

Efektivitas Thidiazuron dan 1-Naphthaleneacetic Acid dalam Induksi Embrio Somatik pada Anggrek *Dendrobium phalaenopsis* Fitzg. Pembawa Konstruksi 35S::GR::AtRKD4 Secara In Vitro

Abstrak

Anggrek Larat (*Dendrobium phalaenopsis* Fitzg.) merupakan anggrek endemik yang berasal dari Pulau Larat, Indonesia Timur. Anggrek ini sangat diminati karena keindahannya sehingga banyak dilakukan pemburuan liar untuk tujuan ekonomi, sehingga populasi anggrek ini menurun di habitat aslinya. Oleh karena itu, perbanyakan secara massal anggrek ini diperlukan untuk konservasi *ex situ* maupun *in situ*. Penelitian sebelumnya telah dilakukan transformasi genetik *AtRKD4* berasal dari tanaman *Arabidopsis thaliana* (*AtRKD4*) ke dalam anggrek *D. phalaenopsis* dengan *Agrobacterium tumefaciens* serta deteksi stabilitas *AtRKD4* dalam pembentukan embrio somatik pada tanaman generasi ke-tiga. Namun belum diketahui bagaimana tingkat stabilitas *AtRKD4* pada tanaman generasi selanjutnya dengan penggunaan variasi ZPT. Tujuan penelitian ini adalah (1) Menganalisis stabilitas integrasi T-DNA yang membawa gen *AtRKD4* pada tanaman anggrek transforman dengan PCR (2) Menganalisis respon pertumbuhan *D. phalaenopsis* terhadap pemberian NAA dan BA, (3) Menentukan konsentrasi TDZ, kombinasi TDZ dan NAA yang paling efektif dalam induksi embrio somatik dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT). (4) Menganalisis anatomi embrio somatik dengan embrio zigotik. Penelitian menunjukkan bahwa gen *AtRKD4* terintegrasi ke dalam genom tanaman anggrek *D. phalaenopsis* generasi selanjutnya. Respon pertumbuhan *D. phalaenopsis* terbaik ditunjukkan pada pemberian NAA 1 mg.l⁻¹ + BA 0.5 mg.l⁻¹ pada parameter yang diukur. TDZ tunggal 1 mg.l⁻¹ atau kombinasi TDZ 1 mg.l⁻¹ + NAA 1 mg.l⁻¹ mampu menghasilkan jumlah ES tertinggi pada eksplan pseudobulb transforman dengan persentase pembentukan tertinggi mencapai 100% pada total 108 eksplan. Anatomi embrio zigotik *D. phalaenopsis* memiliki kesamaan pola dengan pembentukan embrio somatik yang diinduksi TDZ dan NAA.

Kata Kunci: *AtRKD4*, *Dendrobium phalaenopsis* Fitzg., Embriogenesis somatik, NAA, TDZ.

The Effectivity of Thidiazuron and 1-Naphthaleneacetic Acid on Induction of Somatic Embryo in *Dendrobium phalaenopsis* Fitzg. Transgenic Orchid Carrying 35S::GR::AtRKD4 Construct

Abstract

Larat Orchid (*Dendrobium phalaenopsis* Fitzg.) is an endemic orchid from Larat Island, Eastern Indonesia. This orchid has beautiful flowers so many are taken for commercial purposes, causing natural population to rapidly decline in their original habitat. Therefore, mass propagation of this orchid is needed for both *ex situ* and *in situ* conservation. Genetic transformation research with *AtRKD4* gene from *Arabidopsis thaliana* (*AtRKD4*) has been conducted with *Agrobacterium tumefaciens* inserted into *Dendrobium phalaenopsis* also detection of *AtRKD4* stability in somatic embryo formation on third generation plants. But it is not yet known what is stability level of *AtRKD4* on fourth generation and the usage of variations PGRs. The purpose of this research are (1) To analysis the stability integration of T-DNA carrying of *AtRKD4* gene in the next generation of transformant orchid plants using PCR, (2) To analysis the growth response of *D. phalaenopsis* on NAA and BA additions, (3) To determine the concentration of TDZ, and their combinations between TDZ and NAA most effective in the induction of somatic embryos using Analysis of Variance (ANOVA) followed by Least Significant Difference (LSD) and Duncan's Multiple Range Test (DMRT). (4). Analysis the anatomy of SEs with zygotic embryos. The result showed the *AtRKD4* genes is integrated into the *D. phalaenopsis* orchid genomes. The best responses of the growth response of *D. phalaenopsis* on addition of NAA 1 mg.l⁻¹ + BA 0.5 mg.l⁻¹ on parameters measured. Single TDZ 1 mg.l⁻¹ or combinations of TDZ 1 mg.l⁻¹ + NAA 1 mg.l⁻¹ was able to produce the highest amount of SEs in transformant pseudobulb explants with the highest percentage of formation reaching 100% with the pseudobulb total 108 explants. The anatomy of *D.phalaenopsis* zygotic embryos has a similar pattern in embryos formation of somatic embryos induced by TDZ and NAA.

Keywords: *AtRKD4*, *Dendrobium phalaenopsis* Fitzg., Somatic Embryogenesis, NAA, TDZ.