

## **Propagasi Klonal dan Deteksi Gen Homolog *RKD4* Pada Spesies Anggrek Endemik Jawa Timur *Paphiopedilum glaucophyllum* J. J. Sm**

### **Intisari**

*Paphiopedilum*, salah satu genus anggrek yang banyak dicari untuk dikoleksi dan diperjual-belikan karna bentuk labelumnya yang unik seperti kantung. Hal ini membuat *The Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora* (CITES) memasukkan genus ini ke dalam daftar *appendix 1* karna banyaknya spesies genus ini yang terancam punah. *Paphiopedilum glaucophyllum* menjadi salah satu spesies yang terancam punah karena membutuhkan waktu yang lama untuk menghasilkan bibit dalam jumlah yang banyak. Propagasi klonal dengan metode embriogenesis somatik menjadi salah satu alternatif cara untuk memperbanyak anggrek tersebut. Optimasi media kultur yang tepat untuk pertumbuhan planlet *in vitro* *P. glaucophyllum* berdasarkan parameter tinggi, penambahan daun, dan akar berturut-turut adalah media  $\frac{1}{2}$  MS dengan penambahan bubur Pisang Ambon Lumut, dan media NP. Induksi embriogenesis somatik dilakukan pada media  $\frac{1}{2}$  MS yang diberi tambahan ZPT NAA dan TDZ. Induksi embrio somatik berhasil dilakukan dengan eksplan nodus yang ditanam pada medium  $\frac{1}{2}$  MS yang diberi ZPT NAA 1 mg/l. Perlakuan ini menghasilkan rata-rata embrio sebanyak 3 setelah 8 minggu masa tanam. Deteksi gen *RKD4* homolog dilakukan dalam dua tahap yakni, isolasi DNA genom dengan metode CTAB dan amplifikasi gen *RKD4* dengan primer Deg-M-*RKD4*. Hasil isolasi dengan kualitas yang baik digunakan untuk proses PCR dan dilanjutkan dengan sekuensing. Hasil sekuensing belum menunjukkan motif protein RWP-RK yang diinginkan secara lengkap pada DNA genom *P. glaucophyllum*.

**Kata kunci:** Embriogenesis Somatik, Media Pertumbuhan, *Paphiopedilum glaucophyllum*, *RKD4*.

***Clonal Propagation and Detection of RKD4 Homologue Genes in The Endemic  
Orchid Species of East Java Paphiopedilum glaucophyllum J. J. Sm***

***Abstract***

*Paphiopedilum is threatened extinct because of widely exploited for trade. Since numerous species in this genus face extinction, The Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES) has included it in its appendix 1 list. Due to its slow rate of seed production, Paphiopedilum glaucophyllum is considered an endangered species. Another way to propagate orchids is using somatic embryogenesis-based clonal propagation. The ideal culture medium for P. glaucophyllum in vitro plantlet growth is ½ MS media supplemented with Ambon Lumut Banana homogenate and NP media according to the characteristics of height, leaf growth, and root, respectively. Somatic embryogenesis was induced in ½ MS media supplemented with PGRs NAA and TDZ. The process of somatic embryo induction was effectively executed by planting node explants in ½ MS media that was enriched with 1 mg/l NAA. After eight weeks of planting, 2.75 embryos on average were produced by this treatment. Two steps were involved in identifying the homologous RKD4 gene: first, genomic DNA was isolated using the CTAB technique, and then the RKD4 gene was amplified using the primer Deg-M-RKD4. Good-quality isolation results are employed in the PCR procedure, which is then followed by sequencing. The anticipated RWP-RK protein motif was not completely visible in the P. glaucophyllum genomic DNA according to the sequencing data.*

***Key words:*** Growth Media, *Paphiopedilum glaucophyllum*, Somatic embryogenesis, RKD4.