

ABSTRACT

MICROPROPAGATION OF EAST JAVA ENDEMIC ORCHID *Paphiopedilum glaucophyllum* J.J. SMITH AS AN EFFORT TO SAVE BIODIVERSITY

Paphiopedilum glaucophyllum J.J. Smith is an endemic orchid of East Java with a unique flower labellum resembling a lady's slipper or pouch. The decline in numbers is caused by illegal collection. *P. glaucophyllum* is categorized by CITES as a threatened species. Micropropagation can be done through shoot induction as a conservation effort. Bud formation is regulated by homologous Shoot Apical Meristem (SAM) *homeobox* genes in orchids such as *POH1*. Characterization of the homologous *POH1* gene in orchid *P. glaucophyllum* has never been done before. The aim of this study was to obtain an effective *in vitro* propagation method in *P. glaucophyllum* by growth treatment through the subculture of planlets with the addition of organic matter moss ambon banana (MAB) and photoperiodism, induction of shoot formation and isolation and characterization of *homeobox* homologous genes in *P. glaucophyllum* using *POH1* primers. The methods used in the study included 1) subculture optimization of *P. glaucophyllum* planlets with the addition of MAB (0, 20, 50, and 100 g/L) and photoperiodism of 24 h light (1224 lux), 8 h light (1224 lux): 16 h dark (4 lux), and 24 h dark (4 lux). 2) Induction of apical bud growth using TDZ (0, 0.5, 1, and 1.5 mg/L) and NAA (0, 1, 2, and 3 mg/L) alone or in combination. 3) Characterisation of the homologous *POH1* gene in *P. glaucophyllum*. The results of this study obtained: 1) The addition of MAB 100 mg/L in photoperiodism conditions 24 hours dark (4 lux) affects the addition of *P. glaucophyllum* height increase. 2) Shoot induction using node explants with ½ MS medium with the addition of TDZ and NAA T0,5N2 gave the highest percentage of shoots reaching 2 explants (66.67%). 3) The character of the homologous *POH1* gene in *P. glaucophyllum* at the amino acid level shows the *KNOX1* protein motif which is a gene in the formation of SAM.

Keywords : Photoperiodism, *POH1*, *P. glaucophyllum*, Shoot, PGRs.

INTISARI

MIKROPROPAGASI ANGGREK ENDEMIK JAWA TIMUR *Paphiopedilum glaucophyllum* J.J. SMITH SEBAGAI UPAYA PENYELAMATAN BIODIVERSITAS

Paphiopedilum glaucophyllum J.J. Smith adalah anggrek endemik Jawa Timur yang memiliki keunikan *labellum* bunga yang menyerupai *lady's slipper* atau kantong. Penurunan jumlah di alam disebabkan oleh pengambilan ilegal. *P. glaucophyllum* dikategorikan oleh CITES sebagai spesies terancam punah. Mikropropagasi dapat dilakukan melalui induksi tunas sebagai usaha konservasi. Pembentukan tunas diregulasi oleh gen homolog *homeobox Shoot Apical Meristem* (SAM) pada anggrek seperti *POH1*. Karakterisasi gen *POH1* homolog pada anggrek *P. glaucophyllum* belum pernah dilakukan sebelumnya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh metode propagasi *in vitro* yang efektif pada *P. glaucophyllum* dengan perawatan pertumbuhan melalui subkultur planlet dengan penambahan bahan organik Pisang Ambon Lumut (PAL) dan fotoperiodesitas, induksi pembentukan tunas serta isolasi dan karakterisasi gen homolog *homeobox* pada *P. glaucophyllum* menggunakan primer *POH1*. Metode yang digunakan dalam penelitian meliputi 1) optimasi subkultur planlet *P. glaucophyllum* dengan penambahan PAL (0, 20, 50, dan 100 g/L) dan fotoperiodesitas 24 jam terang (1224 lux), 8 jam terang (1224 lux) : 16 jam gelap (4 lux), dan 24 jam gelap (4 lux). 2) Induksi pertumbuhan tunas apikal menggunakan ZPT TDZ (0, 0,5, 1, dan 1,5 mg/L) dan NAA (0, 1, 2, dan 3 mg/L) tunggal maupun kombinasi. 3) Karakterisasi gen *POH1* homolog pada *P. glaucophyllum*. Hasil dari penelitian ini diperoleh: 1) Penambahan PAL 100 mg/L pada kondisi fotoperiodesitas 24 jam gelap (4 lux) berpengaruh pada penambahan pertumbuhan tinggi *P. glaucophyllum*. 2) Induksi tunas menggunakan eksplan nodus dengan medium ½ MS dengan penambahan TDZ dan NAA T0,5N2 memberikan hasil persentase jumlah tunas tertinggi mencapai 2 eksplan (66,67%). 3) Karakter gen *POH1* homolog pada *P. glaucophyllum* pada level asam amino menunjukkan motif protein *KNOX1* yang merupakan gen dalam pembentukan SAM.

Kata kunci : Fotoperiodesitas, *POH1*, *P. glaucophyllum*, Tunas, ZPT