

APLIKASI BLAST NCBI DALAM PENCARIAN TYPE REFERENCE SEKUEN RBCL GYRINOPS VERSTEEGII

Oleh :

I Gde Adi Suryawan Wangiyana

Program Studi Kehutanan Universitas Pendidikan Mandalika

dede.consultant@gmail.com

Abstrak: Tujuan riset ini adalah untuk menguji aplikasi BLAST NCBI dalam pencarian type reference sekuen rbcL spesies *Gyrinops versteegii* sekaligus sebagai acuan analisis filogenetik. Daun *G. versteegii* diambil dari perkebunan gaharu di Desa Langko Lombok Barat. Ekstraksi DNA dari daun *G. versteegii* dilakukan dengan menggunakan Blood Animal Plant DNA Preparation Kit. DNA genom hasil isolasi diukur konsentrasi dan kemurniannya dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang 230 nm, 260 nm, dan 280 nm. Amplifikasi PCR dilakukan dengan menggunakan KAPA 2G PCR mix 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. Penelusuran Type reference dilakukn dengan menggunakan aplikasi MegaBLAST. Hasil Penelusuran selanjutnya di alignment dengan ClustalX dan direkonstruksi pohon filogenetiknya menggunakan algoritme Neighbor-Joining dan Maximum Parsimony pada program MEGA 5.1. Hasil penelusuran MegaBLAST menunjukkan type reference rbcL *G. versteegii* yang terdiri dari 13 genus dan 43 spesies. Beberapa genus merupakan anggota family Thymeleaceae (*Gyrinops*, *Aquilaria*, *Gonystylus*, dan *Wikstroemia*) namun terdapat pula genus non family Thymeleaceae (*Degeworthia*, *Stellera*, *Daphne*, *Diarthorn*, *Phaleria*, *Pimelea*, *Ovidia*, *Gnidia*, dan *Lachnaea*). Genus *Gyrinops* dan *Aquilaria* tetap menjadi dua genus dengan nilai % identity tertinggi sehingga dijadikan type reference untuk rekonstruksi pohon filogenetik. Pohon filogenetik algoritme Neighbor-Joining maupun Maximum Parsimony sama – sama menunjukkan bahwa OTU *G. versteegii* selalu terkumpul dalam clade yang sama. Hal ini sekaligus menunjukkan hubungan yang bersifat monofiletik.

Kata kunci : BLAST, *Gyrinops versteegii*, rbcL

PENDAHULUAN

Gyrinops versteegii merupakan spesies gaharu endemik di pulau Lombok (Sutomo and Oktaviani, 2019). Spesies ini hampir diseluruh wilayah pulau Lombok mulai dari bagian utara (Wangiyana and Malik, 2018), barat (Wangiyana *et al.*, 2020), tengah (Setyayudi *et al.*, 2017), timur (Wangiyana and Iskandar, 2021), dan region kota Mataram (Wangiyana, Sanjaya and Anggadhania, 2020). Dengan demikian dapat dikatakan bahwa spesies ini merupakan komoditi hasil hutan bukan kayu unggulan dari Pulau Lombok.

Komoditi gaharu dari spesies *G. versteegii* dapat diolah menjadi berbagai produk. Bibit *G. versteegii* yang dikembangkan dari benih merupakan produk unggulan dikalangan produsen bibit di Pulau Lombok (Wangiyana and Wanitaningsih, 2018). Daun *G. versteegii* dapat diolah menjadi produk teh herbal berkhasiat medis dan memiliki nilai ekonomi menjanjikan (Wangiyana, 2020b; Wangiyana and Triandini, 2021). Resin pada batang *G. versteegii* dapat diolah menjadi minyak gaharu yang merupakan komoditi ekspor bernilai ekonomis tinggi (Wangiyana, 2019b).

Produk dari gaharu *G. versteegii* yang bervariasi memerlukan adanya standardiasi terhadap komoditi ini. Pemanfaatan DNA barcoding merupakan salah satu metode standardisasi produk yang dapat diterapkan pada komoditi gaharu (Pern *et al.*, 2020). Analisis DNA barcoding terhadap komoditi gaharu dari genus *Aquilaria* telah banyak dilakukan dalam

upaya autentikasi dan standaradisasi produk (Lee *et al.*, 2016). Sementara itu, standardisasi komoditi gaharu dari genus *Gyrinops*, khususnya *G. versteegii* masih sangat minim dilakukan. Hal ini terlihat dari minimnya “library database” DNA barcoding *Gyrinops* dibandingkan *Aquilaria* (Wangiyana, 2020a)

Studi DNA barcoding sebagai upaya standardisasi produk perlu dilakukan terhadap *G. versteegii* dari Pulau Lombok. Variasi spesies ini di beberapa region berbeda di Pulau Lombok merupakan alasan utama pentingnya dilakukan upaya standardisasi (Wangiyana, Supriadi, Nikmatullah, Sunarpi, Putri, *et al.*, 2021). Variasi secara morfologi dan fitokimia ditunjukkan oleh spesies *G. versteegii* yang diambil dari beberapa region di Pulau Lombok (Wangiyana, Supriadi, Nikmatullah, Sunarpi and Mulyaningsih, 2021).

Standardisasi dengan DNA barcoding memerlukan marker molekular dalam studinya (Irsyad *et al.*, 2020). Salah satu marker yang banyak digunakan dalam DNA barcoding spesies gaharu adalah region subunit besar Ribulose 1,5-biphosphate carboxylase oxygenese (rbcL) (Wangiyana, 2020a). Database sekuen rbcL sudah terdata dengan baik pada basis data NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Pengembangan studi marker DNA barcoding dapat dilakukan dengan menggunakan basis data NCBI sebagai sumber referensi utama.

Salah satu metode pencarian referensi sekuen yang disediakan oleh NCBI adalah Basic Local

Alignment Search Tool (BLAST). BLAST dapat menyediakan data type reference dalam waktu cepat dengan akurasi dan presisi tinggi (Chen *et al.*, 2015). Aplikasi ini juga sangat potensial digunakan untuk pencarian type reference sekuen rbcL. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk menguji aplikasi BLAST NCBI dalam pencarian type reference sekuen rbcL spesies *Gyrinops versteegii*.

METODE PELAKSANAAN

a. Sampling Daun *G. versteegii*

Daun *G. versteegii* diambil dari perkebunan gaharu di Desa Langko Lombok Barat (Wangiyana, Triandini and Anita Nugraheni, 2021). Daun *G. versteegii* yang dipilih adalah daun yang bebas dari klorosis dan nekrosis serta bebas dari serangan hama dan penyakit. Daun *G. versteegii* mendapat perlakuan *surface sterilization* sebelum dibawa ke laboratorium untuk proses ekstraksi DNA.

b. Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dari daun *G. versteegii* menggunakan Blood Animal Plant DNA Preparation Kit (Jena Bioscience) sesuai dengan rekomendasi dari produsen (Simon-Oke, Obimakinde and Afolabi, 2018). Daun *G. versteegii* dihaluskan dengan menggunakan nitrogen cair hingga menjadi. Sebanyak 80 mg partikel daun dipindahkan ke extraction kit column berisi semua reagent yang diperlukan untuk ekstraksi DNA. Proteinase K dan RNase ditambahkan dalam campuran untuk mendegradasi kontaminan protein dan RNA dalam sampel (Wangiyana *et al.*, 2022).

DNA genom hasil isolasi dari daun *G. versteegii* diukur konsentrasi dan kemurniannya dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang 230 nm, 260 nm, dan 280 nm (Lucena-Aguilar *et al.*, 2016). Visualisasi hasil isolasi DNA dilakukan dengan elektroforesis menggunakan agarose 0,8% dengan pewarnaan ethidium bromide. Ladder 1000 bp (Invitrogen) digunakan sebagai marker.

c. Amplifikasi PCR

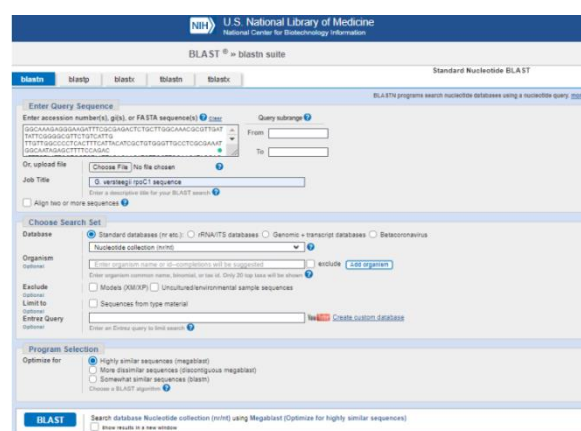
Amplifikasi PCR dilakukan dengan menggunakan primer universal rbcL seperti pada gambar 1. Reaksi PCR dilakukan pada volume total 25 µl yang mengandung 12,5 µl 2 x KAPA 2G PCR mix (KAPA Biosystem), 8,5 µl ddH₂O, 2 µl primer (10 pmol/ µl), dan 2 µl DNA template (40 ng/ µl). Amplifikasi PCR dilakukan pada 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')
rbcL	rbcL-aF	ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC
	rbcL-aR	CTTCTGCTACAAATAAGAATCGATCTC

Gambar 1. Sekuen primer rbcL

d. Aplikasi BLAST NCBI

Pencarian sekuen referen dilakukan menggunakan aplikasi BLAST NCBI. File sekuen dalam format FASTA dimasukkan dalam website NCBI (<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 (gambar 2). Pencarian sekuen referen dengan memanfaatkan MegaBLAST merupakan salah satu metode efektif dan efisien (Chen *et al.*, 2015)



Gambar 2. Tampilan aplikasi BLAST NCBI

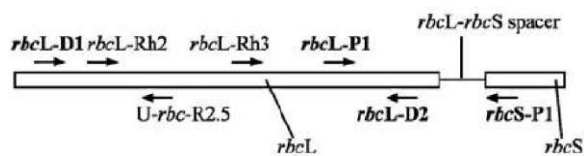
e. Analisis Filogenetik

File FASTA yang diperoleh dari hasil pencarian referen dengan menggunakan MegaBLAST merupakan sumber data utama dalam analisis filogenetik. File FASTA tersebut dikompilasi untuk selanjutnya dilakukan *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

Region subunit besar Ribulose 1,5-biphosphate carboxylase oxygenase (rbcL) merupakan salah satu marker molekular yang potensial. Marker ini dapat digunakan dalam DNA barcoding ataupun analisis filogenetik. Secara struktural, sekuen rbcL berdampingan dengan rbcS yang dipisahkan oleh rbcL-rbcS spacer (gambar 3)



Gambar 3. Sekuen region rbcL

Berdasarkan pencarian dengan MegaBLAST terdapat variasi type reference dari sekuen rbcL *G. versteegii*. Tercatat ada 13 genus yang memiliki masuk kriteria similarity sekuen dari aplikasi MegaBLAST. Diantara 13 genus terdapat total 43 spesies yang menjadi type reference dari sekuen rbcL *G. versteegii*. Parameter “number of hits” dan “number of organisms” dari tiap type reference juga bervariasi antar genus dan juga antar spesies.

Hal yang unik dari hasil penelusuran MegaBlast adalah adanya type reference yang bukan merupakan spesies penghasil gaharu dari family Thymeleaceae. Beberapa genus tersebut adalah: *Degeworthia*, *Stellera*, *Daphne*, *Diarthron*, *Phaleria*, *Pimelea*, *Ovidia*, *Gnidia*, dan *Lachnaea*. Sementara itu, untuk genus spesies penghasil gaharu yang menjadi bagian family Thymeleaceae adalah *Gyrinops*, *Aquilaria*, *Gonystylus*, dan *Wikstroemia*. *Aquilaria* dan *Wikstroemia* menjadi genus family Thymeleaceae yang paling banyak memiliki spesies type reference semenara itu *Daphne* menjadi genus non family Thymeleaceae yang paling banyak memiliki spesies type reference. *Gyrinops* yang merupakan genus dari spesies *Gyrinops versteegii* Justru terkonfirmasi hanya memiliki 3 type reference. Hal ini sekaligus menunjukkan minimnya database sekuen genus *Gyrinops* di bank data.

Tabel 1. Type Reference dari MegaBLAST

Genus	Species	number of hits	number of organisms
Gyrinops	<i>Gyrinops versteegii</i>	1	1
	<i>Gyrinops walla</i>	2	1
	<i>Gyrinops caudata</i>	1	1
Aquilaria	<i>Aquilaria yunnanensis</i>	6	1
	<i>Aquilaria sinensis</i>	14	1
	<i>Aquilaria microcarpa</i>	5	1
	<i>Aquilaria malaccensis</i>	6	1
	<i>Aquilaria subintegra</i>	5	1
	<i>Aquilaria hirta</i>	5	1
	<i>Aquilaria crassna</i>	8	1
	<i>Aquilaria beccariana</i>	3	1
	<i>Aquilaria rostrata</i>	3	1
	<i>Aquilaria rugosa</i>	1	1
<i>Aquilaria agallochum</i>	1	1	
Gonystylus	<i>Gonystylus bancanus</i>	2	1
	<i>Gonystylus affinis</i>	2	1
Degewohia	<i>Edgeworthia gardneri</i>	2	1
	<i>Edgeworthia albiflora</i>	2	1
Stellera	<i>Stellera chamaejasme</i>	2	2
	<i>Wikstroemia dolichantha</i>	2	1
Wikstroemia	<i>Wikstroemia capitata</i>	2	1
	<i>Wikstroemia indica</i>	2	1
	<i>Wikstroemia scytophylla</i>	2	1
	<i>Wikstroemia chamaedaphne</i>	2	1
	<i>Wikstroemia micrantha</i>	1	1
	<i>Wikstroemia alternifolia</i>	2	1
	<i>Wikstroemia canescens</i>	2	1
	<i>Wikstroemia genkwa</i>	3	1
Daphne	<i>Daphne genkwa</i>	3	1
	<i>Daphne giraldii</i>	2	1

<i>Daphne tangutica</i>	2	1
<i>Daphne depauperata</i>	2	1
<i>Daphne retusa</i>	2	1
<i>Daphne feddei</i>	3	1
<i>Daphne laureola</i>	1	1
<i>Daphne kiusiana</i>	1	1
<i>Daphne acutiloba</i>	3	1
<i>Diarthron Diarthron linifolium</i>	2	1
<i>Phaleria Phaleria macrocarpa</i>	2	1
<i>Pimelea Pimelea aquilonia</i>	2	1
<i>Ovidia Ovidia andina</i>	1	1
<i>Gnidia Gnidia coriacea</i>	1	1
<i>Lachnaea Lachnaea lamiflora</i>	1	1

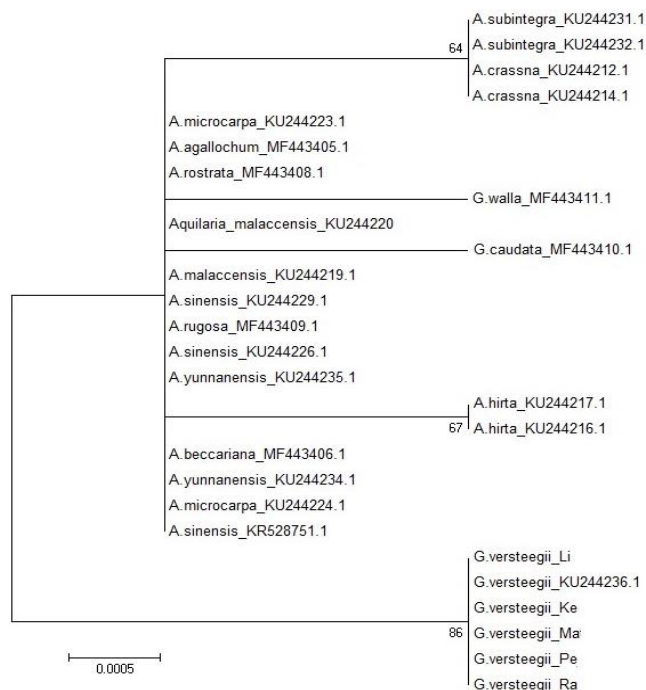
Tabel 2. Sekuen *Aquilaria* dan *Gyrinops* hasil penelusuran MegaBLAST

specimen	Total Score	% Ident	Accession
<i>Gyrinops versteegii</i> voucher FBL01027	1238	100,0%	KU244236
<i>Aquilaria yunnanensis</i> voucher FBL01026	1227	99,7%	KU244235
<i>Aquilaria sinensis</i> voucher FBL01023	1227	99,7%	KU244230
<i>Aquilaria microcarpa</i> voucher FBL01020	1227	99,7%	KU244224
<i>Aquilaria malaccensis</i> voucher FBL01002	1227	99,7%	KU244220
<i>Gonystylus bancanus</i> voucher FBL01031	1221	99,55%	KU244237
<i>Aquilaria subintegra</i> voucher FBL01016	1221	99,55%	KU244232
<i>Aquilaria malaccensis</i> voucher FBL01003	1221	99,55%	KU244221
<i>Aquilaria hirta</i> voucher FBL01005	1221	99,55%	KU244217
<i>Aquilaria crassna</i> voucher FBL01017	1221	99,55%	KU244215
<i>Gyrinops walla</i> voucher FBL04005	1194	98,81%	MF443411
<i>Aquilaria sinensis</i> voucher PS1178MT01	1162	98,92%	GQ436619
<i>Aquilaria rugosa</i> voucher CC-AC974	1129	99,68%	MF443409
<i>Aquilaria rostrata</i> voucher FBL03001	1129	99,68%	MF443408
<i>Aquilaria beccariana</i> voucher FBL04002	1129	99,68%	MF443406
<i>Aquilaria agallochum</i> voucher JAI0001	1129	99,68%	MF443405
<i>Aquilaria sinensis</i> isolate J174	1127	98,89%	KR528751
<i>Gyrinops walla</i> voucher FBL04005	1123	99,51%	MF443411
<i>Gyrinops caudata</i> voucher MTJ0002	1123	99,51%	MF443410

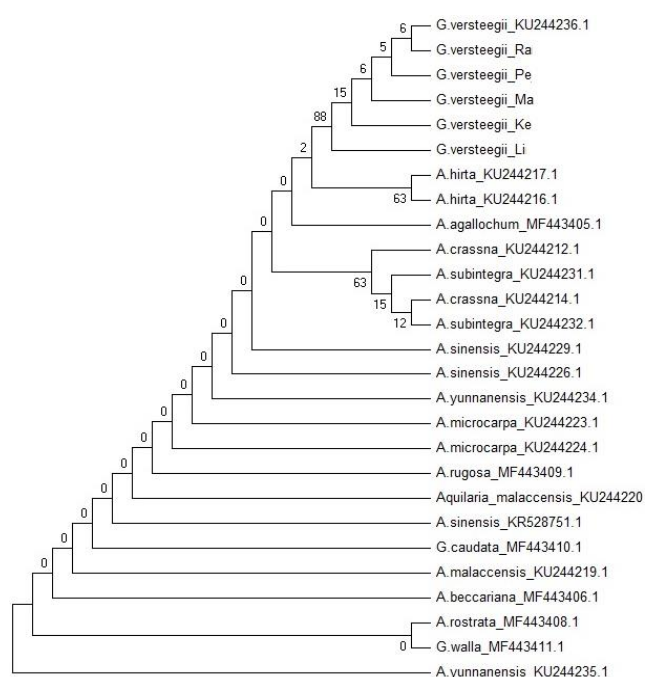
Type reference sekuen dari hasil pencarian MegaBLAST diseleksi kembali berdasarkan total score dan persentase identik. Dengan mengacu pada persentase identik diatas 98% maka spesies dari genus *Gyrinops* dan *Aquilaria* saja yang masuk type reference ideal untuk dijadikan sebagai acuan untuk analisis filogenetik. Anggota genus *Aquilaria* dan *Gyrinops* memiliki tingkat similaritas tinggi dan menunjukkan pola kekerabatan yang dekat ketika

dianalisis menggunakan marker molekular lain seperti trnL – trnF (Wangiyana, 2016b).

Sekuen rbcL spesies anggota genus *Aquilaria* dan *Gyrinops* hasil penelusuran MegaBLAST dijadikan referensi untuk analisis filogenetik. Analisis filogenetik dilakukan dengan menggunakan dua algoritme yang memiliki metode pendekatan berbeda yaitu: Neighbor – Joining dan Maximum Parsimony. Analisis filogenetik dengan menggunakan berbagai algoritme dapat meningkatkan reabilitas data yang diperoleh sekaligus sebagai sistem konfirmasi berbagai topology kladogram yang dihasilkan (Wangiyana, 2016a).



Gambar 4. Pohon Filogenetik Algoritme Neighbor – Joining 1000 Bootstrap



Gambar 5. Pohon Filogenetik Algoritme Maximum Parsimony 1000 bootstrap

Pohon filogenetik yang direkonstruksi dengan algoritme Neighbor – Joining menunjukkan bahwa OTU *G. versteegii* berkumpul membentuk clade tersendiri (gambar 4). Clade lain yang terbentuk terdiri dari kumpulan OTU spesies *Aquilaria*. Clade *Aquilaria* yang memiliki nilai divergensi terdekat dari clade *Gyrinops versteegii* terdiri dari OTU *Aquilaria crassna* dan *Aquilaria subintegra*. OTU *Gyrinops walla* dan *Gyrinops caudate* tersebar dan tidak bergabung dengan clade *Aquilaria* manapun. Akan tetapi kedua spesies ini juga tidak bergabung dalam clade *Gyrinops versteegii*. Sebaran *G. versteegii* dan spesies anggota genus *Gyrinops* lainnya pada riset kali ini mengkonfirmasi hasil riset serupa yang membandingkan cladogram dan dendrogram (Wangiyana, 2019a)

Topologi pohon filogenetik algoritme Maximum Parsimony berbeda dengan pohon filogenetik Neighbor – joining. Meskipun pada pohon filogenetik ini terbentuk juga clade *Gyrinops versteegii* seperti pada pohon filogenetik Neighbor – joining, namun kondisi OTU anggota *Gyrinops* lainnya cukup berbeda signifikan. OTU *Gyrinops walla* dan *Gyrinops caudate* pada pohon filogenetik ini tidak berdiri sendiri dan justru bergabung dengan clade genus *Aquilaria*. OTU *G. walla* bahkan menjadi sister taksa *A. rostrata*. Tergabungnya anggota genus *Gyrinops* dan *Aquilaria* ini bukan suatu hal yang baru karena berdasarkan beberapa riset sebelumnya juga diperoleh hasil demikian (Wangiyana, 2016b).

Perbedaan topology cladogram ini sekaligus mengkonfirmasi pentingnya melakukan berbagai pendekatan dalam studi keanekaragaman baik berdasarkan hubungan similaritas maupun kekerabatan (Wangiyana, 2019c). Studi komprehensif dan penggunaan berbagai metode analisis dapat mendukung analisis yang sifatnya polifasik (Carvalho, Munita and Lapolli, 2019). Studi filogenetik dengan dua algoritme berbeda pada riset ini menunjukkan OTU *G. versteegii* bersifat monofiletik karena selalu bergabung dalam clade yang sama.

PENUTUP

a. Simpulan

Penelusuran database NCBI dengan MegaBLAST menunjukkan bahwa sekuen rbcL *G. versteegii* memiliki type reference yang bervariasi tidak hanya dari anggota family Thymleaceae tetapi juga non-family Thymleaceae. Meskipun demikian nilai % similarity tetap dimiliki oleh sekuen dari genus *Gyrinops* dan *Aquilaria* yang memiliki hubungan kekerabatan dekat berdasarkan analisis filogenetik menggunakan algoritme Neighbor – Joining dan Maximum Parsimony.

b. Saran

Diperlukan tambahan studi dengan menggunakan marker molekular selain rbcL untuk mengkonfirmasi analisis filogenetik yang dilakukan pada riset ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Carvalho, P. R., Munita, C. S. and Lapolli, A. L. (2019) 'Validity studies among hierarchical methods of cluster analysis using cophenetic correlation coefficient', *Brazilian Journal of Radiation Sciences*, 7(2A), pp. 1–14.
- 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.
- 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. 1997–200.
- Irsyad, A. F. *et al.* (2020) 'Genetic variation of agarwood producing tree (*Gyrinops versteegii*) from Pongkor, Manggarai District, Flores Island, Indonesia using ISSR molecular markers', *Biodiversitas*, 21(2), pp. 485–491. doi: 10.13057/biodiv/d210208.
- 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.
- 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.
- 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.
- Setyayudi, A. *et al.* (2017) 'Ujicoba perbanyakan vegetatif sambung tanaman *Gyrinops versteegii*', *Ulin Jurnal Hutan Tropis*, 1(2), pp. 90–95.
- Simon-Oke, I. A., Obimakinde, E. T. and Afolabi, O. J. (2018) 'Prevalence and distribution of malaria, *Pfprt* 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.
- Sutomo, S. and Oktaviani, G. A. (2019) 'Eksplorasi lapangan jenis penghasil gaharu (*Gyrinops versteegii*) di Pulau Lombok Nusa Tenggara Barat', *ULIN: Jurnal Hutan Tropis*, 3(2), pp. 64–69.
- 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.
- 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) 'Medicinal Usage of Agarwood Resin in Form of Essential Oil: A Review', *Jurnal Silva Samalas*, 2(2), pp. 86–90.
- Wangiyana, I. G. A. S. (2019c) '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. (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. *et al.* (2020) 'Pemberdayaan Kelompok Karang Taruna Desa Kekait Pucang dalam Optimalisasi Investasi Gaharu dari Jenis *Gyrinops Versteegii*', *Lambung Inovasi: Jurnal Pengabdian kepada Masyarakat*, 5(2), pp. 48–55.
- 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, Nikmatullah, A., Sunarpi, Putri, D. S., *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.

- Wangiyana, I. G. A. S., Supriadi, Nikmatullah, A., Sunarpi and Mulyaningsih, T. (2021) ‘Tannin Concentration of Gyrinops Tea Taken Form Different Agarwood Plantation and Different Processing Method Tannin Concentration of Gyrinops Tea Taken Form Different Agarwood Plantation and Different Processing Method’, *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 913(012068), pp. 1–7.
- 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. and Iskandar, E. (2021) ‘Bio-Induksi Ranting Cabang Gaharu (Gyrinops versteegii) Di Perkebunan Gaharu Desa Pejaring Lombok Timur’, *ULIN: Jurnal Hutan Tropis*, 5(2), pp. 106–115.
- Wangiyana, I. G. A. S. and Malik, S. (2018) ‘Application of Arbuscular Mycorrhiza from Senaru Forest Rhizosphere for Gyrinops versteegii Germination and Growth’, *Biosaintifika Journal of Biology & Biology Education*, 10(2), pp. 432–438.
- Wangiyana, I. G. A. S., Sanjaya, A. and 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), pp. 173–183.
- 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.
- Wangiyana, I. G. A. S., Triandini, I. G. A. A. H. and Anita Nugraheni, Y. M. M. (2021) ‘Hedonic test of agarwood tea from Gyrinops versteegii with different leaves processing method’, *Jurnal Riset Industri Hasil Hutan*, 13(2), pp. 99–110.
- Wangiyana, I. G. A. S. and Wanitaningsih, S. K. (2018) ‘Pkm kelompok pembibit gaharu desa kekait puncang untuk meningkatkan efisiensi produksi bibit’, *Lambung Inovasi*, 3(1), pp. 52–58.