

INDUKSI EMBRIOGENESIS SOMATIK TANAMAN ANGGREK *Phalaenopsis* “Sogo Vivien” DENGAN ZAT PENGATUR TUMBUH DAN TRANSFORMASI GENETIK

INTISARI

Phalaenopsis “Sogo Vivien” merupakan salah satu anggrek hibrida hasil persilangan *Phalaenopsis* “Sogo Alice” X *Phalaenopsis* “Zuma’s Pixie” yang memenuhi kriteria sebagai tanaman hias dalam pot karena berukuran mini, memiliki bunga serta percabangan infloresensia yang banyak. Produksi massal dalam waktu yang cepat, serta menghasilkan anakan anggrek yang identik dengan induknya dibutuhkan untuk memenuhi permintaan pasar. Embriogenesis somatik merupakan teknik mikropropagasi *in vitro* yang dapat menghasilkan anakan yang seragam dalam jumlah besar. Induksi embriogenesis somatik dapat dilakukan dengan bioteknologi melalui perlakuan zat pengatur tumbuh (ZPT) dan transformasi genetik dengan penyisipan gen kunci pembentuk embrio pada tanaman.

Penelitian ini dibagi dalam dua tahap: 1) Induksi embriogenesis somatik pada eksplan daun *P. “Sogo Vivien”* secara *in vitro* dengan menggunakan ZPT Thidiazuron (TDZ) (0,5 dan 10 mg/l) yang dikombinasikan dengan *Naphtalene Acetic Acid* (NAA) 1 mg/l; 2) Induksi embriogenesis somatik melalui transformasi genetik penyisipan gen *AtRKD4* dalam konstruksi *35S::GAL4::AtRKD4::GR* dengan mediasi *Agrobacterium tumefaciens* pada protokorm anggrek umur 16 hari setelah penaburan (hsp). Transformasi genetik diikuti dengan sistem induksi glukokortikoid menggunakan Dexamethasone (DEX) pada konsentrasi 10, 20 atau 40 μ M selama 1 atau 2 minggu. Konfirmasi keberhasilan integrasi gen *AtRKD4* pada genom kandidat transforman dilakukan dengan amplifikasi gen *AtRKD4* pada genom anggrek melalui *direct PCR* menggunakan primer spesifik *AtRKD4*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa TDZ 10 mg/l yang dikombinasikan dengan NAA 1 mg/l mampu menginduksi pembentukan embrio somatik secara langsung pada eksplan daun anggrek *P. “Sogo Vivien” in vitro*. Efisiensi pembentukan embrio somatik yang diperoleh adalah 5,7% dengan jumlah embrio somatik yang terbentuk adalah 57 embrio dari 1 eksplan daun. Induksi embriogenesis somatik dengan transformasi genetik menggunakan gen *AtRKD4* dalam konstruksi *35S::GAL4::AtRKD4::GR* menghasilkan jumlah total tunas sebanyak 47 tunas dari 14 protokorm kandidat transforman. Protokorm kandidat transforman terbanyak diperoleh dari perlakuan induksi DEX 10 μ M selama 1 minggu (80%) sedangkan jumlah embrio somatik dan tunas terbanyak diperoleh dari perlakuan induksi DEX 40 μ M selama 2 minggu yang menghasilkan 13 tunas. Konfirmasi keberhasilan integrasi gen *AtRKD4* pada genom anggrek *P. “Sogo Vivien”* dibuktikan dengan hasil PCR menunjukkan semua protokorm kandidat transforman positif membawa transgen *AtRKD4* dengan ukuran pita DNA 268 bp. Efisiensi transfer gen *AtRKD4* pada anggrek *P. “Sogo Vivien”* sebesar 0.04%. Dari keseluruhan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa embrio somatik dapat diinduksi pada eksplan daun dan protokorm anggrek *P.*

“Sogo Vivien” dengan ZPT TDZ dan insersi gen *AtRKD4* dengan transformasi genetik melalui *Agrobacterium tumefaciens*.

Kata kunci : anggrek, embriogenesis somatik, zat pengatur tumbuh, transformasi genetik, *AtRKD4*

INDUCTION OF SOMATIC EMBRYOGENESIS IN *Phalaenopsis* “Sogo Vivien” ORCHID PLANT WITH PLANT GROWTH REGULATOR AND GENETIC TRANSFORMATION

ABSTRACT

Phalaenopsis “Sogo Vivien” is one of the *Phalaenopsis* orchid hybrids from crosses of *Phalaenopsis* “Sogo Alice” X *Phalaenopsis* “Zuma’s Pixie” which meet the criteria as ornamental potted plants because of its mini-sized, with many flowers and inflorescences. Mass propagation in a short time, and producing seedlings which are identical to the parental, are needed to meet the market demand. Somatic embryogenesis is one of *in vitro* micropropagation techniques which can be used to produce uniform seedlings in large numbers. Induction of somatic embryogenesis can be done through application of plant growth regulator and genetic transformation by inserting a key gene involves in embryo induction.

This research was divided into two stages: 1) Induction of somatic embryogenesis from *P.* “Sogo Vivien” *in vitro* leaf explants using Thidiazuron (0, 5 and 10) mg/l combined with Naphtalene Acetic Acid of 1 mg/l; 2) Induction of somatic embryogenesis through *Agrobacterium*-mediated genetic transformation, by insertion of *AtRKD4* gene in *35S::GAL4::AtRKD4::GR* construction into 16 days after sowing (das) orchid protocorms. The genetic transformation was followed by a glucocorticoid-inducible system with Dexamethasone (DEX) at gradual concentrations 10, 20 or 40 μ M for 1 or 2 weeks. Confirmation of the successful insertion and integration of *AtRKD* genes into the candidate transformants plant genome was conducted by direct PCR using *AtRKD4* specific primers.

The results showed that 10 mg/l of TDZ in combination with 1 mg/l of NAA was able to induce the formation of somatic embryo directly from *P.* “Sogo Vivien” *in vitro* leaf explants. The efficiency of somatic embryo formation is 5,7%, with 57 somatic embryos were formed from one leaf explant. Induction of somatic embryogenesis through genetic transformation using the *AtRKD4* gene in *35S::GAL4::AtRKD4::GR* construction generated 47 shoots from 14 transformant protocorm candidates. Transformant protocorm candidates were obtained mostly on 10 μ M DEX induction treatment for 1 week (80%), while somatic embryos and shoots number were obtained mostly in 40 μ M DEX induction treatment for 2 weeks (13 shoots). Confirmation of the successful insertion of *AtRKD* genes into the candidate of transformant plant genome that conducted by PCR showed all of the transformant protocorms positively contain 268 bp *AtRKD4* DNA fragment. The efficiency of *AtRKD4* transformation on *P.* “Sogo Vivien” orchid was 0.04%. Taken together, all data showed that somatic embryogenesis can be induced from leaf explants and protocorms of *P.* “Sogo Vivien” by using both TDZ and *AtRKD4* gene insertion using *Agrobacterium* mediated transformation.

Keywords : orchid, somatic embryogenesis, plant growth regulators, genetic transformation, *AtRKD4*