, A. (2014). Phylogenetic Relationships of Indonesian Banana Cultivars Inferred from trnL-F Intergenic Spacer of Chloroplast DNA. *Floribunda*, 4(8).
- Roslim, D. I., & Fitriani, A. (2021). Barkoding DNA pada Tumbuhan Durik-Durik (*Syzygium sp.*) Asal Riau Menggunakan Daerah Gen ndhF. *Jurnal Bios Logos*, 11(1), 41–46.
- Roslim, D. I., & Herman, H. (2017). Application of rps16 Intron and trnL-trnF Intergenic Spacer Sequences to Identify Rengas Clone Riau. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 9(2), 209–216.
- Saitou, N., & Imanishi, T. (1989). *Relative efficiencies of the Fitch-Margoliash, maximum-parsimony, maximum-likelihood, minimum-evolution, and neighbor-joining methods of phylogenetic tree construction in obtaining the correct tree*.
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4), 406–425.
- Sanderson, M. J., & Donoghue, M. J. (1989). Patterns of variation in levels of homoplasy. *Evolution*, 43(8), 1781–1795.
- Sembiring, I. M. S., Putri, L. A. P., & Setiado, H. (2015). Aplikasi penanda lima primer rapd (Random Amplified Polimorphic DNA) untuk analisis keragaman genetik andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium DC*) Sumatera Utara. *Jurnal Agroekoteknologi. E-ISSN No, 2337, 6597*.
- Shaw, J., Lickey, E. B., Beck, J. T., Farmer, S. B., Liu, W., Miller, J., Siripun, K. C., Winder, C. T., Schilling, E. E., & Small, R. L. (2005). The tortoise and the hare II: relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *American Journal of Botany*, 92(1), 142–166.
- Shaw, J., Lickey, E. B., Schilling, E. E., & Small, R. L. (2007). Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. *American Journal of Botany*, 94(3), 275–288.
- Shen, S. (2008). *Theory and Mathematical methods in Bioinformatics*. Springer

Science & Business Media.

- Singh, J., Kakade, D. P., Wallalwar, M. R., Raghuvanshi, R., Kongbrailatpam, M., Verulkar, S. B., & Banerjee, S. (2017). Evaluation of potential DNA barcoding loci from plastid genome: intraspecies discrimination in rice (*Oryza* species). *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*, 6(5), 2746–2756.
- Subari, A., Razak, A., & Sumarmin, R. (2021). Phylogenetic Analysis of *Rasbora* spp. Based on the Mitochondrial DNA COI gene in Harapan Forest. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(1), 89–94.
- Sudarmono, Kim, S. Y., & Paik, J. H. (2020). Contradictory between morphology and phylogenetic trees of *Orthosiphon* spp. (Lamiaceae) from Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 457(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/457/1/012030>
- Sugiyono, P. (2019). Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R&D (D. Sutopo. S. Pd, MT, Ir. Bandung: Alfabeta.
- Sulistyaningsih, E. (2007). Polymerase Chain Reaction (PCR): era baru diagnosis dan manajemen penyakit infeksi. *Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Jember*, 1(1), 16–25.
- Surakusumah, W. (2013). Perubahan Iklim dan Pengaruhnya terhadap Keanekaragaman Hayati. *Jurnal Pendidikan Indonesia*, 1–24.
- Taariwuan, M. B., Ngangi, J., Mokosuli, Y., & Gedoan, S. (2021). DNA Barcoding Dalugha (*Cyrtosperma Merkusii*) di Kepulauan Talaud dan Minahasa Selatan Berdasarkan Gen *rbcL*. *JURNAL BIOS LOGOS*, 11(2), 134–138.
- Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G., Bouvet, J., Biologie, L. De, & Fourier, U. J. (1991). Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology*, 17(ii), 1105–1109.
- Thompson, R. B., & Thompson, B. F. (2012). *Illustrated guide to home biology experiments: all lab, no lecture*. “O’Reilly Media, Inc.”
- Vasconcelos, T. N. C., Proença, C. E. B., Ahmad, B., Aguilar, D. S., Aguilar, R., Amorim, B. S., Campbell, K., Costa, I. R., De-Carvalho, P. S., & Faria, J. E. Q. (2017). Myrteae phylogeny, calibration, biogeography and diversification patterns: increased understanding in the most species rich tribe of Myrtaceae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 109, 113–137.
- Wäldchen, J., Rzanny, M., Seeland, M., & Mäder, P. (2018). Automated plant species identification—Trends and future directions. *PLoS Computational Biology*, 14(4), e1005993.
- Wan, Q., Wu, H., Fujihara, T., & Fang, S. (2004). Which genetic marker for which conservation genetics issue? *Electrophoresis*, 25(14), 2165–2176.
- Wang, J., Gong, X., Chiang, Y., & Kuroda, C. (2013). Phylogenetic patterns and disjunct distribution in *Ligularia hodgsonii* Hook.(Asteraceae). *Journal of Biogeography*, 40(9), 1741–1754.
- Wicke, S., Schneeweiss, G. M., Depamphilis, C. W., Müller, K. F., & Quandt, D. (2011). The evolution of the plastid chromosome in land plants: gene content, gene order, gene function. *Plant Molecular Biology*, 76, 273–297.
- Wu, D.-C., He, D.-M., Gu, H.-L., Wu, P.-P., Yi, X., Wang, W.-J., Shi, H.-F., Wu, D.-X., & Sun, G. (2016). Origin and evolution of allopolyploid wheatgrass *Elymus fibrosus* (Schrenk) Tzvelev (Poaceae: Triticeae) reveals the effect of

- its origination on genetic diversity. *PLoS One*, 11(12), e0167795.
- Yang, & Pak. (2006). Phylogeny of Korean *Rubus* (Rosaceae) based on ITS (nrDNA) and trnL/F intergenic region (cpDNA). *Journal of Plant Biology*, 49, 44–54.
- Yang, R., Feng, X., & Gong, X. (2017). Genetic structure and demographic history of *Cycas chenii* (Cycadaceae), an endangered species with extremely small populations. *Plant Diversity*, 39(1), 44–51.
- Yang, & Rannala. (2012). Molecular phylogenetics: principles and practice. *Nature Reviews Genetics*, 13(5), 303–314.
- Yurtseva, O. V., Kuznetsova, O. I., & Mavrodiev, E. V. (2016). A broadly sampled 3-loci plastid phylogeny of *Atraphaxis* (Polygoneae, Polygonoideae, Polygonaceae) reveals new taxa: I. *Atraphaxis kamelinii* spec. nov. from Mongolia. *Phytotaxa*, 268(1), 1–24.
- Yuwono, T., & Safitri, A. (2005). *Biologi molekuler*.
- Zhang, W.-H., Chen, Z.-D., Li, J.-H., Chen, H.-B., & Tang, Y.-C. (2003). Phylogeny of the Dipsacales s.l. based on chloroplast trnL-F and ndhF sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 26(2), 176–189.