

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS

JUDUL: Kesan Hormon BAP dan NAA terhadap Pembentukan
JSP Orkid Pseudobium portia secara In vitro

IJAZAH: Sarjana Muda Sains Pertanian Dengan Kejuruan
Program Hortikultur Landskap

SAYA: NUR ADILAH BINTI ABD WAHAB SESI PENGAJIAN: 2007/2008
(HURUF BESAR)

Mengaku membenarkan tesis * (LPSM/Sarjana/Doktor Falsafah) ini disimpan di Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dengan syarat-syarat kegunaan seperti berikut:-

1. Tesis adalah hakmilik Universiti Malaysia Sabah.
2. Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dibenarkan membuat salinan untuk tujuan pengajian sahaja.
3. Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institusi pengajian tinggi.
4. Sila tandakan (/)

SULIT (Mengandungi maklumta yang berdarjah keselamatan atau kepentingan Malaysia seperti yang termaktub di AKTA RAHSIA RASMI 1972)

TERHAD (Mengandungi maklumat TERHAD yang telah ditentukan oleh organisasi/badan di mana Penyelidikan dijalankan)

TIDAK TERHAD

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

Disahkan Oleh
NORAZLYNNE MOHD. JONAN @ JACKLYNE
PUSAT KAWAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH
(TANDATANGAN PENYELIA)

Adilah
(TANDATANGAN PENULIS)

Alamat Tetap: No 117 Jln Bahlu 19/1
14man Aman, 81400
Senai Johor

(NAMA PENYELIA dan cop)

Tarikh: 4 Mei 2011

Tarikh: _____

Catatan: - * Potong yang tidak berkenaan.
** Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampirkan surat daripada pihak yang berkuasa/organisasi berkenaan dengan menyatakan sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT atau TERHAD.
Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana Secara penyelidikan atau disertasi bagi pengajian secara kerja kursus dan Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM)



**KESAN HORMON BAP DAN NAA TERHADAP
PEMBENTUKAN JSP ORKID *Dendrobium*
tortile secara *IN VITRO***

**NUR ADILAH BINTI ABD WAHAB
BR07110025**

**DISERTASI INI DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI SEBAHAGIAN
DARIPADA SYARAT MEMPEROLEHI IJAZAH SARJANA MUDA SAINS
PERTANIAN DENGAN KEPUJIAN**

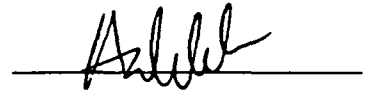
**PROGRAM HORTIKULTUR LANDSKAP
SEKOLAH PERTANIAN LESTARI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH
2011**



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGAKUAN

Saya mengakui karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang tiap-tiap satunya telah saya jelaskan sumbernya. Saya juga mengakui bahawa disertasi ini tidak pernah atau sedang dihantar untuk perolehi ijazah dari universiti ini atau mana universiti yang lain.



Nur Adilah Binti Abd Wahab
BR07110025
4 MEI 2011

DIPERAKUI OLEH

1. PUAN ROSMAH MURDAD
PENYELIA

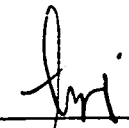


Tandatangan dan cop

2. PROF. MADYA DATIN DR. MARIAM ABD LATIF
PENYELIA BERSAMA

Tandatangan dan cop

3. CIK CHEE FONG TYNG
Pemeriksa



Tandatangan dan cop

4. PUAN DEVINA DAVID
Pemeriksa



Tandatangan dan cop

5. PROF MADYA DR. MAHMUD HJ. SUDIN
DEKAN SEKOLAH PERTANIAN LESTARI



Tandatangan dan cop

PENGHARGAAN

Bismillahirrahmannirrahim, segala pujian dan syukur ke hadrat Ilahi dengan izin dan kurniaNYA saya dapat menyiapkan laporan disertasi ini dengan penuh jayanya. Kejayaan ini amat bermakna kepada saya kerana banyak halangan, dugaan dan cabaran yang datang menimpa dalam menyiapkan kajian ini.

Jutaan terima kasih yang tidak terhingga kepada Puan Rosmah Murdad dan Profesor Madya Datin Dr. Mariam Abd Latif yang juga merupakan penyelia dan penyelia bersama yang menjadi penasihat saya sepanjang penyelidikan ini dijalankan. Sokongan, dorongan dan panduan serta idea-idea bernas yang diberikan amatlah dihargai dan tidak akan dilupakan buat selama-lamanya.

Sekalung budi juga diatas segala bantuan yang diberikan oleh rakan-rakan seperjuangan saya yang sentiasa berada disisi saya dan sedia memberi pertolongan apabila saya menghadapi masalah dan kesulitan dalam meneruskan kajian ini.

Akhir sekali, ucapan terima kasih yang istimewa kepada ibubapa saya yang tercinta, En. Abd Wahab Husin dan Puan Ramlah Rasidin yang banyak memberi semangat demi menyiapkan disertasi ini.

Sekian, terima kasih.

KANDUNGAN

	Muka surat
Perkara	
PENAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
<i>ABSTRACT</i>	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	viii
SENARAI RAJAH	ix
SENARAI SIMBOL, UNIT DAN SINGKATAN	x
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Pengenalan	1
1.2 Justifikasi	2
1.3 Objektif kajian	2
BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN	
2.1 Taburan Orkid Liar Di Malaysia dan Juga Borneo	3
2.2 Kepentingan Orkid kepada Malaysia	3
2.3 Ancaman dan Proses Pemuliharaan	4
2.4 Genus <i>Dendrobium</i>	5
2.5 Propagasi Orkid	6
2.5.1 Propagasi secara vegetatif	6
2.5.2 Propagasi secara <i>in vitro</i> (kultur tisu)	6
2.6 Keperluan Pertumbuhan Orkid	7
2.6.1 Cahaya	7
2.6.2 Suhu	8
2.6.3 Kelembapan udara	8
2.6.4 Pergerakan udara	9
2.6.5 Keadaan media	9
2.7 Kultur Tisu Orkid	9
2.8 Faktor Kejayaan Kultur Tisu	10
2.8.1 Komposisi media pengkulturan	10
2.8.2 Sumber karbon	10
2.8.3 Jenis eksplan yang digunakan	11
2.8.4 Kesan arang	11
2.8.5 Ekstrak tabii	12
2.8.6 Hormon	12
2.8.7 Kontaminasi	13
BAB 3 BAHAN DAN KAEDAH	
3.1 Bahan	14
3.1.1 Eksplan	14
3.1.2 Media	15
3.1.3 Hormon	15



3.2	Kaedah	15
3.2.1	Penyediaan larutan stok media	15
3.2.2	Penyediaan stok hormon	16
3.2.3	Penyediaan media ½ Murashige dan Skoog (1962)	17
3.2.4	Pengkulturan eksplan	17
3.2.5	Rekabentuk Eksperimen	18
3.2.6	Subkultur	18
3.2.7	Cerapan	18
3.2.8	Parameter	18
3.2.9	Analisis Data	19
BAB 4	KEPUTUSAN	
4.1	Perkembangan eksplan	20
4.2	Kesan hormon pengawalan pertumbuhan	25
4.3	Nekrosis	25
BAB 5	PERBINCANGAN	
5.1	Kesan penggunaan hormon pengawalan pertumbuhan	27
5.2	Kesan penggunaan hormon auksin	28
5.3	Kesan penggunaan hormone sitokinin	28
5.4	Pembentukan struktur seperti kalus	29
BAB 6	KESIMPULAN	30
RUJUKAN		31
LAMPIRAN		33

ABSTRAK

Kajian ini dilakukan untuk mengkaji kesan penggunaan hormon naphthalene acetic acid (NAA) dan benzylamino purine (BAP) terhadap pembentukan jasad seperti protokom (JSP) orkid *Dendrobium tortile*. Media asas yang digunakan adalah $\frac{1}{2}$ Murashige dan Skoog (MS) yang dicampurkan dengan hormon yang dimana kepekatan NAA dan BAP yang berlainan setiap satunya secara berasingan. Terdapat 12 rawatan termasuk kawalan yang dilakukan dan setiap satunya dibuat sebanyak tiga replikasi. Terdapat enam jenis kepekatan hormon NAA iaitu 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 dan 2.5 mg ml⁻¹ manakala enam jenis kepekatan hormon BAP iaitu 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 dan 2.5 mg ml⁻¹. Rekabentuk eksperimen yang digunakan adalah secara rawak lengkap (CRD) dengan tiga replikasi. Data dicerap setiap tujuh hari dan dianalisis dengan melihat kesan perbezaan jenis hormon dan perbezaan kepekatan hormon terhadap pembentukan dan perkembangan pada eksplan. Parameter-parameter yang dicerap adalah purata pembentukan JSP, peratus eksplan membentuk pucuk dan peratus eksplan yang mati oleh setiap eksplan. Keputusan menunjukkan bahawa media dengan tambahan 1.5 mg ml⁻¹ BAP telah menunjukkan peratus pembentukan JSP yang tinggi iaitu 50% dengan purata pembentukan pucuk sebanyak 33.3%. berbanding dengan rawatan media yang lain. Keputusan ini menunjukkan bahawa pembentukan JSP *Den. Tortile* telah berjaya dilakukan dengan menggunakan media tambahan 1.5 mg ml⁻¹ BAP.

The effect of BAP and NAA hormone to the formation of *Dendrobium tortile* orchid PLB *in vitro*

ABSTRACT

A study on the effect of benzylamino purine (BAP) and naphthalene acetic acid (NAA) hormone to the formation of *Dendrobium tortile* PLB orchid. Medium of ½ MS was used as basal medium with additional NAA and BAP hormone with different concentration. NAA concentration are 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 and 2.5 mg ml⁻¹ and BAP concentration are 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 dan 2.5 mg ml⁻¹. This experiment approach was completely randomized design with three replicates. Data were collected every seven days and analyzed using to see the of using different hormone and different level of concentration to the formation and development from the explants. The parameters observes were the min of PLB formation, percentage shoot formation and percentage of explants dead for each explants. The result showed that media with additional of 1.5 mg ml⁻¹ has high percentage of PLB formation 50% with min of shoot formation 33.3% compare to other media treatment. These result showed that formation of protocorm *Den. Tortile* were successfully produced by using basic media with addition of 1.5 mg ml⁻¹ BAP hormone.

SENARAI JADUAL

Jadual		Muka surat
3.1	Kepekatan hormon BAP dan NAA mengikut rawatan kajian	15
4.1	Kesan penambahan hormon pengawalaturan tumbuhan ke atas eksplan daun <i>Dendrobium tortile</i> selepas minggu ke-16 pengkulturan	26

SENARAI RAJAH

Rajah		Muka surat
2.1	<i>Dendrobium tortile</i> Lindley 1847	6
3.1	Pokok <i>Dendrobium Tortile</i>	14
4.1	Pembengkakkan dan pembentukan struktur seperti kalus berlaku pada media 1.5 mg ml ⁻¹ BAP	21
4.2	Pembengkakkan dan pembentukan struktur seperti kalus berlaku pada media 2.0 mg ml ⁻¹ BAP	22
4.3	Ekplan mengalami pembengkakkan dan pembentukan struktur seperti kalus pada media 1.5 mg ml ⁻¹ BAP	23
4.4	Pembentukan atau pemanjangan pucuk secara terus dari keratan bahagian ekplan pada media 1.5 mg ml ⁻¹ BAP	23
4.5	Pembentukan pucuk secara terus dari ekplan pada media 1.5 mg ml ⁻¹ BAP	24
4.6	Eksplan yang mengalami nekrosis pada rawatan Kawalan	25

SENARAI SIMBOL, UNIT DAN SINGKATAN

%	peratus
°C	darjah Celsius
2,4-D	<i>2,4-dichlorophenoxyacetic</i>
BA	<i>benzyladenine</i>
BAP	<i>benzylamino purine</i>
EU	<i>European Union</i>
g	gram
IAA	<i>indoleacetic acid</i>
IPA	<i>isopentenyl adenosine</i>
IUCN	<i>International Union for Conservation of Nature</i>
JSP	jasad seperti protokom
KC	Knudson C
kPa	kilo paskal
mg ml ⁻¹	milligram per mililiter
ml	milliliter
mm	millimeter
MOA	<i>Ministry of Agriculture</i>
MS	Murashige dan Skoog
NAA	<i>1-naphthaleneacetic acid</i>
v/v	<i>volume per volume / isipadu per isipadu</i>
VW	Vacin dan Went

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Pengenalan

Industri bunga-bunga merupakan salah satu industri yang berjaya di negara-negara seperti Belanda, Jerman Barat, Thailand dan Singapura. Dasar Pertanian Negara yang diisytiharkan pada tahun 1984 telah menentukan bahawa industri bunga-bunga Malaysia perlu ditingkatkan untuk memenuhi keperluan tempatan dan tujuan eksport. Antara bunga-bunga ini, tanaman orkid telah diberi keutamaan kerana potensi pasarannya (tempatan dan eksport) sangat baik. Nilai perusahaan orkid negara pada masa kini telah melebihi RM 10 juta dan nilai eksport dianggarkan melebihi RM 4 juta (MARDI, 2000).

Orkid berasal dari famili Orchidaceae yang merupakan tumbuhan kumpulan monokotiledon dan kumpulan berbunga yang paling besar dalam famili angiosperma. Setiap famili ini dibahagikan kepada satu kumpulan besar di panggil sebagai genus di mana setiap genus mengandungi satu atau lebih spesies tumbuhan berbunga (Fitch, 1981). Ini kerana, terdapat di antara 500–800 genus dengan 20,000–30,000 spesies (Chan *et al.*, 1994). Dalam famili ini terdapat 6000 genus dengan sekurang-kurangnya 25,000 spesies. Jumlah ini tidak termasuk hibrid yang semakin meningkat setiap masa (Chen *et al.*, 2000).

Orkid paling banyak terdapat di kawasan tropika (Arditti, 1967). Di Semenanjung Malaysia sahaja mempunyai 850 spesies orkid. Manakala, lebih 2,500 spesies orkid yang lain banyak terdapat di Sabah dan Sarawak yang kebanyakannya terdiri daripada orkid liar. Jumlah ini melebihi tiga per empat daripada 3,000 spesies orkid yang telah didaftarkan di seluruh kepulauan Borneo. Terdapat pelbagai spesies orkid liar di kawasan-kawasan pergunungan dan bukit-bukau. Sebanyak 1,200 spesies orkid liar terdapat di kawasan pergunungan Kinabalu (Lamb, 1991). Orkid liar biasanya lebih kecil daripada orkid hibrid yang ditanam secara komersial.



Antara genus yang termasuk dalam famili ini adalah *Dendrobium*. *Dendrobium* merupakan tumbuhan berbunga yang mempunyai pertumbuhan yang lambat (Rebecca *et al.*, 1990). Spesies ini merupakan spesies yang semakin hari makin berkurang bilangannya di habitat asal.

Dendrobium tidak sesuai dipropagasi secara vegetatif seperti tumbuhan lain (Rebecca *et al.*, 1990). Banyak kajian telah dilakukan untuk mencari kaedah pertumbuhan yang lebih baik untuk mempercepatkan pertumbuhannya selain memelihara spesies ini dari terancam. Kultur tisu telah banyak dijalankan ke atas orkid *Dendrobium* untuk mencari kaedah mikropropagasi yang efektif. Antaranya, kajian penentuan media nutrisi yang sesuai, penentuan jenis hormon dan kompleks tabii. Kajian turut dijalankan ke atas spesies lain seperti *Cymbidium* dan *Phalaenopsis* dan terbukti berkesan.

Seperti sedia maklum, permintaan terhadap orkid adalah tinggi. Oleh itu, kajian perlu dilakukan untuk menghasilkan tanaman ini dengan banyak sekali gus memelihara dan mengekalkan spesies-spesies yang hampir pupus. Bagi orkid yang mempunyai pertumbuhan yang lambat seperti *Dendrobium*, kaedah kultur tisu boleh dijadikan sebagai alternatif untuk mempercepatkan pertumbuhannya dan dapat mengelak dari kepupusan.

1.2 Justifikasi

Tujuan kajian ini adalah untuk mempropagasi orkid *Denrobium tortile* dengan menggunakan teknik tisu kultur. Kajian ini dilakukan kerana belum ada kajian khas ke atas orkid ini. *D.tortile* ini mempunyai permintaan yang tinggi, mempunyai potensi dan nilai komersial. Maka dengan menggunakan teknik tisu kultur ini adalah diharapkan dapat mempropagasi lebih banyak hibrid *D.tortile* secara tidak langsung dapat melindungi spesies ini dari pupus.

1.3 Objektif Kajian

Objektif kajian ini adalah untuk:

- Mengkaji kesan jenis dan kepekatan hormon terhadap pembentukan JSP dan perkembangan protokorm *D. totile*.

BAB 2

ULASAN PERPUSTAKAAN

2.1 Taburan Orkid Liar Di Malaysia dan Juga Borneo

Diseluruh dunia, bilangan spesies orkid adalah di antara 20,000 hingga 30,000 manakala di Malaysia pula bilangannya antara 3,000 hingga 4,000. Ini membawa maksud bahawa sebanyak 70% spesies orkid terdapat di Malaysia dan di Borneo sahaja sebanyak 10% sahaja dari bilangan orkid di seluruh dunia (Lamb, 1991) iaitu di antara 2,500 hingga 3,000 spesies orkid liar dengan mempunyai 148 genus. Manakala negeri Sabah sahaja terdapat 1,500 hingga 2,000 spesies dengan 138 genera.

Menurut Lamb (1991) lagi, di kawasan Gunung Kinabalu sahaja terdapat sebanyak 1,200 spesies orkid dengan mempunyai 107 genus. Sekurang-kurangnya 40% spesies orkid di Kepulauan Borneo adalah endemik.

Turut dilaporkan juga bahawa sebanyak 460 spesies dengan 27 genus orkid pada tahun 1990 telah dipelihara di pusat pengumpulan koleksi orkid liar. *Tenom Orchid Centre* (Pusat Orkid Tenom) yang diusahakan oleh Taman Pertanian Sabah yang terletak di Tenom merupakan pusat pengumpulan koleksi terbesar orkid liar Borneo di Sabah. Selain itu, terdapat juga pusat pengumpulan koleksi orkid liar lain iaitu Taman Sabah (*Sabah Park*) yang terletak di Poring dan Pusat Penyelidikan Hutan (*Forest Research Centre*) yang terletak di Sepilok, Sandakan, Sabah (Lamb, 1990). *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) juga menyenaraikan lebih 200 spesies yang dikategorikan sebagai status jarang, merbahaya dan juga terancam (Lamb, 1991).

2.2 Kepentingan Orkid kepada Malaysia

Di Malaysia, industri orkid adalah industri bunga keratan yang pertama telah di bangunkan. Usaha ini telah turut sama dipergiatkan dengan penubuhan Persatuan Orkid Sabah setelah tertubuhnya Persatuan Orkid Malaysia pada tahun 1928 oleh John Laycock. Ia bertujuan



untuk membangun serta memperkembangkan industri ini (Ainon, 1986). Dapat dilihat dengan peningkatan eksport bunga orkid pada setiap tahun. Nilai eksport bunga orkid yang meningkat secara berterusan bermula pada tahun 1988 dengan nilainya RM 1 juta kepada RM 6.3 juta pada tahun 1992 (Ainon, 1986). Ini menunjukkan industri orkid mempunyai pasaran yang luas dalam industri pengeksportan bunga keratan dan berpotensi mempengaruhi kadar tukaran mata wang asing melalui pendapatan Negara (MAO, 2010).

Pasaran untuk bunga keratan sedang meningkat di antara 6 hingga 9% setahun dan penggunaannya dijangka mencapai USD \$35 billion. Tren eksport orkid Malaysia menampakkan peningkatan yang memberangsangkan. Bagaimanapun krisis ekonomi yang berlaku pada tahun 1997 turut memberi kesan kepada eksport orkid di mana ianya berkurangan hampir 29% berbanding dengan tahun 1996. Akan tetapi, prestasi untuk tahun-tahun berikutnya kembali pulih dan meningkat kepada RM11,360,387.00 tahun 2001 (MAO, 2010).

Pengimportan orkid dari negara-negara bukan *European Union* (EU) telah meningkat 72% dalam jangka masa 1988 hingga 1993 iaitu dari 60 juta keratan kepada 103 juta keratan. Pengeluaran tanaman orkid pada masa ini tertumpu kepada empat negeri di Semenanjung iaitu di Johor, Perak, Selangor dan Pahang. Dianggarkan sebanyak 774 hektar ditanam dengan pelbagai hibrid orkid komersial. Jumlah pengeluaran adalah sebanyak 18,960,099 keratan setahun dan daripada jumlah ini 48% adalah dari Johor, 20.4% dari Perak dan 15% daripada Selangor (MAO, 2010).

Kos pengeluaran orkid tertumpu kepada bahan tanaman (50%). Kebanyakan penanam orkid mendapat bahan tanaman mereka melalui pembelian anak benih dari makmal tisu kultur ini bertujuan untuk memastikan bekalan bahan tanaman adalah seragam dari segi saiz, bentuk, warna dan kuantiti. Anggaran 50% bahan tisu kultur diimport dari Thailand dan selebihnya dari Singapura (MAO, 2010).

2.3 Ancaman dan Proses Pemuliharaan

Disebabkan oleh permintaan yang tinggi serta nilai pasarannya yang semakin meningkat, pungutan orkid secara haram terutamanya spesies yang sukar ditemui telah berlaku serta semakin berleluasa. Ini menyebabkan peratusan kepupusan orkid jenis liar semakin meningkat. Hutan yang telah diwartakan sebagai hutan simpan kekal telah mengalami kerosakan akibat pembakaran bebas, sebanyak 20% hutan di Sabah telah musnah akibat pembakaran selepas kemarau pada tahun 1983 di mana 80% kebakaran yang telah terjadi

adalah di hutan simpan (Lamb, 1991). Malahan pembersihan serta pembalakan secara haram juga turut menyebabkan bilangan orkid liar semakin meningkat. Ini kerana orkid liar yang terdapat di Borneo adalah epifit yang mana kemusnahan hutan sekaligus menyebabkan kemusnahan habitatnya.

Untuk membanteras kerja-kerja pungutan, pembalakan serta pembakaran secara haram di hutan-hutan simpan, kerajaan telah menyediakan pelan tindakan terhadap orang perseorangan mahupun berkumpulan jika melakukan kesalahan jika melakukan kesalahan tersebut. Sabah dan Sarawak serta lebih 50% setiap negeri telah meletakkan hutan di bawah Estet Hutan Kekal (*Permenant Forest Estate*) di mana ia telah dianggap dapat mengekalkan habitat yang berterusan kepada majoriti spesies orkid di Malaysia.

Di bawah Ordinan Penjagaan Hidupan Liar (*Wildlife Protection Ordinance*) 1990, tumbuhan orkid telah diletakkan di bawah perlindungan dalam beberapa kategori iaitu pupus, terancam, jarang dan tidak mencukupi. Di mana orkid yang tidak terlalu merbahaya di letakkan di bawah kategori perlindungan sahaja adalah dilarang sama sekali daripada di eksport. Di antara tumbuhan yang diletakkan di bawah perlindungan termasuklah spesies *Phalaeonopsis*, kesemua spesies *Paphiopedilum*, spesies *Arachnis*, spesies *Dossinia marmorata*, spesies *Haemaria discolor*, spesies *Calanthe hispida* dan juga *Calanthe veratrifolia*. Walau bagaimanapun, keluasan hutan simpan terutamanya di Sabah dan Sarawak hanya merangkumi 3 hingga 5% sahaja sekaligus ia tidan dapat menyediakan habitat kepada orkid jenis endemisma yang sangat tinggi. Malahan, dengan tertubuhnya hutan simpan dan juga pusat pemuliharaan orkid secara *ex situ* ianya akan mengambil masa yang amat lama untuk menjalankan proses pemuliharaan serta melibatkan kos yang amat tinggi (Abang dan Gombek, 1990).

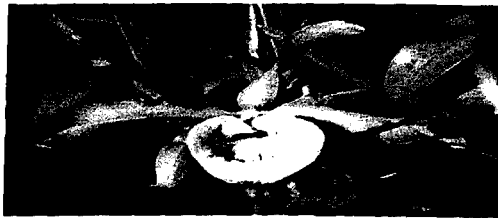
2.4 Genus *Dendrobium*

Genus *Dendrobium* adalah antara genus orkid yang terbesar dan kini dikatakan mempunyai 1,200 spesies oleh Olof Swartz pada tahun 1799. Habitat genus ini banyak di Asia Selatan, Asia Timur dan Asia Tenggara termasuklah di Filipina, Borneo, Australia, New Guinea, Kepulauan Solomon dan New Zealand.

Orkid *Dendrobium* adalah tumbuhan jenis epifit. Tetapi terdapat sebilangan kecil yang tumbuh secara litofit. Kebanyakan spesies ini tumbuh di pelbagai kawasan dari tanah tinggi Himalaya hingga ke kawasan tanah rendah dan di kawasan kering seperti di gurun Australia. *Dendrobium* mempunyai pertumbuhan secara simpodial dan mempunyai panjang

pseudobulb berbeza di dalam beberapa sentimeter panjang hingga ke dua meter panjang seperti *Dendrobium cuthbertsonii* (Lamb, 1991).

Orkid *Dendrobium* tumbuh dengan pantas ketika musim panas dan sangat lambat ketika musim sejuk (Rajah 2.1). Bahagian pucuk hingga batang akan menjadi dorman dan bergantung kepada pseudobulb sehingga musim bunga. Spesies *Dendrobium* selalunya akan membiak dengan cara aseksual dengan menggunakan keikis yang terhasil melalui batang. Ia juga boleh dibiakkan melalui percambahan biji benih.



Rajah 2.1 *Dendrobium tortile* Lindley 1847
Sumber : *The Dendrobiums* H. P. Wood, 2006

2.5 Propagasi Orkid

2.5.1 Propagasi secara vegetatif

Terdapat dua jenis cara propagasi tumbuhan iaitu secara seksual dan aseksual. Cara pembiakan seksual adalah persenyawaan telur (ovul) dengan debunga yang akan menghasilkan biji benih. Propagasi secara seksual adalah melibatkan persenyawaan dua induk untuk menghasilkan individu ketiga. pembiakan aseksual pula adalah menggunakan bahagian atau sebahagian tisu tumbuhan sahaja dari tumbuhan induk. Tumbuhan baru dipanggil sebagai klon tumbuhan induk. Proses ini juga dikenali sebagai pengklonan (Hussey, 1980).

2.5.2 Propagasi secara *in vitro* (kultur tisu)

Propagasi secara *in vitro* juga lebih dikenali sebagai teknik kultur tisu. Ia merupakan teknik mikropropagasi iaitu salah satu cara dalam propagasi tumbuhan. Mikropropagasi adalah proses penggandaan tumbuhan dari bahagian-bahagian tumbuhan selain biji benih secara *in vitro*. Dengan kata lainnya, ia adalah pembiakan vegetatif. Kultur tisu merupakan suatu



kaedah yang telah digunakan dengan meluas dalam kajian sains tumbuhan. Dalam teknik ini, organ seperti hujung pucuk dan akar, tisu daun atau tisu batang akan dikulturkan dalam media bernutrisi yang steril dengan kadar pencahayaan dan suhu yang terkawal (Hussey, 1980).

Orkid merupakan tumbuhan pertama yang telah dipropagasikan melalui teknik kultur tisu. Kini, kebanyakan syarikat-syarikat komersial mempunyai makmal sendiri untuk kegunaan ini. Beberapa tumbuhan dedaun telah banyak dihasilkan melalui teknik kultur tisu ini. Terdapat sesetengah tumbuhan yang mengeluarkan hasil yang lebih baik berbanding menggunakan kaedah propagasi secara konvensional (Hussey, 1980).

2.6 Keperluan Pertumbuhan Orkid

Orkid boleh tumbuh dengan baik dalam keadaan semulajadi di bawah lindungan pokok-pokok besar. Bagi penggemar orkid, mereka akan menyediakan suatu tempat khas seperti rumah orkid untuk perlindungan orkid dengan menyediakan semua keperluan tersebut

Bagi kultur, orkid dapat tumbuh dengan baik sekiranya terdapat keperluan yang secukupnya. Keperluan setiap orkid adalah berbeza bergantung kepada jenis orkid tersebut. Untuk mencapai pertumbuhan yang baik seperti habitat asal, perlulah menyesuaikan keadaan persekitaran seperti mengawal pencahayaan, kelembapan dan lain-lain lagi. Terdapat lima perkara asas yang diperlukan dalam keperluan orkid iaitu cahaya, suhu, kelembapan udara, pergerakan udara dan keadaan media (Dillon, 1963).

2.6.1 Cahaya

Orkid memerlukan pencahayaan yang secukupnya tanpa mencederakan tumbuhan ini. Cahaya ini adalah penting dalam pertumbuhan orkid. Pendedahan orkid kepada cahaya yang berlebihan boleh mencederakan orkid. Contohnya, orkid akan mengalami '*bleaching out*' pada bahagian yang mengandungi klorofil seperti daun dan batang. Keadaan ini merosakkan struktur dan mengganggu fungsi tumbuhan (Dillon, 1963).

Tetapi sekiranya orkid mendapat pencahayaan yang tidak cukup, pertumbuhan orkid akan terganggu seperti pertumbuhan yang lambat, terbantut ataupun tidak bertumbuh langsung. Pencahayaan yang mencukupi akan menghasilkan orkid yang mempunyai pertumbuhan yang cukup baik, segar, bahagian tumbuhan berwarna hijau dan berkilat pada permukaan tumbuhan (Dillon, 1963).

Orkid adalah tumbuhan yang suka kepada cahaya. Pada asasnya, sekurang-kurangnya 200 hingga 300 *footcandles* diperlukan untuk mendapatkan cahaya yang mencukupi berbanding tumbuhan lain. Namun begitu, kebanyakan orkid memerlukan antara 600 hingga 3000 *footcandles* untuk pencahayaan seperti orkid jenis *Vanda* (Dillon, 1963).

2.6.2 Suhu

Orkid memerlukan suhu pada waktu siang antara 13 dan 32°C. Suhu waktu malam antara 10 dan 21 °C. suhu ini bergantung kepada jenis orkid, peringkat pertumbuhan dan musim. Orkid dikelaskan kepada tiga kategori berdasarkan keperluan suhu iaitu orkid bersuhu sejuk, pertengahan dan panas (Dillon, 1963).

Bagi orkid bersuhu sejuk, ia tumbuh dengan baik pada musim panas dengan suhu waktu siang antara 15 hingga 21°C dan suhu waktu malam pada suhu 12°C. pada musim sejuk, suhu waktu siang adalah antara 12 hingga 15°C dan suhu pada waktu malam adalah 10°C. Contoh orkid adalah *Cymbidium*, *Odontoglossum*, *Oncidium* dan *Cypripedium* (Dillon, 1963).

Bagi orkid kategori pertengahan, pertumbuhan yang baik adalah waktu siang dengan suhu antara 18 hingga 24°C dan suhu pada waktu malam antara 15°C hingga 18°C pada musim panas. Pada musim sejuk, suhu ideal pada waktu siang adalah antara 15 hingga 21°C dan suhu pada waktu malam adalah 13 hingga 16°C (Dillon, 1963).

Bagi orkid seperti *Vanda*, *Phalaenopsis* dan sesetengah *Dendrobium*, ia memerlukan suhu waktu siang sekitar 21 hingga 29°C dan waktu malam pada suhu 18 hingga 21°C pada kedua-dua musim panas dan sejuk (Dillon, 1963).

2.6.3 Kelembapan udara

Orkid memerlukan kelembapan udara antara 40% hingga 85% bergantung kepada suhu, keadaan pencahayaan dan peringkat pertumbuhan. Kelembapan yang paling baik adalah sebanyak 50%. Kelembapan akan meningkat dengan peningkatan suhu, cahaya berkurang pada waktu malam. Pada kawasan Tropika kelembapan pada waktu malam adalah tinggi. Pada waktu siang juga, kelembapan adalah tinggi berbanding dengan kawasan Temperat. Bagi kawasan yang mempunyai kelembapan yang tidak teratur, ini merupakan satu masalah yang perlu dihadapi oleh penggemar orkid untuk menyesuaikan persekitaran dengan keperluan taman ini (Dillon, 1963).

2.6.4 Pergerakan udara

Pergerakan udara adalah berkaitan dengan suhu, kelembapan dan pencahayaan. Pergerakan udara yang baik akan menjadikan orkid dalam keadaan sejuk walaupun terdedah dengan sinaran terus dari matahari. Pergerakan udara yang baik akan menyediakan bekalan karbon dioksida yang akan digunakan oleh tumbuhan untuk menghasilkan gula dalam proses fotosintesis. Selain itu, pergerakan udara menghalang takungan air pada orkid dan mengurangkan pertumbuhan fungi dan bakteria. Udara juga tidak boleh terlalu panas atau terlalu sejuk kerana ini akan melukakan orkid. Pergerakan udara hendaklah sentiasa berterusan dan bukan sekali sekala untuk mendapatkan hasil yang baik (Dillon, 1963).

2.6.5 Keadaan media

Orkid memerlukan keadaan media yang dapat membekalkan bekalan air dan nutrisi oleh orkid. Media ini hendaklah tidak merosakkan akar. Secara semulajadi, orkid tumbuh pada bahagian pokok, batu dan bahan-bahan yang boleh dipanjat. Terdapat juga orkid yang tumbuh pada bahagian permukaan tanah iaitu pada humus tanah. Orkid menyerap air dan nutrisi dalam tanah melalui sistem pengakaran. Setiap jenis orkid memerlukan keadaan media yang berbeza (Dillon, 1963).

2.7 Kultur Tisu Orkid

Mikropropagasi orkid merupakan suatu proses menggandakan tumbuhan secara *in vitro*. Morel (1964) membuktikan bahawa bahagian pucuk tunggal *Cymbidium* yang diasingkan dan dikultur dalam media nutrisi dapat menghasilkan beratus-ratus protokom dalam masa beberapa bulan sahaja berkembang kepada plantlet, teknik tisu kultur kemudiannya telah diaplikasikan dengan jayanya kepada banyak spesies orkid liar dan hibrid (Murashige, 1974; Arditti, 1977; Rao, 1977).

Spesies orkid semakin lama semakin berkurang kerana aktiviti pembukaan hutan secara berleluasa untuk tujuan pembangunan. Oleh itu, perlulah dilakukan usaha pemeliharaan dan pemuliharaan terhadap spesies orkid untuk mengelakkan kepupusan. Sekiranya berlaku kepupusan, generasi yang seterusnya tak akan mengenali spesies orkid yang menarik itu. Dengan melakukan kultur tisu, orkid-orkid ini akan dapat dikumpulkan dan sekali gus dapat memelihara spesies yang terlibat. Dalam bidang bioteknologi, teknik ini digunakan untuk meningkatkan hasil dan kualiti tanaman. Pada mulanya, teknik kultur tisu ini hanya untuk menghasilkan tumbuhan yang bebas daripada penyakit. Walau

bagaimanapun, teknik ini terbukti dapat digunakan untuk propagasi cepat dan pengklonan (Arditti dan Ernst, 1993).

2.8 Faktor Kejayaan Kultur Tisu

Beberapa aspek yang dapat menentukan kejayaan dalam kultur tisru orkid adalah komposisi dan keadaan media pengkulturan, sumber karbon, jenis eksplan yang digunakan, hormon pengawalatur tumbuhan dan ekstrak tabii (Abdul Karim dan Hairani, 1989).

2.8.1 Komposisi media pengkulturan

Keadaan media adalah sangat penting untuk menentukan kejayaan pengkulturan selain membantu dalam pembentukan jasad seperti protokom (JSP), pucuk, akar, daun dan plantlet. Antara media yang selalu digunakan dalam kultur tisru adalah media Vacin dan Went (VW), Knudson C (KC) dan Murashige dan Skoog (MS). Dalam kajian-kajian terdahulu, media pepejal digunakan secara meluas untuk kultur embrio, pembezaan tisru dan organogenesis. Namun kajian-kajian yang telah dibuat selepas itu mendapat medium cecair adalah lebih berkesan untuk poliferasi, lebih-lebih lagi untuk protokom dan kalus (Rao, 1977).

Daripada kajian yang lepas, tisru kalus daripada *Aranda* mengalami poliferasi lebih baik dalam media MS, manakala media VW dan KC didapati boleh memberikan hasil yang baik untuk pembezaan jasad seperti protokom (JSP). Keadaan media adalah penting untuk menentukan kejayaan pengkulturan. Kadar poliferasi didapati lebih berkesan dalam media cecair jika dibandingkan dengan media pepejal (Abdul Karim dan Hairani, 1989).

2.8.2 Sumber karbon

Sukrosa, glukosa, dan fruktosa adalah diperlukan sebagai sumber karbon di mana ia menggalakkan perkembangan sel tumbuhan dalam kultur. Sukrosa adalah sumber karbon yang selalu digunakan dalam kajian kultur tisru dengan kepekatan antara 58.43 mmol ke 84.64 mmol. Pada amnya, sukrosa berfungsi dalam mempercepatkan pertumbuhan pucuk pada kultur tetapi ketiadaan sukrosa pada *Phalaenopsis*, ia meningkatkan kehijauannya (Intuwong dan Sagawa, 1975). Sukrosa juga meningkatkan poliferasi dan pembentukan pucuk pada *Aranda* dan *Renanthera* (Abdul Karim dan Hairani, 1989).

Sukrosa ditambahkan ke dalam medium kerana sukrosa merupakan karbohidrat yang memberi tenaga dalam meningkatkan perkembangan protokom (Kunisaki *et al.*, 1972). Ia

dapat menggalakkan pertumbuhan yang seimbang sama ada ia di autoklaf atau secara turasan steril tetapi kesannya bergantung kepada kepekatan yang digunakan. Glukosa dan fruktosa dilaporkan memberkan kesan poliferasi kalus dan juga jasad protokom (Tokuhara *et al.*, 2003). Fruktosa pada kepekatan rendah didapati mampu membentuk jasad protokom daripada kalus bagi spesies orkid *Aranda* (Chiac *et al.*, 1988).

2.8.3 Jenis eksplan yang digunakan

Antara eksplan yang selalu digunakan adalah hujung pucuk. Banyak penyelidik menggunakan eksplan hujung pucuk dalam kebanyakan spesies yang dikulturkan. Selain itu, *tisu daun juga merupakan salah satu eksplan yang digunakan. Dalam tahun 1965* pembantuan JSP dari *tisu daun* telah ditemui oleh Wimber pada *tisu daun Cymbidium* (Abdul Karim dan Hairani, 1989).

2.8.4 Kesan arang

Terdapat beberapa kesulitan dalam perkembangan kaedah kultur *tisu* bagi spesies *Phalaenopsis*. Masalah utama yang dihadapi adalah tahap fenolik yang tinggi yang dihasilkan oleh *tisu* tumbuhan tersebut semasa *in vitro* (Arditti dan Ernst, 1993). Fenolik ini dirembeskan daripada *tisu* yang rosak dan akan menjadi toksin kepada media kultur (Park *et al.*, 2000). Ia akan diserap dalam nutrisi, dan menunjukkan sifat fitotoksin. Produk buangan yang dilepaskan oleh anak benih yang menghalang perkembangan dapat dikurangkan dengan daya penyerapan arang teraktif (Radzan, 1993).

Dalam kultur *Phalaenopsis*, arang dikatakan dapat menyerap kompaun fenolik yang dirembeskan daripada akar. Akar juga dapat memperbaiki komponen media pengkulturan (butcher dan Marlow, 1989). Selain itu, arang teraktif didapati menyerap etelina yang telah menghalang perkembangan dan perbezaan pada tumbuhan orkid (Arditti dan Ernst, 1993).

Namun arang teraktif harus diberi perhatian kerana ia juga berupaya untuk menyerap hormon dan vitamin yang terdapat di dalam media. Dan ini juga akan mengakibatkan terdapat halangan untuk tumbuhan daripada membesar dan berkembang (Arditti dan Ernst, 1993).

2.8.5 Ekstrak tabii

Penggunaan komponen kompleks tabii telah diketahui dan dapat mempengaruhi produktiviti terhadap keputusan kajian tisu kultur (George dan Sherrington, 1984). Media pengkulturan biasanya disediakan dengan pelbagai jenis ekstrak kompleks tabii dalam pengkulturan biji benih dan tisu orkid tetapi kandungan semula jadinya tidak diketahui dengan tepat. Penambahan ekstrak atau kompleks tabii seperti air kelapa muda, ekstrak pisang, tomato, yis dan ekstrak ubi kentang memberi kesan yang jelas terhadap kultur.

Kesan penambahan kompleks ini berbeza-beza bergantung kepada spesies dan peringkat pengkulturan yang dilakukan. Kesan penambahan air kelapa didapati memberi percambahan dan perkembangan yang baik pada tisu meristem *Cattleya* dan *Dendrobium*. Kehadiran pepton dan emulsi ikan penting untuk percambahan biji benih *Vanda* dan *Phalaenopsis* (Abdul Karim dan Hairani, 1989). Pengubahsuaian terhadap media pengkulturan diperlukan kerana terdapat beberapa komponen tidak tersedia dalam media asal dan penggunaannya perlu diperhatikan dengan serius (Arditti, 1977).

2.8.6 Hormon

Sitokinin dan auksin merupakan hormon yang diperlukan oleh tumbuhan dan penting dalam kultur tisu. Sebahagiannya merupakan hormon seperti indoleacetic acid (IAA) dan ZEatin. 2,4-dichlorophenoxyacetic (2,4-D) dan benzyladenine (BA) merupakan pengawalatur tumbuhan. Auksin dan sesetengah sitokinin diperlukan untuk menggalakkan pembahagian sel dan pembentukan kalus (Biondi dan Thorpe, 1981). Sitokinin terhasil daripada adenina. Sebatian yang selalu digunakan adalah kinetin, BA, isopentenyl adenosine (IPA) dan zeatin (Biondi dan Thorpe, 1981).

Penggunaan hormon digunakan untuk menggalakkan percambahan biji benih dan pertumbuhan anak pokok (Arditti, 1967). Kepekatan pengawalatur tumbuhan adalah kritikal di dalam media kultur untuk mengawal pertumbuhan dan morfogenesis. Pada amnya, sekiranya kepekatan auksin adalah tinggi dan kepekatan sitokinin adalah rendah, ini akan menggalakkan pembentukan proliferasi pada sel dengan pembentukan kalus. Selalunya, hormone 2,4-D digunakan untuk merangsang pembentukan kalus. Apabila kepekatan auksin adalah rendah dan kepekatan sitokinin tinggi, ini akan menggalakkan morfogenesis pada bahagian pucuk. Penggunaan auksin ataupun sitokinin dengan kepekatan yang sangat rendah adalah penting untuk pembentukan akar primer (Biondi dan Thorpe, 1981).

RUJUKAN

- Abang, Hj., Gombek, F., 1990. Species conservation in Sarawak. Dlm; *Proceedings International Conference on Forest Biology and Conservation in Borneo*.
- Abd Karim A. G., Hairani H., 1989. *Perambatan Orkid Melalui Kultur Tisu*. Universiti Kebangsaan Malaysia, Bangi.
- Aditti, J., Harrison, C. R., 1978. *Physiological Changes During The Germination of Cattleya aurantica (orchidaceae)*. Botanical Gaz. 139:180-189
- Arditti, J., 1967. Factor Effecting The Germination Of Orchid Seeds. The Botanical Review 33(1): 1-30
- Arditti, J., 1977. *Orchid Biology ; Review and Perspective I*. Cornell University Press, Ithaca
- Arditti, J., 1982. *Seed Germination and Seedling Culture*. Dlm Arditti. J. (edit). *Orchid Biologi*. Review II: 245-278. Ithaca. Cornell University Press.
- Arditti, J., 1993. *Micropropagation of Orchids*. John Wiley and Sons, Inc.
- Arditti, J., Goh, C.J., 1981. *Tissue culture Orchids*. Australia, 64-67
- Bechtel, H., Cribb, P., Launert, E., 1992. *The Manual of Cultivated Orchid Species*, 3rd Edition, 469-470
- Biondi, S., Thorpe, T. A., 1981. *Plant Tissue Culture: Method and Application in Agriculture*.
- C. L. Chan *et al.*, 1994. *Introduction and Selection of Orchid*. Orchid Of Borneo Vol. 1 The Sabah Society.
- Chan, C., Lamb, A., Shim, P. S., & Word, J.J., 1994. *Orchids of Borneo: Introduction and A Selection of Species*, Vol.1. Royal Botanic Garden Kew. England. 243-249
- Chang, C., Chang, W. C., 1997. *Plant regeneration from callus of Cymbidium ensifolium var. misericors*. Institute of Botany, Academia Sinica. Republic of China.
- Chen, Y. C., Chang, W. C., 2002. *A reliable protocol for plant regeneration from culture of Phalaenopsis. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*.
- Collins, H. A., Edwards, S. 1998. *Plant Cell Culture*. Bioscientific Publisher Limited. Springer.
- David P. Banks, 1999. *Tropical Orchids of Malaysia and Singapore*. Periplus Editions (HK) Ltd.
- Ernst, R., 1974. *The Use Of Activated Charcoal in Asymbiotic Seedling Culture of Paphiopedilum*. *American Orchid Society Bulletin*, 43(1): 35-39
- Fitch, N., 1981. *Orchid: A selection from famous orchid*. Wordworth Editions. London
- Intuwong, O., Segawa, Y., 1975. *Clonal propagation of Dendrobium Golden Wave and other nobile type*. *American Orchid Society Bulletin*.
- Knudson, L., 1946. *A new Nutrient Solution for germination of orchid seed*. *American Orchid Society Bulletin*. 15: 214-217.
- MARDI, 1987. *Panduan Menanam Orkid*. Institut Penyelidikan dan Kemajuan Pertanian Malaysia. Kuala Lumpur.
- MARDI, 1991. *Penanaman Orkid*. Institut Penyelidikan dan Kemajuan Pertanian Malaysia. Kuala Lumpur.
- MARDI, 2001. *Orchids. Living jewels of Malaysia*. Malaysian Agricultural Research and Development Institute, Kuala Lumpur, 12-25
- MOA, 2010. Pusat Pembangunan Perniagaan dan Permakanan, Potensi Perniagaan Orkid, Kementerian Pertanian dan Industri Asas Tani, Kuala Lumpur.
- Morel, G. M., 1960. *Proceeding virus free Cymbidium*. *American Orchid Society Bulletin*. 29,495.
- Morel, G. M., 1974. *Clonal Multiplication of Orchids*. In; Withner, C. L. (ed) *The Orchids; Scientific Studies*. John Willey & Sons. Inc, 169-222

- Philip Cribb., W. Arthur Whistler, 1996. *Orchids of Samoa*. Whitstable Litho Printers Ltd.
- Radzan, M. K., 1993. *An Introduction to Plant Tissue Culture*. Intercept Limited, England.
- Rao, A, N., 1977. *Tissue Culture in orchid industry*. Dlm; Reinert and Bajaj (pnyg)
- Rebecca, Tyson., Northen., 1990. *Home Orchid Growing*, 4th Edition Revised Edition. Prentice Hall Press. New York. 9.305-313
- Roy, J., Banerjee, N., 2002. *Rhizome and shoot development during in vitro propagation of Geodorum densiflorum (Lam.) Schltr.* Scientia Horticulturae 94, 181-192.
- T. W. Yam *et al.*, 2010. *Conservation of The Native Orchids Through Seedling Culture and Reintroduction*. The New York Botanical Garden.
- Withner, C. L. 1974. *The Orchids : Scientific Studies*. John Wiley & Sons. London. 184-205.