

### STANDARDISASI BAHAN HERBAL ANTIDIABETES DAUN *Gyrinops versteegii* SECARA MOLEKULAR MENGGUNAKAN SEKUEN *rpoC1* *Standardization of Anti-diabetic Herbs from Gyrinops versteegii Leaves Based on Molecular Analysis using rpoC1*

I Gusti Agung Ayu Hari Triandini<sup>a</sup>, I Gde Adi Suryawan Wangiyana<sup>b\*</sup>

<sup>a</sup> Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Bhakti Kencana, Jl. Soekarno Hatta No.754, Bandung

<sup>b</sup> Program Studi Kehutanan Universitas Pendidikan Mandalika, Jl Pemuda No 59A, Mataram

\*Email Korespondensi: [gdeadiswangiyana@undikma.ac.id](mailto:gdeadiswangiyana@undikma.ac.id)

#### Abstract

The purpose of this research is to carry molecular analysis of herbal anti-diabetic raw material from agarwood (*G. versteegii*) leaves using *rpoC1*. *G. versteegii* leaves taken from Lingsar West Lombok. Leaves were processed into herbs beverage based on SOP: washing, drying, chopping and oxidizing. DNA genome was isolated using Blood – Animal DNA Preparation Kit according to manufacturer recommendation. Inspection was carried by measuring DNA genome absorbance at wavelength 230 nm, 260 nm, and 280 nm. PCR amplification using following program: initial denaturation 95°C for 3 minutes, denaturation 95°C for 15 second, annealing 37°C for 1 minute, extension 72°C for 2 minute, and final extension 72°C for 5 minutes. Reference sequence was retrieved from NCBI database. Phylogenetic trees were reconstructed using Neighbor Joining and Maximum Parsimony. MegaBLAST has retrieved reference sequences that were dominated by *Aquilaria* member. Neighbor Joining Tree and Maximum Parsimony Tree have slightly different topology. However, *G. versteegii* always join the same clade with *Aquilaria* species on that both phylogenetic tree. It could be concluded that molecular analysis of *G. versteegii* anti-diabetic material based on *rpoC1* sequence has shown that this species were closely related to species form *Aquilaria* genus.

**Keywords:** *Gyrinops versteegii*, Molecular Analysis, *rpoC1*

#### Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan analisis molekular bahan herbal antidiabetes daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) menggunakan sekuen *rpoC1*. Daun *G. versteegii* diambil dari perkebunan gaharu di wilayah Lingsar. Daun diolah menjadi bahan herbal dengan menggunakan 4 SOP: pencucian, pengeringan, pencacahan, dan oksidasi. Isolasi DNA dilakukan dengan menggunakan Blood – Animal DNA Preparation Kit sesuai protokol dari produsen. DNA genom diukur absorbansinya pada panjang gelombang 230 nm, 260 nm, dan 280 nm. Amplifikasi PCR dilakukan dengan menggunakan primer universal *rpoC1* dengan program initial denaturation 95°C selama 3 menit diikuti 40 siklus denaturasi 95°C selama 15 detik, annealing 37°C selama 1 menit, extension 72°C selama 2 menit, dan final extension 72°C selama 5 menit. MegaBLAST dari laman NCBI digunakan dalam pencarian sekuen referensi. Pohon filogenetik direkonstruksi dengan menggunakan 2 algoritme: Neighbor Joining dan Maximum Parsimony. Hasil penelusuran MegaBLAST menunjukkan bahwa anggota genus *Aquilaria* mendominasi database referensi sekuen dengan score tertinggi. Pohon filogenetik Neighbor Joining dan Maximum Parsimony yang direkonstruksi dari referensi sekuen *rpoC1* memiliki topology yang sedikit berbeda. Meskipun demikian, pada kedua pohon filogenetik tersebut, *G. versteegii* selalu tergabung dalam satu clade dengan spesies *Aquilaria*. Dapat disimpulkan bahwa Analisis molekular terhadap bahan baku antidiabetes dari daun *G. versteegii* menggunakan sekuen *rpoC1* menghasilkan data bahwa gaharu *G. versteegii* secara molekular berhubungan dekat dengan spesies gaharu dari genus *Aquilaria*.

**Kata Kunci:** *Gyrinops versteegii*, Analisis Molekular, *rpoC1*

**How to Cite:** Triandini, I. G. A. A. H, Wangiyana, I G. A. S. (2022) ‘Standardisasi Bahan Herbal Antidiabetes Daun *Gyrinops versteegii* Secara Molekular Menggunakan Sekuen *rpoC1*’, *Jurnal Silva Samalas: Journal of Forestry and Plant Science*, 5 (2), pp. 9-17.

Copyright© 2022, Triandini & Wangiyana  
This is an open-access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) License.



## PENDAHULUAN

Diabetes mellitus merupakan suatu penyakit yang menjadi masalah kesehatan utama masyarakat era modern (Goyal *et al.*, 2020). Berdasarkan data WHO, terdapat 442 juta orang di seluruh dunia yang menderita diabetes dengan kasus kematian mencapai 1,5 juta (WHO, 2022). Indonesia termasuk 10 besar negara dengan penderita diabetes terbesar didunia dengan total jumlah penderita sebanyak 10,7 juta (Pangriwibowo, 2020). Oleh karena itu, diabetes termasuk penyakit yang membutuhkan penanganan serius di negara ini.

Penanganan diabetes bisa dilakukan dengan pendekatan pencegahan ataupun pengobatan. Pendekatan. Pendekatan pengobatan dilakukan jika upaya pencegahan sudah tidak efektif lagi. Pengobatan utama yang dilakukan pada pasien diabetes adalah dengan menggunakan injeksi insulin. Pengobatan insulin mengalami kendala utama dalam hal metode injeksi yang digunakan karena terkait dengan efektivitas dan keamanan (Yeh *et al.*, 2012). Metode pengobatan lain yang memiliki prospek dikembangkan untuk melengkapi pengobatan insulin adalah dengan memanfaatkan antidiabetes herbal (Patel *et al.*, 2012).

Beberapa tanaman herbal telah lama dikenal memiliki aktivitas antidiabetes yang dapat dimanfaatkan untuk pengobatan pasien (Chauhan *et al.*, 2010). Riset potensi antidiabetes herbal dari tahun 1999 – 2000 telah berhasil menginventarisasi beberapa tanaman yang potensial digunakan dalam pengobatan diabetes (Bnouham *et al.*, 2006). Salah satu tanaman yang mempunyai potensi aktivitas antidiabetes adalah tanaman gaharu (Adam, Lee and Mohamed, 2017). Organ tanaman gaharu yang banyak digunakan sebagai sumber bahan antidiabetes adalah daun (Wangiyana, 2020b; Wangiyana, Supriadi, *et al.*, 2021).

Bahan herbal yang digunakan dalam pengobatan medis memerlukan standardisasi bahan baku agar dapat berkembang di dunia industri (Kunle, Egharevba and Ahmadu, 2012). Standardisasi secara molekular dengan menggunakan DNA barcoding merupakan metode standardisasi yang paling umum dilakukan seiring dengan kemajuan bidang biologi molekular (Sgamma *et al.*, 2017). DNA barcoding juga umum digunakan dalam standardisasi produk – produk dari komoditi gaharu (Lee *et al.*, 2016; Pern *et al.*, 2020; Tanaka and Ito, 2020).

Standardisasi komoditi gaharu secara molekular dengan menggunakan DNA barcoding membutuhkan marker molekular . (Lee, Weber and Mohamed, 2011). Beberapa marker molekular telah ditetapkan dan tercatat pada database genbank (Wangiyana, 2020a). Beberapa sekuen yang telah digunakan sebagai marker molekular antara lain adalah: trnL – trnF (Wangiyana, 2016b), rbcL (Wangiyana, 2022a), dan matK (Wangiyana, 2022b). Eksplorasi diperlukan untuk semakin memperbesar database sekuen marker molekular yang digunakan dalam standardisasi.

Sekuen rpoC1 merupakan salah satu marker molekular yang potensial digunakan dalam standardisasi produk herbal (D'Aleilio and Gandolfi, 2012; Pawluczyk *et al.*, 2012; Nhu Tang *et al.*, 2018). Penggunaan sekuen ini untuk standardisasi molekular daun gaharu merupakan hal yang potensial untuk dilakukan. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk melakukan analisis molekular bahan herbal antidiabetes daun gaharu menggunakan sekuen rpoC1.

## METODE PELAKSANAAN

### a. Sampling Daun *G. versteegii*

Daun *G. versteegii* diambil dari perkebunan gaharu di wilayah Lingsar Kabupaten Lombok Barat Provinsi Nusa Tenggara Barat (Wicaksono, Wangiyana and Nizar, 2019). Pohon *G. versteegii* yang dijadikan sampel dipilih dari individu yang memenuhi kriteria pohon sehat berdasarkan standar Forest Health Monitoring (Supriyanto and Iskandar, 2018). Daun *G. versteegii* yang dipilih adalah daun yang sehat, tidak mengalami klorosis dan nekrosis serta tidak terserang hama penyakit (Wangiyana and Putri, 2019).

### b. Pembuatan Bahan Herbal *G. versteegii*

Daun *G. versteegii* diolah menjadi bahan herbal dengan menggunakan 4 standar operasional procedure (SOP) SOP tersebut adalah pencucian, pengeringan, pencacahan dan oksidasi. (Wangiyana and Triandini, 2021; Triandini *et al.*, 2022). Proses ekstraksi akhir bahan herbal daun *G. versteegii* mengikuti protokol ekstraksi daun gaharu standar (Wangiyana *et al.*, 2019; Putri, Wangiyana and

Nahlunnisa, 2021). Proses ekstraksi standar ini juga digunakan untuk melakukan pengujian aktivitas antioksidan dan uji fitokimia bahan herbal daun gaharu (Wangiyana, Supriadi, *et al.*, 2021).

### c. Isolasi DNA

Isolasi DNA dari daun *G. versteegii* dilakukan dengan terlebih dahulu melakukan liofilisasi menggunakan nitrogen cair. Sebanyak 80 mg partikel daun *G. versteegii* dijadikan sampel untuk isolasi DNA dan dipindahkan dalam kolom *extraction kit* pada Blood – Animal DNA Preparation Kit (Jena Bioscience). Isolasi DNA dilakukan sesuai dengan protokol yang tertera pada kit (Simon-Oke, Obimakinde and Afolabi, 2018).

Pencucian dan sentrifugasi dalam kolom digunakan sebagai metode isolasi DNA utama. Proteinase K ditambahkan dalam kolom untuk mencegah kontaminasi protein. Sementara itu RNase ditambahkan untuk mendegradasi RNA yang mengkontaminasi pasca resuspensi pada buffer TE (Wangiyana *et al.*, 2022).

DNA genome yang dijadikan DNA template untuk amplifikasi PCR diukur konsentrasi dan kemurniannya. Konsentrasi DNA diukur dengan menggunakan nanodrop. Sementara itu kemurnian DNA ditentukan dengan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 230 nm, 260 nm, dan 280 nm (Lucena-Aguilar *et al.*, 2016). Visualisasi DNA hasil isolasi juga dilakukan dengan elektroforesis pada agarose 0,8% pewarnaan ethidium bromide dan ladder 1000 bp sebagai marker.

### d. Amplifikasi Sekuen rpoC1

Amplifikasi sekuen rpoC1 dilakukan dengan menggunakan thermocycler PCR. Primer universal rpoC1 dengan skuen seperti pada gambar 1 digunakan sebagai primer utama. Reaksi PCR dilakukan pada volume total 25 µl yang mengandung 12,5 µl 2 x KAPA 2G PCR mix (KAPA Biosystem), 8,5 µl ddH<sub>2</sub>O, 2 µl primer (10 pmol/ µl), dan 2 µl DNA template (40 ng/ µl). Amplifikasi PCR dilakukan pada labcyler thermocycler dengan program: initial denaturation 95°C selama 3 menit diikuti 40 siklus denaturasi 95°C selama 15 detik, annealing 37°C selama 1 menit, extension 72°C selama 2 menit, dan final extension 72°C selama 5 menit. Amplicon di visualisasi dengan elektroforesis pada 1,2% agarose dengan pewarnaan ethidium bromide. Ladder 1000bp (Invitrogen) digunakan sebagai marker (Wangiyana, Nugraheni, *et al.*, 2021).

Region	Primer	Sekuen (5'→3')
rpoC1	2F	GGCAAAGAGGGAAGATTTTCG
	4R	CCATAAGCATATCTTGAGTTGG

Gambar 1. Sekuen Primer Universal rpoC1

### e. Pencarian Sekuen Referensi

Pencarian sekuen referensi untuk hasil amplifikasi PCR dilakukan dengan menggunakan aplikasi BLAST dari NCBI. File sekuen dalam format FASTA diunggah pada laman <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Opsi pencarian yang dipilih adalah “blastn” yang melakukan pencarian sekuen berdasarkan “nucleotide query”. Database pencarian yang digunakan adalah “standar database”. Program selection dioptimalkan untuk “high similar sequence” atau MegaBLAST. Pencarian sekuen referen dengan memanfaatkan MegaBLAST merupakan salah satu metode efektif dan efisien (Chen *et al.*, 2015).

### f. Analisis Filogenetik

Referensi sekuen yang dicari dengan menggunakan MegaBLAST merupakan sumber data utama dalam analisis filogenetik. Data referensi dikonversi menjadi file format FASTA selanjutnya dikompilasi dalam notepad. Hasil kompilasi sekuen diberikan perlakuan *Multiple Alignment Sequence* dengan menggunakan program ClustalX (Larkin *et al.*, 2007). Hasil alignment selanjutnya diinput dalam program Mega 5.1 untuk analisis filogenetik (Tamura *et al.*, 2011).

Rekonstruksi pohon filogenetik dilakukan dengan menggunakan 2 algoritme dengan prinsip berbeda. Algoritme pertama adalah algoritme berbasis distance yaitu Neighbor Joining (Gascuel and Steel, 2006). Algoritme kedua adalah algoritme berbasis karakter yaitu Maximum Parsimony (Farris, 2008). Masing – masing pohon filogenetik menggunakan 1000 bootstrap dalam analisisnya.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelusuran referensi sekuen dengan menggunakan MegaBLAST dari laman NCBI menghasilkan data sekuen yang bervariasi secara taksonomi. Sekuen hasil penelusuran tersebar dalam 19 genus yang terdiri dari total 47 spesies (tabel 1). Genus *Aquilaria* dan genus *Daphne* mempunyai jumlah anggota spesies terbanyak yang memiliki similaritas dengan sekuen rpoC1. Akan tetapi similarity score rerata dari genus *Aquilaria* jauh lebih tinggi dibandingkan genus *Daphne*. Hal ini mengindikasikan bahwa sekuen anggota genus *Aquilaria* memiliki kualitas bagus sebagai sekuen referensi dari sekuen *G. versteegii* (Wangiyana, 2016a, 2020a).

Tabel 1. Hasil Penelusuran Referensi Sekuen rpoC1 *G. versteegii*

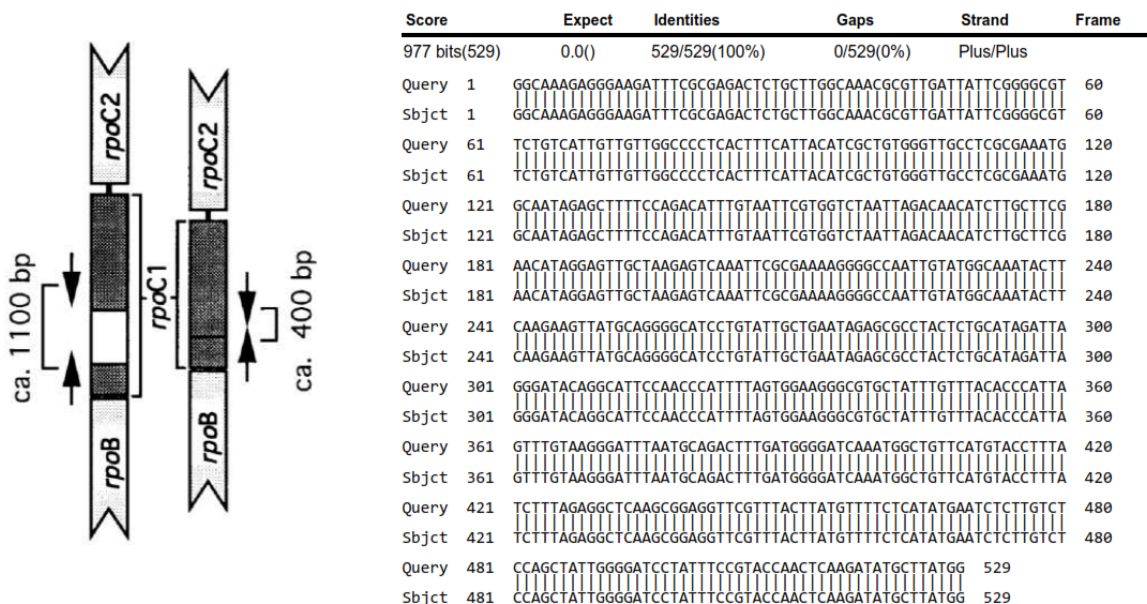
Genus	Spesies	Score	Number of hits	Number of organism
Gyrinops	<i>Gyrinops versteegii</i>	977	1	1
	<i>Gyrinops walla</i>	957	1	1
Aquilaria	<i>Aquilaria yunnanensis</i>	977	4	1
	<i>Aquilaria subintegra</i>	977	5	1
	<i>Aquilaria sinensis</i>	977	10	1
	<i>Aquilaria microcarpa</i>	977	5	1
	<i>Aquilaria malaccensis</i>	977	6	1
	<i>Aquilaria hirta</i>	977	5	1
	<i>Aquilaria crassna</i>	977	8	1
	<i>Aquilaria rostrata</i>	968	2	1
	<i>Aquilaria beccariana</i>	968	2	1
Wikstroemia	<i>Wikstroemia alternifolia</i>	907	2	1
	<i>Wikstroemia canescens</i>	907	2	1
	<i>Wikstroemia scytophylla</i>	891	2	1
	<i>Wikstroemia indica</i>	885	2	1
	<i>Wikstroemia micrantha</i>	885	1	1
	<i>Wikstroemia dolichantha</i>	885	2	1
	<i>Wikstroemia chamaedaphne</i>	880	2	1
<i>Wikstroemia capitata</i>	880	2	1	
Gonystylus	<i>Gonystylus affinis</i>	907	2	1
Phaleria	<i>Phaleria macrocarpa</i>	902	2	1
Diarthron	<i>Diarthron linifolium</i>	896	2	1
Edgeworthia	<i>Edgeworthia gardneri</i>	896	2	1
Daphne	<i>Daphne giraldii</i>	894	2	1
	<i>Daphne laureola</i>	891	1	1
	<i>Daphne tangutica</i>	891	2	1
	<i>Daphne kiusiana</i>	891	1	1
	<i>Daphne depauperata</i>	891	2	1
	<i>Daphne retusa</i>	891	2	1
	<i>Daphne feddei</i>	891	3	1
	<i>Daphne acutiloba</i>	891	3	1
	<i>Daphne genkwa</i>	885	3	1
	Lethedon	<i>Lethedon cernua</i>	894	1
Stellera	<i>Stellera chamaejasme</i>	891	2	1
Arnhemia	<i>Arnhemia cryptantha</i>	887	1	1
Pimelea	<i>Pimelea aquilonia</i>	885	2	1
Edgeworthia	<i>Edgeworthia albiflora</i>	885	2	1
	<i>Edgeworthia chrysantha</i>	885	1	1
	<i>Edgeworthia gardneri</i>	880	3	1
Stephanodaphne	<i>Stephanodaphne oblongifolia</i>	869	2	1
	<i>Stephanodaphne cremostachya</i>	845	1	1
Bixa	<i>Bixa orellana</i>	869	3	1
Reevesia	<i>Reevesia rotundifolia</i>	841	1	1
Dipentodon	<i>Dipentodon sinicus</i>	852	2	1
Bretschneidera	<i>Bretschneidera sinensis</i>	841	3	1
Brunellia	<i>Brunellia antioquiensis</i>	839	1	1
	<i>Brunellia trianae</i>	839	1	1

Referensi sekuen selanjutnya diseleksi berdasarkan kriteria *max score*, *total score*, *query cover*, dan *% ident*. Hasil seleksi menempatkan genus *Gyrinops* dan genus *Aquilaria* sebagai dua genus yang memiliki score tertinggi (tabel 2). *Gyrinops* dan *Aquilaria* merupakan dua genus utama dalam family *thymeleaceae* yang dikenal sebagai penghasil komoditi gaharu berkualitas tinggi (Roemantyo and Partomihardjo, 2010; López-Sampson and Page, 2018). Similaritas score ini menunjukkan similaritas genetik kedua anggota genus ini. Dalam hal ini, kualitas komoditi gaharu dari kedua genus ini telah dibuktikan pada tingkat genetik.

Tabel 2. Hasil Seleksi Lanjut Terhadap Referensi Sekuen *rpoC1*

spesimen	Voucher	Max Score	Total Score	Query cover	% Ident	Accession Number
<i>Gyrinops versteegii</i>	FBL01027	977	977	100%	100%	KU244184
<i>Aquilaria yunnanensis</i>	FBL01026	977	977	100%	100%	KU244183
<i>Aquilaria subintegra</i>	FBL01016	977	977	100%	100%	KU244180
<i>Aquilaria sinensis</i>	FBL01011	977	977	100%	100%	KU244175
<i>Aquilaria microcarpa</i>	FBL01019	977	977	100%	100%	KU244171
<i>Aquilaria malaccensis</i>	FBL01002	977	977	100%	100%	KU244168
<i>Aquilaria hirta</i>	FBL01005	977	977	100%	100%	KU244165
<i>Aquilaria crassna</i>	FBL01014	977	977	100%	100%	KU244162
<i>Aquilaria malaccensis</i>	FBL01003	977	977	100%	100%	KU244169
<i>Gonystylus bancanus</i>	FBL01031	917	917	100%	97,92%	KU244185
<i>Stephanodaphne cremostachya</i>	T13011990	845	845	99%	95,83%	GQ249028
<i>Brunellia trianae</i>	CIO4015	839	839	100%	95,27%	MN585217
<i>Stephanodaphne oblongifolia</i>	1127MO	869	869	94%	98%	AM889941
<i>Arnhemia cryptantha</i>	142707	887	887	97%	97,67%	FJ379791

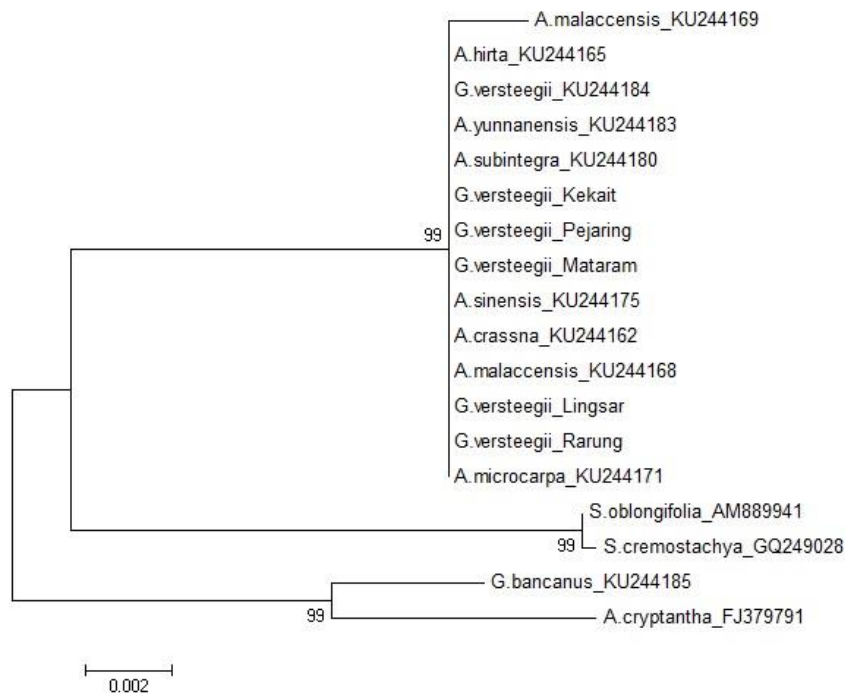
Genus lain diluar famili *Thymeleaceae* juga digunakan sebagai referensi sekuen. Genus – genus tersebut memiliki skor yang memang lebih rendah dibandingkan skor genus *Aquilaria* dan *Gyrinops*. Meskipun demikian, genus tersebut tetap dimasukkan dalam sekuen referensi yang digunakan untuk rekonstruksi pohon filogenetik. Hal ini bertujuan untuk mempertajam topografi pohon filogenetik yang dihasilkan sekaligus untuk melacak arah perubahan (evolusi) dari semua sekuen yang dilibatkan dalam analisis filogenetik (Wangiyana, 2019a).

Gambar 2. Skema Amplifikasi Region *rpoC1* dan Matchmaking MegaBLAST

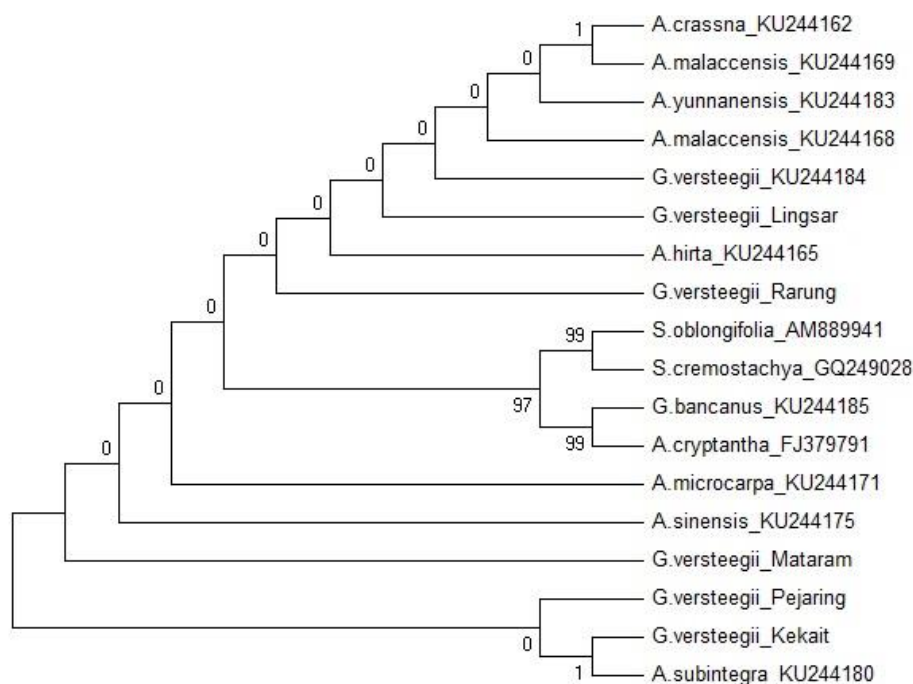
Region *rpoC1* mengkode subunit plastid RNA polymerase (PEP) bersama dengan region *rpoC2*, *rpoA* dan *rpoB*. Sekuen ini secara lebih spesifik mengkode subunit  $\beta$  dari PEP (Serino and Maliga, 1988). Region *rpoC1* memiliki ukuran pada rentang 400 bp – 1100 bp (Downie *et al.*, 1988). Sekuen

referensi berdasarkan hasil penelusuran MegaBLAST NCBI pada penelitian ini rata – arta memiliki ukuran 529 bp. Ukuran ini memberikan 100 % identities dengan skor 977 bits (gambar 2).

Pohon filogenetik direkonstruksi dengan menggunakan 2 pendekatan algoritme yang berbeda. Pendekatan pertama adalah dengan menggunakan algoritme berbasis distance yaitu Neighbor Joining. Pendekatan kedua adalah dengan menggunakan algoritme berbasis karakter yaitu Maximum Parsimony. Penggunaan algoritme dengan metode pendekatan berbeda dapat memberikan data analisis filogenetik yang lebih realibel (Westesson *et al.*, 2012; Wangiyana, 2019b)



Gambar 3. Pohon Filogenetik Algoritme Neighbor Joining dengan 1000 bootstrap



Gambar 4. Pohon Filogenetik Algoritme Maximum Parsimony dengan 1000 Bootstrap

*G. versteegii* pada pohon filogenetik Neighbor Joining tergabung dalam clade yang sama dengan spesies dari genus *Aquilaria*. Spesies *A. malaccensis* merupakan satu – satunya anggota genus *Aquilaria* yang terpisah dari clade *Gyirnopis* – *Aquilaria*. Clade lainnya beranggotakan genus *Stephanodaphne* yaitu: *S. oblongifolia* dan *S. cremostachya* yang langsung bergabung dengan clade *Gyirnopis* – *Aquilaria* setelah *A. malaccensis*. Clade terakhir yang bergabung terdiri dari *G. bancanus* dan *A. cryptantha*.

*G. versteegii* pada pohon filogenetik Maximum Parsimony juga tergabung dalam satu clade dengan anggota genus *Aquilaria*. Akan tetapi pada pohon filogenetik ini, *G. versteegii* terpecah dalam 3 clade berbeda. Clade pertama terdiri dari *G. versteegii* lingsar dan *G. versteegii* Rarung yang tergabung dengan satu clade bersama *A. crassna*, *A. malaccensis*, *A. yunnanensis* dan *A. hirta*. Clade kedua terdiri dari *G. versteegii* Pejaring dan *G. versteegii* Kekait yang tergabung dalam satu clade bersama *A. subintegra*. Clade ketiga adalah *G. versteegii* Mataram yang tergabung dalam clade *Gyirnopis* – *Aquilaria* setelah *A. sinensis*.

Tergabungnya *Gyirnopis* dan *Aquilaria* dalam clade yang sama pada tiap pohon filogenetik mengindikasikan hubungan kedua genus yang bersifat monofiletik (Assis and Rieppel, 2011). Kedua genus tersebut seharusnya tidak dipisah menjadi genus berbeda yang lazim dilakukan pada sistem klasifikasi tradisional. Data ini dapat digunakan untuk standarisasi bahan herbal karena secara molekular *G. versteegii* memiliki hubungan kekerabatan yang erat dengan genus *Aquilaria*.

## KESIMPULAN

Analisis molekular terhadap bahan baku antidiabetes dari daun *G. versteegii* menggunakan sekuen rpoC1 menghasilkan data bahwa gaharu *G. versteegii* secara molekular berhubungan dekat dengan spesies gaharu dari genus *Aquilaria*. Kedua genus tersebut merupakan bahan baku komoditi gaharu yang dikenal berkualitas dan dapat dijadikan bahan baku obat herbal yang potensial.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adam, A. Z., Lee, S. Y. and Mohamed, R. (2017) 'Pharmacological properties of agarwood tea derived from *Aquilaria* (Thymelaeaceae) leaves: An emerging contemporary herbal drink', *Journal of Herbal Medicine*, 10(2017), pp. 37–44. doi: 10.1016/j.hermed.2017.06.002.
- Assis, L. C. S. and Rieppel, O. (2011) 'Are monophyly and synapomorphy the same or different? Revisiting the role of morphology in phylogenetics', *Cladistics*, 27(1), pp. 94–102.
- Bnouham, M. *et al.* (2006) 'Medicinal plants with potential antidiabetic activity - A review of ten years of herbal medicine research (1990-2000)', *Int J Diabetes Metab*, 14, pp. 1–25. doi: <https://doi.org/10.1159/000497588>.
- Chauhan, A. *et al.* (2010) 'Plants Having Potential Antidiabetic Activity: A Review', *Der Pharmacia Lettre*, 2(3), pp. 369–387.
- Chen, Y. *et al.* (2015) 'High speed BLASTN: An accelerated MegaBLAST search tool', *Nucleic Acids Research*, 43(16), pp. 7762–7768. doi: 10.1093/nar/gkv784.
- D'Aleilio and Gandolfi, A. (2012) 'Recombination Signals In The rpoC1 Gene Indicate Gene-Flow Between *Planktothrix* (Cyanoprokaryota) Species', *Journal of Phycology*, 48(6), pp. 1424–1432.
- Downie, S. R. *et al.* (1988) '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), pp. 791–803.
- Farris, J. S. (2008) 'Parsimony and explanatory power', *Cladistics*, 24(5), pp. 825–847.
- Gascuel, O. and Steel, M. (2006) 'Neighbor-joining revealed', *Mol Biol Evol*, 23(11), pp. 1997–2000.
- Goyal, Y. *et al.* (2020) 'Diabetes: Perspective and challenges in modern era', *Gene Report*, 20, p. 100759. doi: <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2020.100759>.
- Kunle, O. F., Egharevba, H. O. and Ahmadu, P. O. (2012) 'Standardization of herbal medicines - A review', *International Journal of Biodiversity and Conservation*, 4(3), pp. 101–112. doi: 10.5897/ijbc11.163.
- Larkin, M. A. *et al.* (2007) 'ClustalW and ClustalX version 2', *Bioinformatics*, 23(21), pp. 2947–2948.

- Lee, S. Y. *et al.* (2016) 'DNA barcoding of the endangered aquilaria (Thymelaeaceae) and its application in species authentication of Agarwood Products traded in the market', *PLoS ONE*, 11(4), pp. 1–21. doi: 10.1371/journal.pone.0154631.
- Lee, S. Y., Weber, J. and Mohamed, R. (2011) 'Genetic variation and molecular authentication of selected Aquilaria species from natural population in Malaysia using RAPD and SCAR markers', *Asian Journal of Plant Science*, 10(3), pp. 202–211.
- López-Sampson, A. and Page, T. (2018) 'History of Use and Trade of Agarwood', *Economic Botany*, 72(1), pp. 107–129. doi: 10.1007/s12231-018-9408-4.
- Lucena-Aguilar, G. *et al.* (2016) 'DNA source selection for downstream applications based on DNA quality indicators analysis', *Biopresserv Biobank*, 14(4), pp. 264–270.
- Nhu Tang, V. T. *et al.* (2018) 'Morphological characteristics of *Talinum paniculatum*, and nucleotide sequences of ITS region, rpoC1 and rpoB genes', *Vietnam Journal of Biotechnology*, 16(3), pp. 451–458.
- Pangriwibowo, S. (2020) *Langkah-langkah Pencegahan Bagi Penyandang Diabetes Melitus*. Jakarta.
- Patel, P. *et al.* (2012) 'Antidiabetic Herbal Drugs A Review', *Pharmacophore*, 3(1), pp. 18–29.
- Pawluczyk, M. *et al.* (2012) 'Two alleles of rpoB and rpoC1 distinguish an endemic European population from *Cistus heterophyllus* and its putative hybrid (*C. × clausonis*) with *C. albidus*', *Plant Systematic and Evolution*, 298, pp. 409–419.
- Pern, Y. C. *et al.* (2020) 'Genetic variation and DNA barcoding of the endangered agarwood-producing *Aquilaria beccariana* (Thymelaeaceae) populations from the Malesia Region', *Forestist*, 70(2), pp. 85–94. doi: 10.5152/forestist.2020.20009.
- Putri, Y. S., Wangiyana, I. G. A. S. and Nahlunnisa, H. (2021) 'Effectiveness of *Gyrinops versteegii* Leaves Extraction Based on Maceration Method', *Jurnal Silva Samalas*, 4(2), pp. 1–8.
- Roemantyo and Partomihardjo, T. (2010) 'Analisis Prediksi Sebaran Alami Gaharu Marga *Aquilaria* dan *Gyrinops* di Indonesia', *Berita Biologi*.
- Serino, G. and Maliga, P. (1988) 'RNA Polymerase Subunits Encoded by the Plastid rpo Genes Are Not Shared with the Nucleus-Encoded Plastid Enzyme', *Plant Physiology*, 117, pp. 1165–1170.
- Sgamma, T. *et al.* (2017) 'DNA barcoding for industrial quality assurance', *Planta Medica*, 83, pp. 1117–1129.
- Simon-Oke, I. A., Obimakinde, E. T. and Afolabi, O. J. (2018) 'Prevalence and distribution of malaria, Pfcrt and Pfmdr 1 genes in patients attending FUT Health Centre, Akure, Nigeria', *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 7(1), pp. 98–103. doi: 10.1016/j.bjbas.2017.07.009.
- Supriyanto and Iskandar, T. (2018) 'Penilaian kesehatan kebun benih semai Pinus merkussii dengan metode FHM (Forest Health Monitoring) di KPH Sumedang', *Jurnal Silvikultur Tropika*, 9(2), pp. 99–108. doi: 10.29244/j-siltrop.9.2.99-108.
- Tamura, K. *et al.* (2011) 'MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods', *Mol Biol Evol*, 28(10), pp. 2731–2739.
- Tanaka, S. and Ito, M. (2020) 'DNA barcoding for identification of agarwood source species using trnL-trnF and matK DNA sequences', *Journal of Natural Medicine*, 74(2), pp. 42–50.
- Triandini, I. G. A. A. H. *et al.* (2022) 'Pelatihan pembuatan teh herbal penunjang primary health care selama masa pandemi Covid-19 bagi ibu PKK Tanjung Karang Kota Mataram', *SELAPARANG Jurnal Pengabdian Masyarakat Berkemajuan*, 6(2), pp. 630–636.
- Wangiyana, I. G. A. S. (2016a) 'Molecular Phylogenetic Analyze of *Fusarium* from Agarwood and Others *Fusarium* with Different Type of Nutrition Based on Gen ITS 1', *Jurnal Sangkareang mataram*, 2(1), pp. 1–5.
- Wangiyana, I. G. A. S. (2016b) 'Phylogenetic Analysis of *Aquilaria* and *Gyrinops* Member Based on trnL-trnF Gene Sequence of Chloroplast', *Jurnal Sangkareang Mataram*, 2(4), pp. 41–46.
- Wangiyana, I. G. A. S. (2019a) 'Comparison of Dendrogram and Cladogram Topology of *Gyrinops versteegii* and Others *Gyrinops* Member for Polyphasic Taxonomy', *Jurnal Silva Samalas*, 2(1), pp. 13–18.
- Wangiyana, I. G. A. S. (2019b) 'Similarity analysis of Genera *Aquilaria* and *Gyrinops* based on vegetative structure feature using different clustering method', *Jurnal Sangkareang mataram*, 5(1), pp. 62–68.



- Wangiyana, I. G. A. S. *et al.* (2019) 'Tannin concentrations of Gyrinops tea with different leaf processing methods and addition of herbal medicine ingredients Tannin Concentrations of Gyrinops Tea with Different Leaf Processing Methods and Addition of Herbal Medicine Ingredients', in *AIP Conference Proceedings*. AIP Publishing, pp. 1–7.
- Wangiyana, I. G. A. S. (2020a) 'DNA Barcoding Library Database of Aquilaria Member and Gyrinops Member', *Jurnal Silva Samalas*, 3(2), pp. 68–75.
- Wangiyana, I. G. A. S. (2020b) 'Medicinal Effect Review of Agarwood Leaves From Aquilaria and Gyrinops Genera', *Jurnal Silva Samalas*, 3(1), pp. 36–43.
- Wangiyana, I. G. A. S., Nugraheni, Y. M. M. A., *et al.* (2021) 'Morphological and DNA Polymorphism Analyses of *Fusarium Solani* Isolated from Gyrinops *Versteegii* in the West Nusa Tenggara Forest', *ASM Science Journal*, 14(2), pp. 65–74.
- Wangiyana, I. G. A. S., Supriadi, *et al.* (2021) 'Phytochemical screening and antioxidant activity of Gyrinops tea from agarwood plantation on Lombok island, Indonesia', in *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, pp. 1–6. doi: 10.1088/1755-1315/712/1/012029.
- Wangiyana, I. G. A. S. (2022a) 'Aplikasi BLAST NCBI dalam pencarian type reference sekuen rbcL *Gyrinops versteegii*', *Jurnal Sangkareang Mataram*, 9(1), pp. 19–24.
- Wangiyana, I. G. A. S. *et al.* (2022) 'Diversity of Gyrinops *versteegii* from several agarwood plantation on Lombok Island (Indonesia) as raw material of Gyrinops tea', *Biodiversitas*, 23(1), pp. 178–186.
- Wangiyana, I. G. A. S. (2022b) 'Rekonstruksi Pohon Filogenetik Dari Sekuen Maturase K Gyrinops *versteegii* Menggunakan Referensi Pencarian MegaBLAST', *Jurnal Sangkareang mataram*, 9(2), pp. 19–24.
- Wangiyana, I. G. A. S. and Putri, D. S. (2019) 'Teh Gyrinops : Produk Inovatif dari Istri Petani Desa Duman Kecamatan Lingsar Kabupaten Lombok Barat', in *Prosiding PEPADU*, pp. 388–396.
- Wangiyana, I. G. A. S. and Triandini, I. G. A. A. H. (2021) 'Mini-review Teknologi Produksi Teh Herbal Gaharu', *Journal of Agritechnology and Food Processing*, 1(2), pp. 85–92.
- Westesson, O. *et al.* (2012) 'Accurate Reconstruction of Insertion-Deletion Histories by Statistical Phylogenetics', *PLoS ONE*, 7(4), pp. 1–12.
- WHO (2022) *Diabetes*. Available at: [https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1) (Accessed: 5 December 2022).
- Wicaksono, H., Wangiyana, I. G. A. S. and Nizar, W. Y. (2019) 'Studi kolonisasi fungi mikoriza arbuskular pada gaharu (*Gyrinops versteegii*) dengan sumber inokulan rizosfer perkebunan gaharu', *Jurnal Agrotek Ummat*, 6(2), pp. 45–50.
- Yeh, H. C. *et al.* (2012) 'Comparative effectiveness and safety of methods of insulin delivery and glucose monitoring for diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis', *Annals of internal medicine*, 157(5), pp. 336–347.