

KARAKTERISASI GEN EMBRIO DAN INDUKSI EMBRIOGENESIS SOMATIK PADA ANGGREK *Dendrobium lasianthera* J.J. Sm. SECARA *IN VITRO*

Lulu Fatikhatul Maryamah
22/495557/PMU/11056

INTISARI

Dendrobium lasianthera J.J. Sm. merupakan anggrek spesies Indonesia yang berasal dari Papua Nugini. Tidak hanya digunakan sebagai tanaman hias, anggrek ini juga memiliki potensi sebagai obat. Organ vegetatif *D. lasianthera*, yaitu bagian akar, batang dan daunnya bersifat toksik dan memiliki aktivitas antikanker. Hal ini membuat *D. lasianthera* perlu dibudidayakan secara massal. Namun, perbanyakan secara konvensional tidak cukup efektif karena ukuran bijinya yang mikroskopis sehingga sulit untuk tumbuh di alam bebas. Perbanyakan secara *in vitro* dianggap sebagai metode perbanyakan yang lebih efektif. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi morfologi tanaman *D. lasianthera*, melakukan metode perbanyakan secara massal dan mengkarakterisasi gen *RKD4* homolog yang merupakan gen kunci embriogenesis. Metode yang digunakan dalam penelitian ini meliputi beberapa tahap: (1) penaburan biji dari buah hasil penyerbukan sendiri yang berumur 5 bulan dalam medium VW dengan suplementasi pepton 2 g/L dalam kondisi pencahayaan terang pada temperatur 25 ± 1 °C; (2) induksi embriogenesis somatik *D. lasianthera* melalui penggoyangan pada medium VW cair menggunakan *shaker* dengan kecepatan 100 rpm selama 2X24 jam dengan suplementasi air kelapa 15% dan sukrosa 2%; (3) pengamatan pertumbuhan pada embrio somatik; (4) analisis struktur DNA dari gen *RKD4* homolog pada *D. lasianthera* hasil amplifikasi genom dengan PCR menggunakan degenerated-primer *RKD4*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggoyangan protokorm berumur 8 minggu dalam medium cair selama 2X24 jam mampu memicu pembentukan embrio somatik pada protokorm sebanyak 6,2%. Setelah pengamatan selama 8 minggu, embrio somatik yang terbentuk mampu tumbuh menjadi planlet yang utuh. Jumlah planlet terbanyak yang dapat dihasilkan dari satu protokorm adalah 22. Fragmen gen *RKD4* homolog berhasil diisolasi secara parsial dari *D. lasianthera* yang menunjukkan adanya motif protein RWP-RK pada fragmen DNA hasil PCR. Analisis filogenetik menunjukkan bahwa gen *RKD4* pada *D. lasianthera* memiliki kekerabatan paling dekat dengan *RKD4* yang ada di *D. catenatum*.

Kata kunci: *Dendrobium lasianthera*, kultur *in vitro*, gen homolog, gen *RKD4*.

CHARACTERIZATION OF EMBRYO GENE AND INDUCTION OF SOMATIC EMBRYOGENESIS IN *Dendrobium lasianthera* J.J. Sm. ORCHID THROUGH *IN VITRO* CULTURE

Lulu Fatikhatul Maryamah
22/495557/PMU/11056

ABSTRACT

Dendrobium lasianthera J.J. Sm. is an Indonesian orchid species originally from Papua New Guinea. In addition to its use as an ornamental plant, this orchid can also be used as medicine. The vegetative organs of *D. lasianthera*: the roots, stems, and leaves, are toxic and have anticancer activity. This makes *D. lasianthera* worth to cultivate massively. However, conventional propagation is ineffective because the seeds are microscopic, making them difficult to grow in the wild. *In vitro* propagation is a more effective method for mass propagation. This research aims to characterize the morphology of *D. lasianthera* plants, mass propagation methods, and characterize the homologous *RKD4* gene which is a key gene for embryogenesis. The method used in this research includes several stages: (1) sowing of mature seeds from the 5-month-old self-pollinated silique in VW medium with 2 g/L peptone supplementation under full bright light conditions at a temperature of 25 ± 1 °C; (2) induction of somatic embryos of *D. lasianthera* by shaking in liquid VW medium at a speed of 100 rpm for 2X24 hours with supplementation of 15% coconut water and 2% sucrose; (3) observation of the growth of somatic embryos; (4) DNA structure analysis of the *RKD4* homologous gene in *D. lasianthera* genome amplified by PCR using degenerated-primer *RKD4*. The results showed that shaking of 8-week-old protocorms in a liquid medium at a speed of 100 rpm for 2X24 hours was able to induce somatic embryos in protocorms of 6.2% of the total protocorms. After 8 weeks observation, somatic embryos were able to grow into completely new plantlets. The highest number of plantlets that can be produced from protocorm is 22. The homologous *RKD4* gene fragment was partially isolated from *D. lasianthera*, indicated by the presence of the RWP-RK motif protein in the DNA fragment obtained by PCR. Phylogenetic analysis showed that the *RKD4* gene of *D. lasianthera* is most closely related to *RKD4* in *D. catenatum*.

Keyword: *Dendrobium lasianthera*, *in vitro* culture, homologous gene, *RKD4* gene.