

# OPTIMASI MEDIUM PERKECAMBAHAN IN VITRO BIJI ANGGREK JAMRUD (*Dendrobium macrophyllum A.Rich*) DAN KARAKTERISASI GEN EMBRIO *DmRKD4*

Falah Nur Alifianto  
16/396922/BI/09680

## RINGKASAN

*Dendrobium macrophyllum* merupakan anggrek yang unik dan menarik karena morfologi bunganya yang berbulu dan berwarna hijau pucat. Saat ini, Anggrek ini termasuk kedalam kategori *Appendix II* yang berarti tanaman Anggrek *D. macrophyllum* tidak boleh diperdagangkan secara bebas. Hal itu disebabkan oleh berkurangnya habitat Anggrek *D. macrophyllum* di alam, sehingga menekan populasi Anggrek *D. macrophyllum*. Selain itu, Anggrek *D. macrophyllum* memiliki pertumbuhan yang lambat di habitat aslinya. Perlu adanya strategi yang tepat untuk meningkatkan produktivitas anggrek ini. Solusi yang tepat untuk melakukan perbanyakan massal secara efisien adalah dengan menggunakan teknik kultur *In Vitro*. Embriogenesis adalah salah satu peristiwa perkembangan penting pada tumbuhan. Selama proses ini embrio mendapatkan polaritas sumbu dan meristem apikal primer. Mekanisme molekuler embriogenesis akan mendukung pemahaman tentang pembentukan embrio terutama peran gen embrio selama proses embriogenesis. Pada tanaman model *Arabidopsis thaliana*, gen *AtRKD4* (*RWP-RK DOMAIN-CONTAINING 4*) telah dilaporkan sebagai gen kunci untuk induksi awal proses embriogenesis. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan medium modifikasi yang optimal untuk pertumbuhan anggrek *Dendrobium macrophyllum* serta mengisolasi dan mengkarakterisasi gen homolog *RKD4* pada Anggrek *D. macrophyllum* yaitu gen *DmRKD4*. Buah anggrek *D. macrophyllum* berumur 16 minggu yang dikecambahan pada 3 medium perlakuan, memberikan hasil bahwa medium modifikasi yang paling optimal adalah medium NP+Daging Buah Pisang+ Kulit Pisang+ Pepton dengan nilai persentase fase keenam pada hari ke-14 sebesar 14,22%. DNA genom dari protokorm berumur tiga minggu diisolasi dan diamplifikasi menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan primer Degenerated-RKD4 (DegRKD4). Fragmen DNA berukuran 922 bp diamplifikasi dari genom *D. macrophyllum*. Analisis urutan asam amino protein DmRKD4 menunjukkan adanya 39 aa domain RWP-RK pada posisi 153-192 dari total 307 aa, dan memiliki kesamaan identitas 94,65% dengan 73E1 UDP-glycosyltransferase pada *Dendrobium catenatum* dan *Dendrobium lineale*. Gen 73E1-like UDP-glycosyltransferase bertanggung jawab untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman, terutama dalam homeostasis hormon seperti sitokin.

Kata Kunci : *AtRKD4*, Embriogenesis, *In Vitro*, Konservasi, Medium

# OPTIMIZATION OF IN VITRO SEED GERMINATION MEDIUM OF JAMRUD ORCHID (*Dendrobium macrophyllum A.Rich*) AND CHARACTERIZATION OF THE EMBRIO GENE *DmRKD4*

Falah Nur Alifianto  
16/396922/BI/09680

## ABSTRACT

*Dendrobium macrophyllum* is an unique and attractive orchid because of its has hairy flower morphology and pale green color. Currently, this orchid is included in the category of Appendix II, which means that *D. macrophyllum* orchid plants cannot be traded freely. This is due to the reduced habitat of the *D. macrophyllum* orchid in nature, thereby suppressing the population of the *D. macrophyllum* orchid. In addition, the *D. macrophyllum* orchid has a slow growth in its natural habitat. There needs to be an appropriate strategy to increase the productivity of this orchid. The right solution to do mass propagation efficiently is to use *In Vitro* culture techniques. Embryogenesis is one of the important developmental events in plants. During this process the embryo acquires axial polarity and the primary apical meristem. The molecular mechanism of embryogenesis will support the understanding of embryo formation, especially the role of embryonic genes during the embryogenesis process. In the model plant *Arabidopsis thaliana*, the gene *AtRKD4* (RWP-RK DOMAIN-CONTAINING 4) has been reported as a key gene for early induction of embryogenesis. This study aims to determine the optimal modification medium for the growth of *D. macrophyllum* orchids and to isolate and characterize the *RKD4* homologous gene in *D. macrophyllum* orchids, namely the *DmRKD4* gene. 16 weeks old *D. macrophyllum* orchids which were germinated in 3 treatment mediums, gave the result that the most optimal modified medium was NP+Banana Flesh+Banana Peel+Peptone with a percentage value of the sixth phase on the 14th day of 14.22%. Genomic DNA from a three-week-old protocorm was isolated and amplified using Polymerase Chain Reaction (PCR) with Degenerated-RKD4 (DegRKD4) primers. A 922 bp DNA fragment was amplified from the *D. macrophyllum* genome. Amino acid sequence analysis of the *DmRKD4* protein revealed 39 aa RWP-RK domains at positions 153-192 out of a total of 307 aa, and had a 94.65% identity similarity to [PREDICTED] 73E1-*UDP-glycosyltransferase* in *Dendrobium catenatum* and *Dendrobium lineale*. The gene 73E1-like *UDP-glycosyltransferase* is responsible for plant growth and development, especially in the homeostasis of hormones such as cytokinins.

Keywords: *AtRKD4*, Embryogenesis, In Vitro, Conservation, Medium