

Mikropropagasi Tanaman Anggrek Endemik Kalimantan *Paphiopedilum supardii* Braem & Lob dan Karakterisasi Gen *RKD4* Homolog

Oleh

Nurul Istiqomah

21/489368/PBI/01790

Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

INTISARI

Paphiopedilum supardii Braem & Lob merupakan salah satu anggrek endemik Kalimantan yang terancam punah akibat overeksploitasi dan kerusakan habitat. Status konservasi *P. supardii* termasuk dalam Appendix I. Propagasi aseksual melalui kultur *in vitro* dengan embriogenesis somatik dapat menjadi solusi yang efektif untuk perbanyakan massal. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui media subkultur terbaik untuk planlet anggrek *P. supardii* dengan penambahan PAL, mengetahui konsentrasi kombinasi ZPT NAA dan TDZ yang optimal dalam induksi embrio somatik pada eksplan daun dan batang, dan karakterisasi gen *RKD4* yang menginisiasi terbentuknya embrio somatik. Metode yang digunakan meliputi (1) pembuatan media kultur *in vitro*. (2) subkultur planlet anggrek *P. supardii*. (3) induksi embrio somatik. (4) analisis anatomi. (5) analisis biologi molekuler, dan (6) analisis bioinformatika. Data yang diperoleh akan dianalisis menggunakan SPSS One Way Anova dengan taraf $\alpha = 5\%$. Hasil penelitian meliputi (1) Media NP + 100 g/l PAL sebagai media terbaik untuk penambahan jumlah akar ($4,6 \pm 1,1a$); media KC + 100 g/l PAL sebagai media terbaik untuk penambahan jumlah daun ($4,4 \pm 1,1a$); media NP sebagai media terbaik untuk penambahan tinggi batang ($1,82 \pm 0,23a$). (2) Pemberian 3 mg/l NAA pada media $\frac{1}{2}$ MS pada eksplan batang dengan kondisi fotoperiodisitas (16:8) jam gelap:terang memberikan hasil persentase jumlah embrio tertinggi (50%); pemberian 4 mg/l NAA + 2 mg/l TDZ pada media $\frac{1}{2}$ MS pada eksplan batang dengan kondisi fotoperiodisitas (16:8) jam gelap:terang memberikan hasil persentase jumlah tunas tertinggi (50%). (3) Struktur gen *RKD4* homolog pada *P. supardii* (*PsRKD4*) pada level asam amino menunjukkan adanya motif protein *RWP-RK* yang merupakan gen kunci embriogenesis. Dengan demikian media NP + 100 g/l PAL merupakan media terbaik untuk pertumbuhan planlet anggrek *P. supardii*.

Kata kunci: *Paphiopedilum supardii*, Embrio somatik, Gen kunci embriogenesis

Micropropagation of Borneo Endemic Orchid *Paphiopedilum supardii* Braem & Lob and Characterization of Homologous *RKD4* Gene

By

Nurul Istiqomah

21/489368/PBI/01790

Faculty of Biology, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRACT

Paphiopedilum supardii Braem & Lob is one of the endemic orchids of Borneo that is critically endangered due to overexploitation and habitat destruction. The conservation status of *P. supardii* is included in Appendix I. Asexual propagation through *in vitro* culture with somatic embryogenesis can be an effective solution for mass propagation. The objectives of this study were to determine the best subculture media for *P. supardii* orchid plantlets with the addition of moss ambon banana, to determine the optimal concentration of the ZPT combination of NAA and TDZ in the induction of somatic embryo in leaf and stem explants, and to characterize the *RKD4* gene that initiates the formation of somatic embryos. The methods used include (1) preparation of *in vitro* culture media. (2) subculture of *P. supardii* orchid plantlets. (3) induction of somatic embryos. (4) anatomical analysis. (5) molecular biology analysis, and (6) bioinformatics analysis. The data obtained will be analyzed using SPSS One Way Anova with $\alpha = 5\%$. The results of the study include (1) NP + 100 g/l PAL media as the best media for increasing the number of roots ($4,6 \pm 1,1a$); KC + 100 g/l PAL media as the best media for increasing the number of leaves ($4,4 \pm 1,1a$); NP media as the best media for increasing stem height ($1,82 \pm 0,23a$) (2) The application of 3 mg/l NAA on $\frac{1}{2}$ MS media to stem explants with photoperiod conditions (16:8)h of dark:light give the highest percentage of embryos (50%); the application of 4 mg/l NAA + 2 mg/l TDZ on $\frac{1}{2}$ MS media to stem explants with photoperiod conditions (16:8) h of dark:light give the highest percentage of shoots (50%). (3) The structure of the homologous *RKD4* gene in *P. supardii* (*PsRKD4*) at the amino acid level shows the *RWP-RK* protein motif which is a key gene initiation of embryogenesis. Therefore, NP + 100 g/l PAL medium is the best medium for the growth of *P. supardii* orchid plantlets.

Keyword: *Paphiopedilum supardii*, Somatic embryogenesis, Key genes of embryogenesis