

**VALIDASI PRIMER DAN KERAGAMAN GENETIK EBONI  
(*Diospyros celebica* Bakh.) MENGGUNAKAN DESAIN  
PRIMER SPESIFIK DI HUTAN PENDIDIKAN UNIVERSITAS  
HASANUDDIN**

*PRIMER VALIDATION AND GENETIC DIVERSITY OF EBONY  
(*Diospyros celebica* Bakh.) USING SPECIFIC PRIMER  
DESIGNS IN HASANUDDIN UNIVERSITY EDUCATION  
FOREST*

**YUSNIAR**



**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU KEHUTANAN  
FAKULTAS KEHUTANAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

**VALIDASI PRIMER DAN KERAGAMAN GENETIK EBONI (*Diospyros celebica* Bakh.) MENGGUNAKAN DESAIN PRIMER SPESIFIK DI HUTAN PENDIDIKAN UNIVERSITAS HASANUDDIN**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Ilmu Kehutanan

Disusun dan diajukan oleh

**YUSNIAR**

Kepada

**SEKOLAH PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

## HALAMAN PENGESAHAN

### TESIS

VALIDASI PRIMER DAN KERAGAMAN GENETIK EBONI (*DIOSPYROS CELEBICA BAKH.*) MENGGUNAKAN DESAIN PRIMER SPESIFIK DI HUTAN PENDIDIKAN UNIVERSITAS HASANUDDIN

Disusun dan diajukan oleh:

YUSNIAR

Nomor Pokok: M012192002

Telah dipertahankan di depan panitia ujian tesis

Pada tanggal 6 Agustus 2021

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Komisi Penasihat

Ketua

Anggota

Dr. Siti Halimah Larekeng, SP., MP

Prof. Dr. Ir. Muh. Restu, MP

Ketua Program Studi Magister  
Ilmu Kehutanan,

Prof. Dr. Ir. Muhammad Dassir, M.Si

Dekan Fakultas Kehutanan,



Dr. A. Mujetabid M., S.Hut., MP

## **PERNYATAAN KEASLIAN TESIS**

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Yusniar

Nomor Mahasiswa : M012192002

Program Studi : Ilmu Kehutanan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar,  
Ting menyatakan  
  
Yusniar

## PRAKATA

Alhamdulillahirabbil alamin, puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT. Rabb semesta alam yang tidak pernah berhenti memberikan berjuta nikmat-Nya sehingga penulis diberikan kekuatan ikhtiar dalam menyelesaikan tesis ini. Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam mencapai gelar Magister pada Program Studi Ilmu Kehutanan, Fakultas Kehutanan, Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam menyelesaikan penulisan tesis ini tidak hanya karena usaha dan doa dari penulis sendiri, akan tetapi karena adanya dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis berterima kasih kepada Dr. Ir. Siti Halimah Larekeng, SP., MP. dan Prof. Dr. Ir Muh. Restu, MP. selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu untuk memberikan arahan dan masukan dalam penyusunan tesis ini.

Teristimewa untuk orang tua yang saya cintai ayahanda H. Amirullah, ibunda almarhumah St. Rabiah dan Hj. Sohoriah dan kedua saudara saya, Muh. Ilyas dan Sukardi A. yang selalu memberikan dukungan berupa materi, semangat, cinta dan kasinya. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan limpahan berkah dan hidayah-Nya kepada beliau. Dengan ini penulis juga mengucapkan rasa terima kasih khususnya kepada :

1. Ibu Dr. Astuti, S.Hut., M.Si., IPU, Bapak Mukrimin, S.Hut., MP., Ph.D dan Ibu Syahidah, S.Hut., M.Si., Ph.D. selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan dan saran, bantuan serta koreksi dalam penyusunan Tesis.

2. Iswanto, S.Hut., M.Si., Andi Sifa Zulfiana, S.Hut., M.Hut., Fitriani S.Hut., Muh. Bima Akzad, S.Hut, Sri Wahyni Jufri S.Hut., Indriyani Astuti B.K. S.Hut., Atisa Muslimin, S.Hut, serta teman teman dari Laboratorium Bioteknologi dan pemuliaan Pohon lainnya yang telah ikut berpartisipasi dalam penelitian ini.
3. Keluarga besar VIRBIUS 2015 (Varietas Rimbawan Intelektual Universitas Hasanuddin) yang tidak bisa disebutkan satu-persatu namanya saya ucapkan terima kasih selama menjadi mahasiswa kehutanan banyak cerita, pengalaman, cita dan cinta dalam persahabatan yang terbangun selama penulis menjadi mahasiswa di kehutanan.
4. Andi Setiawan Saputra, Muh. Muhsiy Kadir Pole, Tri Nurhalimah Arsan, S.Hut, Anriana, S.Hut, Dian Hardian, S.Hut, Lindra Pasampe, S.Hut, Nurmi, S.H, Aulia Unnisa dan Haris Munandar, S.I.Kom.

Dengan keterbatasan ilmu dan pengetahuan, penulis menyadari bahwa penyusunan tesis ini masih jauh dari kata sempurna. Bertolak dari itulah, penulis mengharapkan adanya masukan dan saran yang membangun, dari berbagai pihak sehingga menjadi pelajaran di masa yang akan datang. Akhir kata penulis mengharapkan penyusunan tesis ini dapat bermanfaat bagi pembacanya.

Makassar, Juli 2021

Yusniar

## ABSTRAK

YUSNIAR. Validasi Primer dan Keragaman Genetik Eboni (*Diospyros celebica* Bakh.) Menggunakan Desain Primer Spesifik Di Hutan Pendidikan Universitas Hasanuddin dibawah Bimbingan Siti Halimah Larekeng dan Muh. Restu.

Eboni (*Diospyros celebica* Bakh.) merupakan jenis kayu yang memiliki corak yang indah dan memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Kayu eboni dapat dijadikan bahan untuk beberapa mebel mewah, patung, ukiran, dan alat upacara sakral. Kayu eboni merupakan tumbuhan endemik dari Sulawesi yang sedang menghadapi ancaman kepunahan karena kegiatan eksploitasi yang berlebihan di hutan alam. Penanda mikrosatelit atau SSR (*Simple Sequence Repeat*) merupakan salah satu penanda molekuler yang telah banyak digunakan dalam penelitian analisis keragaman genetik. Penanda mikrosatelit telah dikembangkan pada komoditas tanaman dan telah terbukti memiliki keefektifan yang baik untuk proses pengorganisasian materi genetik dalam pemuliaan tanaman. Analisis keragaman genetik eboni menggunakan primer hasil desain dari genom inti belum pernah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan marka SSR hasil desain yang dapat digunakan dalam analisis keragaman genetik dan menganalisis keragaman genetik eboni dari tegakan eboni pada Hutan Pendidikan Universitas Hasanuddin. Primer SSR yang digunakan didesain menggunakan MiSa Software. Sebanyak 53 pasangan primer yang dirancang kemudian diseleksi menggunakan 12 sampel DNA eboni. Sebanyak 34 primer tervalidasi dan sebanyak 10 primer digunakan untuk analisis keragaman genetik kayu eboni. Keragaman genetik eboni dengan rata-rata nilai heterozigositas harapan ( $H_e$ ) adalah 0.3, sehingga keragaman genetik tergolong sedang.

## ABSTRACT

YUSNIAR. Primer Validation and Genetic Diversity of Ebony (*Diospyros celebica* Bakh.) Using Specific Primer Designs in Hasanuddin University Education Forest under The Guidance of Siti Halimah Larekeng and Muh. Restu

Ebony (*Diospyros celebica* Bakh.) has an aesthetic pattern and high economic value. Its wood can be utilized as a material for luxury furniture, sculptures, carvings, and sacred ceremonial tools. This species is categorized as an endemic plant from Sulawesi that is currently facing extinction threat due to overexploitation of natural forests. SSR Simple Sequence Repeat, also known as Microsatellite, is a molecular marker that has been widely applied in genetic diversity analysis studies. It has been employed in crops and has high effectiveness in organizing genetic material processes in plant breeding. However, genetic diversity analysis of ebony using primers designed from the nuclear genome has never been carried out. This study aims to determine the design results of SSR markers that can be used in the analysis of genetic diversity and to analyze the genetic diversity of ebony from ebony stands in the Hasanuddin University Education Forest. SSR primers used were designed using MiSa Software. A total of 53 primer pairs designed were then selected using twelve DNA ebony samples. A total of 34 primers were validated and as many as 10 primers were used for the analysis of genetic diversity of ebony. The genetic diversity of ebony with an average value of expected heterozygosity ( $H_e$ ) is 0.3, with the result that the genetic diversity is moderate.

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
DAFTAR ISI.....	ii
DAFTAR GAMBAR.....	iii
DAFTAR TABEL.....	iv
I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	4
C. Tujuan Penelitian .....	4
D. Kegunaan Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA .....	5
A. Eboni.....	5
B. Keragaman Genetik .....	9
C. Penanda Molekuler.....	12
D. Kerangka Pikir .....	13
III.METODE PENELITIAN.....	16
A. Waktu dan Tempat Penelitian .....	16
B. Alat dan Bahan .....	17
C. Prosedur Penelitian.....	18
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	26
A. Validasi Primer .....	26
B. Analisis Keragaman Genetik .....	29
C. Analisis Hubungan Kekerabatan Keseluruhan Individu .....	32
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	37
A. Kesimpulan .....	37
B. Saran .....	37
DAFTAR PUSTAKA.....	38
LAMPIRAN .....	42

## **DAFTAR GAMBAR**

Gambar 1. Kerangka Pikir.....	15
Gambar 2. Peta Lokasi Pengambilan Sampel.....	17
Gambar 3. Prosedur Analisis Keragaman Genetik Eboni.....	25
Gambar 4. Dendogram Kekerabatan Genetik Eboni di Hutan Pendidikan Universitas Hasanuddin .....	32

## **DAFTAR TABEL**

Tabel 1. Nama Primer dan Sekuen Primer SSR Eboni yang digunakan pada Tahap Seleksi Primer.....	21
Tabel 2. Nama Primer SSR Eboni yang teramplifikasi pada Tahap Validasi primer.....	26
Tabel 3. Parameter Keragaman Genetik Eboni Primer. ....	29
Tabel 4. Jarak Genetik Eboni.....	34

## **Daftar Lampiran**

Lampiran 1. Elektroforegram Seleksi Primer Node-14. ....	43
Lampiran 2. Elektroforegram Seleksi Primer Node-17. ....	43
Lampiran 3. Elektroforegram Seleksi Primer Node-23 .....	43
Lampiran 4. Elektroforegram Seleksi Primer Node-26 .....	43
Lampiran 5. Elektroforegram Seleksi Primer Node-27 .....	44
Lampiran 6. Elektroforegram Seleksi Primer Node-29 .....	44
Lampiran 7. Elektroforegram Seleksi Primer Node-33 .....	44
Lampiran 8. Elektroforegram Seleksi Primer Node-47 .....	44
Lampiran 9. Elektroforegram Seleksi Primer Node-49 .....	45
Lampiran 10. Elektroforegram Seleksi Primer Node-51 .....	45

## **BAB I. PENDAHULUAN**

### **A.Latar Belakang**

Eboni (*Diospyros celebica* Bakh.) merupakan flora endemik dari Pulau Sulawesi yang memiliki nilai ekonomi yang tinggi dan tidak pernah ditemukan tumbuh secara alami diluar Pulau Sulawesi. Daerah penyebaran alami jenis eboni di Pulau Sulawesi adalah di Poso, Donggala dan Parigi (Sulawesi Tengah), Maros, Barru, Mamuju dan Luwu (Sulawesi Selatan) dan di Gorontalo (Sulawesi Utara) (Paembonan dan Nurkin, 2002). Jenis eboni yang lebih banyak dimanfaatkan dalam industri perkayuan yaitu *D. celebica*, *D. rumphii* dan *D. microphylla*. Namun, *D. celebica* yang paling banyak dimanfaatkan dalam industri perkayuan (Santoso, 2002).

Sejak tahun 1970-an hingga tahun 1990-an hutan-hutan alam eboni di Sulawesi mengalami tebangan yang tidak terkendali. Kayu eboni banyak ditebang dan diperjualbelikan hingga diselundupkan keluar Pulau Sulawesi (Nurkin, 2013). Tingginya tingkat kerusakan tegakan eboni akibat eksplorasi berlebih, diperburuk lagi dengan belum memadainya kegiatan penanaman kembali (Nurkin, 2013). Ancaman kepunahan eboni kini dalam status *vulnerable species* dalam IUCN *Red List of Threatened Species* pada tahun 2000. Berdasarkan hal tersebut pemerintah mulai mengeluarkan aturan mengenai larangan tentang penebangan eboni pada tahun 1988.

Studi keragaman genetik merupakan langkah awal dalam pemuliaan tanaman yang genetik mencakup segala aspek diantaranya

keragaman habitat, komunitas, populasi dan jenis. Sumberdaya genetik merupakan kunci penting bagi suatu jenis untuk bertahan hidup sampai generasi yang akan datang. Krisis biodiversitas atau keragaman hayati dimulai dari semakin menurunnya tingkat keragaman genetik jenis. Gen memiliki respon yang berbeda-beda terhadap kondisi lingkungan, sehingga dengan adanya berbagai macam gen dari individu-individu didalam populasi maka berbagai perubahan lingkungan yang ada akan dapat direspon lebih baik (Yusron, 2005)

Studi keragaman genetik dapat dianalisis dengan menggunakan beberapa penanda molekuler. Penanda molekuler didefinisikan sebagai segmen DNA tertentu yang mewakili perbedaan pada tingkat genom. DNA merupakan sumber informasi genetik yang potensial dan akurat. DNA ditemukan dalam hampir semua sel semua organisme baik pada jaringan hidup maupun yang mati. Penanda molekuler DNA dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu, penanda DNA tanpa PCR (*non-PCR based techniques*) seperti RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) dan penanda DNA berdasarkan PCR yang meliputi RAPD (*Randomly Amplified Polymorphic DNA*), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), SSR (*Simple Sequence Repeat*), CAPS (*Cleaved Amplified Polymorphic Sequences*), SCAR (*Sequence Characterized Amplified Regions*), SSCP (*Single-Strand Conformation Polymorphism*) dan DNA Barcoding (Zulfahmi, 2013).

Penanda mikrosatelit merupakan salah satu penanda molekuler yang telah banyak digunakan dalam penelitian analisis keragaman pada

tumbuhan. Mikrosatelit adalah sekuen DNA yang berulang, satu motif mengandung satu sampai enam pasang basa yang diulang secara tandem dalam sejumlah waktu (Navascues dan Emerson, 2005). Menurut Pugh dkk., (2004) penanda SSR banyak digunakan karena sifatnya polimorfik, lokus spesifik, mudah diperbanyak, membutuhkan sedikit DNA dan mempunyai sifat kodominan.

Penelitian mengenai keragaman genetik eboni telah dilakukan oleh Restu dan Mukrimin (2007) pada empat sub populasi di kawasan Hutan Lindung Amaro dan Restu (2007) lima provenansi eboni untuk pemuliaan pohon dan konservasi genetik. Penelitian lainnya oleh Larekeng dkk., (2019) tentang keragaman genetik dengan membandingkan pohon induk dan anakannya menggunakan primer SSR. Ketiga penelitian tersebut belum menggunakan primer hasil desain spesifik eboni dalam melakukan analisis keragaman genetik.

Desain primer bertujuan untuk memperoleh primer yang tepat dalam amplifikasi DNA dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Diss, 2003). Kelebihan dari menggunakan primer hasil desain dari genom inti diharapkan dapat memberikan data yang lebih akurat. Primer SSR yang berasal dari genom inti eboni untuk analisis telah didesain oleh Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon Universitas Hasanuddin. Penelitian ini dilakukan sebagai dasar informasi dalam konservasi dan pemuliaan tanaman eboni yang berbasis marka SSR.

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah penggunaan hasil desain marka SSR mampu mengamplifikasi dan polimorfismenya tinggi pada eboni dari tegakan eboni pada Hutan Pendidikan Universitas Hasanuddin?
2. Bagaimana tingkat keragaman genetik eboni dari tegakan eboni pada Hutan Pendidikan Universitas Hasanuddin?

## **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Menentukan marka SSR hasil desain yang dapat digunakan dalam analisis keragaman genetik eboni tegakan eboni pada Hutan Pendidikan Universitas Hasanuddin.
2. Menganalisis keragaman genetik eboni dari tegakan eboni pada Hutan Pendidikan Universitas Hasanuddin.

## **D. Kegunaan Penelitian**

Marka SSR yang ditemukan pada penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dasar dalam kegiatan pemuliaan jenis eboni melalui analisis keragaman genetik. Hasil dari analisis keragaman genetik diharapkan dapat menjadi bahan informasi mengenai uji keragaman genetik Eboni menggunakan penanda SSR.

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Eboni

Eboni (*Diospyros celebica* Bakh.) merupakan salah satu jenis kayu yang secara alami tumbuh di hutan Sulawesi. Eboni adalah spesies yang termasuk dalam keluarga *Ebenaceae*. Klasifikasi eboni menurut Samingan (1982) adalah sebagai berikut.

Regnum : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub Divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Ordo : Ebenales

Family : Ebenaceae

Genus : *Diospyros*

Spesies : *Diospyros celebica* Bakh.

Pohon eboni mudah dikenal karena kulit luar yang beralur mengelupas dan berwarna hitam seperti arang. Mempunyai tinggi yang dapat mencapai 40 meter, dengan batang bebas cabang 23 m, diameter 117 cm dan berakar banir 4 m. Kayu eboni merupakan jenis kayu mewah karena coraknya yang indah dan tergolong kuat. Kayu terasnya yang berwarna hitam dengan garis serat kemerah-merahan sampai kecoklatan menyebabkan kayu ini banyak diminati orang dari dalam maupun luar negeri (Allo, 2002).

Jenis *Diospyros* di beberapa negara merupakan tumbuhan penghasil buah yang banyak disukai seperti buah kesemek (*D. kaki*) di Asia Timur,

buah datel (*D. lotus*) di daerah Asia Barat, ataupun buah persimmon (*D. virginiana*) di daerah Amerika Utara, namun nilai ekonomi dari jenis-jenis tersebut yang utama adalah pada kualitas kayunya. Beberapa Negara yang dikenal sebagai penghasil kayu berkualitas tinggi seperti *D. ebenum* di Srilangka, *D. reticulate* di Maruritius dan *D. celebica* di Sulawesi. Karena keunggulan tersebut maka kayu eboni banyak dimanfaatkan sebagai bahan mewah untuk bangunan perumahan, mebeler, bahan-bahan kerajinan dan lain sebagainya (Burkill, 1935)

Penyebaran alami eboni di Indonesia meliputi seluruh pulau Jawa, Sulawesi, Maluku, Kalimantan, sebagian Nusa Tenggara dan bagian barat Irian Jaya. Eboni yang memiliki penyebaran paling luas adalah *D. ferrea* yaitu seluruh Jawa, Sulawesi, Maluku dan Nusa Tenggara, dan paling sempit *D. celebica* hanya di Sulawesi. Pertumbuhan eboni di alam dilaporkan berasosiasi dengan jenis pohon lain seperti *Canarium asperum*, *Pometia pinnata*, *Dracontomelon mangiferum*, *Vitex quinata*, *Palaquium obtusifolium*, *Alstonia* sp., *Emerrillia ovalis*, *Octomeles* sp., *Homalium* sp., *Ficus* sp., dan *Intsia bijuga* (Alrasyid, 2002).

Penyebaran eboni secara geografis tersebar di bagian tengah hingga ke bagian selatan sulawesi. Tempat tumbuh eboni paling banyak ditemukan di Provinsi Sulawesi Tengah yaitu di bagian timur, tengah dan tenggara. Daerah penyebaran eboni di Provinsi Sulawesi Barat ditemukan pada perbatasan Mamuju dan Majene. Daerah penyebaran eboni di Provinsi Sulawesi Selatan banyak ditemukan Kabupaten Luwu Utara,

Luwu Timur, Enrekang bagian Timur, Sidenreng Rappang bagian Utara, Baru Maros dan gowa (Nurkin dkk., 2018).

Eboni dapat tumbuh pada berbagai jenis tanah mulai dari tanah berkapur, tanah berpasir, tanah liat, dan tanah berbatu yang bersifat permeabel, pada ketinggian tempat tumbuh 50-400 mdpl namun dapat mencapai 700 mdpl dengan pertumbuhan yang kurang baik. (Wihermanto, 2003). Tegakan eboni secara alami dapat dijumpai di punggung-punggung bukit dataran rendah hingga ketinggian tempat 700 m dari permukaan laut. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pertumbuhan tanaman eboni diatas 400 mdpl kurang begitu baik (Alrasyid, 2002). Ketinggian tempat maksimum untuk eboni adalah 400 mdpl. Nurkin dan Paembonan (2002) mengatakan bahwa pertumbuhan eboni yang paling baik mulai dari curah hujan rendah 1230 mm/tahun di wilayah Tomini (Sulawesi Tengah) dan daerah bermusim sedang dengan curah hujan 1700 mm/tahun (Parigi) sampai daerah basah (Malili, Mamuju, Poso) dengan curah hujan 2400-2750 mm/tahun.

Eboni termasuk dalam pohon yang pertumbuhannya semi-toleran. Pada tingkatan semai eboni membutuhkan naungan sedangkan pada tingkatan pohon eboni membutuhkan cahaya penuh. Rauf dkk., (2016) melakukan uji pertumbuhan eboni pada tingkat semai pada berbagai intensitas naungan yang berbeda dan menghasilkan kesimpulan bahwa perlakuan naungan 70% memberikan pertumbuhan semai eboni yang lebih tinggi dibandingkan dengan semai eboni dengan naungan 0%, 30% dan 90%. Eboni dalam pertumbuhannya juga merupakan tumbuhan yang

berasosiasi dengan tumbuhan lain. Pada hutan alam maros eboni ditemukan berasosiasi dengan tumbuhan *Stemonurus* sp., *Ixora* sp., *Leea indica* (Burm.f.) Merr., *Elatostema* sp., *Eugenia* sp. *Garcinia celebica* L. *Tarenna confusa* K. & V. dan *Cinnamomum iners* Reinw.ex Blume (Allo, 2002). Di hutan alam tegakan eboni selalu dijumpai bercampur dengan jenis pohon lain seperti *Canarium asperum*, *Pometia pinnata*, *Palaquium obtusifolium*, *Vitex quinata*, *Dracontomelon mangiferum*, *Alstonia* sp., *Emerrillia ovalis*, *Octomeles* sp., *Homalium* sp., *Ficus* sp. dan *Insia bijuga*. Asosiasi eboni juga ditemukan pada tanah yakni antara akar dan mikoriza. Malajczuk dkk., (1992) melaporkan bahwa marga *Diospyros* (Famili Ebenaceae) berasosiasi dengan jamur mikoriza *vesicular-arbuscular* (VAM) salah satu kelompok dari jenis *endomikorhiza* yang sering ditemukan.

Batang pohon eboni yang paling sering ditemui berbentuk lurus dengan tinggi pohon rata-rata 30 m dan diameternya dapat mencapai 45 cm. Percabangan berbentuk monopodial dan tanpa banir (akar papan). Kulit batang hitam atau kehitaman, keras dan agak rapuh, permukaan kulit eboni retak-retak, beralur, jarang ditemukan kulit eboni yang licin dan warna bagian dalam kulit berwarna pucat. Daun eboni adalah daun tunggal, berbentuk baji, tepi daun rata, bentuk daun eboni *alternate*, bertulang menyirip dan tidak memiliki *stipule*. Panjang daun 12-35 cm dengan lebar 2,5-7 cm. Warna permukaan atas daun hijau tua, pada waktu musim berbuah permukaan daun mengkilap, bawah daun warna abu-abu dan berbulu lekat warna kuning kecoklatan (Nurkin dkk., 2018).

Bunga dan buah terletak pada ketiak daun, bunga berbentuk kuncup warna hijau. Bunga yang akan menjadi bakal buah memiliki ciri pada bagian dasar bunga yang membengkak lebih besar dari pada bagian ujung bunga. Kelopak bunga eboni menetap, tidak rontok dengan warna putih gading menyerupai bunga cengkeh. Bagian ranting yang berbunga dan berbuah umumnya adalah ranting yang paling luar yang menunjukkan bahwa sinar matahari diperlukan dalam proses pembentukan buah. Pada saat masih muda buah berwarna hijau dan setelah matang berwarna hijau kekuningan hingga coklat tua. Buah dapat berjumlah 8 sampai 10 buah. Buah yang telah matang berukuran sekitar 6-9 cm. Buah yang memiliki bobot yang besar akan menyebabkan tangkai daun menjulur ke bawah. Buah eboni berbentuk oval dan berisi 3-11 biji dalam satu buah. Biji eboni berwarna coklat tua kehitaman (Nurkin, 2018).

Eboni tidak memiliki hama dan penyakit pada tegakan hutannya. Bagian eboni yang sering terkena serangan jamur adalah biji yang berjatuhan ke tanah. Jamur yang menyerang biji eboni adalah jamur *Penicilliopsis clavariaeformis* yang merupakan jenis jamur yang menyerang biji-biji jenis eboni (Soerianegara dkk., 1995).

## **B. Keragaman Genetik**

Keragaman genetik merupakan tingkatan yang paling rendah dalam keragaman hayati yang mencangkup aspek keragaman habitat, komunitas, populasi dan jenis. Keanekaragaman genetik merupakan variasi genetik dalam satu spesies baik di antara populasi-populasi yang terpisah secara geografis maupun di antara individu-individu dalam satu

populasi. Keragaman genetik timbul karena setiap individu mempunyai bentuk-bentuk gen yang khas. Keragaman genetik bertambah ketika keturunan menerima kombinasi unik gen dan kromosom dari induknya melalui rekombinasi gen yang terjadi melalui reproduksi seksual. Proses inilah yang meningkatkan potensi variasi genetik dengan mengatur ulang alel secara acak sehingga timbul kombinasi yang berbeda-beda (Indrawan, 2007).

Kajian keragaman genetik dapat dijadikan kunci konservasi karena berperan penting dalam mempertahankan populasi dan pemulihan dari kerusakan. Oleh karena itu, informasi mengenai keragaman genetik membantu dalam proses pengelolaan kawasan perlindungan suatu jenis pohon secara berkelanjutan (Kusuma dkk., 2016). Keragaman genetik ini penting disamping keragaman hayati lainnya pada tingkatan yang tinggi seperti ekosistem dan jenis. Hal ini disebabkan karena sumberdaya genetik merupakan kunci penting bagi suatu jenis untuk bertahan hidup sampai generasi yang akan datang. Krisis biodiversitas atau keragaman hayati dimulai dari semakin menurunnya tingkat keragaman genetik jenis (Yusron, 2005). Keragaman genetik suatu jenis tanaman sangat diperlukan agar tanaman tersebut dapat beradaptasi pada kondisi lingkungan yang berubah untuk mempertahankan eksistensi atau keberadaannya. Perubahan lingkungan adalah suatu fenomena yang pasti terjadi. Oleh sebab itu setiap tanaman harus mampu untuk mempertahankan keragaman genetiknya agar penurunan populasi atau kepunahan dapat teratasi. Berkurangnya keragaman genetik suatu jenis

akan berpengaruh pada penurunan kemampuan adaptasi untuk bertahan hidup dan penurunan kemampuan reproduksinya (Nurkin dkk., 2018).

Keragaman genetik yang tinggi adalah salah satu faktor penting untuk membangun varietas unggul baru. Peningkatan keragaman genetik dapat dilakukan dengan cara memanfaatkan plasma nutfah yang tersedia di alam dan dapat pula dengan melakukan persilangan (Hutami dkk., 2016). Keragaman genetik dapat dipertahankan apabila tidak terjadi kawin sendiri atau *selfing* atau kawin kerabat atau *inbreeding* (Tani dkk., 2009). Perbaikan kondisi menurunnya keragaman genetik suatu populasi dapat dilakukan (*preventive*) dengan mengurangi tingkat eksplorasinya (Yusron, 2005). Analisis keragaman genetik dapat dilakukan karena keberadaan *asam deoksiribonukleat* (DNA) yang merupakan materi dasar dari seluruh sistem biologis (Hebert dkk., 2003).

Informasi mengenai keragaman genetik eboni menggunakan penanda molekuler telah dilakukan oleh Widyatmoko dkk., (2010) menggunakan penanda RAPD yang berasal dari Sulawesi Selatan (Wasuponda dan Mangkutana), informasi keragaman genetik yang didapatkan adalah rata-rata nilai He adalah 0,2866. Restu dan Mukrimin (2007) menggunakan penanda isozym yang berasal dari provenansi Hutan Amaro Kabupaten Barru dengan rata-rata nilai He adalah 0,133 dan Wahyuningsih dkk., (2014) menggunakan penanda RAPD yang berasal dari Sulawesi Barat dan Sulawesi Tengah informasi yang didapatkan adalah adanya kedekatan antara delapan populasi yang diteliti dari

Sulawesi Barat dan Tengah. Hal ini diduga karena disebabkan oleh asal benih yang sama yaitu Desa Ako di Sulawesi Barat.

### C. Penanda Molekuler

Penanda (marka) molekuler merupakan teknologi molekuler yang berbasis DNA. Penanda molekuler didefinisikan sebagai segmen DNA tertentu yang mewakili perbedaan pada tingkat genom. Penanda molekuler DNA yang ideal memiliki kriteria yaitu, memiliki tingkat polimorfisme yang sedang sampai tinggi, terdistribusi merata di seluruh genom, memberikan resolusi perbedaan genetik yang cukup, pewarisan bersifat kodominan (dapat membedakan kondisi homozigot dan heterozigot dalam organisme diploid), berperilaku netral, secara teknik sederhana, cepat dan murah, butuh sedikit jaringan dan DNA sampel, berkaitan erat dengan fenotipe, tidak memerlukan informasi tentang genom organisme dan data mudah dipertukarkan antar laboratorium (Mondini dkk., 2009; Agarwal dkk., 2008; Weising dkk., 2005). Penanda molekuler DNA dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu, pertama, penanda DNA tanpa PCR (*non-PCR based techniques*) seperti RFLP, kedua, penanda DNA berdasarkan PCR yang meliputi RAPD, AFLP, SSR, CAPS, SCAR, SSCP dan DNA Barcoding (Zulfahmi, 2013).

Penanda mikrosatelit atau SSR adalah penanda DNA yang berulang, dimana satu motif mengandung satu sampai enam pasang basa yang diulang secara tandem dalam sejumlah waktu (Navascues dan Emerson, 2005). Jika ulangan tersebut cukup panjang dan tidak

terpotong-potong (*uninterrupted*), SSR sangat baik digunakan sebagai penanda genetik karena tingkat polimorfisme marka SSR yang tinggi (Hancock, 1999; Powell dkk., 1996).

Menurut Powell dkk., (1996), beberapa pertimbangan untuk penggunaan marka mikrosatelit dalam studi genetik di antaranya, marka terdistribusi secara melimpah dan merata dalam genom, variabilitasnya sangat tinggi (banyak alel dalam lokus), sifatnya kodominan dan lokasi genom dapat diketahui, merupakan alat uji yang memiliki reproduksibilitas dan ketepatan yang sangat tinggi, merupakan alat bantu yang sangat akurat untuk membedakan genotipe, evaluasi kemurnian benih, pemetaan, dan seleksi genotip untuk karakter yang diinginkan, studi genetik populasi dan analisis diversitas genetik. Kelemahan teknik ini adalah marka SSR tidak tersedia pada semua spesies tanaman, sehingga untuk merancang primer baru membutuhkan waktu yang lama dan biaya yang cukup mahal.

#### **D. Kerangka Pikir**

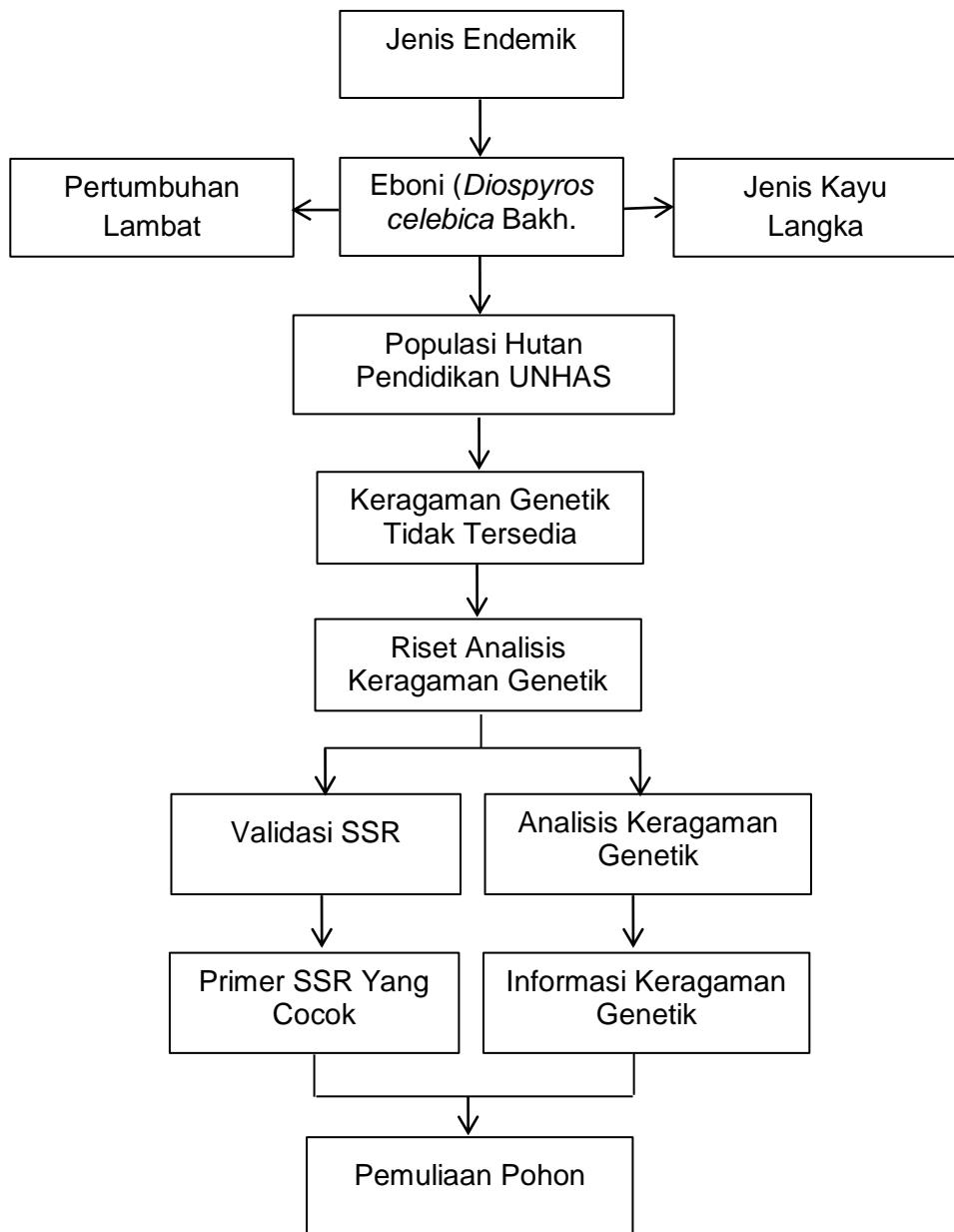
Eboni merupakan tanaman endemik Sulawesi yang tergolong dalam jenis kayu mewah. Keindahan corak kayu eboni menjadikan eboni disenangi oleh konsumen dalam dan luar negeri. Kualitas eboni yang masuk dalam kelas kuat dan kelas awet satu menjadikan eboni banyak dimanfaatkan sebagai mebel, patung, ukiran, hiasan dinding, alat musik, kipas dan kayu lapis mewah (Martawijaya dkk., 1989). Akibat dari permintaan kayu eboni yang terus meningkat menjadikan kayu eboni dieksplorasi secara berlebihan di hutan alam. Eksplorasi tersebut menjadi

penyebab kelangkaan eboni di hutan alam sehingga pemerintah mengeluarkan SK Menteri Kehutanan No. 31/KPTS-IV/86 mengenai penertiban kayu eboni (pelarangan penebangan baru).

Keberadaan eboni berpengaruh kepada plasma nutfah eboni dimasa yang akan datang. Pengelolaan plasma nutfah merupakan penelitian awal dalam program pemuliaan tanaman. Plasma nutfah sebagai sumber daya alam yang merupakan koleksi sumberdaya genetik berupa keanekaragaman tumbuhan, hewan atau jasad renik untuk tujuan yang luas. Plasma nutfah eboni harus dikonservasi untuk menghindari terjadinya erosi genetik (Sumarno dan Zuraiddah, 2008).

Pemuliaan tanaman merupakan ilmu genetika terapan yang didukung oleh berbagai cabang ilmu genetika, termasuk plasma nutfah, genetika klasik, genetika molekuler, sitogenetika, dan genetika transformasi. Cabang ilmu tersebut merupakan penentu keberhasilan dari program pemuliaan tanaman. Pemuliaan tanaman dengan pendekatan molekuler untuk mengetahui potensi keragaman genetik suatu jenis dapat dilakukan dengan menggunakan primer spesifik yang telah didesain. Primer hasil desain tersebut juga masih perlu untuk divalidasi untuk studi analisis keragaman.

Analisis keragaman genetik dengan menggunakan primer SSR spesifik eboni diharapkan mampu memberikan informasi terhadap potensi genetik eboni dari hutan alam di Hutan Pendidikan Universitas Hasanuddin. Hasil informasi dari keragaman genetik eboni diharapkan dapat menjadi dasar bagi program pemuliaan dan konservasi eboni.



Gambar 1. Kerangka Pikir Penelitian