

Percepatan Pembungaan pada Tanaman Anggrek *Dendrobium capra* J.J. Smith Dengan Zat
Pengatur Tumbuh dan Rekayasa Genetika

Muhammad Dylan Lawrie

16/406213/SBI/00139

INTISARI

Dendrobium capra J.J. Smith merupakan salah satu anggrek alam Indonesia endemik Pulau Jawa yang hanya berbunga sekali dalam setahun. Upaya konservasi *ex situ* sangat dibutuhkan karena *D. capra* merupakan salah satu anggrek yang terancam di habitatnya serta pembungaannya yang membutuhkan waktu lama. Konservasi *ex situ* dapat dilakukan menggunakan metode kultur *in vitro*. Pada penelitian ini dilakukan optimasi senyawa organik kompleks yang ditambahkan pada medium untuk mencapai perkecambahan efisien dalam waktu relatif singkat. Air kelapa (100, 200, 300, 400 ml/L) dan ekstrak tomat (100, 200, 300, 400 mg/L) masing-masing dicampurkan ke medium kultur *in vitro* secara terpisah sebagai tambahan senyawa organik kompleks. Setelah pengamatan selama 5 minggu diketahui bahwa medium dengan penambahan 200 mg/L ekstrak tomat memberikan hasil terbaik dengan frekuensi perkecambahan yang tinggi (75,82%) dibandingkan dengan 200 ml/L air kelapa (57,38%).

Pembungaan pada anggrek dapat diinduksi menggunakan zat pengatur tumbuh. Induksi percepatan pembungaan juga menjadi bagian penting dari upaya konservasi anggrek sebab panjangnya waktu yang dibutuhkan anggrek untuk mengalami perpindahan fase vegetatif ke generatif. Pada penelitian ini digunakan berbagai kombinasi auksin, sitokinin dan giberelin untuk mengetahui kombinasi terbaik untuk menginduksi pembungaan pada *D. capra* secara *in vitro*. Setelah inkubasi selama 11 bulan diperoleh kombinasi NAA (0,05 mg/L) dan TDZ (2 mg/L) mampu menginduksi pembungaan pada 80% planlet *D. capra*. Melalui upaya tersebut, pembungaan anggrek *D. capra* dapat dicapai dalam waktu 1 tahun sejak biji dikecambahkan.

CRISPR/Cas9 adalah teknik *genome editing* dengan presisi yang tinggi. Teknik tersebut dapat digunakan untuk menginduksi mutasi untuk menghasilkan *knock out* pada gen represor pembungaan. Salah satu gen yang berperan dalam penghambatan proses pembungaan adalah *GAI*. Transformasi planlet *D. capra* melalui agroinfiltrasi menggunakan teknik CRISPR/Cas9 dilakukan untuk menghasilkan mutasi pada gen *GAI*. Mutasi menggunakan sgRNA DcGAI_T1 menghasilkan 58,82% kandidat mutan sedangkan sgRNA DcGAI_T2 menghasilkan 64,70% kandidat mutan. Analisis sekuen menunjukkan bahwa mutasi berhasil terjadi pada semua kandidat.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa induksi percepatan pembungaan *D. capra* menggunakan kombinasi NAA dan TDZ mampu memberikan hasil yang lebih cepat dibandingkan dengan rekayasa genetik.

Kata kunci: *D. capra*, *in vitro*, pembungaan, *GAI*, CRISPR/Cas9, mutasi

Flowering Acceleration on *Dendrobium capra* J.J. Smith Orchid by Plant Growth Regulator and
Genetic Engineering

Muhammad Dylan Lawrie

16/406213/SBI/00139

ABSTRACT

Dendrobium capra J.J. Smith is an Indonesian orchid that is endemic in Java island. This orchid is only able to flower once a year. Ex situ conservation effort is urgently needed because this orchid is being threatened in its habitat. Its long vegetative cycle making its existence in nature even more vulnerable. In vitro culture is an effective technique for orchid conservation. This research optimized complex organic substance as an additive in orchid medium in order to achieve fast and efficient germination. Coconut water (100, 200, 300, 400 ml/L) and tomato extract (100, 200, 300, 400 mg/L) were added to culture medium respectively as additive. After 5 weeks observation, it became apparent that 200 mg/L tomato extract addition gave the best result with high germination value (75,82%).

Orchid flowering could be triggered by plant growth regulator. Accelerating orchid flowering is part of ex situ conservation effort caused by long vegetative phase of orchid. This research utilized auxin, cytokinin and gibberellin to find out the best combination for *D. capra* in vitro flowering. After 11 months incubation, a combination of NAA (0,05 mg/L) and TDZ (2 mg/L) was found out to be able to induce flowering in 80% of planlets. Through this method, *D. capra* flowering was achieved in approximately 1 year after seed germination.

CRISPR/Cas9 is a genome editing technique that has high precision level. That technique could be used to knock out flowering repressor gene through mutation. *GAI* is one of the genes that played role in flowering repression. *D. capra* planlet transformation through agroinfiltration using CRISPR/Cas9 method was done to induce mutation in *GAI*. Early screening showed 58,82% mutant candidates from DcGAI_T1 and 64,70% mutant candidates from DcGAI_T2. Sequence analysis of those candidates showed that mutation have successfully achieved in all candidates.

Results showed that flowering induction of *D. capra* using combination of NAA and TDZ gave quicker yield than genetic engineering.

Keywords: *D. capra*, in vitro, flowering, *GAI*, CRISPR/Cas9, mutation