

Jurnal
**TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR**
Journal of Industrial and Beverage Crops
Volume 5, Nomor 2, Juli 2018

**ANALISIS KERAGAMAN GENETIK 21 GENOTIPE TEH
[*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] BERDASARKAN PENANDA RAPD**

**GENETIC VARIABILITY OF 21 TEA GENOTYPES [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] BASED ON
RAPD MARKERS**

* Budi Martono dan Syafaruddin

Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar

Jl. Raya Pakuwon Km.2 Parungkuda, Sukabumi

* budimartono@hotmail.com

(Tanggal diterima: 05 April 2018, direvisi: 23 April 2018, disetujui terbit: 31 Juli 2018)

ABSTRAK

Keragaman genetik dalam koleksi plasma nutfah tanaman merupakan salah satu syarat penting dalam upaya merakit varietas unggul baru. Informasi mengenai keragaman genetik dapat diperoleh melalui analisis menggunakan penanda molekuler *random amplified polymorphic DNA* (RAPD). Tujuan penelitian adalah mengetahui keragaman genetik 21 genotipe teh menggunakan penanda RAPD. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Seameo Biotrop, Bogor, mulai bulan Juli sampai September 2013. DNA genom diisolasi dari sampel daun teh, selanjutnya diamplifikasi menggunakan primer OPA 03, OPA 05, OPB 04, OPB 06, OPC 06, dan OPD 08. Hasil elektroforesis diubah ke dalam bentuk data biner. Perhitungan koefisien kesamaan genetik dan analisis kluster menggunakan perangkat lunak NTSYS-pc versi 2.10. Hasil penelitian diperoleh 50 pita polimorfik (94,34%) dan 3 pita monomorfik (5,66%). Analisis kluster berdasarkan jarak genetik Nei menggunakan metode *unweighted pair-group method with arithmetic* (UPGMA) memisahkan 21 genotipe teh ke dalam 2 kluster utama pada nilai kesamaan genetik 0,48. Kelompok 1 terdiri dari 20 genotipe, sedangkan kelompok 2 hanya terdiri dari satu genotipe (Sin 27). Rentang matriks nilai kesamaan genetik adalah 28%–92%. Kesamaan genetik terendah (28%) ditunjukkan pasangan genotipe GMB 4 dan Sin 27, sedangkan yang tertinggi (92%) antara genotipe AS 2 dan AS 1. Informasi yang diperoleh dan didukung dengan karakter agronomis dapat dimanfaatkan dalam program pemuliaan maupun konservasi plasma nutfah teh.

Kata kunci: *Camellia sinensis*, keragaman genetik, penanda RAPD

ABSTRACT

Knowing the genetic diversity in the tea germplasm collection is one of important conditions for assembling new superior varieties. Information of genetic diversity can be obtained through analysis using RAPD molecular markers. The study aimed to determine the genetic diversity of 21 tea genotypes based on RAPD markers. The research was conducted in Integrated Laboratory, Seameo Biotrop, Bogor, from July to September 2013. Genomic DNA was isolated from 21 tea genotypes leaf samples, then amplified with primer OPA 03, OPA 05, OPB 04, OPB 06, OPC 06, and OPD 08. Electrophoresis result was converted into binary data. The genetic similarity and cluster analysis calculation was done using NTSYS-pc version 2.10. In this research, 50 polymorphic bands (94,34%) and 3 monomorphic band (5,66%) were obtained. Cluster analysis based on Nei's genetic distance using the unweighted pair-group method with arithmetic (UPGMA) divided 21 tea genotypes into two groups at a genetic similarity value of 0,48. Group 1 consisted of 20 tea genotypes, while the second group comprised only a one genotype (Sin 27). The range of genetic similarity matrix was between 28%–92%, the lowest genetic similarity (28%) was found between GMB 4 and Sin 27 genotypes, while the highest (92%) was found between AS 2 and AS 1 genotypes. The information obtained can be utilized in breeding programs with the support of agronomic characters as well as in the conservation of tea germplasm.

Keywords: *Camellia sinensis*, genetic variability, RAPD marker

PENDAHULUAN

Teh merupakan komoditas unggulan perkebunan Indonesia yang berperan cukup penting dalam perekonomian nasional. Pada tahun 2016, teh memberikan sumbangan devisa negara sebesar US\$ 84.661 juta dan mampu menyerap tenaga kerja sebanyak 100.642 orang dengan melibatkan 112.551 kepala keluarga (KK) petani. Total produksi teh Indonesia mencapai 146.168 ton dengan luas pengembangan 118.252 ha, yang terdiri dari perkebunan rakyat (PR) 44,83%, perkebunan besar negara (PBN) 30,60%, dan perkebunan besar swasta (PBS) 24,58%. Tingkat produktivitas rata-rata teh nasional sebesar 1.495 kg/ha pada tahun 2015 (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2017b). Kondisi ini menempatkan Indonesia sebagai produsen teh nomor tujuh dunia setelah China, India, Kenya, Sri Lanka, Vietnam, dan Turki.

Program pengembangan tanaman teh masih dihadapkan pada beberapa permasalahan, baik di tahapan hulu maupun hilir. Permasalahan di tahapan hulu, antara lain kondisi tanaman yang sudah tua dan tidak produktif, terjadinya alih fungsi lahan, kurangnya intensitas pemeliharaan kebun (terutama perkebunan rakyat), serangan organisme pengganggu tanaman (OPT), implementasi *good agricultural practices* (GAP) yang belum konsisten, serta dampak perubahan iklim. Selain perbaikan teknik budi daya dan usaha intensifikasi lainnya, peningkatan produksi, produktivitas, dan mutu teh dapat dilakukan melalui penggunaan benih unggul.

Seiring perkembangan dan pengembangan tanaman teh di Indonesia, telah banyak genotipe unggul yang dianjurkan oleh Balai Penelitian Teh dan Kina (BPTK) Gambung dari tahun 1955, 1971, 1974, 1976, dan 1978 (Astika & Muchtar, 1978). Beberapa genotipe teh menjadi bahan tanam anjuran skala besar pada tahun 1978. Genotipe TRI 2024, TRI 2025, SKM-116, PS-125, Cin 176, SKM 123 direkomendasikan untuk dataran rendah <800 m di atas permukaan laut (dpl), genotipe TRI 2024, TRI 2025, PG 18, KP 4, Kiara 8, PS 1, dan Cin 143 untuk dataran sedang (800–1.200 m dpl), dan genotipe Cin 143, TRI 2024, TRI 2025, Kiara 8, dan PS 1 untuk dataran tinggi (>1.200 m dpl). Pada tahun 1988 telah dihasilkan genotipe-genotipe anjuran seri Gambung, yaitu GMB 1 sampai GMB 5, yang dilepas oleh Menteri Pertanian, dengan potensi produksi lebih dari 3.400 kg pucuk kering/ha/tahun pada tahun ketiga (Pusat Penelitian Teh dan Kina, 2006).

Upaya untuk menghasilkan dan menyediakan bahan tanam unggul dengan potensi produksi tinggi, tahan hama dan penyakit, serta mempunyai pertumbuhan cepat terus dilakukan. Tahun 1998, Pusat

Penelitian Teh dan Kina (PPTK) Gambung melalui Menteri Perkebunan dan Kehutanan telah melepas 6 genotipe baru seri Gambung, yaitu GMB 6 sampai GMB 11 dengan potensi produksi dapat mencapai >4.000 kg/ha/tahun (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2017a; Pusat Penelitian Teh dan Kina, 2006).

Sebagian besar produksi teh Indonesia diekspor dalam bentuk teh hitam sehingga genotipe-genotipe teh yang dianjurkan untuk dikembangkan pada umumnya dari kelompok *assamica*. Petani/pekebun pada umumnya lebih menyukai teh *assamica* karena memiliki sifat produktivitas tinggi. Indonesia juga menghasilkan teh hijau yang bahan bakunya berasal dari pucuk teh *assamica* sehingga kualitasnya tidak dapat memenuhi standar ekspor atau hanya cocok untuk memenuhi kebutuhan pasar dalam negeri.

Menurut Yamanishi (1991), bahan baku yang sesuai untuk membuat teh hijau yang berkualitas baik adalah pucuk teh sinensis. Genotipe teh sinensis yang dianjurkan untuk dikembangkan di Indonesia adalah GMBS 1 sampai dengan GMBS 5 (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2017a), serta Tambi 1 dan Tambi 2 (Kementerian Pertanian, 2018a; Kementerian Pertanian, 2018b). Beberapa genotipe teh sinensis lainnya merupakan hasil introduksi yang sudah berkembang di masyarakat, antara lain Yabukita, Sukoi, Sin 27, dan Sin 28. Selain itu, di beberapa daerah sentra produksi teh masih banyak dijumpai tanaman teh sinensis yang asal-usul bahan tanamnya tidak diketahui karena diperbanyak menggunakan biji (*illegitiem*).

Program pemuliaan teh secara konvensional melalui persilangan buatan dengan mengeksploitasi heterosis perlu didukung dengan keragaman genetik plasma nutfah yang luas agar peluang keberhasilannya tinggi. Identifikasi keragaman genetik plasma nutfah berdasarkan karakter morfologis dan agronomis telah dilakukan dan menjadi dasar pengelompokan plasma nutfah teh sebagai materi dasar pemuliaan (Rahadi, Khomaeni, Chaidir, & Martono, 2016). Namun demikian, hasil pengelompokan genetik yang diperoleh seringkali kurang akurat akibat adanya interaksi antara genotipe dan lingkungan, serta pengaruh umur tanaman. Oleh sebab itu, diperlukan metode identifikasi keragaman genetik yang tidak dipengaruhi oleh kondisi lingkungan tumbuh dan umur tanaman agar hasil yang diperoleh lebih akurat.

Random amplified polymorphic DNA (RAPD) merupakan salah satu penanda molekuler yang dapat digunakan untuk mendeteksi keragaman genetik pada tingkat DNA. Metode tersebut telah diaplikasikan pada plasma nutfah beberapa jenis tanaman perkebunan, antara lain karet (Venkatachalam *et al.*, 2002; Venkatachalam, Priya, Saraswathy-Amma, & Thulaseedharan, 2004; Zewei, Han, Aihua, Jianlin, &

Huasun, 2005; Oktavia & Lasminingsih, 2011), kopi (Dinesh, Shivanna, & Ram, 2011; Kathurima, Kenji, Muhoho, Gichimu, & Gichuru, 2012), kakao (Russell, Hosein, Johnson, Waugh, & Powell, 1993; Syafaruddin & Nasution, 2012; Rahmansyah, Mutmainah, Muslimin, & Suwastika, 2014; Panggeso, Anshary, Samudin, & Basri, 2015), dan beberapa tanaman lainnya. Sementara itu, karakterisasi secara molekuler menggunakan teknik RAPD pada tanaman teh telah dilaporkan oleh Sriyadi, Setiamihardja, Baihaki, & Astika (2002), Cheng-Wen *et al.* (2008), Goonetilleke, Priyantha, Mewan, & Gunasekare (2009), Mishra, Chaudhary, Ahmad, & Siddiqi (2009), Boonerjee, Islam, Hoque, & Sarker (2014), Martono & Udarno (2014). Informasi genetik yang diperoleh melalui analisis molekuler pada penelitian ini dapat dijadikan sebagai dasar pertimbangan dalam pemilihan materi genetik. Penelitian bertujuan mengetahui keragaman genetik 21 genotipe teh menggunakan penanda RAPD.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Seameo Biotrop, Bogor, mulai bulan Juli sampai September 2013. Materi genetik yang digunakan dalam penelitian ini adalah 21 genotipe teh yang terdiri dari 6 genotipe tipe sinensis dan 15 genotipe tipe *assamica*. Tipe sinensis mempunyai ciri ukuran daun kecil, sedangkan tipe *assamica* mempunyai daun lebar (Tabel 1). Genotipe yang digunakan berasal dari genotipe lokal, introduksi, dan komersial

Genotipe introduksi umumnya mempunyai kualitas teh yang baik, seperti TRI 2024 dan TRI 2025, kedua genotip ini relatif tahan terhadap kekeringan. Genotipe lokal berasal dari biji hasil persilangan secara alami (*illegitiem*), sedangkan genotipe komersial merupakan hasil dari program pemuliaan teh secara konvensional. Genotipe-genotipe komersial seperti seri Gambung (GMB 1 sampai GMB 11) yang telah dilepas sebagai varietas unggul oleh pemerintah pada tahun 1988 dan 1998 memiliki keunggulan potensi daya hasil rata-rata 3,53 ton/ha/tahun sampai dengan 5,80 ton/ha/tahun, tahan terhadap tungau (kecuali GMB 1), serta tahan terhadap cacar daun (kecuali GMB 6, GMB 7, GMB 8, dan GMB 11) (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2017a).

Ekstraksi DNA Teh

Ekstraksi DNA genomik teh menggunakan metode *DNeasy plant mini kit* (Qiagen). Sebanyak 100 mg sampel daun muda teh yang masih segar diberi nitrogen cair, kemudian digerus dengan mortar dan dimasukkan ke dalam *microtube* 2 ml yang berisi 400 µl *buffer* AP1 dan 4 µl RNase A (100 mg/ml). Campuran

selanjutnya dihomogenkan dan diinkubasi (10 menit; suhu 65°C). Polisakarida dan protein diendapkan dengan penambahan 130 µl *buffer* AP2, kemudian diinkubasi dalam es selama 5 menit. Supernatan dipisahkan dengan proses sentrifugasi (14.000 rpm; 5 menit). Bagian supernatan ditransfer ke dalam *QIA shredder mini spin column* yang ditempatkan pada *microtube* 2 ml, kemudian disentrifugasi kembali. Supernatan ditambahkan ke dalam 1,5 volume *buffer* AP3, kemudian dihomogenkan. Sebanyak 650 µl campuran tersebut dipipet ke dalam *DNeasy mini spin column* yang diletakkan pada *microtube* 2 ml. Larutan kemudian disentrifugasi (8.000 rpm; 1 menit) dan sisa campuran dimasukkan kembali ke dalam *DNeasy mini spin column* dan disentrifugasi ulang. Setelah semua campuran diproses ke dalam *DNeasy mini spin column*, kolom dicuci dengan penambahan 500 µl *buffer* AW dan disentrifugasi (8.000 rpm; 1 menit). DNA dielusi dengan penambahan 2 x 100 µl *buffer* AE dan diinkubasi 5 menit pada suhu ruang, selanjutnya disentrifugasi (8.000 rpm; 1 menit).

Tabel 1. Genotipe teh yang digunakan untuk analisis keragaman genetik

Table 1. Twenty one of tea genotypes used for genetic diversity analysis

| Genotipe | Tipe | Asal |
|----------|-----------------|------------|
| Tb 3 | Sinensis | Lokal |
| Sin 26 | Sinensis | Introduksi |
| Sin 27 | Sinensis | Introduksi |
| Sin 28 | Sinensis | Introduksi |
| SCC 1 | Sinensis | Introduksi |
| Yabukita | Sinensis | Introduksi |
| RB 3 | <i>Assamica</i> | Lokal |
| AS 1 | <i>Assamica</i> | Lokal |
| AS 2 | <i>Assamica</i> | Lokal |
| TRI 2024 | <i>Assamica</i> | Introduksi |
| TRI 2025 | <i>Assamica</i> | Introduksi |
| GMB 1 | <i>Assamica</i> | Komersial |
| GMB 3 | <i>Assamica</i> | Komersial |
| GMB 4 | <i>Assamica</i> | Komersial |
| GMB 5 | <i>Assamica</i> | Komersial |
| GMB 6 | <i>Assamica</i> | Komersial |
| GMB 7 | <i>Assamica</i> | Komersial |
| GMB 8 | <i>Assamica</i> | Komersial |
| GMB 9 | <i>Assamica</i> | Komersial |
| GMB 10 | <i>Assamica</i> | Komersial |
| GMB 11 | <i>Assamica</i> | Komersial |

DNA hasil isolasi dicek kualitasnya menggunakan elektroforesis dengan gel agarosa 1% yang telah mengandung *GelRed*. Sebanyak 5 µl stok DNA dielektroforesis menggunakan agarosa 1% (5 volt/cm; 30 menit), disertakan Lambda DNA sebagai standar dan divisualisasi menggunakan KODAK *Gel Logic* 200. DNA dikuantifikasi dengan membandingkan terhadap Lambda DNA. Stok DNA kemudian diencerkan menjadi konsentrasi 25 ng/µl.

Amplifikasi PCR

DNA 21 genotipe teh diamplifikasi menggunakan 6 primer, yaitu OPA 03, OPA 05, OPB 04, OPB 06, OPC 06, dan OPD 08 (Martono & Udarno, 2014). Proses amplifikasi DNA dilakukan melalui PCR dengan tahapan sebagai berikut: (1) pra PCR (denaturasi awal: 5 menit; 94°C; satu siklus); (2) denaturasi (1 menit; 94°C), penempelan primer (*annealing*: 1 menit; 36°C), dan pemanjangan (*extension*: 2 menit 72°C; 45 siklus); (3) pemanjangan akhir (*final extension*: 4 menit; 72°C; satu siklus). Hasil amplifikasi dielektroforesis pada gel agarose 1% yang sudah mengandung *GelRed* (1 jam; 5 volt/cm). Selanjutnya, pita DNA divisualisasi dengan *UV transluminator* dan didokumentasi dengan kamera digital.

Analisis Data

Pita-pita DNA diskoring dalam bentuk data biner dengan memberi nilai 1 (ada pita dan 0 tidak ada pita). Data biner tersebut selanjutnya digunakan dalam analisis keragaman genetik menggunakan program *numerical taxonomy and multivariate analysis system* (NTSYS-pc) versi 2.10 (Rohlf, 2000). Berdasarkan nilai kesamaan genetik tersebut dilakukan analisis pengelompokan (*cluster analysis*) menggunakan metode *unweighted pair-group method with arithmetic* (UPGMA).

HASIL DAN PEMBAHASAN

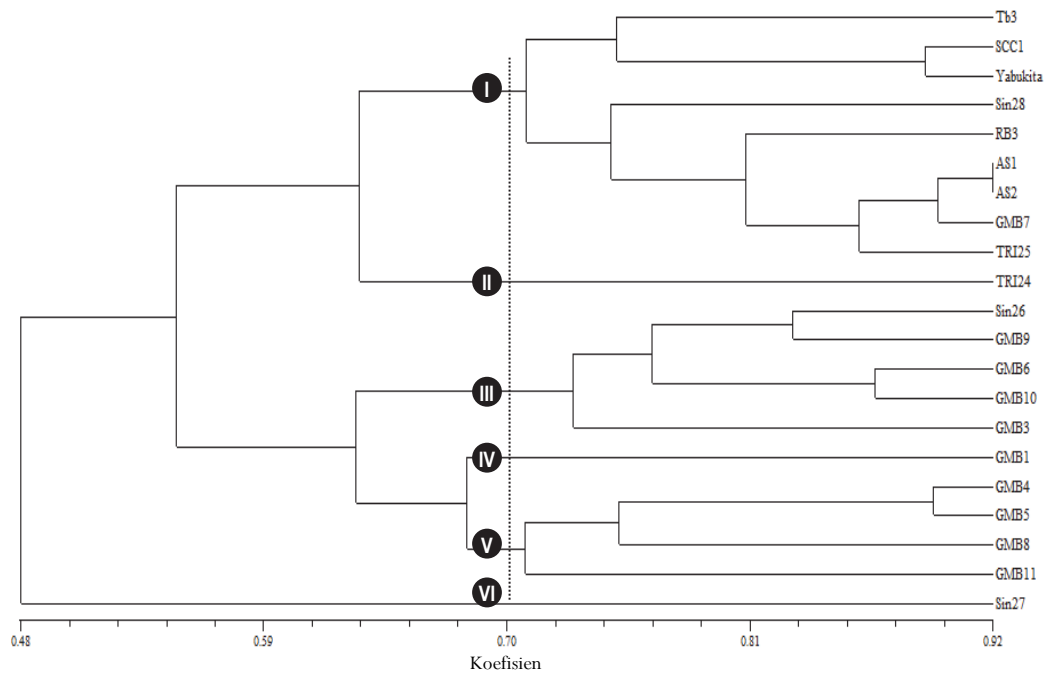
Analisis RAPD

Amplifikasi total genom DNA dari 21 genotipe teh dilakukan menggunakan enam primer RAPD, yaitu OPA 03, OPA 05, OPB 04, OPB 06, OPC 06, dan OPD 08. Keenam primer tersebut menghasilkan produk PCR yang dapat diskoring, yang selanjutnya dapat dianalisis. Sekuen dari keenam primer dan hasil analisis dari marka RAPD ditampilkan pada Tabel 2. Amplifikasi dari 6 primer tersebut menghasilkan 53 pita dengan rata-rata 8,83. Jumlah total pita DNA polimorfik pada 6 primer yang digunakan adalah 50 (94,34%) dan hanya 3 (5,66%) pita DNA monomorfik.

Setiap primer menghasilkan jumlah pita DNA yang berbeda, yaitu 6 (OPB 04) sampai 11 pita (OPC 06), sedangkan persentase polimorfiknya mulai dari 80% (OPA 05) sampai 100% (OPA 03, OPB 04, OPB 06, dan OPD 08). Hal ini menunjukkan bahwa penanda RAPD yang digunakan memiliki tingkat polimorfisme yang tinggi (>50%). Pita polimorfik dapat menggambarkan keadaan genom tanaman, yaitu semakin banyak pita polimorfik, semakin tinggi keragaman genetiknya (Primrose & Twyman, 2006). Nilai polimorfisme yang dihasilkan pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Martono & Udarno (2014) pada 9 genotipe teh sinensis menggunakan 6 primer yang sama, yaitu 87,04%. Hasil penelitian lain juga menunjukkan perbedaan persentase pita polimorfik yang dihasilkan pada tanaman teh. Roy & Chakraborty (2009) melaporkan persentase pita polimorfik sebesar 77,77% pada 21 genotipe teh menggunakan 12 primer. Cheng-Wen *et al.* (2008) menghasilkan persentase pita polimorfik sebesar 88,90% pada 240 tanaman dari 4 populasi teh dengan menggunakan 21 primer. Sementara itu, Chen, Gao, Chen, & Xu (2005) menghasilkan 94,20% pita polimorfik dari 20 primer yang diuji pada 15 akses plasma nutfah teh.

Tabel 2. Jumlah pita polimorfik dan monomorfik yang dihasilkan 6 primer RAPD
 Table 2. Number of polymorphic and monomorphic bands generated from 6 RAPD primers

| Jenis primer | Susunan basa | Jumlah pita polimorfik | Jumlah pita monomorfik | Persentase pita polimorfik (%) |
|--------------|--------------|------------------------|------------------------|--------------------------------|
| OPA 03 | AGTCAGCCAC | 8 | 0 | 100 |
| OPA 05 | AGGGGTCTTG | 8 | 2 | 80 |
| OPB 04 | GGA CTGGAGT | 6 | 0 | 100 |
| OPB 06 | TGCTCTGCCC | 9 | 0 | 100 |
| OPC 06 | GAACGGACTC | 11 | 1 | 91,67 |
| OPD 08 | GTGTGCCCCA | 8 | 0 | 100 |
| Jumlah | | 50 | 3 | 94,34 |



Gambar 1. Dendrogram 21 genotipe teh dianalisis berdasarkan metode *unweighted pair-group method with arithmetic* (UPGMA)
Figure 1 . Dendrogram of 21 tea genotypes analyzed based on the *unweighted pair-group method with arithmetic* (UPGMA)

Tabel 3. Pengelompokan 21 genotipe teh pada koefisien kesamaan genetik 70%
Table 3. Clustering result of 21 tea genotypes at the genetic similarity coefficient of 70%

| Kelompok | Sub kelompok | Genotipe |
|----------|--------------|---|
| I | 1 | Tb 3, SCC 1, Yabukita |
| | 2 | Sin 28, RB 3, AS 1, AS 2, GMB 7, TRI 2025 |
| II | | TRI 2024 |
| III | 1 | Sin 26, GMB 9, GMB 6, GMB 10 |
| | 2 | GMB 3 |
| IV | | GMB 1 |
| V | 1 | GMB 4, GMB 5, GMB 8 |
| | 2 | GMB 11 |
| VI | | Sin 27 |

Penelitian yang dilakukan oleh Shah, Yadav, & Borua (2015) terhadap 27 aksesori plasma nutfah teh menggunakan 10 primer menghasilkan 78,82% pita polimorfik, menunjukkan hasil yang berbeda dengan penelitian Shalimol *et al.* (2015) pada 4 tipe teh yang dianalisis menggunakan 7 primer, menghasilkan polimorfisme sebesar 16,83%. Perbedaan tingkat polimorfisme diduga karena perbedaan jumlah primer dan genotipe teh yang digunakan.

Analisis Kluster

Hasil analisis kluster 21 genotipe teh menggunakan 6 primer dapat dilihat pada Gambar 1. Pada tingkat kesamaan 0,48, seluruh genotipe teh yang dievaluasi dapat dipisahkan ke dalam 2 kelompok

utama. Kelompok 1 terdiri dari 20 genotipe teh, sedangkan kelompok 2 hanya terdiri dari 1 genotipe, yaitu Sin 27. Kelompok 1 dapat dibagi lebih lanjut ke dalam sub kelompok dengan jarak genetik yang berbeda.

Berdasarkan jarak genetik dari Nei (1972), pada koefisien kesamaan genetik 0,70 membagi 21 genotipe teh menjadi 6 kelompok yang mempunyai hubungan genetik terpisah. Kelompok 1 terdiri dari 9 genotipe yang terbagi lagi menjadi 2 sub kelompok, yaitu sub kelompok 1 terdiri dari 3 genotipe teh sinensis (Tb 3, SCC 1, Yabukita), sedangkan sub kelompok 2 terdiri dari 1 genotipe teh sinensis (Sin 28) dan 5 genotipe teh *assamica* (RB 3, AS 1, AS 2, GMB 7, TRI 2025). Kelompok 2, 4, dan 6 masing-masing terdiri

dari 1 genotipe, yaitu TRI 2024, GMB 1, dan Sin 27. Kelompok 3 terdiri dari 5 genotipe yang terbagi lagi dalam 2 sub kelompok, yaitu sub kelompok 1 (Sin 26, GMB 9, GMB 6, GMB 10) dan sub kelompok 2 (GMB 3). Kelompok 5 terdiri dari 4 genotipe teh tipe *assamica*, yaitu genotipe GMB 4, GMB 5, GMB 8 pada sub kelompok 1, dan genotipe GMB 11 pada sub kelompok 2 (Gambar 1 dan Tabel 3).

Hasil pengelompokan menunjukkan beberapa genotipe yang termasuk dalam tipe *assamica* berada pada kelompok yang sama, seperti AS 1 dan AS 2 dengan kesamaan genetik 0,92. Hal yang sama juga bisa dilihat antara GMB 6 dan GMB 10 yang memiliki tetua sama, yaitu PS 1 dengan kesamaan genetik 0,86, serta GMB 4 dan GMB 5 yang merupakan hasil persilangan Mal 2 x PS 1 dengan kesamaan genetik 0,89. Namun demikian, tidak semua genotipe teh tipe *assamica* dengan tetua yang sama berada dalam satu kelompok, seperti GMB 7, GMB 10, dan GMB 11 (hasil persilangan Mal 2 x PS 1) serta GMB 6 dan GMB 8 (hasil persilangan PS 324 x PS 1) (Gambar 1). Hal ini karena tanaman teh memiliki heterozigositas yang tinggi sehingga genotipe hasil persilangan mempunyai sifat yang berbeda, meskipun berasal dari kombinasi tetua persilangan yang sama. Kondisi yang sama dilaporkan juga pada tanaman karet, yaitu tidak semua klon yang berasal dari tetua yang sama berada pada satu kelompok. Contohnya adalah klon PB 260 dan PB 5/51 yang terdapat pada kelompok berbeda dengan klon PB 217 dan RRIM 901 (Oktavia & Lasminingsih, 2011).

Hasil dendrogram juga menunjukkan bahwa beberapa genotipe teh bertipe *sinensis* berada pada kelompok yang sama dengan teh *assamica*, contohnya genotipe Sin 26 dan GMB 9 dengan nilai kesamaan genetik 0,83. Genotipe GMB 9 merupakan teh hibrida yang sifatnya lebih mendekati *sinensis* (Departemen Kehutanan dan Perkebunan, 1998), sehingga diduga berkerabat dekat dengan genotipe Sin 26 yang bertipe *sinensis*.

Tabel 4 menampilkan matriks kesamaan genetik berdasarkan penanda RAPD, dengan nilai sekitar 28%–92%, atau memiliki perbedaan genetik antara 8%–72%. Nilai koefisien kesamaan genetik yang semakin lebar menunjukkan bahwa kedua genotipe memiliki hubungan kekerabatan yang dekat, atau dengan kata lain kedua genotipe tersebut seragam. Sebaliknya, semakin rendah nilai koefisien kesamaan genetiknya, kedua genotipe mempunyai hubungan kekerabatan yang jauh. Keragaman genetik yang tinggi mempunyai arti penting dalam pemuliaan tanaman karena akan menentukan keberhasilan program pemuliaan. Tersedianya keragaman genetik yang tinggi

akan memudahkan dalam memilih materi persilangan. Rentang nilai kesamaan genetik yang ditunjukkan pada penelitian ini lebih lebar dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Wang *et al.* (2011) dan Boonerjee *et al.* (2014), yaitu masing-masing 54%–79% dan 41%–76%. Hal ini mengindikasikan keragaman genetik yang lebih luas antar genotipe teh yang digunakan pada penelitian ini.

Berdasarkan hasil analisis penanda RAPD, genotipe teh yang memiliki kekerabatan paling dekat adalah genotipe AS 1 dan AS 2 dengan koefisien kesamaan sebesar 92%, diikuti oleh genotipe GMB 7 dan AS 1, SCC 1 dan Yabukita, GMB 5 dan GMB 4, serta GMB 7 dan AS 2, dengan nilai kesamaan genetik masing-masing >88%. Genotipe AS 1 dan AS 2 mempunyai nilai kesamaan genetik yang tinggi karena diduga merupakan genotipe yang sama. Kedua genotipe tersebut merupakan genotipe teh lokal yang berasal dari Cianjur. Demikian juga dengan genotipe SCC 1 dan Yabukita yang mempunyai nilai kesamaan genetik 89%, keduanya tergolong teh bertipe *sinensis* dengan ukuran daun kecil, mempunyai kualitas teh baik, dan merupakan hasil introduksi.

Genotipe GMB 4 dan Sin 27 memiliki nilai kekerabatan paling jauh (nilai kesamaan sebesar 28%). Kedua genotipe tersebut tergolong ke dalam tipe yang berbeda. Genotipe Sin 27 merupakan tipe *sinensis* yang dicirikan dengan ukuran daun kecil dan produktivitasnya lebih rendah, sedangkan GMB 4 bertipe *assamica* dengan ukuran daun lebar dan mempunyai produktivitas tinggi (3,53 ton/ha/tahun). Keunggulan dari kedua genotipe tersebut adalah GMB 4 mempunyai potensi hasil tinggi, kualitas teh yang baik, tahan terhadap tungau dan cacar daun, perakaran baik, dan pertumbuhan tunas setelah dipangkas cepat, sedangkan genotipe Sin 27 memiliki kualitas teh yang baik dan berkerabat jauh dengan genotipe-genotipe lainnya (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2017b).

Konservasi plasma nutfah teh, khususnya terhadap genotipe-genotipe yang memiliki keragaman genetik tinggi, perlu mendapat perhatian serius dalam pelestariannya. Informasi mengenai keragaman genetik yang tinggi bermanfaat dalam menentukan kombinasi tetua persilangan untuk merakit teh unggul. Semakin jauh jarak genetik antar genotipe, akan memiliki efek heterosis yang tinggi. Namun demikian, untuk menghasilkan rekombinan yang baik perlu dipertimbangkan juga karakter agronomisnya. Pada penelitian ini, kombinasi genotipe yang direkomendasikan sebagai tetua persilangan adalah GMB 4 dan Sin 27.

Tabel 4. Matriks kesamaan genetik dari 21 genotipe teh berdasarkan penanda RAPD
Table 4. Genetic similarity matrix of 21 tea genotypes based on RAPD markers

| | Tb 3 | Sin 26 | Sin 27 | Sin 28 | SCC 1 | Yabukita | RB 3 | AS 1 | AS 2 | TRI 2024 | TRI 2025 | GMB 1 | GMB 3 | GMB 4 | GMB 5 | GMB 6 | GMB 7 | GMB 8 | GMB 9 | GMB 10 | GMB 11 | |
|----------|------|--------|--------|--------|-------|----------|------|------|------|----------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--|
| Tb 3 | 1,00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Sin 26 | 0,45 | 1,00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Sin 27 | 0,56 | 0,49 | 1,00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Sin 28 | 0,63 | 0,65 | 0,63 | 1,00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SCC 1 | 0,75 | 0,56 | 0,61 | 0,79 | 1,00 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Yabukita | 0,75 | 0,51 | 0,54 | 0,68 | 0,89 | 1,00 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| RB 3 | 0,68 | 0,67 | 0,53 | 0,76 | 0,72 | 0,73 | 1,00 | | | | | | | | | | | | | | | |
| AS 1 | 0,66 | 0,64 | 0,55 | 0,77 | 0,77 | 0,77 | 0,82 | 1,00 | | | | | | | | | | | | | | |
| AS 2 | 0,69 | 0,64 | 0,59 | 0,76 | 0,76 | 0,77 | 0,81 | 0,92 | 1,00 | | | | | | | | | | | | | |
| TRI 2024 | 0,48 | 0,54 | 0,44 | 0,61 | 0,55 | 0,54 | 0,67 | 0,72 | 0,72 | 1,00 | | | | | | | | | | | | |
| TRI 2025 | 0,66 | 0,64 | 0,51 | 0,69 | 0,7 | 0,67 | 0,78 | 0,86 | 0,85 | 0,72 | 1,00 | | | | | | | | | | | |
| GMB 1 | 0,33 | 0,65 | 0,33 | 0,46 | 0,3 | 0,36 | 0,49 | 0,51 | 0,48 | 0,47 | 0,51 | 1,00 | | | | | | | | | | |
| GMB 3 | 0,42 | 0,7 | 0,46 | 0,53 | 0,45 | 0,52 | 0,64 | 0,65 | 0,62 | 0,55 | 0,57 | 0,72 | 1,00 | | | | | | | | | |
| GMB 4 | 0,37 | 0,63 | 0,28 | 0,55 | 0,46 | 0,4 | 0,48 | 0,5 | 0,51 | 0,46 | 0,5 | 0,65 | 0,43 | 1,00 | | | | | | | | |
| GMB 5 | 0,38 | 0,67 | 0,38 | 0,64 | 0,46 | 0,41 | 0,52 | 0,63 | 0,63 | 0,62 | 0,63 | 0,74 | 0,54 | 0,89 | 1,00 | | | | | | | |
| GMB 6 | 0,61 | 0,71 | 0,45 | 0,6 | 0,66 | 0,69 | 0,65 | 0,74 | 0,67 | 0,53 | 0,67 | 0,63 | 0,77 | 0,57 | 0,61 | 1,00 | | | | | | |
| GMB 7 | 0,63 | 0,73 | 0,49 | 0,74 | 0,74 | 0,71 | 0,82 | 0,9 | 0,89 | 0,69 | 0,86 | 0,53 | 0,63 | 0,57 | 0,68 | 0,75 | 1,00 | | | | | |
| GMB 8 | 0,39 | 0,56 | 0,39 | 0,53 | 0,39 | 0,47 | 0,45 | 0,57 | 0,53 | 0,42 | 0,52 | 0,69 | 0,63 | 0,73 | 0,77 | 0,6 | 0,55 | 1,00 | | | | |
| GMB 9 | 0,47 | 0,83 | 0,51 | 0,67 | 0,57 | 0,53 | 0,64 | 0,69 | 0,69 | 0,56 | 0,69 | 0,67 | 0,76 | 0,6 | 0,73 | 0,72 | 0,74 | 0,63 | 1,00 | | | |
| GMB 10 | 0,54 | 0,85 | 0,5 | 0,57 | 0,6 | 0,59 | 0,67 | 0,72 | 0,68 | 0,55 | 0,68 | 0,65 | 0,7 | 0,63 | 0,67 | 0,86 | 0,8 | 0,56 | 0,78 | 1,00 | | |
| GMB 11 | 0,3 | 0,68 | 0,44 | 0,47 | 0,43 | 0,38 | 0,44 | 0,55 | 0,52 | 0,47 | 0,55 | 0,65 | 0,55 | 0,69 | 0,77 | 0,67 | 0,65 | 0,67 | 0,7 | 0,82 | 1,00 | |

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan 21 genotipe teh yang digunakan dalam penelitian ini terbagi ke dalam 2 kluster utama pada kesamaan genetik 0,48. Kelompok 1 terdiri dari 20 genotipe teh, sedangkan kelompok 2 terdiri dari 1 genotipe (Sin 27). Berdasarkan nilai jarak genetiknya, genotipe GMB 4 dan Sin 27 dapat dipilih sebagai tetua persilangan yang diharapkan dapat menghasilkan efek heterosis pada progeni yang dihasilkan. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini dapat dimanfaatkan oleh pemulia dalam merakit varietas unggul baru maupun dalam pelestarian plasma nutfah teh.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Anidah, SSi., yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Astika, W., & Muchtar, D. (1978). Anjuran bahan tanam teh tahun 1978. *Warta BPTK*, 4(3/4), 297–306.
- Boonerjee, S., Islam, M. N., Hoque, M. I., & Sarker, R. H. (2014). Genetic diversity analysis of eighteen tea (*Camellia sinensis* L.) clones of Bangladesh through RAPD. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 23(2), 189–199. <http://doi.org/10.3329/ptcb.v23i2.17520>
- Chen, L., Gao, Q., Chen, D., & Xu, C. (2005). The use of RAPD markers for detecting genetic diversity, relationship and molecular identification of Chinese elite tea genetic resources [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] preserved in a tea germplasm repository. *Biodiversity and Conservation*, 14(6), 1433–1444. <http://doi.org/10.1007/s10531-004-9787-y>
- Cheng-Wen, S., Yi-Huan, H., Jian-An, H., Jun-Wu, L., Chun-Lin, L., & De-Hua, L. (2008). RAPD analysis on genetic diversity of typical tea populations in Hunan Province. *Chinese Journal of Agricultural Biotechnology*, 5(1), 67–72. <http://doi.org/10.1017/S147923620800199X>
- Departemen Kehutanan dan Perkebunan. (1998). Kepmenhutbun RI No. 684.c/Kpts-IX/98 tentang pelepasan Teh GPPS 1 sebagai varietas unggul dengan nama GMB 9.
- Dinesh, K. P., Shivanna, M. B., & Ram, A. S. (2011). Identification of RAPD (random amplified polymorphic DNA) markers for Ethiopian wild *Coffea arabica* L. genetic resources conserved in India. *IIOABJ*, 2(4), 1–7. Retrieved from <http://www.iioab.org/Vol2%284%292011/2%284%291-7.pdf>
- Direktorat Jenderal Perkebunan. (2017a). *Deskripsi varietas benih unggul tanaman perkebunan*. Direktorat Jenderal Perkebunan, Kementerian Pertanian.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. (2017b). *Statistik perkebunan Indonesia komoditas teh 2015-2017*. Direktorat Jenderal Perkebunan, Kementerian Pertanian.
- Goonetilleke, W. A. S. N. S. T., Priyantha, P. G. C., Mewan, K. M., & Gunasekare, M. T. K. (2009). Assessment of genetic diversity of Tea (*Camellia sinensis* L.O. Kuntze) as revealed by RAPD - PCR markers. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 37(2), 147. <http://doi.org/10.4038/jnsfsr.v37i2.1072>
- Kathurima, C. W., Kenji, M. G., Muhoho, M. S., Gichimu, B. M., & Gichuru, E. K. (2012). Genetic diversity among commercial coffee varieties, advanced selections and museum collections in Kenya using molecular markers. *International Journal of Biodiversity and Conservation*, 4(2), 39–46. <http://doi.org/10.5897/IJBC11.231>
- Kementerian Pertanian. (2018a). Kepmentan RI No. 157/Kpts/KB.010/2/2018 tentang pelepasan varietas Tambi 1 sebagai varietas unggul tanaman teh.
- Kementerian Pertanian. (2018b). Kepmentan RI No. 158/Kpts/KB.010/2/2018 tentang pelepasan varietas Tambi 2 sebagai varietas unggul tanaman teh.
- Mishra, R. K., Chaudhary, S., Ahmad, A., Pradhan, M., & Siddiqi, T. O. (2009). Molecular analysis of tea clones (*Camellia sinensis*) using AFLP markers. *International Journal of Integrative Biology* 5(2), 130-135.
- Martono, B., & Udarno, L. (2014). Keragaman genetik beberapa genotipe teh berdasarkan penanda RAPD (random amplified polymorphic DNA). *Jurnal Tanaman Industri Dan Penyegar*, 1(1), 1-6. <http://doi.org/10.21082/jtidp.v1n1.2014.p1-6>
- Nei, M. (1972). Genetic distance between populations. *The American Naturalist*. The University of Chicago Press. The American Society of Naturalists. <http://doi.org/10.2307/2459777>

- Oktavia, F., & Lasminingsih, M. (2011). Selection of parent trees for rubber (*Hevea brasiliensis*) breeding based on RAPD analysis, 3(3), 2087–3948. <http://doi.org/10.13057/nusbiosci/n030304>
- Panggeso, J., Anshary, A., Samudin, S., & Basri, Z. (2015). Genetic diversity of different cocoa clones by RAPD (random amplified polymorphic DNA) markers. *International Journal of Current Research and Academic Review*, 3(3), 195–201.
- Primrose, S. B., & Twyman, R. M. (2006). *Principles of gene manipulation and genomics*. American Journal of Human Genetics (7th ed.). Carlton North, Vic: Blackwell. <http://doi.org/10.1136/jmg.23.3.282>
- Pusat Penelitian Teh dan Kina. (2006). *Petunjuk kultur teknis tanaman teh*. Lembaga Riset Perkebunan Indonesia, Pusat Penelitian Teh dan Kina.
- Rahadi, V. P., Khomaeni, H. S., Chaidir, L., & Martono, B. (2016). Keragaman dan kekerabatan genetik koleksi plasma nutfah teh berdasarkan karakter morfologi daun dan komponen hasil. *Jurnal Tanaman Industri Dan Penyegar*, 3(2), 103–108. <http://doi.org/10.21082/jtidp.v3n2.2016.p103-108>
- Rahmansyah, Mutmainah, Muslimin, & Suwastika, I. N. (2014). Variasi genetik klon kakao (*Theobroma cacao* L.) di Desa Sausu Peore Kab. Parigi Moutong. *Online Journal of Natural Science*, 3(3), 239–246.
- Rohlf, F. J. (2000). NTSYSpc numerical taxonomy and multivariate analysis system user guide. Retrieved from <http://www.exetersoftware.com/downloads/ntsystguide21.pdf>
- Roy, S. C., & Chakraborty, B. N. (2009). Genetic diversity and relationships among tea (*Camellia sinensis*) cultivars as revealed by RAPD and ISSR based fingerprinting. *Indian Journal of Biotechnology*, 8, 370–376. Retrieved from <http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/6141/1/IJBT>
- Russell, J. R., Hoesin, F., Johnson, E., Waugh, R., & Powell, W. (1993). Genetic differentiation of cocoa (*Theobroma cacao* L.) populations revealed by RAPD analysis. *Molecular Ecology*, 2(2), 89–97. <http://doi.org/10.1111/j.1365-294X.1993.tb00003.x>
- Shah, S., Yadav, R. N. S., & Borua, P. K. (2015). Molecular analysis by RAPD markers of popular tea (*Camellia sinensis*) varieties of North-East India infested by tea mosquito bug (*Helopeltis theivora*). *International Journal of Biosciences (IJB)*, 6(1), 318–325. Retrieved from <http://www.innspub.net/wp-content/uploads/2015/01/IJB-V6No1-p318-325.pdf>
- Shalimol, A., Arumugasamy, K., Kumar, N., Kaffoor, A., Johny, M., & Venugopal, M. (2015). Detection of genetic polymorphisms among commercial tea population and endemic wild tea plant (*Gordonia obtusa*. Exut and arn) as revealed by RAPD markers. *International Journal of Recent Advances in Multidisciplinary Research*, 2(7), 543–546. Retrieved from http://www.ijramr.com/sites/default/files/issues-pdf/277_0.pdf
- Sriyadi, B., Setiamihardja, R., Baihaki, A., & Astika, W. (2002). Hubungan kekerabatan genetik antar tanaman teh F1 dari persilangan TRI 2024 X PS 1 berdasarkan penanda RAPD. *Zuriat*, 13(1), 11–20. Retrieved from <http://jurnal.unpad.ac.id/zuriat/article/view/6715>
- Syafaruddin, & Nasution, M. (2012). Keragaman 17 aksesi plasma nutfah kakao berdasarkan penanda morfologi dan molekuler. *Buletin RISTR*, 3(2), 177–184.
- Venkatachalam, P., Thomas, S., Priya, P., Thanseem, I., Gireesh, T., Saraswathy-Amma, C. K., & Thulaseedharan, A. (2002). Identification of DNA polymorphism among clones of *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. Using RAPD analysis. *Indian J Nat Rubb Res*, 15(2), 172–181.
- Venkatachalam, P., Priya, P., Saraswathy-Amma, C. K., & Thulaseedharan, A. (2004). Identification, cloning and sequence analysis of a dwarf genome-specific RAPD marker in rubber tree [*Hevea brasiliensis* (Muell.) Arg.]. *Plant Cell Reports*, 23(5), 327–332. <http://doi.org/10.1007/s00299-004-0833-8>
- Wang, X. F., Zheng, H. Y., Zheng, W. H., Ao, C. Q., Jin, H. Y., Zhao, L. H., ... Jia, L. R. (2011). RAPD-based genetic diversities and correlation with morphological traits in *Camellia* (Theaceae) cultivars in China. *Genetics and Molecular Research*, 10(2), 849–859. <http://doi.org/10.4238/vol10-2gmr1207>
- Yamanishi, T. (1991). *Tea flavor: Global Advances in Tea Science*. (N. K. Jain, Ed.). New Delhi: Aravali Book International (P) Ltd.
- Zewei, A., Han, C., Aihua, S., Jianlin, F., & Huasun, H. (2005). Identification of rubber clones by RAPD markers. In *International Natural Rubber Conference*.

