

**KERAGAMAN GENETIK *Gonystylus bancanus* (mig.) KURZ. BERDASARKAN
PENANDA RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)**

Genetic Diversity of Gonystylus Bancanus (mig.) Kurz. Based on RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) Markers

AYPBC Widyatmoko¹ dan Aprianto²

¹Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan
Jl. Palagan Tentara Pelajar km 15 Purwobinangun Pakem Sleman Yogyakarta
aviwicaksono@yahoo.com

²Fakultas Biologi, Universitas Kristen Duta Wacana

ABSTRACT

Gonystylus bancanus (Ramin) is one of the most valuable timber species in peat swamp forest. Over harvesting and illegal logging had decreased the potential of the species. Thus, conservation of the species becomes a very crucial activity to be carried out. In order to conserve efficient and effectively, it is important to gather information of genetic diversity and its distribution, and also genetic relationship among populations. In this activity, 86 loci from 20 RAPD primers were used for analyzing genetic diversity of 10 populations of ramin distributed in Kalimantan and Sumatera. As a result, mean genetic diversity of the 10 populations was 0.329, and mean genetic distance between populations was 0.061. Genetic diversity within population (94%) was higher than between populations (6%). Based on cluster analysis, 10 populations of ramin were divided into 2 groups. The first group was consisted of Kuok B, and the remaining 9 populations were clustered into the second group. The second group could be divided into 3 sub-groups, the first sub-group consisted of Mesukuh I, Mesukuh II, Pakilat I, Kanarakan dan Nyaru Menteng, second sub-group was consisted of Pakilat II, and the third sub-group was consisted of PT Diamond, Kuok A and Berbak.

Keywords : *Gonystylus bancanus*, genetic diversity, RAPD, conservation

ABSTRAK

Gonystylus bancanus (Ramin) merupakan salah satu jenis yang tumbuh di hutan rawa gambut dan bernilai ekonomis sangat tinggi. Penebangan yang sangat intensif ditambah dengan banyaknya penebangan liar menyebabkan menurunnya potensi dari jenis ini. Oleh karenanya, kegiatan konservasi menjadi kegiatan yang sangat penting untuk segera dilakukan. Untuk melestarikan ramin secara efektif dan efisien, informasi mengenai keragaman genetik dan distribusinya, serta hubungan kekerabatan antar populasi sangat dibutuhkan. Pada penelitian ini, 86 losi yang diperoleh dari 20 primer RAPD digunakan untuk mengetahui keragaman genetik 10 populasi ramin yang tersebar di Kalimantan dan Sumatera. Sebagai hasilnya, rata-rata keragaman genetik dari 10 populasi Ramin adalah 0,329 dan rata-rata jarak genetik antar populasi adalah 0,061. Distribusi keragaman genetik di dalam populasi jauh lebih besar (94%) daripada antar populasi (6%). Berdasarkan hasil analisis hubungan kekerabatan, 10 populasi *G. bancanus* terbagi dalam 2 kelompok besar. Kelompok pertama terdiri Kuok B, sedangkan 9 populasi lainnya membentuk kelompok kedua. Kelompok kedua dapat dibagi lagi menjadi 3 kelompok kecil (sub kelompok). Sub kelompok 1 terdiri dari populasi dari Mesukuh I, Mesukuh II, Pakilat I, Kanarakan dan Nyaru Menteng; sub kelompok 2 terdiri dari Pakilat II. sub kelompok 3 terdiri dari PT Diamond, Kuok A dan Berbak.

Kata kunci: *Gonystylus bancanus*, keragaman genetik, RAPD, konservasi

I. PENDAHULUAN

Ramin (*Gonystylus bancanus* (Mig.) Kurz.) dikenal sebagai salah satu jenis pohon utama penyusun hutan rawa gambut pada tanah organik (gambut), terutama yang mengalami genangan air secara periodik dan juga daerah yang tidak tergenang hingga ketinggian 100 m di atas permukaan laut (Shaw, 1954).

Saat ini penyebaran ramin dalam skala besar hanya ditemui di 5 propinsi, yaitu Riau, Jambi, Sumatera Selatan, Kalimantan Tengah dan Kalimantan Barat. Dengan nilai komersilnya yang tinggi, pohon ini disukai oleh banyak orang dan akibatnya banyak ditebang, baik secara legal maupun ilegal. Penebangan secara legal maupun ilegal ini telah meluas, tidak hanya di hutan produksi saja tapi sampai merambah ke kawasan konservasi.

Menurut laporan *International Union for Conservation of Nature and Natural Resources* (IUCN, 2006), ramin termasuk tumbuhan dalam kategori kritis (*critically endangered*) atau sudah mulai terancam punah dan saat ini sudah dimasukkan dalam

daftar *Convention on International Trade in Endangered Species of Wildlife Fauna and Flora* (CITES). Beberapa karakter ramin yang menjadi kendala pertumbuhan dan pengembangan jenis tersebut adalah pembuahan tidak terjadi sepanjang tahun, biji berjenis rekalsitran, pertumbuhan lambat dan hanya cocok tumbuh pada hutan rawa gambut. Saat ini, terdapat tujuh areal konservasi *in situ* ramin yang tersebar di lima propinsi (Wardhani dkk., 2010). Tiga di antaranya berupa taman nasional, yaitu TN Berbak (Jambi), TN Sebangau dan TN Tanjung Puting (Kalimantan Tengah). Jayusman (2007) melaporkan bahwa berdasarkan hasil *cruising* sejak tahun 1999 telah terjadi penurunan potensi ramin sebesar 80%, dengan densitas sebesar 0,7 pohon/hektar.

Keragaman genetik sangat penting dalam kegiatan konservasi karena keragaman genetik yang tinggi akan sangat membantu suatu jenis untuk beradaptasi terhadap perubahan-perubahan yang terjadi di lingkungan, termasuk mampu beradaptasi terhadap penyakit yang ada di alam. RAPD

(*Random Amplified Polymorphic DNA*) merupakan salah satu penanda DNA yang sering digunakan untuk analisis keragaman genetik karena pengerjaannya cukup sederhana dan memerlukan waktu yang relatif singkat dibanding teknik molekular lainnya (Williams dkk., 1990). Keuntungan lain dari penggunaan RAPD adalah kuantitas DNA yang dibutuhkan hanya sedikit (5-25 ng DNA dalam setiap reaksi PCR), bahkan hingga 1,5 ng DNA (Pandey dkk., 1996). Kusumadewi dkk. (2010) melaporkan keragaman genetik ramin dari enam populasi di Propinsi Riau menggunakan penanda RAPD. RAPD telah banyak digunakan dalam analisis keragaman genetik berbagai jenis tanaman seperti *Intsia bijuga* (Rimbawanto dan Widyatmoko,

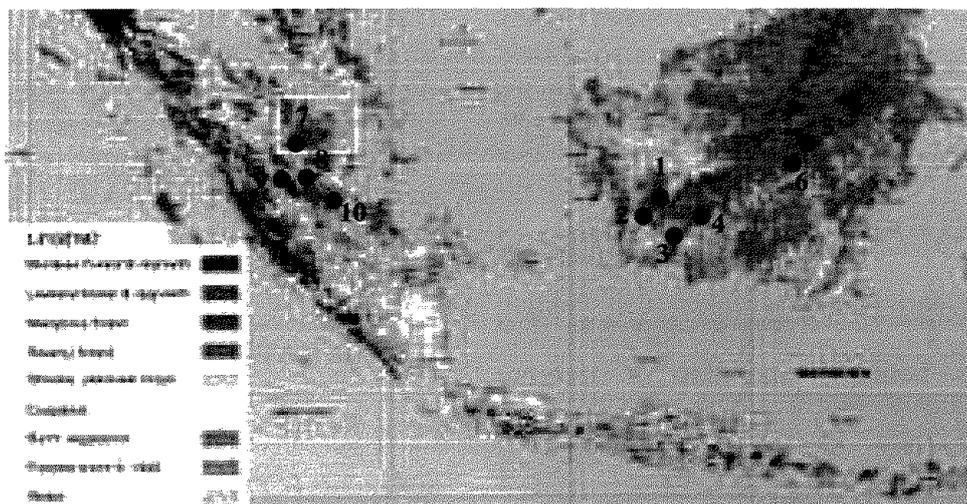
2006), *Eusideroxylon swageri* (Rimbawanto dkk., 2006), *Gyrinops verstegii* (Widyatmoko dkk., 2009) dan *Aquilaria* sp (Widyatmoko dkk., 2011).

Studi ini bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik, distribusinya dan hubungan kekerabatan antar 10 populasi ramin yang terdapat di Kalimantan dan Sumatera menggunakan penanda RAPD.

II. BAHAN DAN METODE

Materi genetik dan ekstraksi DNA

Materi genetik tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun dari individu pohon yang berasal dari 10 populasi dan tersebar di empat propinsi (Riau, Jambi, Kalimantan Tengah dan Kalimantan Barat). Detail dari materi penelitian ini disajikan pada Gambar 1 dan Tabel 1.



Gambar 1. Peta lokasi 10 populasi ramin (Nomor populasi sesuai dengan Tabel 1)

Tabel 1. Daftar populasi dan jumlah sampel yang digunakan dalam studi ini

No.	Populasi	Propinsi	Jumlah sampel
1	Mesukuh I	Kalimantan Barat	8
2	Mesukuh II	Kalimantan Barat	8
3	Pakilat I	Kalimantan Barat	8
4	Pakilat II	Kalimantan Barat	6
5	Kanarakan	Kalimantan Tengah	12
6	Nyarumenteng	Kalimantan Tengah	12
7	PT. Diamond	Riau	12
8	Kuok I	Riau	6
9	Kuok II	Riau	6
10	TN. Berbak	Jambi	18
	Total		96

Menurut Tukirin (2006), sebaran alami ramin yang tersisa berada di Pulau Sumatera dan Kalimantan. Propinsi yang masih banyak menyimpan potensi ramin adalah Riau, Jambi, Sumatera Selatan, Kalimantan Barat dan Kalimantan Tengah. Materi genetik yang digunakan pada penelitian ini menggunakan materi yang berasal dari empat dari lima propinsi tersebut. Jumlah populasi yang digunakan adalah 7, tetapi mengingat luasnya 3 populasi dari Kuok, Mesukuh dan Pakilat, maka ketiga populasi tersebut masing-masing dipisah lagi menjadi 2 populasi. Jarak antara 2 populasi dengan

nama yang sama relatif cukup jauh sehingga diperkirakan mempunyai struktur genetik yang berbeda.

Ekstraksi dari total DNA dilakukan menggunakan metode CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*) yang dikembangkan oleh Shiraishi dan Watanabe (1995). DNA hasil ekstraksi selanjutnya dipurifikasi menggunakan GENE CLEAN III (BIO101) mengikuti petunjuk yang diberikan oleh produsen.

Analisis RAPD

Reaksi PCR dilaksanakan menggunakan mesin *thermal cycler*

GeneAmp PCR System 9700 *Applied Biosystem* dengan total volume 10 µl per sampel. Bahan reaksi PCR terdiri dari 1 x buffer (10 mM Tris-HCl pH 8.3, 10 mM KCl, 3,0 mM MgCl₂), 200 µM tiap dNTPs, 0,25 µM primer, 0,5 unit/10 µl AmpliTaq DNA polymerase (*Stoffel Fragment, Applied Biosystems*) dan 10 ng larutan DNA. Proses PCR diawali dengan denaturasi selama 120 detik pada suhu 94°C, diikuti dengan 45 siklus yang masing-masing terdiri dari denaturasi selama 30 detik pada suhu 94°C, penempelan primer (*annealing*) selama 30 detik pada suhu 37°C, dan pemanjangan (*extension*) selama 90 detik pada suhu 72°C. Proses PCR diakhiri dengan pemanjangan selama 7 menit pada suhu 72°C. Hasil amplifikasi PCR dielektroforesis pada 1,5% gel agarose, 20 x TBE buffer dan 0,5 % ethidium bromide selama ±2 jam pada tegangan 120 V. Hasil elektroforesis selanjutnya didokumentasikan menggunakan *Fotodyne Analyzer*.

Analisis Data

Analisis visual produk PCR dilakukan dengan skoring, nilai 1 bila ada pita dan 0

bila tidak ada pita. Berdasarkan persentase pita polimorfik (%P), keragaman genetik dihitung menggunakan *Nei's genetic diversity (h)* (Nei, 1973) dan *Nei's genetic distance (D)* (Nei, 1978) dengan program POPGENE 1.32 (Yeh dkk., 2000). Analisis kluster untuk mengelompokkan populasi berdasarkan jarak genetik, menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair-group Method with Arithmetic Averaging*). Hasil analisis kluster ditampilkan dalam bentuk dendogram menggunakan program *PopGene* 1.32. Untuk melengkapi analisis kluster tersebut, dilakukan *Principal Coordinates Analysis (PCoA)* menggunakan program *GenAlEx* 6.0 (Peakall dan Smouse, 2006). AMOVA dari variasi keragaman genetik dalam populasi, antar populasi dan antar propinsi dianalisis menggunakan program *GenAlEx* 6.0.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Seleksi Primer RAPD

Seratus enam puluh (160) Primer RAPD (Operon) yang terdiri dari delapan set primer (OPA, OPD, OPG, OPH, OPN,

OPR, OPQ dan OPY) dan masing-masing set terdiri dari 20 primer (01-20), diseleksi untuk mendapatkan primer RAPD yang menghasilkan losi polimorfik. Seleksi primer RAPD dilaksanakan dengan menggunakan tiga kriteria, yaitu jumlah losi

polimorfik yang dihasilkan, kejelasan pita dan tingkat reproduktibilitas. Berdasarkan tiga kriteria tersebut, dipilih 20 primer RAPD yang menghasilkan 86 losi polimorfik untuk analisis keragaman genetik ramin (Tabel 2 dan tabel 3).

Tabel 2. Primer RAPD terseleksi beserta sekuens dan kandungan G+C (%) nya

No. Primer	Sekuens (5' - 3')	Kandungan G+C (%)
OPA-10	GTGATCGCAG	60 %
OPA-16	AGCCAGCGAA	60 %
OPA-17	GACCGCTTGT	60 %
OPA-18	AGGTGACCGT	60 %
OPA-19	CAAACGTCCG	60 %
OPD-03	GTCGCCGTCA	70 %
OPD-07	TTGGCACGGG	70 %
OPG-05	CTGAGACGGA	60 %
OPG-07	GAACCTGCGG	70 %
OPG-11	TGCCCGTCGT	70 %
OPG-14	GGATGAGACC	60 %
OPH-05	AGTCGTCCCC	70 %
OPH-06	ACGCATCGCA	60 %
OPH-07	CTGCATCGTG	60 %
OPH-08	GAAACACCCC	60 %
OPH-11	CTTCCGACGT	60 %
OPH-14	ACCAGGTTGG	60 %
OPH-17	CACTCTCCTC	60 %
OPN-19	GAATCGGCCA	60 %
OPR-10	CCATCCCCCA	60 %

Di antara 20 primer RAPD terseleksi, Rata-rata fragmen/losi polimorfik yang primer PA-19 memberikan jumlah dihasilkan per primer adalah 4. Di antara 8 losi/fragmen yang terbanyak (8 fragmen), set primer RAPD, set OPH memberikan sedangkan OPH-14 menghasilkan jumlah primer yang terbanyak (7 primer). fragmen yang paling sedikit (1 fragmen). Contoh dari beberapa primer yang dipilih

OPR, OPQ dan OPY) dan masing-masing set terdiri dari 20 primer (01-20), diseleksi untuk mendapatkan primer RAPD yang menghasilkan losi polimorfik. Seleksi primer RAPD dilaksanakan dengan menggunakan tiga kriteria, yaitu jumlah losi polimorfik yang dihasilkan, kejelasan pita dan tingkat reproduktibilitas. Berdasarkan tiga kriteria tersebut, dipilih 20 primer RAPD yang menghasilkan 86 losi polimorfik untuk analisis keragaman genetik ramin (Tabel 2 dan tabel 3).

Tabel 2. Primer RAPD terseleksi beserta sekuens dan kandungan G+C (%) nya

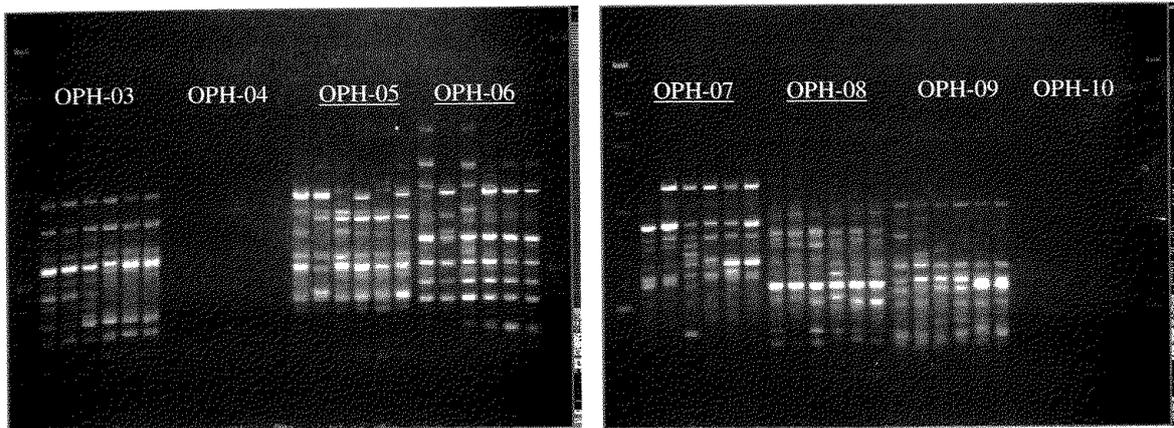
No. Primer	Sekuens (5' – 3')	Kandungan G+C (%)
OPA-10	GTGATCGCAG	60 %
OPA-16	AGCCAGCGAA	60 %
OPA-17	GACCGCTTGT	60 %
OPA-18	AGGTGACCGT	60 %
OPA-19	CAAACGTCGG	60 %
OPD-03	GTCGCCGTCA	70 %
OPD-07	TTGGCACGGG	70 %
OPG-05	CTGAGACGGA	60 %
OPG-07	GAACCTGCGG	70 %
OPG-11	TGCCCCGTCGT	70 %
OPG-14	GGATGAGACC	60 %
OPH-05	AGTCGTCCCC	70 %
OPH-06	ACGCATCGCA	60 %
OPH-07	CTGCATCGTG	60 %
OPH-08	GAAACACCCC	60 %
OPH-11	CTTCCGCAGT	60 %
OPH-14	ACCAGGTTGG	60 %
OPH-17	CACTCTCCTC	60 %
OPN-19	GAATCGGCCA	60 %
OPR-10	CCATTCCCCA	60 %

Di antara 20 primer RAPD terseleksi, Rata-rata fragmen/losi polimorfik yang primer PA-19 memberikan jumlah dihasilkan per primer adalah 4. Di antara 8 losi/fragmen yang terbanyak (8 fragmen), set primer RAPD, set OPH memberikan sedangkan OPH-14 menghasilkan jumlah primer yang terbanyak (7 primer). fragmen yang paling sedikit (1 fragmen). Contoh dari beberapa primer yang dipilih

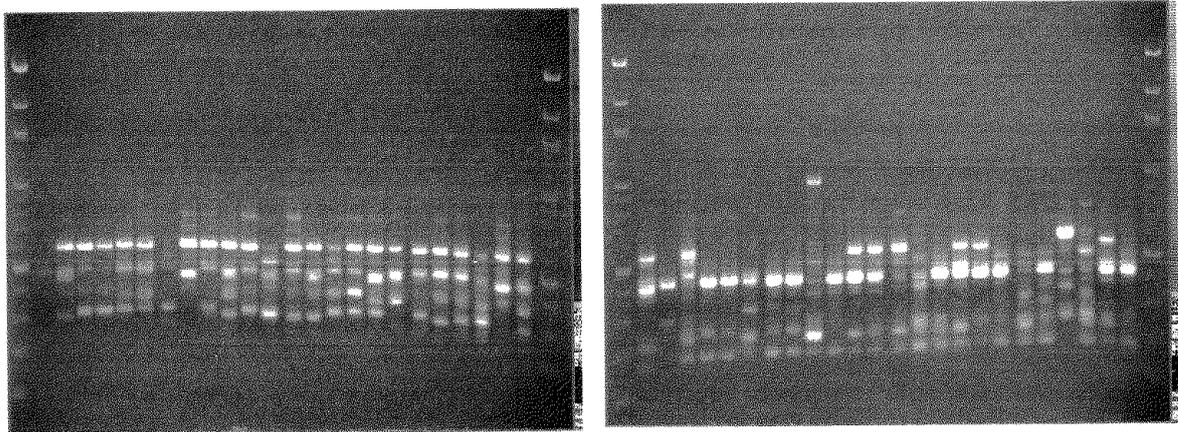
dan tidak dipilih dapat dilihat pada Gambar 2. primer RAPD (OPD-03 dan OPG-11) dari Primer yang digaris bawah merupakan 24 sampel dapat dilihat pada Gambar 3. primer yang dipilih, Hasil PCR dengan 2

Tabel 3. Primer dan jumlah lokus polimorfik

No. Primer	Jumlah lokus polimorfik	Ukuran lokus (bp)
OPA-10	2	650, 850
OPA-16	3	500, 540, 600
OPA-17	5	300, 400, 490, 510, 700
OPA-18	3	200, 300, 500
OPA-19	8	400, 500, 550, 600, 700, 800, 900, 1000
OPD-03	4	400, 500, 725, 800
OPD-07	6	300, 400, 500, 600, 700, 800
OPG-05	6	200, 210, 300, 340, 400, 550
OPG-07	5	300, 400, 490, 590, 690
OPG-11	5	220, 250, 300, 360, 560
OPG-14	3	300, 600, 700
OPH-05	6	375, 400, 520, 600, 790, 900
OPH-06	5	300, 500, 625, 750, 925
OPH-07	5	500, 575, 650, 790, 900
OPH-08	3	370, 500, 600
OPH-11	4	425, 600, 700, 800
OPH-14	1	550
OPH-17	3	400, 690, 790
OPN-19	4	400, 600, 750, 990
OPR-10	5	400, 490, 580, 700, 900
	86	



Gambar 2. Profil dari primer RAPD terseleksi
(garis bawah: primer yang dipilih)



Gambar 3. Profile dari 2 primer RAPD terseleksi

Primer OPH-05, OPH-06, OPH-07 dan OPH-08 (Gambar 2) dipilih karena dapat menghasilkan pita-pita DNA yang baik untuk digunakan dalam analisis keragaman genetik ramina. Primer-primer tersebut dapat menghasilkan pita-pita DNA yang polimorfik, jelas, tebal, dan mudah dibaca. Primer OPH-03 dan OPH-09 tidak dipilih karena hanya mampu menghasilkan pita-pita DNA monomorfik walaupun pita

yang dihasilkan yang tebal, jelas dan mudah dibaca.

Berdasarkan 86 lokus polimorfik yang diamati, presentase (%) lokus polimorfik untuk masing-masing populasi dapat dilihat pada Tabel 4. Populasi yang mempunyai jumlah lokus polimorfik paling banyak adalah populasi Nyaru Menteng yaitu 84 lokus (97,67%), diikuti populasi Kanarakan yaitu 83 lokus

(96,51%). Sebaliknya, populasi dengan jumlah lokus polimorfik paling sedikit adalah populasi Kuok B yaitu 64 lokus (74,42%).

Kusumadewi dkk. (2010) menyeleksi 111 losi polimorfik yang berasal dari lima primer RAPD, dimana jumlah losi per primer bervariasi antara 17-28. Pada penelitian ini, jumlah lokus polimorfik yang digunakan per primer bervariasi antara 1 – 8 losi. Primer OPD-20 dan OPN-14 merupakan dua dari primer yang digunakan oleh Kusumawadewi dkk. (2010) dan menghasilkan losi polimorfik yang cukup

banyak. Namun demikian, pada penelitian ini kedua primer tersebut tidak termasuk primer yang dipilih karena tidak memenuhi 3 persyaratan pemilihan primer. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan karena perbedaan metode PCR dan mesin PCR yang digunakan, karena kedua perbedaan itu dapat mempengaruhi hasil amplifikasi PCR dari RAPD. Jumlah losi polimorfik per primer jauh lebih sedikit dikarenakan pada penelitian ini hanya memilih lokus yang menampilkan pita yang tebal dan stabil saja untuk menghindari kesalahan dalam skoring.

Tabel 4. Jumlah lokus polimorfik dan % lokus polimorfik untuk masing-masing populasi ramin

No.	Populasi	Jumlah lokus polimorfik	% lokus polimorfik
1	Mesukuh I	80	93,02%
2	Mesukuh II	81	94,19 %
3	Pakilat I	81	94,19 %
4	Pakilat II	72	83,72 %
5	Kanarakan	83	96,51 %
6	Nyaru Menteng	84	97,67 %
7	PT Diamond	81	94,19 %
8	Kuok A	76	88,37 %
9	Kouk B	64	74,42 %
10	Berbak	81	94,19 %

Keragaman Genetik *Gonystylus bancanus*

Keragaman genetik dari populasi ramin berkisar antara 0,268 dan 0,368. Keragaman

genetik tertinggi dimiliki oleh populasi Mesukuh II (0,368), diikuti oleh populasi Pakilat I (0,361). Keragaman genetik

terendah diperlihatkan oleh populasi Kuok B (0,268). Rata-rata keragaman genetik 10 populasi ramin adalah 0,329, lebih tinggi dari *Intsia bijuga* (0,296; Rimbawanto dan Widyatmoko, 2006), *Gyrinops verstegii* (0,288; Widyatmoko dkk., 2009), *Alstonia scholaris* (0,247; Hartati dkk., 2007) dan *Aquilaria* (0,115; Widyatmoko dkk., 2011). Hasil keragaman genetik pada studi ini lebih besar daripada yang dilaporkan oleh Kusumadewi dkk (2010), dimana dilaporkan bahwa besarnya keragaman genetik dalam populasi bervariasi antara 0,1438 dan 0,1858, dengan nilai rata-rata sebesar $0,1606 \pm 0,0097$. Berdasarkan persentase losi polimorfik (Table 4), terdapat perbedaan urutan populasi dibandingkan dengan besarnya keragaman genetik (Tabel 5). Populasi Kalimantan Tengah (Nyaru Menteng dan Kanarakan) mempunyai persentase polimorfik losi yang lebih tinggi dibandingkan propinsi lainnya, termasuk Kalimantan Barat, tetapi dari besaran

keragaman genetik, keragaman populasi Kalimantan Tengah lebih kecil dibandingkan dengan populasi dari propinsi lainnya (kecuali Pakilat II dan Kuok B). Hal ini menandakan bahwa terdapat alel jarang (*rare allele*) yang dijumpai di populasi Kalimantan Tengah (A19-700, A19-900, A19-1000, G11-220, G14-700, H06-300, H07-900, H11-800, N19-600). Jumlah sampel dari populasi Kalimantan Tengah lebih banyak dari pada populasi lain (kecuali TN Berbak), sehingga tidak tertutup kemungkinan untuk menjumpai alel jarang tersebut di propinsi lain apabila jumlah sampelnya ditambah. TN Berbak yang merupakan salah satu areal konservasi ramin di Sumatera, ternyata mempunyai persentase alel polimorfik dan keragaman genetik yang lebih besar daripada populasi lainnya di Sumatera. Hal ini mengindikasikan kondisi populasi ramin yang lebih baik dibandingkan dengan populasi lainnya tersebut.

Tabel 5. Keragaman genetik di dalam (diagonal) dan antar populasi (bawah diagonal) dari 10 populasi ramin

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0.350									
2	0.013	0.368								
3	0.030	0.040	0.361							
4	0.039	0.051	0.037	0.286						
5	0.034	0.056	0.027	0.053	0.316					
6	0.033	0.053	0.035	0.044	0.004	0.314				
7	0.041	0.070	0.042	0.072	0.040	0.037	0.335			
8	0.037	0.060	0.026	0.066	0.052	0.054	0.011	0.332		
9	0.120	0.135	0.104	0.157	0.147	0.140	0.067	0.086	0.268	
10	0.068	0.076	0.064	0.127	0.092	0.081	0.036	0.035	0.037	0.355

1: Mesukuh I, 2: Mesukuh II, 3: Pakilat I, 4: Pakilat II, 5: Kanarakan, 6: Nyarumenteng,

7: PT. Diamond, 8: Kuok I, 9: Kuok II, 10: TN. Berb

Keragaman genetik yang ada saat ini), atau dapat diasumsikan diperlihatkan oleh 10 populasi ramin yang tersebar di Kalimantan dan Sumatera masih cukup besar, bahkan lebih besar dari beberapa jenis yang kondisinya jauh lebih baik daripada ramin dari aspek keterancaman dan potensinya (*Intsia bijuga*, *Gyrinops verstegii* dan *Alstonia scholaris*). Materi yang digunakan dalam penelitian ini (daun) berasal dari pohon yang masih dapat ditemukan pada masing-masing populasi, sehingga hasil keragaman genetik yang diperoleh dapat diasumsikan sebagai keragaman genetik populasi yang tersisa (bukan hasil perkawinan dari pohon induk sebagai keragaman genetik dari populasi ramin sebelumnya. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa populasi alam ramin mempunyai keragaman genetik yang cukup tinggi. Besarnya luasan populasi ramin dan tingginya perkawinan silang (*outcrossing*) antar individu di dalam populasi menyebabkan keragaman genetik dalam populasi cukup terjaga. Anakan yang dihasilkan dari hasil perkawinan juga akan mempunyai keragaman yang tinggi, sehingga setelah dewasa masih dapat mempertahankan jumlah alel maupun frekuensinya. Kusumadewi dkk. (2010)

menyatakan bahwa keragaman genetik anakan dari 6 populasi di Riau jauh lebih rendah dari hasil penelitian ini (0,1606). Kemungkinan disebabkan karena jumlah sampel yang sangat sedikit per populasinya sehingga belum mewakili keragaman yang sesungguhnya. Banyaknya gangguan yang terjadi di dalam populasi ramin, khususnya tingkat eksploitasi yang tinggi ternyata belum mempengaruhi besarnya keragaman genetik ramin. Tetapi apabila penebangan, khususnya penebangan liar, tetap berlangsung, keragaman genetik ramin akan dapat menurun secara drastis.

Jarak genetik antar populasi yang tertinggi diperlihatkan antara populasi Pakilat II dan Kuok B (0,157), sedangkan jarak yang terendah adalah antara populasi Kanarakan dan Nyarumenteng (0,004). Kanarakan dan Nyarumenteng merupakan dua populasi berdekatan yang terletak di

Propinsi Kalimantan Tengah. Rata-rata jarak genetik antara populasi adalah 0.061. Berdasarkan hasil di atas, 94% dari keragaman genetik terletak di dalam populasi, sedangkan sisanya 6% terletak pada antar populasi. Jarak genetik antar pulau (Kalimantan dan Sumatera) adalah sebesar 7,98%. Hasil ini juga didukung oleh hasil dari AMOVA yang memberikan jarak genetik antar pulau sebesar 7%, sedangkan jarak genetik antar propinsi adalah sebesar 8% (Tabel 6). Lebih tingginya jarak genetik antar propinsi dibandingkan antar pulau kemungkinan disebabkan karena perbedaan jarak geografis yang memisahkan propinsi sehingga mengurangi besarnya perpindahan gen (*gen flow*) antar propinsi, kondisi lingkungan yang berbeda dan volume penebangan yang telah terjadi pada masing-masing propinsi

Tabel 6. Hasil perhitungan AMOVA 96 individu yang berasal dari 10 populasi

Sumber variasi	db	SS	MS	(%) Total variasi	P
Antar Propinsi	3	165,015	55,005	8%	0,010*
Antar populasi dalam Propinsi	6	118,033	19,672	1%	0,080 ^{ns}
Dalam populasi	86	1501,222	17,456	91%	0,010*
Total	95	1784,271		100%	

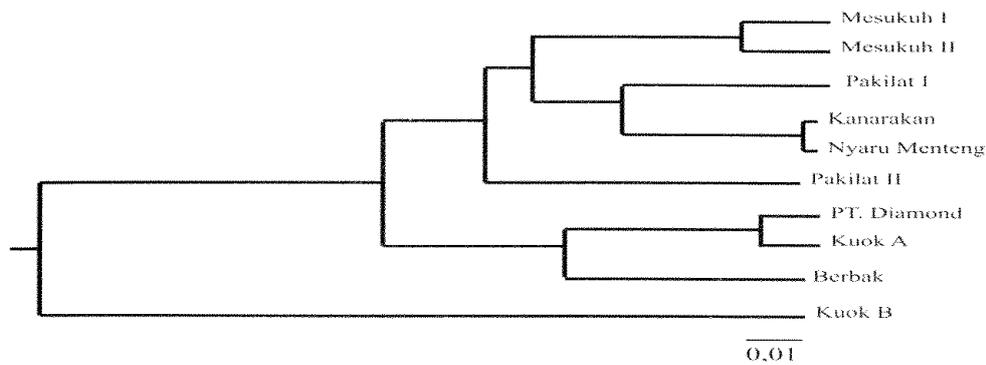
* signifikan pada $P < 0,10$

Kusumadewi dkk. (2010) melaporkan bahwa nilai keragaman genetik antar populasi (*Dst*) ramin bervariasi antara 0.0181 dan 0.0491. Dari penelitian ini, jarak genetik antar populasi dalam propinsi bervariasi antara 0,004 sampai dengan 0,086. Jarak genetik antar populasi di Propinsi Riau (Kuok I dan Kuok II) adalah 0,086, lebih besar daripada yang disampaikan oleh Kusumadewi dkk. (2010). Perbedaan besarnya jarak genetik ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan populasi, jumlah sampel dan asal-usul materi yang digunakan (penelitian ini menggunakan daun dari semua pohon induk, sedangkan Kusumadewi dkk. (2010) menggunakan daun dari anakan).

Hubungan Kekerabatan antar Populasi *Gonystylus bancanus*

Berdasarkan informasi nilai jarak genetik antar-populasi, dendogram disusun

menggunakan metode UPGMA untuk mengetahui hubungan kekerabatan antar 10 populasi ramin (Gambar 4). Secara garis besar, 10 populasi terbagi menjadi 2 kelompok besar. Kelompok pertama terdiri dari Kuok B, sedangkan kelompok kedua terdiri dari 9 populasi lainnya. Populasi Kuok B yang seharusnya masuk dalam kelompok pulau Sumatera, terpisah dari populasi lain yang terletak di Sumatera. Kelompok kedua yang terdiri dari 9 populasi dapat dibagi lagi menjadi 3 kelompok kecil (sub kelompok). Sub kelompok pertama terdiri dari populasi dari Mesukuh I, Mesukuh II, Pakilat I, Kanarakan dan Nyaru Menteng; sub kelompok kedua terdiri dari Pakilat II, dan sub kelompok ketiga terdiri dari PT Diamond, Kuok A dan Berbak.

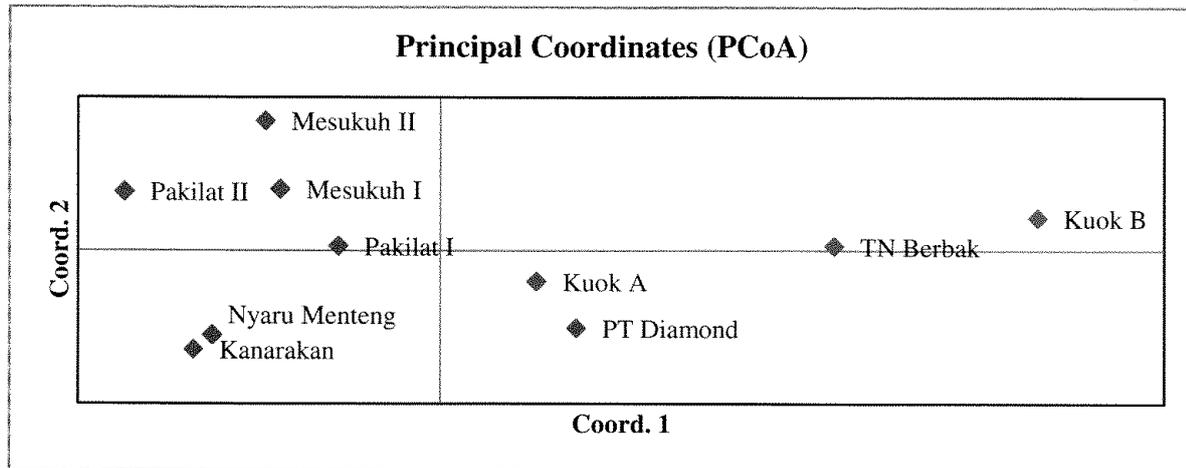


Gambar 4. Hubungan kekerabatan antar 10 populasi *G. bancanus* berdasarkan analisis kluster

Berdasarkan hasil dendrogram, secara garis besar pengelompokan berhubungan dengan posisi geografisnya, artinya pengelompokan menunjukkan bahwa semakin dekat jarak geografis suatu populasi, semakin dekat jarak genetik antar populasi tersebut. Populasi-populasi yang berdekatan mempunyai kecenderungan untuk membentuk satu sub kelompok. Kecenderungan pengelompokan seperti ini juga ditunjukkan pada hasil penelitian pada tanaman *Aquilaria* (Widyatmoko dkk., 2011). Kusumadewi dkk. (2010) menyampaikan bahwa pengelompokan 6 populasi dari Riau kurang memperlihatkan hubungannya dengan jarak geografis. Hasil pengelompokan 10 populasi ramin

berdasarkan UPGMA (dendrogram) di atas juga didukung oleh hasil analisis menggunakan *Principal Coordinates* (PCoA) (Gambar 5).

Pengelompokan populasi terlihat cukup jelas berdasarkan propinsi atau pulau, kecuali untuk populasi Kuok B yang terpisah dari populasi Sumatera. Melalui kedekatan populasi berdasarkan jarak geografisnya (khususnya dalam 1 propinsi), dapat diasumsikan bahwa pada awalnya populasi dalam 1 propinsi merupakan 1 populasi besar yang antar kelompoknya saling berhubungan, baik dalam sebaran individu pohon maupun perkawinan yang terjadi.



Gambar 5. Analisis *Principal Coordinates* (PCoA) 10 populasi ramin

Terpisahny populasi Kuok B dari populasi ramin lainnya, khususnya populasi Sumatera, dapat disebabkan oleh beberapa kemungkinan. Kemungkinan pertama adalah sedikitnya jumlah sampel yang digunakan (hanya 6 sampel) sehingga ada kemungkinan alel dominan seperti yang diperlihatkan oleh populasi lainnya tidak diperoleh dari keenam sampel tersebut. Kemungkinan kedua adalah kondisi populasi ramin yang telah tereksploitasi lebih lama dan lebih berat dibandingkan dengan populasi lainnya di Sumatera. Hal ini menyebabkan jumlah individu ramin di populasi Kuok B tinggal sedikit dan individu yang tersisa mempunyai struktur genetik yang berbeda dengan populasi lainnya. Melihat lokasi populasi Kuok B

yang tidak berada di bagian timur Pulau Sumatera (lebih ke arah barat dibandingkan 3 populasi lainnya), sangat dimungkinkan bahwa populasi Kuok B mempunyai struktur genetik awal yang memang berbeda dibandingkan dengan 3 populasi lainnya.

Nyboom dan Bartish (2000) menyatakan bahwa penanda RAPD merupakan metode yang cukup sensitif dalam mendeteksi struktur genetik populasi. Dengan demikian, metode pengambilan sampel dapat secara serius mempengaruhi besarnya jarak genetik antar populasi yang diperoleh. Khanlou dkk. (2011) menyampaikan bahwa minimum sampel untuk analisis keragaman genetik adalah 20. Sedangkan Hale dkk. (2012) mengatakan bahwa jumlah sampel 25-30 individu per

populasi cukup akurat untuk mengestimasi frekuensi alel.

Implikasi untuk program konservasi *Gonystylus bancanus*

Informasi keragaman genetik dan distribusinya, serta hubungan kekerabatan antar populasi merupakan informasi penting untuk menyusun strategi program konservasi dari *G. bancanus*. Dari 10 populasi yang dianalisis, keragaman genetik ramin masih cukup tinggi. Ini berarti bahwa secara genetik jenis ini masih bisa dikonservasi dan memungkinkan untuk dikembangkan di kemudian hari untuk mendapatkan individu pohon yang lebih baik. Akan tetapi, dengan maraknya eksploitasi ramin yang masih terjadi, maka kegiatan konservasi genetik berdasarkan informasi tersebut di atas secara intensif perlu segera dilaksanakan.

Dari penelitian ini, diperoleh tiga hasil yang penting dan bermanfaat. Hasil pertama adalah informasi mengenai keragaman genetik ramin yang masih tinggi. Hasil kedua adalah proporsi dari distribusi keragaman genetik, dan yang ketiga adalah

pengelompokan populasi ramin berdasarkan propinsi dan pulau. Untuk program konservasi eks-situ, materi genetik yang dikumpulkan harus lebih banyak dari individu di dalam populasi, dan masing-masing propinsi minimal diwakili oleh satu populasi. Masing-masing pulau yang memiliki sebaran alam ramin juga harus terwakili. Mengingat persentase lokus polimorfik terbesar terdapat pada populasi Kalimantan Tengah, jumlah individu yang dikoleksi dari populasi ini seharusnya juga lebih banyak dibandingkan dengan populasi lainnya. Untuk program konservasi *in-situ*, populasi/area yang perlu dipilih adalah populasi yang memiliki keragaman genetik tinggi dan jumlah lokus polimorfik yang terbanyak untuk masing-masing pulau sebaran ramin. Pada area konservasi *in-situ* yang dipilih, pohon besar (pohon induk) harus tetap dipelihara, dan untuk pengayaan genetik dapat berasal dari dalam populasi itu sendiri atau dari populasi dalam satu propinsi.

Pembangunan *genepool* ramin untuk kegiatan konservasi ramin telah dilaporkan

oleh Savitri dkk. (2010). Dua kegiatan telah dilakukan, yaitu pembangunan *genepool* untuk menghasilkan tunas dan penanaman menggunakan stek pucuk yang berasal dari *genepool* tersebut. Materi *genepool* berasal dari cabutan yang dikoleksi dari Kalimantan Tengah (2 lokasi). Untuk mendukung kegiatan yang telah dan sedang dilakukan tersebut, tentunya perlu dilakukan analisis keragaman genetik dari cabutan yang merupakan sumber dari stek pucuk tersebut. Dengan informasi ini, akan diketahui apakah cabutan yang telah dikumpulkan tersebut mempunyai keragaman yang tinggi atau sudah mewakili keragaman genetik populasi asalnya. Demikian juga dengan kegiatan penanaman yang telah dilakukan, perlu diketahui apakah materi yang ditanam mempunyai keragaman genetik yang cukup atau tidak. Hasil dari kegiatan ini akan menentukan apakah perlu dilakukan koleksi *wildling* kembali untuk menambah keragaman genetik dari *genepool* yang sudah terbangun, begitu juga dengan kegiatan penanamannya.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam penelitian ini, beberapa kesimpulan dapat disampaikan sebagai berikut:

1. Rata-rata keragaman genetik dari 10 populasi *G. bancanus* adalah 0,329. Populasi Mesukuh II (0,368) memiliki keragaman genetik tertinggi, sedangkan yang terendah dimiliki oleh populasi Kuok II (0,268).
2. Rata-rata jarak genetik antar populasi *G. bancanus* adalah 0,061. Jarak genetik terdekat diperlihatkan antara populasi Kanarakan dan Nyarumenteng (0,004), sedangkan yang terjauh adalah antara populasi Pakilat II dan Kuok B (0,157).
3. Distribusi keragaman genetik di dalam populasi jauh lebih tinggi (94%) dari pada antar populasi (6%) yang terdapat di Kalimantan dan Sumatera.
4. Berdasarkan analisis kluster, secara garis besar 10 populasi *G. Bancanus* terbagi menjadi 2 kelompok besar dan 3 sub-kelompok berdasarkan jarak geografisnya, yaitu berdasarkan propinsi dan pulau.

V. UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh ITTO PROJECT PD 426/06 Rev.1 (F), "The Prevention of Further Loss and the Promotion of Rehabilitation and Plantation of *Gonystylus spp* (Ramin) in Sumatera and Kalimantan". Ucapan terima kasih diucapkan kepada Ir. Tadjudin, MSc, Project Coordinator ITTO PROJECT PD 426/06 Rev.1 (F) dan seluruh peneliti dan teknisi Laboratorium Genetika Molekuler, Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan atas bantuan teknisnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Hale, M. L., Burg, T. M. dan Steeves, T. E. 2012. Sampling for microsatellite-based population genetic study: 25-30 individuals per population is enough to accurately estimate allele frequencies. *PloS One* 7(9):e45170
- Hartati, D., Rimbawanto, A., Taryono, Sulistyarningsih, E. dan Widyatmoko, AYPBC. 2007. Pendugaan keragaman genetik di dalam dan antar provenan Pulau menggunakan penanda RAPD. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* 1(2): 51-98
- IUCN. 2006. *Red List of Endangered Species*. International Union for the Conservation of Nature and Natural Resources, Gland, Switzerland. <http://www.iucnredlist.org/>
- Jayusman. 2007. Degradasi sumberdaya genetik jenis ramin dan upaya penyelamatannya. *Apforgen newsletter* 4:1-4
- Khanlou, K. M., Vandepitte, K., Asl, K. L. dan Bockstaele, E. 2011. Towards an optimal sampling strategy for assessing genetic variation within and among white clover (*Trifolium repens* L.) cultivars using AFLP. *Genetics and Molecular Biology* 34 (2): 252-258
- Kusumadewi, Y., Poerba, Y. S. dan Partomihardjo, T. 2010. Keragaman Genetika Ramin [*Gonystylus bancanus* (Miq.) Kurz] dari Provinsi Riau Berdasarkan Profil Random Amplified Polymorphic DNA. *Jurnal Biologi Indonesia* 6(2): 173-184
- Nei, M. 1973. Analysis of genetic diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of the United States of America*. 70: 3321-3323
- Nei, M. 1978. Estimate of a average heterozygosity and genetic distance from a small number of individual. *Genetics* 89: 583-590
- Nybom, H. dan Bartish, I. V. 2000. Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 3(2): 93-114
- Pandey, R. M., Adams, R. P. dan Flournoy, L. E. 1996. Inhibition of Random Amplified Polymorphic DNAs (RAPDs) by Plant Polysaccharides. *Plant Molecular Ecology* 14(1): 17-22
- Peakall, R. dan Smouse P. E. 2006. GenAEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6: 288-295
- Rimbawanto, A. dan Widyatmoko, AYPBC. 2006. Keragaman genetik empat populasi *Intsia bijuga* berdasarkan penanda RAPD dan implikasinya bagi program konservasi genetik. *Jurnal Penelitian Tanaman Hutan* 3(3): 149-154
- Rimbawanto, A., Widyatmoko, AYPBC dan Harkingto. 2006. Keragaman populasi *Eusideroxylon zwageri* Kalimantan Timur berdasarkan penanda RAPD. *Jurnal Penelitian Tanaman Hutan* 3(3): 201-208
- Savitri, E., Komar, T. E. dan Rusmana. 2010. Conservation and establishment of ramin (*Gonystylus bancanus*) genepool. Proceeding. of the Regional Workshop on The Sharing and Findings from the Activities Implemented in Indonesia and Malaysia under the ITTO-CITES Project on Ensuring International Trade in CITES-listed Timber Species is Consistent with Their Sustainable Management and

- Conservation (Ed. Hamzah *et al.*). pp. 90-92. Pahang, Malaysia, 1-4 December 2010
- Shaw, A. 1954. Thymelaeaceae-Gonystyloideae. In C.G.G.J. Van Steenis (Editor) Flora Malaysiana. Ser. I. Vol. IV. Noordhoff-Koef. NV. Jakarta. P. 358-365
- Shiraishi, S. dan A. Watanabe. 1995. Identification of chloroplast genome between *Pinus densiflora* Sieb. et. Zucc. and *P. thunbergii* Parl. based on the polymorphism in *rbcL* gene. *Journal of the Japanese Forest Society*. 77: 429-436 (in Japanese with English summary)
- Tukirin, P. 2006. Populasi Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq.) Kurz) di Hutan Alam: Regenerasi, Pertumbuhan dan Produksi. Prosiding Workshop Nasional "Policy Option on the Conservation and Utilization of Ramin", pp. 40-54
- Wardhani, M., Yafid, B., Komar., T. E., Nurjanah, S. dan Rosita, D. T. 2010. *Gonystylus* spp, (Ramin). Population Status, Genetics and Gene Conservation. An Executive Summary, ITTO-CITES Project on Exploratory Assessment on the Population Distribution and Potential Uses of Non-*Gonystylus bancanus* species in Indonesia. Forestry Research and Development Agency, Ministry of Forestry
- Widyatmoko, AYPBC., Afrianti, R. D., Taryono dan Rimbawanto, A. 2009. Keragaman Genetik Lima Populasi *Gyrinops verstepii* di Lombok menggunakan Penanda RAPD. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* 3:1-10.
- Widyatmoko, AYPBC., Ariningsih, E. D. dan Prasetyaningsih, A. 2011. Keragaman genetik dan hubungan kekerabatan pada tiga jenis *Aquilaria* menggunakan penanda RAPD. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* 5: 139-148
- Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A. dan Tingey, S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18(22): 6535
- Yeh, F., Rongcai, Y. and Boyle, T. 2000. POPGENE-1.32: A free program for the analysis of genetic variation among and within populations using co-dominant and dominant markers. Department of Renewable Resources at the University of Alberta, Canada. At <http://www.ualberta.ca/~fyeh/index.htm>.