

## DNA BARCODING LIBRARY DATABASE OF AQUILARIA MEMBER AND GYRINOPS MEMBER

I Gde Adi Suryawan Wangiyana

Program Studi Kehutanan Universitas Pendidikan Mandalika

[dede.consultant@gmail.com](mailto:dede.consultant@gmail.com)

### Abstract

Aquilaria and Gyrinops are the primary agarwood producer on international trade. For authentication and standardization purposes, it is essential to carry DNA barcoding studies of these genera. DNA barcoding studies on plants need a database of several regions on the plant genome that could act as a barcoding marker. These DNA barcoding markers could be divided into Chloroplasts barcoding and Nuclear barcoding. Several markers have been used for DNA barcoding study of agarwood producer species, including trnL-trnF, matK, rbcL, rpoC1, ycf1 (Chloroplast barcoding), and ITS (Nuclear barcoding). This review breakdown the availability of those DNA barcoding markers on the online genebank database for Aquilaria and Gyrinops. Aquilaria genus has 12 species members, while Gyrinops genus has six species members. The sequence of region trnL-trnF is the only barcoding marker covering all 12 species members of Aquilaria and six species members of Gyrinops. Both ITS and matK have covered nine species among 12 total species members of Aquilaria. The rbcL, rpoC1, and ycf1, respectively, have covered eight, five, and four species members of Aquilaria. Most of the barcoding markers have covered three species members of Gyrinops except for ITS (5 species) and rpoC1 (1 species). However, Gyrinops members have no ycf1 sequence on genebank database. Based on sequence availability on the genebank database, it could be concluded that the trnL-trnF region is the most promising DNA barcoding marker for the Aquilaria and Gyrinops members especially for the phylogenetic analysis purpose.

Keywords : DNA barcoding, Aquilaria, Gyrinops

### PENDAHULUAN

Kelompok Aquilaria dan Gyrinops dikenal sebagai penghasil komoditi gaharu yang merupakan hasil hutan bukan kayu bernilai ekonomis tinggi (Wangiyana dan Malik, 2018). Pengembangan industri gaharu baik dari tahap hulu sampai hilir umumnya berfokus pada spesies anggota kedua genus tersebut (Wangiyana dan Putri, 2019). Demikian pula dengan fokus riset dan pengembangan yang secara dominan mengkaji kedua genus tersebut terutama dalam hal autentifikasi spesies (Wangiyana, 2019).

Autentifikasi spesies menjadi semakin krusial bagi kelompok Aquilaria dan Gyrinops. Hal ini dikarenakan kedua kelompok ini masuk dalam CITES Apendix I dan II (Schmidt, 2011). Autentifikasi tersebut diperlukan dalam hal konservasi sekaligus penentuan kuota komoditi gaharu dari kedua genus tersebut (Lee et al., 2016a).

DNA barcoding merupakan salah satu metode autentifikasi spesies yang dapat

diandalkan di era biologi molekuler saat ini (Tanaka dan Ito, 2019). DNA barcoding sekaligus dapat dijadikan sebagai metode untuk standardisasi kualitas bahan baku produk industri (Salgueiro et al., 2009). Hal ini merupakan suatu peranan yang krusial karena kualitas bahan baku menentukan kualitas produk industri yang dihasilkan (Sgamma et al., 2017).

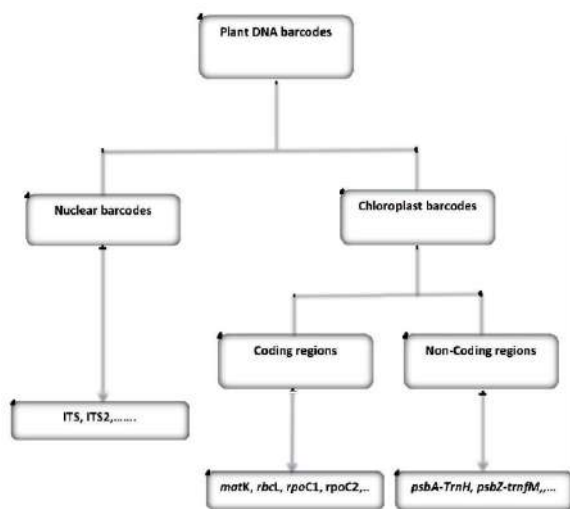
Studi DNA barcoding memerlukan pemilihan marker yang digunakan sebagai bahan utama dalam klasifikasi secara molekuler (De Mattia et al., 2010). Marker molekuler tersebut berupa region dalam DNA genom yang dapat diamplifikasi oleh primer universal. Total terdapat 17 region DNA barcoding yang dilaporkan pada tanaman terutama tanaman berkhasiat medis (Chase and Fay, 2009). Marker DNA barcoding untuk tanaman yang disarankan oleh Consortium for the Barcode of Life-Plant Working Group (CBOL) adalah yang memiliki nilai efisiensi diskriminasi sebesar 72%. Oleh karena itulah pemilihan marker untuk DNA

barcoding merupakan hal yang penting untuk dilakukan (CBOL Plant Working Group, 2009).

Marker DNA barcoding yang umum digunakan pada spesies penghasil komoditi gaharu diantaranya adalah *matK*, *rbcL*, *rpoC1*, *trnL-trnF*, dan ITS (Lee et al., 2016a). Penelusuran database marker DNA barcoding tersebut merupakan hal yang esensial untuk menunjang penyediaan data identifikasi spesies penghasil gaharu yang autentik. Oleh karena itu, artikel ini bertujuan untuk melakukan review terhadap database marker DNA barcoding spesies penghasil gaharu pada gene bank yang terintegrasi secara daring.

### JENIS MARKER DNA BARCODE

Secara umum Jenis DNA barcode pada tanaman dapat dibedakan menjadi Nuclear barcode dan chloroplast barcode. Nuclear barcode umumnya berisi non-coding region. Sementara itu Chloroplast barcode dapat dibedakan menjadi coding region dan non-coding region (Enan, 2015). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Tipe marker DNA barcode pada tanaman (Enan, 2015)

Hal krusial yang harus diperhatikan dalam menganalisis marker DNA barcode adalah menentukan primer yang tepat. Primer yang tepat akan mengamplifikasi region barcode seperti yang diharapkan. Beberapa primer universal untuk amplifikasi region chloroplast barcode telah berhasil dipetakan (Demesure et al., 1995). Sementara itu, untuk Nuclear barcode pada tanaman umumnya terdiri dari beberapa copy lokus yang sangat variatif sehingga sulit untuk dipetakan pembuatan primer universalnya

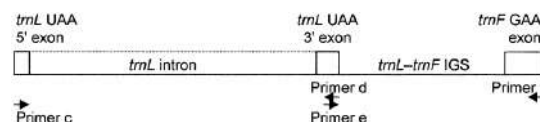
(Yu et al., 2011). Beberapa contoh primer untuk region DNA barcoding disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Referensi desain primer untuk amplifikasi sekuen DNA barcoding

Region	Primer	Sekuen (5' → 3')	Referensi
ITS	ITS5_F	GGAAGTAAAAGTCGTAAC AAGG	Cleverdon et al., 2018
	ITS4_R	TCCTCCGCTTATTGATATG C	
<i>matK</i>	3F-KIM f	CGTACAGTACTTTTGTGTT TACGAG	White et al., 1990
	1R-KIM r	ACCCAGTCCATCTGGAAA TCTTGGTTC	
<i>rbcL</i>	<i>rbcL</i> -aF	ATGTCACCACAAACAGAG ACTAAAGC	Jeanson et al., 2011
	<i>rbcL</i> -aR	CTTCTGCTACAAATAAGA ATCGATCTC	
<i>rpoC1</i>	2F	GGCAAAGAGGGAAGATT TCG	Levin et al., 2003
	4R	CCATAAGCATATCTTGAG TTGG	
<i>ycf1</i>	<i>ycf1</i> bF	TCTCGACGAAAATCAGAT TGTGTGAAT	Sass et al., 2007
	<i>ycf1</i> bR	ATACATGTCAAAGTGATG GAAAA	
<i>trnL-trnF</i>	e	GGTCAAGTCCCTCTATC CC	Dong et al., 2015
	f	ATTGAACTGGTGACACG AG	

### BARCODE REGION TRNL-TRNF

TrnL-trnF region merupakan salah satu kelompok chloroplast barcode. Region ini terletak pada large single-copy region dari genome chloroplast. Region ini terdiri dari gen *trnL*, grup intron 1 dan *trnL-trnF* intergenic spacer (Hao et al., 2009). Lokasi annealing primer untuk region *trnL-trnF* dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Lokasi Anealing primer untuk region *trnL-trnF*

Sekuen *trnL-trnF* merupakan marker DNA barcoding yang umum digunakan dalam analisis filogenetik species penghasil gaharu dari kelompok *Aquilaria* dan *Gyrinops* (Wangiyana, 2016). Sekuen *trnL-trnF* seluruh anggota genus *Aquilaria* yang berjumlah 12 spesies dan genus *Gyrinops* yang berjumlah 6 spesies tercatat lengkap pada database genebank NCBI (tabel 2).

Berdasarkan data sekuen pada tabel 2, rata-rata sekuen *trnL-trnF* pada database NCBI memiliki ukuran antara 447 bp – 582 bp (Farah et al., 2018; Eurlings & Gravendeel, 2003). Sementara itu sekuen – sekuen tersebut tergolong cukup lengkap yang dikoleksi dari

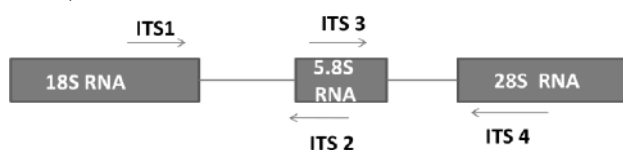
berbagai negara penghasil gaharu di Asia seperti Indonesia, Thailand, Malaysia (Asia Tenggara), China (Asia Timur) dan India (Asia Selatan). Hal ini kembali menegaskan bahwa sekuen ini merupakan DNA barcoding yang ideal untuk kelompok *Aquilaria* dan *Gyrinops* (Wangiyana, 2016).

**Tabel 2. Database sekuen trnL-trnF**

No Spesies	Assesion Number	BP	Asal Spesimen	Referensi
<b>Genus <i>Aquilaria</i></b>				
1 <i>A. subintegra</i>	KU244049	499	Thailand	Lee et al., 2016a
2 <i>A. rostrata</i>	KT364475	500	Malaysia	Lee & Mohamed, 2016
3 <i>A. yunnanensis</i>	MH603329	462	China	Feng et al., 2018
4 <i>A. sinensis</i>	KF018041	471	China	Jiao et al., 2013
5 <i>A. rugosa</i>	MF443430	463	Thailand	Farah et al., 2018
6 <i>A. cumingiana</i>	KT726320	499	Indonesia	Lee et al., 2016b
7 <i>A. agallochum</i>	MF443428	447	India	Farah et al., 2018
8 <i>A. microcarpa</i>	KU244042	498	Indonesia	Lee et al., 2016a
9 <i>A. urdanetensis</i>	AY216750	582	Indonesia	Eurlings & Gravendeel, 2003
10 <i>A. parvifolia</i>	AY216748	581	Indonesia	Eurlings & Gravendeel, 2003
11 <i>A. khasiana</i>	AY216744	570	Indonesia	Eurlings & Gravendeel, 2003
12 <i>A. hirta</i>	KT364472	497	Malaysia	Lee & Mohamed, 2016
<b>Genus <i>Gyrinops</i></b>				
1 <i>G. versteegii</i>	KU244054	500	Indonesia	Lee et al., 2016a
2 <i>G. walla</i>	AY216758	544	Indonesia	Eurlings & Gravendeel, 2003
3 <i>G. salicifolia</i>	AY216757	556	Indonesia	Eurlings & Gravendeel, 2003
4 <i>G. ledermannii</i>	AY216755	563	Indonesia	Eurlings & Gravendeel, 2003
5 <i>G. caudata</i>	KT726323	500	Indonesia	Lee et al., 2016b
6 <i>G. moluccana</i>	KT726325	498	Indonesia	Lee et al., 2016b

## BARCODE REGION ITS

Internal Transcribe Spacer (ITS) merupakan region yang mengapit 3 subunit dari RNA yaitu 18S rRNA, 5.8S rRNA dan 28S rRNA. Total terdapat 4 region ITS diantara subunit RNA tersebut yaitu ITS1, ITS 2, ITS 3 dan ITS 4 (Gambar 3). Diantara region ITS lainnya, ITS 1-ITS2 yang mengapit region 5.8S rRNA dengan panjang sekuen 400 sampai 1000 bp merupakan marker yang paling umum digunakan dalam studi DNA barcoding (Alvarez and Wandel, 2003).



Gambar 3. Susunan ITS diantara Subunit RNA (Sahid, 2004)

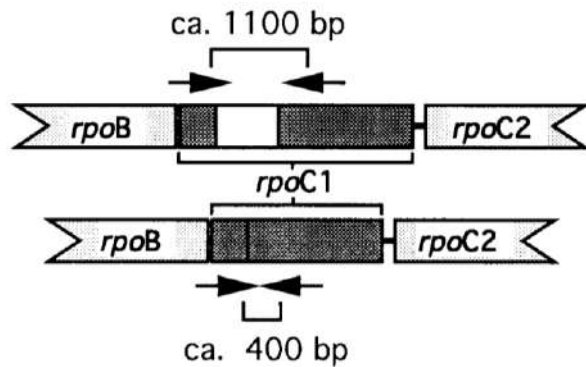
**Tabel 3. Database sekuen ITS1-ITS2**

Spesies	Assesion Number	BP	Asal Spesimen	Referensi
<b>Genus <i>Aquilaria</i></b>				
1 <i>A. subintegra</i>	MH594316	673	Malaysia	Feng et al., 2018
2 <i>A. rostrata</i>	KT364483	682	Malaysia	Lee and Mohamed, 2016
3 <i>A. yunnanensis</i>	MH594327	673	China	Feng et al., 2018
4 <i>A. sinensis</i>	EF645836	680	China	Shen, et al., 2007
5 <i>A. rugosa</i>	MH134145	789	Thailand	Farah et al., 2018
6 <i>A. cumingiana</i>	KT779117	739	Indonesia	Lee et al., 2016b
7 <i>A. agallochum</i>	MH134137	789	India	Farah et al., 2018
8 <i>A. microcarpa</i>	KU244094	685	Indonesia	Lee et al., 2016a
9 <i>A. hirta</i>	KX424702	673	Malaysia	
<b>Genus <i>Gyrinops</i></b>				
1 <i>G. versteegii</i>	KU244106	683	Indonesia	Lee et al., 2016a
2 <i>G. walla</i>	MH134151	786	Sri Lanka	Farah et al., 2018
3 <i>G. ledermannii</i>	KT779120	739	Indonesia	Lee et al., 2016b
4 <i>G. caudata</i>	KT779119	739	Indonesia	2016b
5 <i>G. moluccana</i>	KT779121	739	Indonesia	

Berdasarkan penelusuran database genebank NCBI, terdapat 7 anggota genus *Aquilaria* dan 5 anggota genus *Gyrinops* yang telah tercatat memiliki data sekuen ITS. Sekuen ITS tersebut memiliki ukuran bervariasi antara 673 bp – 789 bp. Rata – rata ukuran sekuen yang lebih panjang dibandingkan trnL-trnF. Sekuen tersebut juga diperoleh dari berbagai negara Asia penghasil gaharu diantaranya: Indonesia, Malaysia, Thailand (Asia Tenggara), China (Timur), India dan Sri Lanka (Asia Selatan). Hal ini menunjukkan sekuen ini cukup layak untuk dijadikan marker DNA barcoding (Feng et al., 2018; Lee and Mohamed, 2016; Farah et al., 2018; Lee et al., 2016b; Li et al., 2017).

## BARCODE REGION RPOC1

Region rpoC1 bersama dengan rpoC2, rpoA dan rpoB mengkode subunit Plastid RNA polymerase (PEP). Secara lebih spesifik rpoC1 mengkode subunit  $\beta$  dari PEP (Serino and Maliga, 1998). Region ini memiliki ukuran pada rentang 400 bp – 1100 bp dan dapat dijadikan sebagai salah satu marker DNA barcoding yang potensial (Downie et al., 1998). Skema amplifikasi region rpoC dapat dilihat pada gambar 3



Gambar 3. Skema amplifikasi region rpoC1 (Downie et al., 1998)

Tabel 4. Database sekuen rpoC1

Spesies	Assesion Number	BP	Asal Spesimen	Referensi
Genus Aquilaria				
1 <i>A. subintegra</i>	LC383851	529	Thailand	Thitikornpon et al., 2018
2 <i>A. yunnanensis</i>	KU244181	529	China	Lee et al., 2016a
3 <i>A. sinensis</i>	KU244178	529	China	2016a
4 <i>A. microcarpa</i>	KU244172	529	Indonesia	
5 <i>A. hirta</i>	KU244166	529	Malaysia	
Genus Gyrinops				
1 <i>G. versteegii</i>	KU244184	529	Indonesia	Lee et al., 2016a

Berdasarkan penelusuran di database genebank NCBI, terdapat 5 spesies genus Aquilaria dan hanya satu spesies genus Gyrinops yang memiliki data sekuen rpoC1. Sekuen rpoC1 pada database tersebut rata – rata memiliki ukuran 529 bp. Ukuran yang relatif lebih pendek dibandingkan marker DNA barcoding pada umumnya. Meskipun demikian, sekuen tersebut relatif heterogen karena berasal dari berbagai negara penghasil gaharu meliputi: Indonesia, Malaysia, Thailand (Asia Tenggara) dan China (Asia Timur) (Thitikornpon et al., 2018; Lee et al., 2016a).

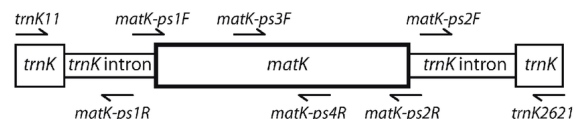
### BARCODE REGION MATK

Region Maturase K (matK) merupakan salah satu region pada kloroplast yang memiliki level diskriminasi tinggi diantara kelompok Angiospermae (Fazekas et al., 2008). Keunggulan region ini sebagai marker DNA barcoding adalah memiliki kemampuan untuk mengidentifikasi variasi, mudah diamplifikasi, disekuensing serta analisis alignment. Hal ini lah yang menjadikannya layak diusulkan sebagai universal DNA barcoding terutama untuk tanaman berbunga (Lahaye et al., 2008). Secara structural, region matK diapit oleh dua region trnK yang dipisahkan oleh trnK intron (gambar 4)

Tabel 5. Database sekuen matK

Spesies	Assesion Number	BP	Asal Spesimen	Referensi
Genus Aquilaria				
1 <i>A. subintegra</i>	LC383999	818	Thailand	Thitikornpon et al., 2018
2 <i>A. rostrata</i>	MF443401	834	Malaysia	Farah et al., 2018
3 <i>A. yunnanensis</i>	KR530387	747	China	Huang et al., 2015
4 <i>A. sinensis</i>	HQ415244	805	China	Pei et al., 2011
5 <i>A. rugosa</i>	MF443402	834	Thailand	Farah et al., 2018
6 <i>A. cumingiana</i>	MF443400	834	Indonesia	2018
7 <i>A. agallochum</i>	MF443398	834	India	
8 <i>A. microcarpa</i>	LC467528	801	Indonesia	Tanaka and Ito, 2019
9 <i>A. hirta</i>	KY927321	886	Malaysia	Li et al., 2017
Genus Gyrinops				
1 <i>G. versteegii</i>	KU244210	886	Indonesia	Lee et al., 2016a
2 <i>G. walla</i>	MF443404	834	Sri Lanka	Farah et al., 2018
3 <i>G. caudata</i>	MF443403	834	Indonesia	Farah et al., 2018

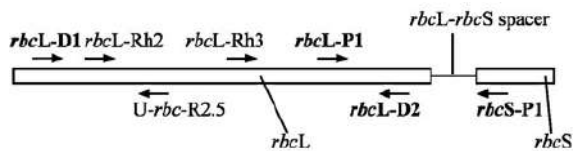
Berdasarkan penelusuran database di genebank NCBI, ditemukan bahwa sebanyak 9 spesies genus Aquilaria dan 3 spesies genus Gyrinops tercatat memiliki sekuen matK. Sekuen tersebut berasal dari berbagai negara penghasil gaharu seperti: Indonesia, Malaysia, Thailand (Asia Tenggara), India, Sri Lanka (Asia Selatan) dan China (Asia Timur). Sekuen matK merupakan salah satu marker DNA barcoding yang memiliki ukuran besar dengan rentang 747 bp – 886 bp (Thitikornpon et al., 2018; Farah et al., 2018; Huang et al., 2015; Pei et al., 2011; Lee et al., 2016a).



Gambar 4. Diagram sekuen matK gen plastida (Kim et al., 2017)

### BARCODE REGION RBCL

Region Subunit besar Ribulose 1,5-biphosphate carboxylase oxygenase (rbcL) merupakan salah satu coding region kloroplast yang memiliki *amplification rate* tinggi. Dengan tingkat keberhasilan amplifikasi tinggi sekuen region ini mudah untuk diisolasi sehingga menjadikannya sebagai marker DNA barcoding yang potensial (Blaxter, 2004). Struktur region rbcL dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Sekuen gene pengkode enzim rbcL pada kloroplast (Win et al., 2008)

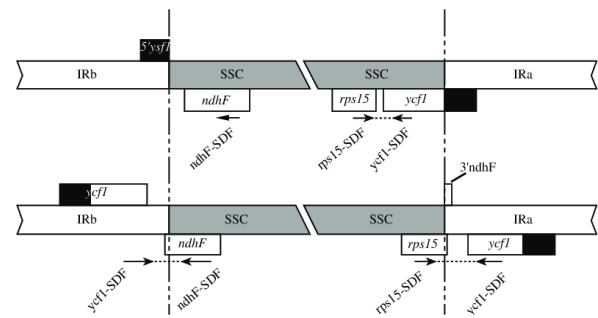
Tabel 6. Database sekuen rbcL

Spesies	Assesion Number	BP	Asal Spesimen	Referensi
Genus <i>Aquilaria</i>				
1 <i>A. subintegra</i>	MH603257	553	Malaysia	Feng et al., 2018
2 <i>A. rostrata</i>	MF443408	617	Malaysia	Farah et al., 2018
3 <i>A. yunnanensis</i>	KR528754	618	China	Huang et al., 2015
4 <i>A. sinensis</i>	GQ436620	703	China	Chen et al., 2010
5 <i>A. rugosa</i>	MF443409	617	Thailand	Farah et al., 2018
6 <i>A. cumingiana</i>	MF443407	617	Indonesia	2018
7 <i>A. microcarpa</i>	KX424689	623	Malaysia	Lee et al., 2016c
8 <i>A. hirta</i>	KX424688	623	Malaysia	2016c
Genus <i>Gyrinops</i>				
1 <i>G. versteegii</i>	KU244236	670	Indonesia	Lee et al., 2016a
2 <i>G. walla</i>	MF443411	617	Sri Lanka	Farah et al., 2018
3 <i>G. caudata</i>	MF443410	617	Indonesia	2018

Berdasarkan penelusuran database di genebank NCBI, 8 spesies anggota genus *Aquilaria* dan 3 spesies anggota genus *Gyrinops* tercatat memiliki sekuen rbcL. Sekuen tersebut diisolasi dari berbagai negara penghasil gaharu yaitu: Indonesia, Malaysia, Thailand (Asia Tenggara), Sri Lanka (Asia Selatan) dan China (Asia Timur). Rata – rata sekuen rbcL pada database NCBI memiliki ukuran menyerupai sekuen trnL-trnF yaitu antara 533 bp – 703 bp (Feng et al., 2018; Farah et al., 2018; Chen et al., 2010; Lee et al., 2016c)

### BARCODE REGION YCF1

Region ycf1 merupakan region pada kloroplast yang memiliki variabilitas tinggi. Region ini memiliki resolusi tinggi ketika digunakan sebagai marker DNA barcoding pada level spesies. Region sekaligus dikatakan sebagai marker DNA barcoding paling menjanjikan untuk tanaman terrestrial (Dong et al., 2015). Secara structural skema gen ycf1 merupakan sekuen yang berada pada inverted repeat region. Bagian dari gen ycf1 berinkorporasi dengan inverted repeat region dan juga region yang bersifat homologus. Bagian ini ditandai dengan region warna hitam pada gambar 6.



Meskipun merupakan marker DNA barcoding yang potensial untuk tanaman terrestrial, namun berdasarkan penelusuran database genebank NCBI, sekuen ycf1 dapat dikatakan kurang mampu mendukung keperluan barcoding tanaman penghasil gaharu. Tercatat hanya ada 4 spesies anggota *Aquilaria* yang memiliki sekuen ycf1 pada database NCBI. Bahkan tidak ditemukan sama sekali sekuen ycf1 untuk anggota spesies *Gyrinops*. Meskipun demikian, sekuen ycf1 dari genus *Aquilaria* rata – rata memiliki ukuran 919 bp. Ukuran relatif besar dibandingkan marker DNA barcoding lainnya (Li et al., 2017)

Spesies	Assesion Number	Ukuran (bp)	Asal Spesimen	Referensi
Genus <i>Aquilaria</i>				
1 <i>A. subintegra</i>	KY927354	919	Indonesia	Li et al., 2017
2 <i>A. yunnanensis</i>	KY927384	919	China	
3 <i>A. sinensis</i>	KY927380	919	China	
4 <i>A. hirta</i>	KY927365	919	Malaysia	

Database DNA barcoding merupakan hal yang esensial karena dapat digunakan dalam berbagai hal. DNA barcoding dapat digunakan untuk keperluan autentifikasi spesies tanaman (Narayana & Johnson, 2019), Standardisasi mutu produk tanaman herbal (Zahra et al., 2016) dan studi taksonomi terutama untuk analisis filogenetik (Kreuzer et al., 2019).

Studi DNA barcoding pada spesies tanaman penghasil gaharu sebaiknya menggunakan marker DNA barcoding yang ideal. Ketersediaan database online dari sekuen DNA barcoding tersebut merupakan salah satu parameter ideal dalam melakukan analisis, terutama untuk keperluan sistematika. Jumlah sekuen yang ideal mampu menjamin analisis filogenetik dapat dilakukan dengan lebih baik (Wangiyana, 2016).

### KESIMPULAN

Berdasarkan ketersediaan sekuen pada database genebank, region trnL-trnF merupakan region terlengkap yang memiliki sekuen seluruh

anggota genus *Aquilaria* dan seluruh anggota genus *Gyrinops* sehingga ideal digunakan sebagai DNA barcoding marker untuk keperluan analisis filogenetik.

#### SARAN

Database sekuen region DNA barcoding hanya digunakan sebatas untuk menilai seberapa lengkap suatu marker dapat menganalisis anggota kelompok suatu takson. Data tersebut tidak mencerminkan kemampuan diskriminasi dari marker tersebut sehingga diperlukan uji lanjut untuk mengetahui hal tersebut.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Alvarez, I. and Wendel, J. F., 2003. Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 29: 417 – 432.
- Blaxter, M. L., 2004. The promise of a DNA taxonomy. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B: Biological Science*. 359: 669 – 679.
- CBOL Plant Working Group, 2009. A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the national academi of sciences of the United States of America*. 106: 1279-12797.
- Chase, M. V. And Fay, M. F. 2009. Barcoding of plants and fungi. *Science*. 325: 682-683.
- Chen, S., Yao, H., Han, J., Liu, C., Song, J., Shi, L., Zhu, Y., Ma, X., Gao, T., Pang, X., Luo, K., Li, Y., Li, X., Jia, X., Lin, Y., Leon, C. 2010. Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species. *PLoS One* 5 (1): e8613.
- Cleverdon, R., Elhalaby, Y., McAlpine, M. D., Gittings, W., Ward, W. E. 2018. Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Tea Bags: Comparison of Black, Green, Red Rooibos, Chamomile and Peppermint over Different Steep Times. *Beverages*. 4(15): 1-13.
- De Mattia, F., Bruni, I., Galimberti, A., Cattaneo, F., Casiraghi, M., Labra, M. 2010. A comparative study of differnet DNA barcoding markers for the identification of some members of Lamiaceae. *Food Research International*. 44 (3): 693 – 702.
- Demesure, B., Sodzi, N., Petit, R. J., 1995. A Set universal primers for amplification of polymorphic noncoding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants. *Molecular Evolution*. 4: 129 -131
- Dong, W., Xu, C., Li, C., Sun, J., Zuo, Y., Shi, S. 2015. Ycf1, the most promising plastid DNA barcode of land plants. *Sci Rep*. 2015 (5): 8348
- Dong, W., Xu, C., Li, C., Sun, J., Zuo, Y., Shi, S., Cheng, T., Guo, J., Zhou, S. 2015. ycf1, the most promising plastid DNA barcode of land plants. *Science Report*. 5: 8358.
- Downie, S. R., Katz-Downie, D. S., Rogers, E. J., Zujewski, H. L., Small, E. 1998. Multiple independent losses of the plastid rpo C1 intron in Medicago (Fabaceae) as inferred from phylogenetic analyses of nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *Canadian Journal of Botany*. 76 (5): 791 – 803.
- Enan, M. R., 2015. Molecular markers for plants DNA barcoding. In: *Plant DNA barcoding and Phylogenetics*. Ali, M. A., Al-Hemid, F (ed.). Lambert Academic Publishing, Germany.
- Eurlings, M. C. M. and Gravendeel, B. 2003. Identification of Gaharu dry wood samples using trnL-trnF polymorphisms. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Diakses 10 Desember 2020.
- Farah, A. H., Lee, S. Y., Gao, Z., Yao, T. L., Madon, M., and Mohamed, R., 2018. Genome Size, Molecular Phylogeny, and Evolutionary History of theTribe Aquilarieae (Thymelaeaceae), the Natural Source of Agarwood. *Front Plant Sci*, 9: 712
- Fazekas, A. J., Burgess, K. S., Kesankurti, P. R., Graham, S. W., Newmaster, S. G. Husband, B. C., Percy, D. M., Hajibabei, M., Barrett, S. C. H. 2008. Multiple multilocus DNA barcodes from the plastid genome discriminate plants species equally well. *PLoS ONE*, 3: e2802
- Feng, T., Li, Q., Wang, Y., Qiu, S., He, M., Zhang, W., Dong, J. and, Zhu, S. 2018. Phylogenetic analysis of *Aquilaria* Lam. (Thymelaeaceae) based on DNA barcoding. *Holzforchung* 73 (6): 517-524
- Feng,T., Li,Q., Wang, Y., Qiu, S., He, M., Zhang, W., Dong, J., Zhu, S. 2018. The phylogenetic analysis of *Aquilaria* Lam. (Thymelaeesceae) based on DNA barcoding. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Diakses 10 Desember 2020.

- Hao, D. C., Huang, B. L., Chen, S. L., Mu, J. 2009. Evolution of the chloroplast trnL-trnF region in the gymnosperm lineages Taxaceae and Cephalotaxaceae. *Biochem Genet.* 47 (5-6): 351 – 369.
- Holt, S. D.S., Horova, L., Bures, P., 2004. Indel patterns of the plastid DNA trnL-F region within the genus *Poa* (Poaceae). *Journal of Plant Research.* 117 (5): 393 – 407
- Huang, X. C., Ci, X. Q., Conran, J. G., Li, J. 2015. Application of DNA Barcodes in Asian Tropical Trees - A Case Study from Xishuangbanna Nature Reserve, Southwest China. *PLoS ONE*, 10 (6).
- Jeanson, M. L., Labat, J. N., Little, D. P. 2011. DNA barcoding: a new tool for palm taxonomist. *Ann Bot.* 2011 (108): 1445 – 1451
- Jiao, L., Yin, Y., Cheng, Y., Jiang, X. 2013. DNA barcoding for identification of the endangered species *Aquilaria sinensis*: comparison of data from heated or aged wood sample. *Holzforschung*, 68 (4): 487 – 494
- Kim, S. T., Donoghue, M. J., Sultan, S. E. 2017. On the resurrection of *Persicaria puritanorum* (Polygonaceae). *Phytotaxa*, 308 (1): 20.
- Kreuzer, M., Howard, C., Adhikari, B., Pendry, C. A., Hawkins, J. A. 2019. Phylogenomic Approaches to DNA Barcoding of Herbal Medicines: Developing Clade-Specific Diagnostic Characters for *Berberis*. *Front. Plant. Sci.* 10:586.
- Lahaye, R., Van Der Bank, M., Bogarin, D., Warner, J., Pupulin, F., Gigot, G., Maurin, O., Duthoit, S., Barraclough, T. G., Savolainen, V. 2008.
- Lee, S. L., Zakaria, N. F., Tnah, L. H., Ng, C. H., Ng, K. K. S., Lee, C.T. 2016c. DNA Databases of a CITES listed species *Aquilaria malaccensis* (Thymelaeaceae) as tracking tools for forensic identification and chain-of-custody certification. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Diakses 10 Desember 2020.
- Lee, S. Y., Ng, W. L., Mahat, M. N., Nazre, M., Mohamed, R. 2016a. DNA barcoding of the endangered *Aquilaria* (Thymelaeaceae) and its application in species authentication of agarwood products traded in the market. *PLoS ONE*. 11 (4): 1-21
- Lee, S., Y. and Mohamed, R. 2016a. Rediscovery of *Aquilaria rostrata* (Thymelaeaceae), a species thought to be extinct, and notes on *Aquilaria* conservation in Peninsular Malaysia. *Blumea*, 61: 13-19
- Lee, S.Y., Mohamed, R., Turjaman, M. 2016b. Phylogenetic Relatedness of Several Agarwood-Producing Taxa (Thymelaeaceae) from Indonesia. *Tropical Life Science Research.* 29 (2): 13 – 28.
- Levin, R. A., Wagner, W. L., Hoch, P. C., Nepokroeff, M., Pries, J. C., Zimmer, E. A. 2003. Family-level relationship of Onagraceae based on chloroplast *rbcL* and *ndhF* data. *Ann J Bot.* 2003 (90): 107 – 115.
- Li, Q., Yan, H., Lin, D., Wang, Y., Huang, Z., He, M., Zhang, W., Gao, X., Zhu, S., 2017. The identification of *Aquilaria* spp. at species level by DNA barcoding. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Diakses 10 Desember 2020.
- Logacheva, M., Penin, A. A., Valiejo-Roman, C. M., Antonov, A. S., 2009. Structure and evolution of junctions between inverted repeat and small single copy regions of chloroplast genome in non-core Caryophyllales. *Molecular Biology.* 43 (5): 757 – 765.
- Narayana, D. B. and Johnson, S. T. 2019. DNA barcoding in authentication of herbal raw materials, extracts and dietary supplements: a perspective. *Plant Biotechnology Reports.* 13 (2019): 201 – 210.
- Pei, N., Lian, J. Y., Erickson, D. L., Swenson, N. G., Kress, W. J., Ye, W. H., Ge, X. J., 2011. Exploring tree-habitat associations in a Chinese subtropical forest plot using a molecular phylogeny generated from DNA barcode loci. *PLoS One*, 6 (6).
- Sahid, M., 2014. Phylogenetic relationship of *Trichoderma asperellum* Tasp/8940 using Internal Transcribed Spacer (ITS) sequences. *International Journal of Advanced Research* . 2 (3): 979 – 986.
- Salguero, L., Martins, A. P., Correia, H. 2009. 253 - 271 Raw material: importance of quality and safety a review. *Flavour and Fragrance Journal.* 25: 253 – 271.
- Sass, C., Little, D. P., Stevenson, D. W., Specht, C. D. 2007. DNA barcoding in the cycadales: testing the potential of proposed barcoding markers for species identification of cycad. *PLoS One.* 2007;2: e1154
- Serino, G. and Maliga, P. 1998. RNA Polymerase Subunits Encoded by the Plastid *rpo* Genes Are Not Shared with the

- Nucleus-Encoded Plastid Enzyme. *Plant Physiol.* 117: 1165 – 1170.
- Sgamma, T., Lockie-Williams, C., Kreuzer, M., Williams, S., Scheyhing, U., Koch, E., Slater, A. Howard, C. 2017. DNA barcoding for industrial quality assurance. *Planta Med.* 83: 1117 – 1129.
- Shen, Y.J., Zhao, X., Zhao, S. J. 2007. Genetic diversity of *Aquilaria* spp. based on molecular marker. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Diakses 10 Desember 2020.
- Tanaka, S. and Ito, M. 2019. DNA barcoding for identification of agarwood source species using trnL-trnF and matK DNA sequences. *Journal of Natura Medicine.* 74 (1): 42 – 50.
- Tanaka, S. and Ito, M. 2019. DNA Bar-coding Method for discrimination origin of resin deposition sites of Agarwood using trnL-trnF region and matK region. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Diakses 10 Desember 2020.
- Thitikornpong, W., Palanuvej, C, Ruangrunsi, N. 2018. DNA barcoding for authentication of the endangered plants in genus *Aquilaria*. *Thai J Pharm Sci*, 42, 214 – 220.
- Wangiyana, I G. A. S., 2016. Phylogenetic analysis of *Aquilaria* and *Gyrinops* member based on trnL-trnF gene sequence of Chloroplast. *Jurnal Sangkareang Mataram.* 2 (4): 41 – 46.
- Wangiyana, I G. A. S., Wanitaningsih, S. K., Sanjaya, A. 2018. Bioinduksi *Gyrinops versteegii* Menggunakan Inokulan Berbahan Baku Medium Tauge dengan Berbagai Kedalaman Pengeboran. Seminar Nasional Implementasi Iptek Pertanian Berkelanjutan yang Tangguh Menuju Kedaulatan Pangan. 1 (1), 144 – 152.
- Wangiyana, I G. A. S. and Malik, S. 2018. Application of Arbuscular Mycorrhiza from Senaru Forest Rhizosphere for *Gyrinops versteegii* Germination and Growth. *Biosaintifika.* 10 (2): 432 – 438.
- Wangiyana, I G. A. S., Triandini, I. G. A. A. H., Putradi, D., Wangiyana, W. 2018. Tannin Concentration of *Gyrinops* Tea from Leaves of Juvenile and Mature Agarwood Trees (*Gyrinops versteegii* Gilg (Domke)) with Different Processing Methods. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 10 (10): 113 - 119
- Wangiyana, I G. A. S. and Putri, D. S. 2019. Aplikasi Zat Pengatur Tumbuh dan Kegiatan Pruning dalam Optimalisasi Budidaya Gaharu di Desa Duman Kecamatan Lingsar Lombok Barat. *Lumbung Inovasi.* 4 (1): 54 – 62.
- Wangiyana, I G. A. S., 2019. Similarity analysis of genera *Aquilaria* and *Gyrinops* based on vegetative structure feature using different clustering method. *Jurnal Sangkareang Mataram.* 5 (1): 62 – 68.
- Wangiyana, I G. A. S., Wanitaningsih, S. K., Anggadhanita, L., 2020. Pelatihan Teknologi Bio-induksi untuk Petani Gaharu di Desa Pejaring, Kabupaten Lombok Timur. *Agrokreatif: Jurnal Ilmiah Pengabdian Kepada Masyarakat.* 6 (1): 36 – 44.
- Wangiyana, I G. A. S., Sanjaya, A., Anggadhanita, L. 2020. Pengolahan Sampah Buah dan Sayur dari Pasar Induk Mandalika Kota Mataram Nusa Tenggara Barat Sebagai Media Tumbuh *Fusarium* sp Inokulan Gaharu. *IJEEM-Indonesian Journal of Environmental Education and Management.* 5 (2): 173 – 183.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky J. J., White, T. J. editors. PCR protocols-a guide to methods and applications. New York: Academic Press: 315 – 322.
- Win, N. W., Hanyuda, T., Arai, S., Uchimura, M., 2008. Three new records of *Padina* in Japan based on morphological and molecular markers. *Physiological Research.* 56 (4): 288 – 300.
- Yu, J., Yan, H., Lu, Z., Zhou, Z. 2011. Screening potential DNA barcode regions of chloroplast coding genome for *Citrus* and its related genera. *Scientia Agricultura Sinica.* 44: 341 – 348.
- Zahra, N. B., Shinwari, Z. K., Qaiser, M. 2016. DNA Barcoding: A Tool for Standardization of Herbal Medicinal Products (Hmps) Of Lamiaceae From Pakistan. *Pakistan Journal of Botany .* 48 (5): 2167 – 2174.