UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Perbandingan Struktur Gen dan Aktivitas Transien Promoter Putatif VARIEGATED2 (VAR2) pada Zona Hijau
dan Kuning Daun Anggrek Phalaenopsis Sogo Vivien**
Pauline Destinugrainy Kasi, Prof. Dr. Endang Semiarti, M.S., M.Sc. ; Prof. Dr. Purnomo, M.S. ; Dr. Maryani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

PERBANDINGAN STRUKTUR GEN DAN AKTIVITAS TRANSIEN PROMOTER PUTATIF *VARIEGATED2* (*VAR2*) PADA ZONA HIJAU DAN KUNING DAUN ANGGREK *Phalaenopsis* Sogo Vivien

Oleh: Pauline Destinugrainy Kasi (22/495468/SBI/00205)

INTISARI

Anggrek *Phalaenopsis* Sogo Vivien memiliki daun varigata tipe marginal dengan bagian tengah berwarna hijau dan tepi berwarna kuning akibat gangguan biogenesis kloroplas. Salah satu gen yang berperan dalam proses tersebut adalah *VARIEGATED2* (*VAR2*), namun informasi mengenai struktur gen dan aktivitas promoternya pada anggrek masih terbatas. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi variasi struktur gen *VAR2* pada zona hijau dan kuning daun *Phalaenopsis* Sogo Vivien serta mengarakterisasi aktivitas fungsional promoter putatifnya secara transien. Penelitian dilakukan melalui analisis anatomi daun, pengukuran kandungan klorofil dan karotenoid, amplifikasi dan sekuensing gen *VAR2*, analisis bioinformatika promoter putatif, konstruksi promoter putatif dengan gen reporter *GFP*, serta uji aktivitas promoter putatif menggunakan transformasi transien berbasis *Agrobacterium tumefaciens* pada *Phalaenopsis amabilis*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa zona hijau memiliki kloroplas berpigmen hijau serta kandungan klorofil dan karotenoid lebih tinggi dibandingkan zona kuning. Analisis gen *VAR2* mengungkap adanya perubahan asam amino pada domain Peptidase-M41 di zona kuning yang menyebabkan pemendekan domain Peptidase-M41 dan diduga berkontribusi terhadap terbentuknya fenotip varigata. Analisis wilayah *upstream* putatif gen *VAR2* mengidentifikasi berbagai elemen *cis*-regulator yang responsif terhadap cahaya, fitohormon, dan cekaman, serta situs pengikatan faktor transkripsi yang berkaitan dengan perkembangan kloroplas dan fotosintesis. Seluruh promoter putatif Pro*VAR2* mampu menginisiasi ekspresi *GFP*, meskipun aktivitasnya secara numerik lebih rendah dibandingkan promoter konstitutif CaMV 35S, dengan aktivitas tertinggi secara numerik ditunjukkan oleh Pro*VAR2*_K1. Penelitian ini menunjukkan bahwa variasi pada struktur protein FtsH2 dan promoter putatif *VAR2* secara bersama-sama merupakan kandidat faktor molekuler terkait fenotip varigata pada *Phalaenopsis* Sogo Vivien. Selain itu, promoter putatif Pro*VAR2* berpotensi dimanfaatkan sebagai promoter aktif pada jaringan daun untuk mendukung pengembangan rekayasa genetika dan pemuliaan molekuler anggrek.

Kata Kunci: *Phalaenopsis*, promoter, transformasi transien, *VARIEGATED2* (*VAR2*), varigata.

UNIVERSITAS GADJAH MADA
Perbandingan Struktur Gen dan Aktivitas Transien Promoter Putatif VARIEGATED2 (VAR2) pada Zona Hijau dan Kuning Daun Anggrek Phalaenopsis Sogo Vivien
Pauline Destinugrainy Kasi, Prof. Dr. Endang Semiarti, M.S., M.Sc. ; Prof. Dr. Purnomo, M.S. ; Dr. Maryani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

COMPARISON OF GENE STRUCTURE AND TRANSIENT ACTIVITY OF PUTATIVE PROMOTER *VARIEGATED2* (*VAR2*) IN GREEN AND YELLOW ZONES OF *Phalaenopsis* Sogo Vivien ORCHID LEAVES

By: Pauline Destinugrainy Kasi (22/495468/SBI/00205)

ABSTRACT

The *Phalaenopsis* Sogo Vivien orchid exhibits marginal-type leaf variegation, characterized by green centers and yellow margins resulting from disrupted chloroplast biogenesis. One gene involved in this process is *VARIEGATED2* (*VAR2*), yet information regarding its gene structure and promoter activity in orchids remains limited. This study aimed to identify structural variations in the *VAR2* gene within the green and yellow leaf zones of *Phalaenopsis* Sogo Vivien and to characterize the functional activity of its putative promoter via transient assays. The research involved leaf anatomical analysis, chlorophyll and carotenoid content measurements, *VAR2* gene amplification and sequencing, bioinformatic analysis of the putative promoter, construction of a putative promoter-*GFP* reporter construct, and promoter activity testing using *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transient transformation in *Phalaenopsis amabilis*. Results showed that the green zone contained pigmented chloroplasts and higher levels of chlorophyll and carotenoids compared to the yellow zone. *VAR2* gene analysis revealed an amino acid alteration in the Peptidase-M41 domain within the yellow zone, leading to shortening of the Peptidase-M41 domain that is predicted to contribute to the variegated phenotype. Analysis of the *VAR2* putative upstream region identified various cis-regulatory elements responsive to light, phytohormones, and stress, as well as transcription factor binding sites associated with chloroplast development and photosynthesis. All putative Pro*VAR2* promoters successfully initiated GFP expression; although their activity levels were numerically lower than that of the constitutive CaMV 35S promoter, where Pro*VAR2*_K1 exhibited the highest numerical activity. These findings suggest that variations in both the FtsH2 protein structure and the *VAR2* gene putative promoter are potential molecular factors underlying the variegated phenotype in *Phalaenopsis* Sogo Vivien. Furthermore, the Pro*VAR2* putative promoter shows potential for use as an active promoter in leaf tissue to support genetic engineering and molecular breeding efforts in orchids.

Keywords: *Phalaenopsis*, promoter, transient transformation, *VARIEGATED2* (*VAR2*), variegation.