

**MIKROPROPAGASI DAN KARAKTERISASI STRUKTUR GEN
EMBRIO ANGGREK *Paphiopedilum primulinum* M. W. Wood & P. Taylor
UNTUK KONSERVASI *EX SITU* DAN *IN SITU***

Hesti Indriani
22/502343/PBI/01873

INTISARI

Paphiopedilum dikenal sebagai *Lady's slipper orchid*, merupakan salah satu jenis anggrek yang menarik berwarna kuning dengan semburat putih pada bagian petalnya dan memiliki *labellum* menyerupai sandal wanita. *P. primulinum* merupakan salah satu spesies anggota *Paphiopedilum* yang banyak diburu oleh kolektor tanaman hias karena keunikan bentuk dan corak bunganya. Adanya faktor-faktor seperti bencana alam, deforestasi, dan *illegal logging* menyebabkan populasi anggrek ini terus menurun sehingga diperlukan usaha perbanyak tanaman secara efektif, efisien, dan berkelanjutan untuk konservasi baik secara *ex situ* maupun *in situ*. Tujuan penelitian ini adalah untuk (1) mendapatkan kondisi optimal untuk pertumbuhan anggrek *P. primulinum* secara *in vitro*, (2) mengetahui pengaruh kombinasi TDZ dan 2,4-D dalam menginduksi embriogenesis somatik pada anggrek *P. primulinum*, (3) mengetahui karakteristik struktur gen embrio homolog *RKD4* pada *P. primulinum*. Metode yang dilakukan meliputi (1) pembuatan medium kultur dengan penambahan ekstrak pisang ambon lumut 100 g/L, (2) induksi embriogenesis somatik, (3) Analisis anatomi embrio somatik, dan (4) analisis biologi molekuler menggunakan primer *degenerate: DegRKD4* dan pembuatan preparat anatomi. Data yang didapatkan dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan uji *Duncan's multiple range test* (DMRT) dengan taraf $\alpha= 5\%$. Hasil penelitian meliputi (1) pertumbuhan planlet dalam kondisi 8 jam terang (1224 lux) dan 16 jam gelap (3 lux) memiliki perbedaan yang nyata pada parameter tinggi tanaman dibandingkan dengan perlakuan lainnya, (2) Penambahan 0,5 mg/L 2,4-D + 1 mg/L TDZ pada kondisi 8 jam terang dan 16 jam gelap memberikan persentase jumlah embrio somatik tertinggi sebesar 30% (3) karakter anatomi batang menunjukkan bahwa perlakuan penambahan 0,5 mg/L 2,4-D + 1 mg/L TDZ membentuk struktur embriogenik, dan (4) struktur gen homolog *RKD4* pada *P. primulinum* menunjukkan adanya motif protein RWP-RK pada nomor 284-290 dari 330 di level asam amino yang merupakan gen kunci embriogenesis.

Kata Kunci: *2,4-dichlorophenoxy-acetic acid*; Embriogenesis; Kultur *in vitro*; *RKD4*; *Thidiazuron*.

**MICROPROPAGATION AND CHARACTERIZATION OF THE
EMBRYO GENE'S STRUCTURE OF *Paphiopedilum primulinum* M. W.
Wood & P. Taylor ORCHID FOR *EX SITU* AND *IN SITU*
CONSERVATION**

Hesti Indriani
22/502343/PBI/01873

ABSTRACT

Paphiopedilum is known as Lady's slipper orchid, is an attractive yellow orchid with striped pattern white tint on the petals and has a labellum resembling a lady's slipper. *P. primulinum* is one of the species of *Paphiopedilum* members that is much hunted by ornamental plant collectors because of the uniqueness of the shape and style of its flowers. Factors such as natural disasters, deforestation, and illegal logging cause the population of this orchid to continue to decline so that effective, efficient, and sustainable plant propagation efforts are needed for conservation both *ex situ* and *in situ*. The objectives of this study were to (1) obtain optimal conditions for the growth of *P. primulinum* orchids *in vitro*, (2) determine the effect of a combination of TDZ and 2,4-D in inducing somatic embryogenesis in *P. primulinum* orchids, (3) determine the characteristics of the *RKD4* homologous embryo gene structure in *P. primulinum*. The methods include (1) making culture medium with the addition of 'Pisang Ambon Lumut' extract 100 g/L, (2) induction of somatic embryogenesis, (3) anatomical analysis of somatic embryos, and (4) molecular biology analysis using *DegRKD4* primers and making anatomical preparations. The data obtained were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) and Duncan's multiple range test (DMRT) at the $\alpha = 5\%$ level. The results of the study include (1) the growth of plantlets in conditions of 8 hours of light (1224 lux) and 16 hours of darkness (3 lux) has a significant difference in plant height parameters compared to other treatments, (2) The addition of 2,4-D 0.5 mg/L + TDZ 1 mg/L in conditions of 8 hours of light and 16 hours of darkness gives the highest percentage of somatic embryos by 30% (3) the anatomical character of the stem shows that the treatment of the addition of 2,4-D 0.5 mg/L + TDZ 1 mg/L forms an embryogenic structure, and (4) The structure of the *RKD4* homologous gene in *P. primulinum* shows the presence of the RWP-RK protein motif at 284-290 out of 330 at the amino acid level, which is a key gene for embryogenesis.

Keywords: *2,4-dichlorophenoxy-acetic acid*; Embryogenesis; *In vitro* culture; *RKD4*; *Thidiazuron*.