

ITTO CITES PHASE — II

Variasi Genetik Sumber Stek Ramin di OKI, Sumatera Selatan
dan Tumbangnusa, Kalimantan Tengah
*Genetic Variation of Hedge Orchard of Ramin in OKI, South
Sumatera and Tumbangnusa, Central Kalimantan*

TECHNICAL REPORT



Ministry of Environment and Forestry
Agency for Research, Development and Innovation
Center for Biotechnology and Tree Improvement Research and Development
in cooperation with
International Tropical Timber Organization
(ITTO) - CITES Phase II Project

Indonesia
March - 2016



**ITTO-CITES Phase II
2015**

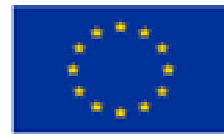
TECHNICAL REPORT

**Variasi Genetik Sumber Stek Ramin di OKI, Sumatera Selatan
dan Tumbangnusa, Kalimantan Tengah**

***Genetic Variation of Hedge Orchard of Ramin in OKI, South
Sumatera and Tumbangnusa, Central Kalimantan***

Anthony YPBC Widyatmoko
Istiana Prihatini

**In Cooperation
Ministry of Environment and Forestry, Indonesia
Forestry Research, Development and Innovation Agency
Center for Forest Biotechnology and Tree Improvement Research and
Development, Yogyakarta
Forest Research and Development Center, Bogor
and
International Tropical Timber Organization (ITTO)-CITES**



This work was made possible by a grant from ITTO under its collaborative program with CITES "Support to ITTO CITES Implementation for Tree Species and Trade/Market Transparency (TMT). Donors to this collaboratives program include the EU(primary donor), the USA, Germany, the Netherlands and Norway.The Activity was implemented by Center for Forest Biotechnology and Tree Improvement Research and Development with Center for Forest Research and Development as Collaborating Agency.

Executive Summary

Activity 2.2: Genetic Variation of Hedge Orchard of Ramin in OKI, South Sumatera and Tumbangnusa, Central Kalimantan

1. Activity context, Origin and problem to be addressed

Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq.) Kurz) is a valuable light hardwood species and is the most valuable tree species found in Indonesia. It was listed as vulnerable under the category VU A1cd according to the IUCN Red List of Threatened Species. Genetic diversity is fundamental to the overall survival mechanism of any species. The availability of information on genetic diversity of the ramin populations for propagating ramin using cutting method would be essential for designing future planting activity in the conservation of ramin. Identification of genetic variation of ramin populations was conducted in the conservation gardens at Ogan Komering Ilir (OKI), South Sumatera and Tumbangnusa Research Station, Central Kalimantan.

2. Activity Objective

The objective of the activity is to assess genetic diversity of ramin populations as hedge orchard at OKI, South Sumatera and Tumbangnusa, Central Kalimantan using DNA marker. SSR/microsatellite and RAPD markers have been used to investigate genetic diversity of ramin populations.

3. The most critical differences between planned and realized activity implementation

The planned activity for the DNA analysis was fine. The analysis would be carried out after samples from Sumatera and Kalimantan had been collected and because of the delayed of the collection due to the haze caused by peatland forest fires therefore, the analysis procedure was little bit delayed.

The delayed of the field visits to Sumatera and Kalimantan for sampling collections for DNA analyses was automatically delayed due to the administrative procedures and synchronization of the difference regulation between ITTO-CITES and CFBTIR Yogyakarta.

4. The situation prevailing after activity completion, as compare to the pre-activity situation including the situation of the target beneficiaries, and indicate the post activity sustainability.

Ramin plantation in OKI, South Sumatera and Tumbangnusa, Central Kalimantan (Tumbangnusa conservation plot has been destroyed by peatland forest fire during fire on the 2015) could benefit local Forest District, Forest Companies and the Ministry of Environment and Forestry and could be utilized as a source of rooted cutting materials for planting purposes. Local Forest District would be in charge for

the fostering the plot as the plot would be functioned as source of planting materials in the future.

5. The most relevant outcome of the analysis of the activity implementation

Wider genetic diversity of the rooted cutting materials found in OKI and Tumbangnusa Conservation Plots (0.6682) indicated that one could utilize the genetic materials of the both conservation plots for planting program in the future.

The five populations could be divided into 2 major groups, Sumatera and Kalimantan and could be utilized as source of material for rooted cuttings (hedged orchards) for the planting program in the future by clonal forestry of ramin.

Plantation program especially clonal forestry on Ramin would be highly supported by the production of planting material (rooted cuttings) from the OKI and Tumbangnusa conservation plots.

6. The lessons learnt

The Activity benefited from the cooperation and active participation of Local Forestry District as well as Local Government Authorities, Forest Research Institutes, Forestry Development and Innovation Agency, the Ministry of Environment and Forestry. This enabled the ITTO-CITES secretariat to collect data, samples and informations, utilize the CFBTIR laboratory facility in order to implement the whole activities. The participation of the whole institutions, were appreciated to the success of this activity.

7. Recommendations

For the conservation purposes, the both populations, Sumatera and Kalimantan population should have not been mixed, or should have been separated by Island. Mixing the populations will ruin their original genetic composition.

Rooted cuttings material for planting purposes could be produced by utilizing the conservation plot.

Yogyakarta, 2016

Summary

Ramin (Gonystylus bancanus (Miq.) Kurz) is a valuable light hardwood species and is the most valuable tree species found in Indonesia. Ramin was listed as vulnerable under the category VU A1cd according to the IUCN Red List of Threatened Species. Genetic diversity is fundamental to the overall survival mechanism of any species. The availability of information on genetic diversity of the ramin populations for propagating ramin using cutting method would be essential for designing future planting activity in the conservation of ramin. Identification of genetic variation of ramin populations was conducted in the conservation gardens at Ogan Komering Ilir (OKI), South Sumatera and Tumbangnusa Research Station, Central Kalimantan. Objective of this activity was to assess genetic diversity of ramin populations as hedge orchard using DNA marker. SSR/microsatellite and RAPD markers have been used to investigate genetic diversity of ramin populations. Based on 6 SSR primer, ramin populations have medium to high genetic diversity (mean 0,6682). Based on genetic distance, the 5 populations were divided into 2 groups, Kalimantan populations and Sumatera populations. The five hedge orchard in OKI dan Tumbangnusa can be used as shoots materials for propagating ramin using cutting.

I. PENDAHULUAN

Ramin (*Gonystylus bancanus*) merupakan salah satu jenis tanaman komersial dari genus *Gonystylus* yang banyak dieksploitasi. Jenis ini dapat dijumpai pada hutan rawa gambut, rawa air tawar dan hutan kerangas sampai ketinggian 100 m dpl. Distribusi alami ramin terbatas di wilayah Indonesia dan Malaysia. Di Indonesia, sebaran alami ramin dapat dijumpai di Kalimantan dan Sumatra. Diantara jenis ramin, *Gonystylus bancanus* merupakan jenis kayu pertukangan yang paling dikenal dan bernilai ekonomi paling tinggi. Kayu ramin dapat digunakan antara lain untuk konstruksi ringan seperti jendela, frame jendela, atap, moulding, dekorasi interior, dan furnitur. Penebangan liar ramin telah terjadi sejak awal tahun 1990-an. Eksploitasi kayu ramin yang berlebihan dan hanya mengandalkan dari sebaran alamnya telah mengakibatkan penurunan populasi ramin dengan sangat cepat. Berdasarkan *IUCN Red List of Threatened Species*, status konservasi ramin tergolong rawan dengan kategori VU A1cd. Status tersebut mengindikasikan terjadi penurunan populasi merbau berdasarkan observasi, kesimpulan dan dugaan lebih dari 20 % selama lebih dari 10 tahun terakhir atau 3 generasi atau manapun dari keduanya yang lebih lama berdasarkan penurunan wilayah penyebaran, wilayah keberadaan dan/atau penurunan kualitas habitat dan tingkat eksploitasi potensial dan aktual. Pada *Meeting of the Conference of Parties to CITES* kedelapan (CoP8) tahun 1992, Belanda mengusulkan Ramin (*Gonystylus bancanus*) untuk dimasukkan ke dalam Appendix II CITES (Soehartono and Mardiasuti, 2002).

Keragaman genetik merupakan modal dasar bagi suatu jenis tanaman untuk tumbuh, berkembang dan bertahan hidup dari generasi ke generasi. Regenerasi atau pengayaan pada tegakan alam yang terdegradasi sebaiknya menggunakan tanaman yang mempunyai keragaman genetik yang tinggi. Melalui upaya penyelamatan keragaman genetik ramin maka penyediaan materi genetik ramin untuk keperluan yang akan datang menjadi terjaga terutama untuk konservasi genetik. Hingga kini, informasi keragaman genetik populasi ramin masih sangat sedikit, khususnya untuk materi genetik yang ke depan digunakan sebagai materi genetik perbanyakan secara stek. Ketersediaan informasi genetik bahan tanaman untuk kegiatan perbanyakan secara stek sangat penting untuk mengetahui besarnya keragaman yang ada, apakah sudah cukup untuk kegiatan perbanyakan secara stek atau belum. Beberapa studi menunjukkan bahwa faktor genetik memberi kontribusi yang signifikan terhadap variasi fenotipe antar klon untuk karakter pertumbuhan, fisiologis dan

kemampuan hidup. Raebild *et al.* (2003) menyatakan bahwa tinggi dan diameter merupakan parameter yang paling penting dalam evaluasi uji jenis dan provenan. Parameter ini dapat mengindikasikan produktifitas dan ukuran adaptabilitas tanaman terhadap lingkungan.

Penanda molekuler menyediakan metode yang penting untuk mengevaluasi tingkat dan pola keragaman genetik dan telah banyak diaplikasikan untuk berbagai jenis tanaman (Perera *et al.*, 2000). Di antara berbagai macam penanda DNA, penanda yang saat ini paling informatif dan banyak digunakan adalah mikrosatelit atau SSR (simple sequence repeats). Finkeldey and Hattermer (2007) menyampaikan bahwa mikrosatelit adalah fragmen DNA yang berisi ulangan 2 atau 3 nukleotida yang panjang, yang tersebar pada genom DNA baik pada *non-coding regions* antar gen maupun di dalam gen (intron). Penanda mikrosatelit telah digunakan untuk menginvestigasi keragaman genetik pada beberapa jenis tanaman, seperti Jati (Dirmavena, 2007), *Pinus merkusii* (Diputra, 2013) dan *Instia bijuga* (Widyatmoko dan Rimbawanto, 2013)

Kebun konservasi ramin telah dibangun di Kabupaten Ogan Komering Ilir, Sumatera Selatan. Sedangkan kebun pangkasan sebagai sumber tunas untuk pembiakan vegetatif ramin telah dibangun di KHDTK Tumbangnusa, Kalimantan Tengah. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui keragaman genetik dari kedua lokasi tersebut apakah secara genetik memenuhi syarat sebagai sumber tunas untuk stek ramin atau tidak menggunakan penanda mikrosatelit.

II. BAHAN DAN METODE

A. Bahan

Sampel untuk kegiatan analisis keragaman genetik sumber stek ramin diambil dari kebun konservasi di Kabupaten Ogan Komering Ilir (OKI), Sumatra Selatan dan KHDTK Tumbang Nusa, Kalimantan Tengah. Jumlah populasi yang digunakan pada kegiatan ini sebanyak 4, yaitu OKI, Lahei, Teluk Umpan dan Jambi. Untuk populasi Teluk Umpan, terdapat 2 kelompok berdasarkan waktu pengambilan materi genetiknya, sehingga secara total populasinya adalah 5. Sedangkan kegiatan analisis keragaman genetik dilakukan di Laboratorium Genetika Molekuler Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan. Gambar dari lokasi pengambilan materi genetik diperlihatkan Gambar 1 di bawah ini.



Kebun konservasi ramin OKI, Sumatera Selatan



KHDTKTumbang Nusa, Kalimantan Tengah

Gambar 1. Lokasi pengambilan materi genetik

B. Metode

Pengamatan tentang keragaman genetik pada penelitian ini menggunakan penanda SSR (*simple sequence repeated*). Tahapan kegiatan dari penanda ini meliputi: ekstraksi DNA, kuantifikasi DNA, dilusi atau pengenceran DNA, amplifikasi DNA atau *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan elektroforesis.

Daun kering seberat 50 mg kering diekstraksi menggunakan metode CTAB (Shiraishi dan Watanabe, 1995). Hasil ekstraksi DNA kemudian dikuantifikasi dan diencerkan dengan konsentrasi DNA 2,5 ng/ μ l.

PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dilakukan menggunakan alat *Gene Amp PCR System 9700* dimulai dengan suhu 95°C untuk pemanasan awal selama 5 menit, diikuti dengan 30 siklus reaksi yang terdiri dari reaksi denaturasi DNA (suhu 95°C selama 30 detik), reaksi penempelan DNA (suhu 55°C selama 30 detik) dan reaksi pemanjangan DNA (suhu 72°C selama 1 menit 30 detik). Siklus PCR diakhiri dengan suhu 72°C selama 7 menit untuk

melengkapi proses pemanjangan DNA. Hasil PCR kemudian dielektroforesis dengan menggunakan mesin *Gene Analyzer* ABI 3100 Avant (*Applied Biosystem*). Hasil elektroforesis kemudian dianalisis menggunakan *software GeneMapper 3.2* untuk menganalisis ukuran fragmen hasil elektroforesis.

Analisis data dilakukan pada keseluruhan sampel yang digunakan. Parameter variasi genetik yang dianalisis adalah heterozigositas harapan/*Expected Heterozygosity* (H_e) menggunakan program PopGen.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Keragaman Genetik Populasi

Frekuensi alel erat kaitannya dengan jumlah alel yang memberi kontribusi dalam menyusun probabilitas struktur genotipe (Finkeldey & Hattermer, 2007), bahkan perbedaan/ variasi alel juga dapat mencerminkan variasi genetik dalam suatu spesies atau populasi (Frankham *et al.*, 2002). Berdasarkan hasil analisis, keragaman genetik 5 populasi ramin yang terdapat di kebun konservasi OKI dan KHDTK Tumbang Nusa bervariasi antara 0,6436 – 0,6819, dengan rata-rata sebesar 0,6682. Populasi Jambi mempunyai keragaman genetik tertinggi, sedangkan yang terendah adalah populasi Teluk Umpan I. Hasil variasi genetik dari 5 populasi ramin disajikan pada Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Variasi genetik 5 populasi ramin dari Sumatera dan Kalimantan

No.		Populasi				
		I	II	III	IV	V
1	Jumlah sampel	10	11	9	10	19
2	Jumlah alel	22	23	24	22	29
3	Jumlah alel efektif	3.82	4.07	4.06	3.48	4.02
4	Keragaman genetik	0.6436	0.6796	0.6664	0.6819	0.6697

Keterangan populasi:

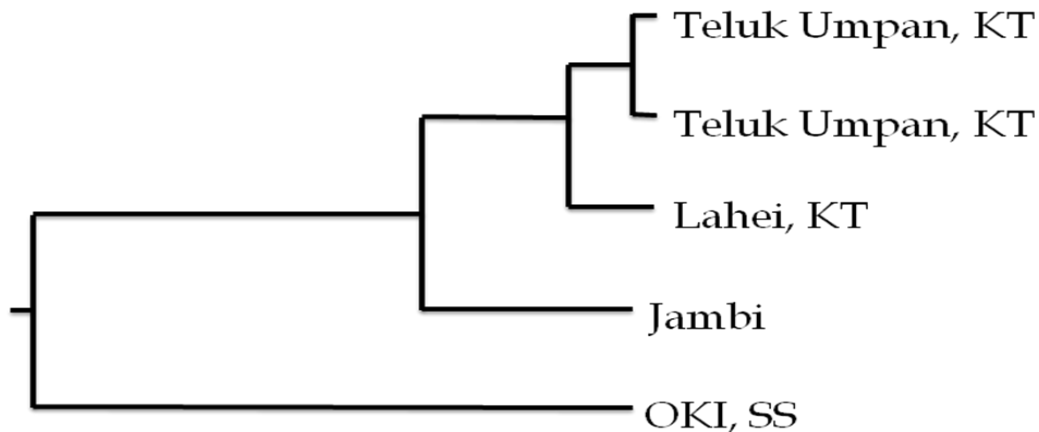
- I : Teluk Umpan I (Kalteng)
- II : Teluk Umpan II (Kalteng)
- III : Lahei (Kalteng)
- IV : Jambi (Sumatera)
- V : OKI (Sumatera)

Variasi genetik 5 populasi ramin yang telah dikumpulkan dari kebun konservasi OKI dan KHDTK Tumbang Nusa masih cukup tinggi. Hal ini menandakan bahwa keragaman genetik populasi ramin di populasi aslinya masih cukup tinggi. Keragaman genetik populasi ramin di Sumatera dan Kalimantan yang cukup tinggi juga dilaporkan oleh Widyatmoko dan Aprianto (2013), dimana dengan menggunakan penanda RAPD, keragaman genetik 10 populasi ramin adalah sebesar 0,329. Kusumadewi *et al.* (2010) melaporkan bahwa besarnya keragaman genetik dalam populasi bervariasi antara 0,1438 dan 0,1858, dengan nilai rata-rata sebesar $0,1606 \pm 0,0097$.

Materi genetik yang ditanam di kedua lokasi tersebut (OKI dan Tumbangnusa), menurut rencana dijadikan kebun pangkasan atau sumber stek untuk kegiatan perbanyakan ramin melalui stek pucuk. Dengan keragaman genetik yang cukup tinggi tersebut, kelima populasi tersebut cukup layak sebagai sumber materi genetik.

A. Pengelompokan Populasi

Berdasarkan jarak genetik antar populasi, kelima populasi secara garis besar terbagi menjadi 2 kelompok (Gambar 2). Kelompok pertama terdiri dari 4 populasi yang terdapat di KHDTK Tumbang Nusa, sedangkan kelompok kedua adalah OKI. Walaupun populasi Jambi bergabung dengan kelompok populasi Kalimantan, tetapi cukup terpisah jarak genetiknya. Oleh karenanya, secara umum populasi Sumatera dan Kalimantan dapat dipisahkan secara genetik. Hasil yang sama juga dilaporkan oleh Widyatmoko dan Aprianto (2013), dimana 10 populasi ramin dibagi menjadi 2 kelompok, Kalimantan dan Sumatera. Lebih detail lagi, masing-masing populasi yang berasal dari propinsi yang sama (mempunyai jarak geografis yang dekat) membentuk kelompok yang lebih kecil. Dari hasil penelitian ini dan hasil penelitian sebelumnya, populasi ramin yang terdapat di Sumatera dan Kalimantan secara genetik mempunyai struktur genetik yang cukup berbeda. Oleh karenanya, untuk tujuan konservasi, kedua kelompok harus mendapat proporsi yang sama dan tidak boleh dicampur dalam pembangunan plot konservasi eks-situ.



Gambar 2. Dendrogram 5 populasi ramin di Sumatera dan Kalimantan berdasarkan UPGMA

Dari penelitian ini, diperoleh 2 hasil yang penting dan bermanfaat. Hasil pertama adalah informasi mengenai keragaman genetik kebun konservasi dan kebun pangkasan ramin yang masih tinggi. Hasil kedua adalah pengelompokan populasi ramin berdasarkan pulau. Dengan kedua hasil tersebut, strategi konservasi ramin, khususnya menggunakan kebun pangkasan sebagai sumber tunas tersebut, dapat disusun dengan lebih baik. Penanaman dari hasil perbanyakan stek ramin ini perlu dicermati mengingat adanya perbedaan struktur genetik yang cukup besar antara populasi kalimantan dan Sumatera.

IV. KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari kegiatan ini adalah sebagai berikut:

1. Keragaman genetik sumber stek yang terdapat di kebun konservasi OKI dan KHDTK Tumbang Nusa cukup besar, dengan rata-rata sebesar 0,6682.
2. Kelima populasi terbagi menjadi 2 kelompok, populasi Sumatera dan Kalimantan.
3. Kelima populasi yang digunakan dalam penelitian ini, dapat digunakan sebagai kebun pangkasan untuk kegiatan perbanyakan ramin secara stek.

DAFTAR PUSTAKA

- Diputra, I. M. M. M. 2013. Keragaman Genetik *Pinus merkusii* Jungh. et de Vriese Strain Tapanuli berdasarkan Penanda Mikrosatelit. Retrieved from <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/63725>.
- Dirmavena, B. 2007. Keragaman dan Struktur Genetik Populasi Jati Sulawesi Tenggara Berdasarkan Marka Mikrosatelit. Retrieved from <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/40551>
- Finkeldey, R., and Hattemer, H.H. 2007. Tropical Forest Genetics. Springer. Berlin.
- Frankham, R. Ballou, J. D., and Briscoe, D. A., 2002. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press. New York. USA.
- 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.
- Perera, L., Russell, J. R., Provan, J., & Powell, W. 2000. Use of microsatellite DNA markers to investigate the level of genetic diversity and population genetic structure of coconut (*Cocos nucifera* L.). *Genome*, 43, 15–21.
- Raebild, A., Diallo, B. Ousmane, Graudal, Lars, Dao, Madjelia and S. Josias. 2003. Evaluation of a species and provenance trial of *Acacia nilotica* and *A. tortilis* at Gonsé, Burkina Faso. Trial no. 11 in the arid zone series Results and Documentation No. 10. Danida Forest Seed Centre, Humlebaek, Denmark
- Shiraishi, S. and A. Watanabe. 1995. Identification of chloroplast genome between *Pinus densiflora* Sieb. et. Zucc. and *P. thunbergii* Parl. based on the polymorphism in *rbcL* gene. J. Jpn. For. Soc. 77: 429-436 (in Japanese with English summary)
- Widyatmoko, AYPBC dan Aprianto. 2013. Keragaman Genetik *Gonystylus bancanus* (mig.) Kurz. Berdasarkan Penanda RAPD (random amplified polymorphic DNA). Jurnal Penelitian Hutan Tanaman, 3: 53-71
- Widyatmoko, AYPBC., and Rimbawanto, A. 2013. Genetic Diversity of Six Populations of *Intsia bijuga* (Merbau) Assessed by SSR Markers. The Second International Conference of Indonesia Forestry Researchers. p. 231-237



Agency for Research, Development and Innovation
Center for Biotechnology and Tree Improvement
Research and Development
Jalan Palagan Tentara Km. 15, Purwobinangun
Pakem, Sleman - Yogyakarta
Phone. + 62 – 274 – 895954
Fax: + 62 – 274 - 896080
Email: ramgaryogya@gmail.com

