

Induksi Embriogenesis Somatik Tanaman Anggrek *Phalaenopsis amabilis* (L.)  
Blume dengan Zat Pengatur Tumbuh dan Transformasi Genetik

Oleh: Windi Mose  
(16/406814/SBI/00141)

## INTISARI

*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume adalah anggrek asli Indonesia yang memiliki peran penting sebagai indukan pada berbagai persilangan untuk menghasilkan varietas hibrida unggul. Produksi bibit anggrek ini dalam jumlah besar, seragam, dan terus menerus sangat diperlukan untuk dapat memenuhi kebutuhan pasar lokal, nasional maupun internasional. Perbanyakan tanaman melalui embriogenesis somatik merupakan salah satu aplikasi bioteknologi yang sangat menjanjikan, karena setiap sel tubuh pada tanaman dapat diinduksi menjadi tanaman baru yang utuh pada medium buatan secara *in vitro*. Embriogenesis somatik dilakukan menggunakan variasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) dan penyisipan gen kunci embriogenesis *AtRKD4* dan homolognya pada tanaman anggrek, *PRKD*. Penelitian ini bertujuan untuk: 1) Mengetahui pengaruh pepton terhadap perkembangan embrio zigotik anggrek *P. amabilis*; 2) Mengetahui pengaruh kombinasi thidiazuron (TDZ) dengan auksin (NAA, 2,4-D, dan IAA) terhadap pembentukan embrio somatik pada berbagai eksplan anggrek *P. amabilis*; 3) Menentukan profil transkriptomik tanaman anggrek *P. amabilis* yang mengekspresikan transgen *AtRKD4*; 4) Menentukan pengaruh ekspresi gen *PRKD* terhadap pembentukan embrio somatik pada tanaman model *Arabidopsis thaliana*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perkembangan embrio anggrek *P. amabilis* mencapai optimal (fase 5 dan 6) pada medium NP dengan penambahan 2 g/L pepton. Induksi embriogenesis somatik dengan ZPT menunjukkan bahwa medium dengan penambahan 3 mg/L TDZ NAA dengan konsentrasi 1 mg/L merupakan kombinasi ZPT terbaik yang dapat menginduksi pembentukan embrio somatik terbanyak pada semua tipe eksplan anggrek *P. amabilis*. Eksplan batang merupakan eksplan yang paling responsif dalam pembentukan embrio somatik pada semua kombinasi ZPT. Hasil transformasi genetik protokorm dengan gen *35S::GR::AtRKD4* menghasilkan frekuensi transformasi genetik sebesar 1,6%. Induksi embriogenesis somatik pada potongan eksplan (akar, batang, dan daun) tanaman transgenik dengan variasi konsentrasi Dex (0, 5, 10, 15, dan 20  $\mu$ M) menunjukkan bahwa Dex dengan konsentrasi 15  $\mu$ M merupakan konsentrasi terbaik yang dapat menginduksi pembentukan embrio somatik terbanyak dengan

tipe eksplan yang paling responsif terhadap induksi dengan Dex adalah eksplan batang. Tanaman transgenik *P. amabilis* galur #23, #25, dan #29 menunjukkan ekspresi transgen *AtRKD4* tertinggi dan menghasilkan rerata jumlah embrio somatik terbanyak. Analisis transkriptomik dengan *RNA-sequencing* pada sampel tanaman transgenik *P. amabilis* menunjukkan bahwa sebanyak 118 gen mengalami upregulasi dan 36 gen mengalami downregulasi setelah diinduksi dengan Dex selama 7 hari. Gen-gen yang mengalami upregulasi selama induksi dengan Dex adalah gen-gen yang berperan dalam *developmental process*. Sedangkan gen-gen yang mengalami downregulasi adalah gen-gen yang berperan dalam *differentiation process*. Kandidat gen *PRKD* berhasil menginduksi pembentukan embrio somatik pada tanaman *Arabidopsis*. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi perbanyakan klonal anggrek *P. amabilis* yang efektif melalui penggunaan ZPT (TDZ dan NAA) dan transformasi genetik melalui penyisipan gen *AtRKD4* dan *PRKD*, dan data transkriptomik yang didapatkan dapat memperkaya *database* transkriptom tanaman anggrek yang berguna sebagai dasar perbanyakan tanaman anggrek.

Kata kunci: Embriogenesis somatik, zat pengatur tumbuh, *AtRKD4*, *RNA-sequencing*, homolog *RKD*.

## Somatic Embryogenesis Induction in *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume Orchid using Plant Growth Regulators and Genetic Transformation

By: Windi Mose  
16/406814/SBI/00141

### ABSTRACT

*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume is an Indonesian native orchid that has an important role as parent to produce superior hybrid varieties. The production of uniform orchid seedlings in large and continuous quantities is necessary to meet local, national and international market demands. Plant propagation through somatic embryogenesis is a very promising application of biotechnology, because every cell in a plant can be induced into a whole new plant in an *in vitro* medium. Somatic embryogenesis was carried out using a variation of Plant Growth Regulators (PGRs) and the insertion of *AtRKD4* gene and *RKD* homolog in orchid, *PRKD*. The objectives of this research were: 1) Determine the effect of peptone on the development of *P. amabilis* zygotic embryos; 2) Determine the effect of combinations of thidiazuron (TDZ) with auxins (NAA, 2,4-D, and IAA) on the formation of somatic embryos from various explants of *P. amabilis*; 3) Determine the transcriptomic profiles of *P. amabilis* orchid expressing *AtRKD4* transgene; 4) Determine the effect of *PRKD* expression on somatic embryogenesis formation in *Arabidopsis thaliana*. The results showed that the optimum development (phase 5 and 6) of *P. amabilis* orchid embryo reached on NP medium with the addition of 2 g/L peptone. Somatic embryogenesis induction using PGRs showed that medium with the addition of 3 mg/L TDZ and 1 mg/L NAA is the best combination which can induced the highest number of somatic embryos in all type of explants. Stem explants were the most responsive explants in the formation of somatic embryos in all combination of PGRs. The results of genetic transformation on protocorm with *35S::GR::AtRKD4* gene showed the genetic transformation frequency of 1.6%. Somatic embryogenesis induction on different type transgenic of explants (roots, stems, and leaves) with variations concentration of Dex (0, 5, 10, 15, and 20  $\mu$ M) showed that Dex with a concentration of 15  $\mu$ M was the best concentration to induced the highest number of somatic embryo in all explant types, with the most responsive explant was stem explant. Three lines (#23, #25, and #29) of *P. amabilis* transgenic plants showed the highest expression of *AtRKD4* and produced the highest number of somatic embryos. Transcriptomic analysis using RNA-sequencing in *P. amabilis* transgenic samples showed that as many as 118 genes upregulated and 36 genes downregulated after 7 days of induction with Dex. Upregulated genes were involved in developmental process, whilst, downregulated genes were involved in differentiation processes. *PRKD* gene was successfully induce somatic embryo formation in *Arabidopsis* plants. This research is usefull to be a reference for effective orchid clonal propagation through the use of PGR (TDZ and NAA) and

genetic transformation via *AtRKD4* and *PRKD* gene insertion. The data obtained from this research can enrich orchid transcriptome database useful as a base propagation of orchids.

Key words: Somatic embryogenesis, plant growth regulators, *AtRKD4*, RNA-sequencing, *RKD homolog*.