

**ANALISIS EKSPRESI GEN *AtRKD4* PADA ANGGREK
Dendrobium phalaenopsis Fitzg. TRANSGENIK
SELAMA INDUKSI EMBRIOGENESIS SOMATIK**

Oleh:
ZULWANIS
17/421602/PBI/01530
Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

INTISARI

Dendrobium phalaenopsis adalah anggrek endemik Indonesia yang telah mengalami ancaman kepunahan. Salah satu metode perbanyakan yang dapat dilakukan untuk melestarikannya yaitu melalui embriogenesis somatik. Pada penelitian sebelumnya telah berhasil dilakukan transformasi genetik anggrek *D. phalaenopsis* dengan menyisipkan gen embrio *Arabidopsis thaliana* RKD4 (*AtRKD4*) melalui perantara *Agrobacterium tumefaciens* dengan plasmid pTA7002 yang membawa T-DNA dengan konstruksi *35S::GR::AtRKD4*. Gen *AtRKD4* terbukti mampu menginduksi protokorm *D. phalaenopsis* untuk membentuk embrio somatik dan telah tumbuh menjadi plantlet transforman dewasa. Tujuan penelitian ini adalah untuk (1) melakukan konfirmasi stabilitas keberadaan T-DNA yang membawa *AtRKD4* pada transforman anggrek *D. phalaenopsis*, (2) mengetahui dinamika ekspresi transgen *AtRKD4* pada eksplan daun anggrek *D. phalaenopsis* transforman selama proses induksi dengan Dexamethasone (DEX) atau Thidiazuron (TDZ), (3) mengetahui bagian eksplan anggrek *D. phalaenopsis* transgenik yang mampu menghasilkan embrio somatik, dan (4) mengetahui ekspresi gen *SERK1* dan *DOH1* pada saat pembentukan embrio somatik dari eksplan daun dan batang anggrek *D. phalaenopsis* transgenik. Tahapan penelitian yang dilakukan adalah konfirmasi integrasi T-DNA pada kandidat transforman, induksi embriogenesis somatik pada eksplan daun dengan DEX atau TDZ dengan 5 waktu induksi (1, 3, 5, 7, dan 9 hari), induksi embriogenesis somatik pada eksplan batang, daun, dan akar dengan DEX, dan analisis ekspresi gen *AtRKD4*, *SERK1*, dan *DOH1* dengan metode RT-PCR. Hasil penelitian menunjukkan diperoleh 25 plantlet positif dari 35 kandidat transforman (71%), ekspresi tertinggi transgen *AtRKD4* pada transforman diperoleh pada hari ke-5 baik induksi dengan DEX atau TDZ. Embrio somatik hanya muncul dari eksplan batang yang menghasilkan $14,6 \pm 1,5$ embrio (induksi dengan $10 \mu\text{M}$ DEX) dan $22,5 \pm 1,4$ embrio (induksi dengan $15 \mu\text{M}$ DEX). Ekspresi gen *SERK1* terdeteksi pada daun dan mengalami peningkatan pada batang, ekspresi gen *DOH1* hanya terdeteksi pada embrio somatik yang membentuk tunas, sedangkan gen *AtRKD4* dapat terdeteksi pada daun dan mengalami peningkatan pada embrio somatik. Data ini mengindikasikan bahwa gen *AtRKD4* dapat berfungsi normal pada genom *D. phalaenopsis*.

Kata kunci: *D. phalaenopsis*, embriogenesis somatik, transgen, *AtRKD4*, promoter inducible

**ANALYSIS OF *AtRKD4* GENE EXPRESSION IN
Dendrobium phalaenopsis Fitzg. TRANSGENIC ORCHID
DURING SOMATIC EMBRYOGENESIS INDUCTION**

By:

ZULWANIS

17/421602/PBI/01530

Faculty of Biology, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRACT

Dendrobium phalaenopsis is an Indonesian endemic orchid that threaten to be extinct. A propagation method can be done to preserve this species is through somatic embryogenesis. In previous studies, the genetic transformation of the *D. phalaenopsis* was carried out by inserting the *Arabidopsis thaliana* *RKD4* (*AtRKD4*) embryo gene using *Agrobacterium tumefaciens* with a pTA7002 plasmid that carries T-DNA with *35S::GR::AtRKD4* construction. The *AtRKD4* gene is proven to be able to induce the *D. phalaenopsis* protocorm to create somatic embryos and has grown into adult transformant plantlets. The purposes of this study were to (1) confirm the existence T-DNA carrying *AtRKD4* in the genome of *D. phalaenopsis* transformants, (2) know the dynamic expression of *AtRKD4* transgene in the leaves of *D. phalaenopsis* transformants during induction process with Dexamethasone (DEX) or Thidiazuron (TDZ), (3) determine the *D. phalaenopsis* transgenic explant that is capable of producing somatic embryos, and (4) analyze the expression of *AtRKD4*, *SERK1*, and *DOH1* genes in the time of producing somatic embryos from leaf and stem explants. The stages of research were confirmation of T-DNA in transformant candidates, induction of somatic embryogenesis in leaf explants by DEX or TDZ in 5-time points (1, 3, 5, 7, 9 days of induction), induction of somatic embryogenesis in explants of stems, leaves, and roots with DEX, and analysis the *AtRKD4*, *SERK1*, and *DOH1* gene expression with the RT-PCR method. The results showed that 25 positive plantlets were obtained from 35 transformant candidates (71%), the highest expression of *AtRKD4* transgenes in transformants was obtained after 5 days induction either by DEX or TDZ. Somatic embryos only arise from stem explants that produce 14.6 ± 1.5 embryos (induced by $10 \mu\text{M}$ DEX) and 22.5 ± 1.4 embryos (induced by $15 \mu\text{M}$ DEX). The *SERK1* gene expression was detected in the leaf explants and increased in the stem, the *DOH1* gene expression could be detected only in the somatic embryo that produce buds, while the *AtRKD4* gene can be detected in the leaf and increased in the somatic embryo explants. The data indicates that the *AtRKD4* gene can function properly in the *D. phalaenopsis* genome.

Keywords: *D. phalaenopsis*, somatic embryogenesis, transgene, *AtRKD4*, inducible promoter