

KESAN PENGAWAL ATUR PERTUMBUHAN TERHADAP PERKEMBANGAN PUCUK *Labisia pumila* var. *alata*

NUR HUSNA BINTI ZAKARIA

DISERTASI IN DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI SEBAHAGIAN DARIPADA SYARAT  
MEMPEROLEHI IJAZAH SARJANA MUDA SAINS DENGAN KEPUJIAN

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PROGRAM BIOTEKNOLOGI

FAKULTI SAINS DAN SUMBER ALAM

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

2014



**UMS**  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH



## UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

## BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS

JUDUL: Kesan Pengaruh Atur Pertumbuhan terhadap Perkembangan  
Padi Labu Pumila var. Afat 9

IJAZAH: Sarjana Muda Sains (Kepujian)

SAYA: NUR HYZNA BINTI ZAKARIA SESI PENGAJIAN: 2013/2014  
(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 hak milik 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 maklumat 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

*Rozita*  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

*NURULAIN BINTI ISMAIL*

LIBRARIAN

*Anelia*  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH  
(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

*(TANDATANGAN PENULIS)*

Alamat tetap: 48, KG. TITIAN BARU,  
BKT. PAYONG,  
21400 MARANG,  
TERENGGANU

CIK MARTINIE MARBAWI

NAMA PENYELIDA

Tarikh: 18/6/2014

Tarikh: 20/6/2014

Catatan :-

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

PERPUSTAKAAN UMS



\* 1000358152 \*



UMS  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

## **PENGAKUAN**

Saya akui karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang setiap satunya telah dijelaskan sumbernya.



---

**NUR HUSNA BINTI ZAKARIA**

**(BS11110479)**

**26 JUN 2014**



**DIPERAKUKAN OLEH**

**1. PENYELIA  
(CIK HARTINIE MARBAWI)**

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Hartinie Marbawi". The signature is written over two lines and is crossed out with a single horizontal line.

## **PENGHARGAAN**

Bismillahirrahmanirrahim, syukur kehadrat Illahi ,di atas limpahan rahmat dan pertolonganNya, saya dapat menyiapkan tesis ini. Di sini saya ingin menyatakan rasa syukur yang tidak terhingga kerana akhirnya saya diberi peluang untuk menyelesaikan salah satu tugas saya sebagai hamba Allah dan penuntut ilmu.

Saya juga ingin menyatakan rasa berterima kasih dan terhutang budi kepada semua insan yang telah memberi dorongan ,kritikan, bantuan dan doa baik yang dekat ataupun jauh di mata sepanjang perjuangan ini. Terima kasih yang tidak terhingga kepada penyelia saya, Miss Hartinie kerana telah membantu saya dalam meneruskan perkembangan kerja,menyumbangkan idea, membetulkan kesilapan dan memberi dorongan semangat yang sangat jitu kepada saya. Semoga Miss Hartinie sentiasa di bawah lindungan serta rahmatNya. Kepada kedua ibu bapa saya, Kamariah bt Kamaruddin dan Zakaria b. Abdullah, jasa dan pengorbanan antara mereka tidak dapat saya gantikan dan saya bersyukur menjadi sebahagian dari hidup mereka kerana mereka lah menjadi tunjang semangat dan kekuatan saya. Semoga kalian beroleh keberkatan, kebahagiaan di dunia dan akhirat.

Kepada sahabat-sahabat seperjuangan saya, terima kasih di atas huluran persahabatan, pertolongan, pengorbanan ,dorongan dan sokongan yang tidak terhingga sepanjang perjalanan saya menyiapkan tesis ini. Kalianlah sumber inspirasi dan kekuatan saya. Semoga jasa dan pengorbanan anda semua dibalas dengan kejayaan yang berlipat ganda di dunia dan akhirat.

Akhir sekali saya berharap agar tesis saya ini dapat rujukan masa akan datang dan saya berharap agar manfaatnya berkekalan dan dapat menyumbang kebaikan kepada pelajar lain.

## ABSTRAK

*Labisia pumila*, atau Kacip Fatimah ialah tumbuhan herba popular di Asia Tenggara yang digunakan untuk merawat ibu lepas bersalin dan mengubati masalah haid. Kegunaannya yang luas dalam bidang perubatan dan farmaseutikal menyebabkan permintaan yang tinggi. Hal ini membawa kepada berkurangnya bilangan *L.pumila* dalam habitat semulajadi. Justeru, teknik tisu kultur tumbuhan digunakan untuk mengatasi masalah kekurangan disamping mengubah kaedah propagasinya. Objektif kajian ini adalah untuk mengaruh regenerasi pucuk dari eksplan batang *L. pumila* var. *alata* menggunakan TDZ (thidiazuron) dan mengkaji kesan kombinasi pengawal atur pertumbuhan 2,4-D (asid 2,4-diklorofenoksiasetik), BAP(6-Benzylaminopurina) dan KN(kinetin) terhadap perkembangan pucuk. Regenerasi pucuk dijalankan dengan kaedah pra-rawatan eksplan batang dalam media cecair MS + 100  $\mu\text{M}$  TDZ selama 24 jam sebelum dipindahkan ke dalam dua jenis media pengaruhan berasingan iaitu MSO dan MS + 10  $\mu\text{M}$  TDZ. Bagi perkembangan pucuk, eksplan yang berjaya mengaruh putik pucuk dipindahkan ke dalam media MS dengan pelbagai jenis dan kepekatan pengawal atur pertumbuhan 2,4-D ,BAP dan KN dan dikultur selama 6 minggu. Bagi eksplan dari pengaruhan MSO, didapati kombinasi 2,4-D + BAP mencapai perkembangan pucuk yang lebih tinggi berbanding 2,4-D + KN. 5  $\mu\text{M}$  2,4-D + 2.5  $\mu\text{M}$  BAP menghasilkan peratus pertumbuhan pucuk paling cepat sebanyak 100  $\pm$  0% dan skala pucuk tertinggi iaitu 1.6  $\pm$  0.4. 2.5  $\mu\text{M}$  2,4-D + 5  $\mu\text{M}$  BAP mencapai skor peringkat pertumbuhan tertinggi iaitu 0.7  $\pm$  1.0. 10  $\mu\text{M}$  2,4-D + 10  $\mu\text{M}$  BAP mencapai skor peringkat pertumbuhan paling cepat. Tiada kesan signifikan dicatatkan antara pengawal atur pertumbuhan dengan bilangan daun yang dihasilkan. Bagi eksplan dari pengaruhan MS + 10  $\mu\text{M}$  TDZ, kombinasi 2,4-D + BAP juga mencapai kadar perkembangan pucuk lebih tinggi berbanding 2,4-D + KN. Rawatan 2.5  $\mu\text{M}$  2,4-D + (2.5-10) $\mu\text{M}$  BAP dan 5  $\mu\text{M}$  2,4-D + 2.5  $\mu\text{M}$  BAP mencapai pertumbuhan pucuk 100  $\pm$  0.0%. 2.5  $\mu\text{M}$  2,4-D + 10  $\mu\text{M}$  BAP mencapai kadar peningkatan peratus pertumbuhan pucuk paling cepat. Skor pucuk paling tinggi dicapai dalam 2.5  $\mu\text{M}$  2,4-D + 2.5  $\mu\text{M}$  BAP sebanyak 1.8  $\pm$  0.3. Skor tinggi pucuk dan bilangan daun paling cepat bertumbuh masing-masing dicapai dalam rawatan 2.5  $\mu\text{M}$  2,4-D + 2.5  $\mu\text{M}$  BAP dan 2.5  $\mu\text{M}$  2,4-D + 10  $\mu\text{M}$  BAP serta 5  $\mu\text{M}$  2,4-D + 5  $\mu\text{M}$  BAP. Tiada kesan signifikan dicatatkan antara pengawal atur pertumbuhan dengan peringkat pertumbuhan yang dicapai. Secara keseluruhan, kombinasi 2,4-D + BAP dari eksplan pengaruhan MS + 10  $\mu\text{M}$  TDZ menghasilkan perkembangan pucuk yang lebih tinggi berbanding 2,4-D + BAP dari eksplan pengaruhan MSO.

## ABSTRACT

*Labisia pumila*, commonly known as Kacip Fatimah is a popular traditional herb in Southeast Asia that is used by community in healing post natal mother and curing menstrual problem. Its various medicinal and pharmaceutical applications lead to its excessive demand and shortage in natural habitat. Thus , plant tissue culture technique is used to overcome the shortage and improve its propagation method. The objective of this study is to induce shoot regeneration from stem explant of *L. pumila* var. *alata* using TDZ (thidiazuron) and to study the effect of combination of plant growth regulators 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid), BAP (6-Benzylaminopurine) and KN (kinetin) on shoot development. The shoot regeneration was evaluated by pretreatment of stem explants in liquid medium MS + 100  $\mu\text{M}$  TDZ for 24 hours before transferred into two separated induction media , MSO and MS + 10  $\mu\text{M}$  TDZ. For shoot development, regenerated-shoot explants were transferred on MS media supplied with different concentrations and combinations of 2,4-D, BAP and KN. After 6 weeks of culture, explants from MSO induction medium showed higher shoot development in 2,4-D + BAP combination. 5  $\mu\text{M}$  2,4-D + 2.5  $\mu\text{M}$  BAP achieved 100  $\pm$  0%, faster shoot growth and highest shoot score, 1.6  $\pm$  0.4. Highest score of stage of development, 0.7  $\pm$  1.0 were obtained in 2.5  $\mu\text{M}$  2,4-D + 5  $\mu\text{M}$  BAP and was faster in 10  $\mu\text{M}$  2,4-D + 10  $\mu\text{M}$  BAP. No significance result was obtained between plant growth regulators and number of leaves produced. For explants from MS + 10  $\mu\text{M}$  TDZ induction medium, higher shoot development was also shown in 2,4-D + BAP combination. 100  $\pm$  0% shoot growth were obtained in 2.5  $\mu\text{M}$  2,4-D + (2.5-10) $\mu\text{M}$  BAP and 5  $\mu\text{M}$  2,4-D + 2.5  $\mu\text{M}$  BAP. Treatment with 2.5  $\mu\text{M}$  2,4-D + 2.5  $\mu\text{M}$  BAP also achieved highest shoot score which is 1.8  $\pm$  0.3. 2.5  $\mu\text{M}$  2,4-D + 2.5  $\mu\text{M}$  BAP dan 2.5  $\mu\text{M}$  2,4-D + 10  $\mu\text{M}$  BAP showed faster shoot growth while 5  $\mu\text{M}$  2,4-D + 5  $\mu\text{M}$  BAP show faster leave formation. No significance shown between plant growth regulators and score of stage of development. Treatment with 2,4-D + BAP from MS + 10  $\mu\text{M}$  TDZ induction showed better shoot development than treatment 2,4-D + KN from MSO.

## KANDUNGAN

	Muka surat
PENGAKUAN	ii
DIPERAKUKAN OLEH	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	x
SENARAI RAJAH	xi
SENARAI FOTO	xiii
SENARAI SIMBOL/UNIT/SINGKATAN	xiv
 <b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	 1
 <b>BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN</b>	 3
2.1 <i>Labisia pumila</i>	3
2.2   Ciri-ciri <i>Labisia pumila</i>	3
2.2.1   Morfologi	3
2.2.2   Kepentingan Perubatan Tradisional	5
2.2.3   Kepentingan Kandungan Komposisi Kimia Berunsur Perubatan	6
2.3   Kaedah Tisu Kultur Tumbuhan	8
2.3.1   Auksin dan Sitokinin	8
2.3.2   Kesan Auksin dan Sitokinin	8
2.4   Regenerasi Tumbuhan	10
2.5   Regenerasi Pucuk Secara Terus	11
2.5.1   Perkembangan Pucuk	12
2.5.2   Kesan Auksin dan Sitokinin Terhadap Perkembangan Pucuk	13

<b>BAB 3 BAHAN DAN KADEAH</b>	<b>16</b>
3.1 Penyediaan Eksplan	16
3.2 Penyediaan Stok Larutan Media	17
3.3 Penyediaan Stok Larutan Pengawal Atur Pertumbuhan	17
3.3.1 Penyediaan Stok Larutan Pengawal Atur Pertumbuhan TDZ	19
3.3.2 Penyediaan Stok Larutan Pengawal Atur Pertumbuhan 2,4-D	19
3.3.3 Penyediaan Stok Larutan Pengawal Atur Pertumbuhan BAP	19
3.3.4 Penyediaan Stok Larutan Pengawal Atur Pertumbuhan Kinetin	20
3.4 Penyediaan Larutan Pra-Rawatan	20
3.5 Kaedah Penyediaan Media	21
3.6 Kesan Pengawal Atur Pertumbuhan Terhadap Perkembangan Pucuk Daripada Eksplan Batang <i>Labisia pumila</i> var. <i>alata</i>	22
3.6.1 Sumber Eksplan	22
3.6.2 Pra-Rawatan Eksplan Batang	23
3.6.3 Kajian Pengaruan Pucuk <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i>	23
3.6.4 Kajian Kesan Kombinasi Pengawal Atur Pertumbuhan Terhadap Perkembangan Pucuk <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i>	23
3.7 Reka Bentuk Eksperimen Dan Kaedah Pengkulturan	24
3.8 Pengumpulan Data	24
3.9 Analisis Data & Statistik	26
<b>BAB 4 KEPUTUSAN</b>	<b>27</b>
4.1 Pengaruan Pucuk Dari Eksplan Batang <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i>	27
4.2 Kesan Pengawal Atur Pertumbuhan Terhadap Perkembangan Pucuk <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i>	30
4.2.1 Kesan Pengawal Atur Pertumbuhan Terhadap Perkembangan Pucuk <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i> Dari Media Pengaruan MSO	30
4.2.2 Kesan Pengawal Atur Pertumbuhan Terhadap Perkembangan	32

Pucuk *L. pumila* var. *alata* Dari Media Pengaruhan MS +  
10µM TDZ

<b>BAB 5 PERBINCANGAN</b>	68
5.1 Pengaruan Pucuk Dari Eksplan Batang <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i>	68
5.2 Kesan Pengawal Atur Pertumbuhan Terhadap Perkembangan Pucuk <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i>	69
5.2.1 Kesan Pengawal Atur Pertumbuhan Terhadap Perkembangan Pucuk <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i> Dari Media Pengaruan MSO	70
5.2.2 Kesan Pengawal Atur Pertumbuhan Terhadap Perkembangan Pucuk <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i> Dari Media Pengaruan MS + 10µM TDZ	71
<b>BAB 6 KESIMPULAN</b>	73
<b>RUJUKAN</b>	75
<b>LAMPIRAN</b>	86

## **SENARAI JADUAL**

No. Jadual	Muka surat
3.1 Komponen media Murashige & Skoog (MS) yang diperlukan untuk penyediaan 1L media	18
3.2 Jisim pengawal atur pertumbuhan yang diperlukan untuk penyediaan 1mM stok	18
3.3 Sukatan isipadu setiap komponen untuk penyediaan 1 media	21
3.4 Kepekatan dan isipadu pengawal atur pertumbuhan yang diperlukan	22
3.5 Rawatan kesan kombinasi pengawal atur pertumbuhan terhadap pertumbuhan pucuk <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i>	24
3.6 Parameter yang diuji dalam pengaruhan pucuk	25
3.7 Parameter yang diuji dalam pertumbuhan pucuk	25
3.8 Penskoran tinggi pucuk yang tumbuh.	26
3.9 Penskoran peringkat pertumbuhan pucuk	26
4.1 Pengaruhan pucuk eksplan batang <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i>	28
4.2 Kesan pengawal atur pertumbuhan terhadap perkembangan pucuk <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i> daripada media pengaruhan MSO.	34
4.3 Kesan pengawal atur pertumbuhan terhadap perkembangan pucuk <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i> daripada media pengaruhan MS + 10 µM TDZ	35



## SENARAI RAJAH

No. Rajah	Muka surat
2.1 Struktur kimia fitoestrogen	6
2.2 Struktur kimia flavonoid	7
2.3 Struktur kimia asas asid fenolik	7
2.4 Regenerasi tumbuhan	11
2.5 Struktur pucuk	12
4.1 Pengaruhan eksplan batang <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i> di dalam media MSO dan MS + 10 µM TDZ dengan 3% (w/v) sukrosa, 0.8% agar dalam 24 jam cerah dan suhu 25 ± 2°C.	29
4.2 Kesan pengawal atur pertumbuhan terhadap peratus pertumbuhan pucuk <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i> dari pengaruan MSO	36
4.3 Kesan pengawal atur pertumbuhan terhadap peratus pertumbuhan pucuk <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i> dari pengaruan MSO	38
4.4 Kesan pengawal atur pertumbuhan terhadap peratus pertumbuhan pucuk <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i> dari pengaruan MSO	40
4.5 Kesan pengawal atur pertumbuhan terhadap peratus pertumbuhan pucuk <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i> dari pengaruan MSO	42
4.6 Kesan pengawal atur pertumbuhan terhadap peratus pertumbuhan pucuk <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i> dari pengaruan MS + 10 µM TDZ	44
4.7 Kesan pengawal atur pertumbuhan terhadap peratus pertumbuhan pucuk <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i> dari pengaruan MS + 10 µM TDZ	46
4.8 Kesan pengawal atur pertumbuhan terhadap peratus pertumbuhan pucuk <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i> dari pengaruan MS + 10 µM TDZ	48
4.9 Kesan pengawal atur pertumbuhan terhadap peratus pertumbuhan pucuk <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i> dari pengaruan MS + 10 µM TDZ	50
4.10 A-H Kesan pengawal atur pertumbuhan terhadap perkembangan pucuk <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i> dari pengaruan MSO.Eksplan dikultur di dalam media MS dengan 3% (w/v) sukrosa, 0.8% agar, suhu 25 ± 2°C dan 24jam cerah.Bar: 4mm	52

4.11 A-H Kesan pengawal atur pertumbuhan terhadap perkembangan  
60  
pucuk *L. pumila* var. *alata* dari pengaruan MS + 10  $\mu\text{M}$   
TDZ.Eksplan dikultur di dalam media MS dengan 3% (w/v)  
sukrosa, 0.8% agar, suhu  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  dan 24jam cerah.Bar: 4mm.



## **SENARAI FOTO**

No. Foto	Muka Surat
2.1 Pokok <i>L. pumila</i>	4
2.2 Bunga <i>L. pumila</i>	5
2.3 Buah <i>L. pumila</i>	5
3.1 Kultur <i>in vitro</i> <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i>	16
3.3 Eksplan batang <i>L. pumila</i>	23
4.1 Eksplan batang <i>L. pumila</i> var. <i>alata</i> direndam di dalam media pra-rawatan cecair MS + 100 µM TDZ dengan kelajuan adukan 150 rpm. Pra-rawatan diletakkan dalam 24 jam cerah dan 25 ± 2°C	28



## **SENARAI SIMBOL/UNIT/SINGKATAN**

TDZ	Thidiazuron
2,4-D	asid 2,4-Diklorofenoksiasetik
BAP	6-Benzylaminopurina
KN	Kinetin
%	peratus
°C	darjah Celcius
L	liter
mL	mililiter
cm	sentimeter
mg	miligram
mm	milimeter
g	gram
mg/L	miligram per liter
gmol <sup>-1</sup>	gram per mol
µM	mikroMolar
mM	miliMolar

## BAB 1

### PENDAHULUAN

Kacip fatimah atau nama saintifiknya *Labisia pumila* merupakan tumbuhan herba tradisional yang popular di rantau Asia Tenggara. Spesis ini banyak terdapat di kawasan tanah rendah dan bukit di Malaysia, Thailand, Indochina, Filipina dan Papua New Guinea (Stone, 1988). Di Malaysia, kacip fatimah terkenal dalam kalangan masyarakat kerana khasiatnya yang dapat merawat dan meningkatkan stamina ibu lepas bersalin, mengubati masalah haid, masalah angin dalam perut dan disenteri (Ong, 2004), yang menjadikannya tumbuhan yang sangat sinonim dengan kaum wanita. *L. pumila* dijadikan salah satu bahan dalam kaedah rawatan herba tradisional, yang kemudiannya diubah suai mengikut peredaran zaman kedalam bentuk suplemen dan minuman kesihatan.

Selain itu, *L. pumila* juga telah dibuktikan secara saintifik mengandungi komposisi kimia yang bermanfaat. Antaranya ialah kandungan sebatian flavonoid dan asid fenolik yang berfungsi sebagai bahan antiradang (Lee, *et al.*, 2011). Selain itu, *L. pumila* juga dibuktikan mempunyai aktiviti antioksidan (Ibrahim & Jaafar, 2011; Norhaiza *et al.*, 2009) yang membantu melewatkannya proses penuaan. Kandungan fitoestrogen yang terkandung dalam *L. pumila* mempunyai kebolehan untuk menggalakkan proliferasi sel-sel epidermis, merangsang penghasilan kolagen dan mengurangkan degradasi kolagen oleh aktiviti enzim (Mukrish, *et al.*, 2013). Selain itu, *L. pumila* juga mempunyai aktiviti antibakteria (Karimi *et al.*, 2011).

Disebabkan potensinya yang tinggi dalam bidang perubatan, permintaan terhadap *L. pumila* untuk dijadikan sampel dan bahan mentah dalam penghasilan produk dan herba sentiasa meningkat dari semasa ke semasa. Justeru, untuk memenuhi keperluan-keperluan ini, tumbuhan ini biasanya diperoleh melalui sumber sedia ada seperti di hutan, di mana kadar pertumbuhannya perlahan dan bilangannya akan berkurangan dari semasa ke semasa. Selain itu, *L. pumila* juga diperoleh melalui cara tanaman atas tanah, namun dengan skala yang kecil. Tisu kultur merupakan salah satu kaedah alternatif yang digunakan untuk mengatasi masalah kekurangan sumber tumbuhan dimana ia dapat mengawalatur perkembangan pokok secara *in vitro* dan mengekalkan keadaan steril persekitaran tumbuhan. Kaedah ini juga dapat meningkatkan propagasi tumbuhan dan regenerasi anak pokok dengan cara yang menjimatkan.

Beberapa perkembangan tisu kultur yang dilakukan ke atas *L. pumila* sejak kebelakangan ini telah menyumbang kepada pengoptimuman anak pokok dengan memanipulasi faktor pertumbuhan seperti jenis media, sumber karbon dan hormon serta teknik pengsterilan secara *in vitro*. Teknik miropagasi yang dijalankan oleh Hartinie dan Jualang (2007) telah membawa kepada penemuan medium dan hormon yang optimum untuk percambahan biji benih steril *L. pumila* secara *in vitro*. Kesan perbandingan pengawal atur pertumbuhan terhadap eksplan daun dan batang *L. pumila* var. *alata* (Ling *et al.*, 2013) telah membuktikan keupayaan pengaruhan kalus, akar dan pucuk *L. pumila*. Di samping itu, pengaruhan akar adventitius telah dilakukan dengan memanipulasi jenis eksplan dan pengawal atur tumbuhan (Nor'Aishah & Sobri, 2013).

Walaubagaimanapun, kajian masih perlu dijalankan ke atas kaedah regenerasi pucuk secara terus dan kebolehan pucuk yang dihasilkan untuk berkembang menjadi plantlet lengkap. Objektif kajian ini adalah untuk:

- Mengaruh regenerasi pucuk daripada eksplan batang *L. pumila* var. *alata* menggunakan pengawal atur pertumbuhan TDZ (thidiazuron).
- Mengkaji kesan kombinasi pengawal atur pertumbuhan 2,4-D (asid 2,4-Diklorofenoksiasetik), BAP (6-Benzylaminopurina) dan kinetin terhadap perkembangan pucuk *L. pumila* var. *alata*.

## BAB 2

### ULASAN PERPUSTAKAAN

#### 2.1 *Labisia pumila*

*Labisia pumila* ialah sejenis pokok herba renek yang tumbuh subur di kawasan tanah rendah dan tanah bukit di hutan hujan Malaysia pada ketinggian 80-100 meter dari paras laut. Dalam bahasa Latin, tumbuhan ini dikenali sebagai *Labisia pothonia*. Masyarakat di Malaysia mengenali tumbuhan ini dengan nama Kacip fatimah dan diklasifikasikan dalam famili Myrsinaceae. Sesetengah masyarakat Malaysia mengenali Kacip fatimah dengan nama selusuh fatimah dan mata pelandok rimba (Burkill, 1966; Ong, 2004). *L. pumila* mempunyai khasiat untuk mengembalikan keremajaan dan membantu kaum wanita untuk memperoleh tenaga dan kecergasan selepas melahirkan anak (Burkill, 1935). Selain itu, *L. pumila* juga membantu menguatkan otot abdomen, mengecutkan sistem peranakan dan membuang angin. Tumbuhan ini dijadikan rawatan dengan cara meminum air rebusannya (Zakaria & Mohd, 1994).

#### 2.2 Ciri-ciri *Labisia pumila*

##### 2.2.1 Morfologi

Di Malaysia, terdapat tiga varieti *Labisia pumila* iaitu *pumila*, *alata* dan *lanceolata*. Pokok ini mempunyai ketinggian dari 30-60cm (Ong, 2004) dan diameter batangnya adalah antara 1-2 cm. Pada bahagian daun, *L. pumila* mampu menghasilkan antara 4 hingga 8

helai daun untuk satu pokok. Kadang kala, penghasilan daun boleh mencapai bilangan 10 helai untuk satu pokok. Bahagian tepi daun mempunyai gerigi halus dan setiap bahagian daun mempunyai urat sekunder yang banyak dan tersebar. Struktur daun tumbuh dengan kedudukan menghala ke atas dan berbentuk sama ada seperti mata leming, bujur telur atau lonjong. Tangkai daun boleh mencapai kepanjangan antara 10-12.5 cm.



**Foto 2.1**

Pokok *L. pumila*. Sumber:<http://phytomedicare.com>

Dari segi warna daun, permukaan atas berwarna lebih gelap manakala permukaan bawah berwarna lebih cerah. Pokok jantan dapat dibezakan dengan pokok betina dengan warna daunnya yang kemerah-merahan. Sesetengah daun *L. pumila* berwarna hijau gelap dan merah hati. Bahagian pucuk mempunyai warna merah hati (Henderson, 1974) manakala bahagian bunga berwarna putih dan merah jambu. Bunga *L. pumila* bersaiz kecil dengan petalnya membaluti stamen. *L. pumila* menghasilkan buah berwarna hijau semasa muda, dan bertukar merah terang atau ungu selepas masak (Ong, 2004) dengan saiz diameter 0.5cm (Henderson, 1974). Buah tidak tumbuh secara berasingan, sebaliknya secara berangkai-rangkai.



**Foto 2.2** Bunga *L. pumila*. Sumber:<http://Flickrriver.com>



**Foto 2.3** Buah *L. pumila*. Sumber: <http://www.flickr.com/photos/adaduitokla/7285935528/>

Dari segi pertumbuhan bahagian batang, pokok ini mampu mencapai ketinggian pucuk antara 2cm hingga 12cm dan boleh menjangkau 14cm. Pertumbuhan daun pada batang adalah secara liputan ,iaitu daun-daun tumbuh menutupi batang. Akar *L. pumila* pula berstruktur keras, berkayu dan mempunyai akar primer serta akar sekunder. Akar primer ialah akar utama yang panjang dan ditumbuhgi oleh akar-akar sekunder (Henderson, 1974).

## 2.2.2 Kepentingan Perubatan Tradisional

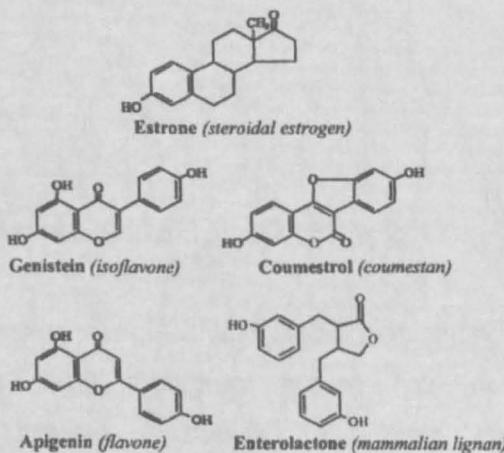
Secara tradisional , *L. pumila* digunakan dalam rawatan wanita selepas bersalin. Batang dan akar *L. pumila* direbus dan diminum oleh ibu yang hamil apabila sampai masa bersalin supaya lebih mudah dan cepat bersalin. Selepas bersalin, *L. pumila* berfungsi

mempercepatkan proses pemulihan ibu. Selain itu, tumbuhan ini juga dapat mengatasi masalah angin dalam perut, disenteri dan sakit dalam tulang (Ong, 2004). Merebus akar yang dikeringkan dan meminum air rebusannya dapat merawat masalah buasir.

Disamping itu, tumbuhan ini juga berkhasiat dalam membantu mengelunkan rahim dan melangsingkan badan. *L. pumila* juga merangsang penghasilan hormon yang dapat melancarkan perjalanan dan kitaran haid. *L.pumila* juga membantu mengurangkan sakit akibat senggugut dan merawat keputihan. *L.pumila* juga membantu mengurangkan sakit akibat senggugut dan merawat keputihan (Noraida, 2005).

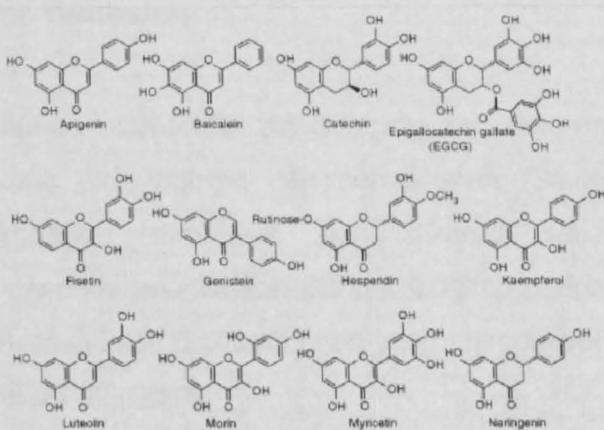
### 2.2.3 Kepentingan Kandungan Komposisi Kimia Berunsur Perubatan

Terdapat banyak kajian dan penemuan saintifik yang membuktikan kandungan komposisi kimia bermanfaat dalam *L. pumila*. Antaranya ialah fitoestrogen, flavanoid dan asid fenolik (Lee *et al.*, 2011). Ekstrak *L. pumila* boleh digunakan sebagai rawatan anti-radang (Sanusi *et al.*, 2013). Kandungan fitoestrogen dalam tumbuhan ini dapat memelihara keremajaan kulit (Rajah 2.1). Kandungan kimia yang bertindak seperti hormon oestrogen ini membantu menggalakkan proliferasi sel-sel epidermis, menggalakkan penghasilan kolagen dan mengurangkan penguraian kolagen melalui aktiviti enzim. Manfaat ini menjadikan *L. pumila* mempunyai potensi besar dalam bidang kosmeseutikal (Mukhrish *et al.*, 2013).



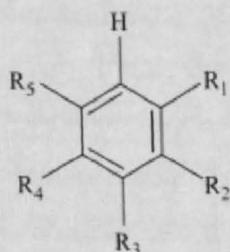
Rajah 2.1

Struktur kimia fitoestrogen (Gilani & Anderson, 2002).



**Rajah 2.2** Struktur kimia flavonoid (Alaoui-Jamali, 2010).

Selain itu, kandungan flavonoid dalam *L. pumila* menggalakkan kesihatan dengan cara berfungsi sebagai bahan anti-radang dan antioksidan (Rajah 2.2). Flavonoid dalam *L. pumila* juga berfungsi sebagai bahan anti-oksidan. Aktiviti antioksidan ekstrak cecair *L. pumila* telah dibuktikan secara saintifik memberikan perlindungan epidermis fibroblas manusia daripada kerosakan disebabkan oleh radiasi UV (Choi *et al.*, 2010) . Asid fenolik berfungsi sebagai perlindungan dari kanser dan sakit jantung (Lee *et al.*, 2011) serta berkait dalam aktiviti antioksidan (Rajah 2.3).



**Rajah 2.3** Struktur kimia asas asid fenolik (Patra, 2012).

Akar spesies ini mengandungi bahan seakan benzoquinon dan campuran bahan seakan resorsinal yang dapat mengawal kitaran haid dan melegakan simptom menopaus.Kajian terkini keatas *L. pumila* telah membuktikan aktiviti antioksidan (Ibrahim and Jaafar, 2011; Norhaiza *et al.*, 2009) dan aktiviti antibakteria (Karimi *et al.*, 2011). Akar dan daun ketiga-tiga varieti *L. pumila* mempunyai aktiviti antifungal

sederhana hingga tinggi terhadap kulat *Fusarium*, *Candida* dan *Mucor* (Karimi *et al.*, 2013).

### **2.3 Kaedah Tisu Kultur Tumbuhan**

Kaedah tisu kultur tumbuhan ialah teknik pengkluturan sel atau organ tumbuhan dalam keadaan steril , disokong oleh nutrien dan persekitaran (Smith, 2013). Kultur tisu digunakan dalam propagasi tumbuhan dan dikenali sebagai mikropropagasi. Mikropropagasi merujuk kepada penghasilan plantlet lengkap daripada kultur tisu eksplan (Jha & Ghosh, 2005). Eksplan ialah tisu tumbuhan yang mempunyai sel-sel meristem atau berkembang menjadi sel-sel meristem.

Kaedah tisu kultur mempunyai kelebihan dari segi mengawal atur perkembangan pokok. Kaedah ini dapat meningkatkan propagasi tumbuhan dengan lebih cepat berbanding kaedah penanaman biasa (Thorpe, 1981). Selain itu, penghasilan klon tumbuhan dapat digandakan dalam jumlah yang banyak dan tumbuhan dapat disimpan dalam jangka masa yang lama tanpa pencemaran.

#### **2.3.1 Auksin dan Sitokinin**

Auksin ialah hormon tumbuhan yang berfungsi dalam pertumbuhan pokok (Mauseth, 2009). Auksin yang biasa digunakan ialah indole-3 asid asetik (IAA), indol-3-butyrik asid (IBA), asid naphthalinik (NAA) dan 2,4-diklorofenoksiasetik asid (2,4-D). Sitokinin adalah salah satu kumpulan hormon tumbuhan yang diperolehi daripada nukleotid adenin (Litwack, 2005). Beberapa jenis sitokinin disintesis di dalam batang. Kebanyakan sitokinin dihasilkan di dalam akar-akar dan dihantar ke bahagian pucuk melalui xilem. Sitokinin yang biasa digunakan dalam tisu kultur tumbuhan ialah zeatin, kinetin ,BAP dan thidiazuron (Bhojwani & Dantu, 2013).

#### **2.3.2 Kesan Auksin dan Sitokinin**

Auksin berfungsi merangsang perkembangan embrio, pembentukan daun, fototropism, gravitropism, kedomininan apeks , keluruhan (pengabsisaan), perkembangan buah,

permulaan dan perkembangan akar (Adda *et al.*, 2004). Kepekatan hormon auksin yang tinggi memberi efek perencatan kepada morfogenesis (Chen & Baluska, 2013). Kesan auksin terhadap tumbuhan alam semulajadi adalah dalam pemanjangan batang dan internod, tropism, kedominanan apeks dan pengakaran.

Dalam tisu kultur tumbuhan, auksin berfungsi menggalakkan pembahagian sel dan pembezaan akar. IBA dan IAA biasa digunakan untuk tujuan pengakaran dan pengaruan pucuk. 2,4-D sangat efektif untuk pengaruan dan pertumbuhan kalus (George *et al.*, 2008). Dalam perkembangan embrio, auksin mengawal embrio untuk membentuk organ pucuk apeks, daun-daun utama, kotiledon, batang dan akar. Pembentukan daun dimulakan dengan pengumpulan auksin. Auksin juga mengawal sel-sel epidermal daun-daun yang sedang berkembang (Leyser & Day, 2003).

Sitokinin merangsang pembahagian sel dalam apeks meristem pucuk dan pembezaan sel dalam apeks meristem akar (MacAdam, 2009). Sitokinin merencatkan perkembangan akar lateral dan menggalakkan pertumbuhan putik lateral. Selain itu, sitokinin berfungsi mengaruh pembentukan pembentukan kalus dan proses-proses lain yang melibatkan pembahagian sel (Minocha, 1987) dan diperlukan dalam embryogenesis somatik. Pada kepekatan yang tinggi antara 1-10  $\mu\text{M}$ , sitokinin mengaruh pembentukan pucuk adventitius, tetapi merencatkan pembentukan akar. Sitokinin menggalakkan pembentukan pucuk aksil dengan cara menentang kedominanan apeks yang dikawal oleh auksin (Acquaah, 2012).

Auksin dan sitokinin bertindak bersama secara antagonistik. Keseimbangan antara kepekatan auksin dan sitokinin mempengaruhi permulaan organ, pembentukan embrio dan fungsi meristem. Kombinasi auksin dan sitokinin bertindak bergantung kepada kepekatan (Eshel & Beeckman, 2013). Nisbah auksin yang lebih tinggi berbanding sitokinin mengaruh pembentukan akar dalam pucuk, permulaan kalus dalam tumbuhan monokotiledon dan permulaan embriogenesis soma (Trigiano & Gray, 2005). Nisbah auksin yang sama dengan sitokinin mengaruh pembentukan akar adventitius dari kalus dan permulaan kalus dari tumbuhan dikotiledon.

## RUJUKAN

- Alaoui-Jamali, M.A. 2010. *Alternative and Complementary Therapies for Cancer: Integrative Approaches and Discovery of conventional Drugs*. Montreal: Springer Inc.
- Acquaah, G. 2012. *Principles of Plant Genetics and Breeding, 2<sup>nd</sup> Edition*. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd.
- Adds, J., Larkcom, E. and Miller, R. 2004. *Genetics, Evolution and Biodiversity*. Cheltenham: Nelson Thornes.
- Aravind, B., Mallikharjuna, P.B., Rajanna, L.N., Seetharam, Y.N. and Sharanabasappa, G. 2011. In vitro regeneration of cotyledonary node explant of *Bauhinia racemosa*. *Botany Research International*. 4(4):75-80.
- Arora, R. 2010. *Medicinal Plant Biotechnology*. Oxfordshire: CABI.
- Bhojwani, S.S. and Dantu, P.K. 2013. *Plant Tissue culture; An Introductory Text*. New Delhi: Springer India.
- Berg, L.R. 2008. *Introductory Botany: Plant, People and the Environment, 2<sup>nd</sup> Edition*. USA: Thompson Brooks.
- Bhojwani, S.S. and Razdan, M.K. 1996. *Plant Tissue Culture: Theory and Practice, a Revised Edition*. The Netherlands: Elsevier.
- Bonga, J.M. and Von Aderkas, P. 1992. *In Vitro Culture of Trees*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers Ltd.
- "Buah *L. pumila*" dlm.: <http://www.flickr.com/photos/adaduitokla/7285935528/>. Retrieved 17 November 2013.

"Bunga Kacip fatimah" dlm. <https://www.google.com/search?q=bunga+labisia+pumila>  
www.flickr.com, Retrieved 21 November 2013.

Burgess, J. 1985. *An Introduction to Plant cell Development*. Press Syndicate of the University of Cambridge, Australia.

Castillo, A.M., Egana, B., Sanz, J.M. and Cistue L. 1998. Somatic embryogenesis and plant regeneration from barley cultivars grown in Spain. *Plant Cell Reports*. **17(11)** : 902-906.

Chawla, H.S. 2002. *Introduction to Plant Biotechnology*. New Hampshire: Science Publishers.

Chae, S.C., Chung, S.O. and Park, S.U. 2013. Influence of cytokinins and auxins on plant regeneration from hairy roots of *Rehmannia elata*. *Life Science Journal*. **10(3)**:1171-1174.

Chae, S.C., Chung, S.O. and Park, S.U. 2013. Shoot organogenesis and plant regeneration of *Aloe saponaria*. *Life Science Journal*. **10(3)**: 575-578.

Chen, C., Chen, S., Sagare, A.P. and Tsay, H. 2001. Adventitious shoot regeneration from stem internode explants of *Adenophora triphylla* (Thunb.) A. DC. (*Campanulaceae*): An important medicinal herb. *Bot. Bull. Acad. Sin.* **42** :1-7.

Chen, R. and Baluska, F. 2013. *Polar Auxin Transport*. London: Springer.

Elinorovololona, R.N. and Martial, E.L. 2014. Effects of growth regulators BAP and NAA on the in vitro shoot multiplication from nodal segment of *Medinilla mandrakensis* (Melastomataceae). *International Journal of Biochemistry and Biotechnology*. **3(1)** : 504-510.

Eshel, A. and Beeckman, T. 2013. *Plant Roots: The Hidden Half*, 4<sup>th</sup> Edition. Boca Raton: Taylor & Francis Group.

George, E.F., Hall, M.A. and De Klerk, G. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture*, 3<sup>rd</sup> Edition. Dordrecht : Springer.

Gebeyehu, A. 2013. Effect of different combinations of BAP and NAA on multiple shoot proliferation of plantain (*Musa* spp.) cv. Matoke from meristem derived explants. *College of Agriculture and Environment Sciences, Bahir Dar University, Ethiopia*. **12(7)** : 709-718.

Gilani, G.S. and Anderson, J.J.B. 2002. *Phytoestrogens and Health*. USA: AOCS Press.

Henderson, M.R. 1974. *Malayan Wild Flowers Dicotyledons*. Kuala Lumpur, Malayan Nature Society.

Hiregoudar, L.V., Murthy, H.N., Hema, B.P., Hahn, E.J. and Paek, K.Y. 2003. Multiple shoot induction and plant regeneration of *Feronia limonia* (L.) Swingle. *Scientia Horticulturae*. **98**: 357-364.

Hodson, M.J. and Bryant, J.A. 2012. *Functional Biology of Plants*. Oxford: Wiley & Sons.

Hossain, M.J., Khaleda, L. and Al-Forkan, M. 2013. Development of an efficient in vitro micropropagation protocol for medicinally important plant *Achyranthes bidentata* Blume. *Journal of Pharmacognos and Phytochemistry*. **2(4)** :6-13.

Hutchinson, M.J. Onamu, R., Kipkosgei, L. and Obukosia, S.D. 2010. Effect of thidiazuron, NAA and BAP on in vitro propagation of *Alstroemeria aurantiaca* cv. 'Rosita' from shoot tip explants. *Department of Plant Science and Crop Protection, University of Nairobi, Kenya*. **12(2)** : 60-69.

Islam, M.S. and Bari, M.A. 2013. Rapid in vitro multiplication, callogenesis and indirect shoot regeneration in *Ipomoea mauritiana* – a rare medicinal plant in Bangladesh. *Medicinal and Aromatic Plants.* **2(6)** :1-3.

Kalimuthu, K., Pulsamy, S., Senthilkumar, R. dan Sathya, M. 2007. In vitro propagation of biodiesel plant *Jatropha curcas L.* *Plant Tissue Culture & Biotechnology.* **17(2)**:137-147.

Jha, T.B. and Ghosha, B. 2005. *Plant Tissue Culture: Basic and Applied.* Hyderabad: Universities Press Ltd.

Jiang, W., Myeong-Je, C. and Lemaux, P.G. 1998. Improved callus quality and prolonged regenerability in model and recalcitrant barley (*Hordeum vulgare L.*) cultivars. *Plant Biotechnology.* **15(2)** : 63-69.

Karimi, E. Jaafar, H.Z. and Ahmad, S. 2013. Antifungal, anti-inflammatory and cytotoxicity activities of three varieties of *Labisia pumila* (Benth): from microwave obtained extracts. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* **13(20)**:1-10.

Khachatourians, G.C., McHugen, A., Scorza, R., Nip, W.K. and Hui, Y.H. 2005. *Transgenic Plants and Crops.* New York: Marcel Dekker Inc.

Kishor, K.P.B. 2003. *Plant Tissue Culture and Biotechnology: Emerging Trends.* Hyderabad: Orient Longman.

Kozlowski, T.T. and Pallardy, S.G. 1997. *Growth Control in Woody Plants.* California: Academic Press.

Kumar, N. and Reddy, N.P. 2012. Thidiazuron induced plant regeneration from cotyledonary petiole explants of elite genotypes of *Jatropha curcas*: A candidate biodiesel plant. *India Crop Production.* **39**: 62-68.

Lata, H., Chandra, S., Wang, Y., Raman, V. and Khan, I.A. 2013. TDZ-induced high frequency plant regeneration through direct shoot organogenesis in *Stevia rebaudiana bertoni*: An important medicinal plant and a natural sweetener. *American Journal of Plant Sciences*. **4**: 117-128.

Lata, H. Chandra, S. Khan, I. and ElSohly, M.A. 2009. Thidiazuron-induced high-frequency direct shoot organogenesis of *Cannabis sativa L.* *In Vitro Cell Division Biol. Plant.* **45**:12-19.

Laura, J.S. and Beniwal, V.S. 2012. *In vitro* studies on direct shoot regeneration of *Nothopodytes nimmoniana* Graham through shoot tip and nodal explants. *International Journal of Current Research*. **4(9)** :23-26.

Lee, S. C., Norliza, A. L., Sze, Y.L., Chew, T.L., Mohamad Roji, S. and Ramli, A.A. 2011. Flavonoids and phenolic acids from *Labisia pumila* (Kacip fatimah). *Food Chemistry*. **127**: 1186-1192.

Leyser, O. and Day, S. 2003. *Mechanisms in Plant Development*. Oxford: Blackwell Science Ltd.

Li, Q., Deng, M., Zhang, J., Zhao, W., Song, Y., Li, Q. and Huang, Q. 2013. Shoot organogenesis and plant regeneration from leaf explants of *Lysionotus serratus* D. *The Scientific World Journal*. Yunnan: Hindawi Publishing.

Lindiro, C., Kahia, J., Asiimwe, T., Mushimiyyimana, A., Waweru, B., Kuoassi, M., Koffi, E., Kone, S. and Sallah, P.Y. 2013. *In vitro* regeneration of *pyrethrum* (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) plantlets from nodal explants of *in vitro* raised plantlets. *International Journal of Application or Innovation in engineering or Management*. **2(7)** :207-213.

"*Labisia pumila*" dlm. <http://www.phytomedicare.com/Kacip-Fatimah-Labisia-Pumila/q?pid=18&doit=order>. Retrieved 12 October 2013.

- Lu, M. 2005. Micropropagation of *Vitis thunbergii* Sieb. et Zucc., a medicinal herb, through high-frequency shoot tip culture. *Scientia Horticulturae*. **107** :64-69.
- MacAdam, J.W. 2009. *Structure and Function of Plants*. Iowa: Wiley-Blackwell.
- Mahadev, M.D., Panathula, C.S. and Naidu, C.V. 2014. Efficient protocol for direct shoot organogenesis from in vitro raised nodal explants of *Solanum viarum* (Dunal) –An important anticancer medicinal plant. *International Journal of Medicinal Aromatic Plant*. **4(1)** : 48-55.
- Mehta, J., Ansari, R., Syedy, M., Khan, S., Sharma, S., Gupta, N., Rathore, R. and Vaishnav, K. 2012. An effective method for high frequency multiple shoots regeneration and callus induction of *Bacopa monnieri* (L.) Pennel.: An important medicinal plant. *Asian Journal of Plant Science and Research*. **2(5)**:620-626.
- Melara, M.V. and Arias, A.M.G. 2009. Effect of BAP and IAA on shoot regeneration in cotyledonary explants of Costa Rica melon genotypes. *Agronomia Costarricense*. **33(1)**: 125-131.
- Mineo, L. 1990. Plant tissue culture techniques. *Tested studies in Laboratory Teachings Proc ABLE*. **11**: 151-174.
- Mohamed, A.S.M., Mousa, M.A.A. an Bakhshwain, A.S. 2013. Effects of growth regulators and sucrose on in vitro nodal segments and shoot tip culture of jojoba, *Simmondsia chinensis* (Link) genotypes. *Bioremediation and Biodegradation*. **4(7)**:1-5.
- Mohanakrishnan, L., Ramsamy, D. dan Balasundaram, J. 2014. Rapid and efficient plant regeneration from nodal explants of *Orthosiphon spiralis* Murr. *International Journal of Current Biotechnology*. **2(4)**: 40-44.

Muaseth, J.D. 2009. Botany : An Introduction to Plant Biology, 4<sup>th</sup> Edition. Massachusetts: Jones and Bartlett Publishers.

Mubashir, K., Ganai, B.A., Kamili, A.N. and Mustafa, K.G. 2014. In vitro regeneration of critically endangerd medicinal plant *Artemisia amygdalina* D. *International Research Journal of Pharmacy*. 5(2) : 115-118.

Mukrish, M. et al., 2013. Phytoestrogen in skin ageing : the case of *Labisia pumila*. *Regenerative research*, 2(1): 7-13.

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*. 5: 473-497.

Ngomuo, M., Mneney, E. and Ndakidemi, P. 2013. The effects of auxins and cytokinin on growth and development of (*Musa* sp.) Var. "Yangambi" explants in tissue culture. *American Journal of Plant Sciences*. 4 :2174-2180.

Noraida Ariffin. 2005. *Penyembuhan Semula Jadi Dengan Herba*. Kuala Lumpur: PTS Millennia.

Ong, H.C. 2004. *Tumbuhan Liar: Khasiat Ubatan & Kegunaan Lain*. Utusan Publications & Distributor Sdn Bhd, Kuala Lumpur.

Olowe, O., Adesoye, A., Ojobo, O., Amusa, O. dan Liamngee, S. 2014. Effects of sterilization and phytohormones on shoot tip culture of *Telfairia occidentalis*. *Journal of Natural Science Research*. 4(2): 53-58.

Panigrahi, J., Mistry, N.M. and Patel, I.C. 2013. Direct shoot organogenesis from bulbs explants of polianthes tuberosa cultivars (Prajwal and Shringar). *Indian Journal of Applied Research*. 3(7) :73-75.

Pandey, P., Mehta, R. and Upadhyay, R. 2013. In vitro propagation of an endangered medicinal plant *Psoralea corylifolia* Linn. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.* **6(3)** :115-118.

Patra, A.K. 2012. *Dietary Phytochemicals and Microbes*. Kolkata: Springer Inc.

Peddaboina, V., Thamidala, C. and Karampuri S. 2006. In vitro shoot multiplication and plant regeneration in four *Capsicum* species using TDZ. *Scientia Horticulturae.* **107**: 117-122.

"Plant regeneration" dlm. <http://www.agritech.tnau.ac.in>. Retrieved 5 December 2013.

Pua, E.C. and Michael R. 2007. *Transgenic Crops IV*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Springer Inc.

Rajore, S., Batra, A. 2005. Efficient plant regeneration ia shoot tip explants in *Jatropha curcas*. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology.* **14**: 73-75.

Rasool, R., Ganai, B., Kamili, A.M. Akbar, S. and Masood, A. 2013. Synergistic effect of auxins and cytokinins on propagation of *Artemisia amygdalina* (Asteraceae), A critically endangered plant of Kashmir. *Pak. J. Bot.* **45(2)** :629-634.

Robert, J., Ravi, B.X. and Louis, C. 2012. An efficient in vitro plant regeneration of (*Poir.*) *Nees.* – A medicinal herb. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.* **1**: 484-487.

Ramawat, K.G. 2004. *Biotechnology of Medicinal Plant*. New Delhi: Science Publishers.

Ravichandra, N.G. 2013. *Fundamental of Plant Pathology*. New Delhi: PHI Learning.

Russo,V.M. 2012. *Peppers: Botany ,Production and Uses*. CABI International Ltd. USA .

Sakakibara, H. 2005. Cytokinin Biosynthesis and Regulation. Dlm: Litwack, G. *Plant Hormones, Volume 72*. London: Elsevier.

Sakthi R. and Mohan, N. 2012. Micropropagation and plant regeneration from leaf and node explants of *Scoparia dulcis*. *Journal of Academic and Industrial Research*. **1(3)** :144-147.

Samsudeen, V.M., Sung, J.M., Jeng, T.L. and Wang ,C.S. 2006. Organogenesis of *Phaseouls angularis* L. :High efficiency of adventitious shoot regeneration from petioled seedlings in the presence of N6- benzylaminopurine and thidiazuron. *Plant Cell Tissue Organ Culture*. **86**:187-199.

Sanusi, R.A.M., AB Shukor, N.A. and Sulaiman, M.R. 2013. Anti-inflammatory effects of *Labisia pumila* (Blume) F.Vill-Naves. Aqueous Extract. *Sains Malaysiana* **42 (1)**: 1511-1516.

Shaik, S., Dewir, Y.H., Singh, N. and Nicholas, A. 2010. Micropropagation and bioreactor studies of the medicinally important plant *Lessertia (Sutherlandia) frutescens* L. *South African Journal of Botany*. **76** :180-186.

Sharma, N., Dhiman, M. and Koshy, E.P. 2014. TDZ induces multiple shoot regeneration and in vitro flowering from nodal explant in *Withania somnifera* (L.). *International Journal of Scientific Research*. **3(4)** : 50-52.

"Shoot structure and function" dlm. <http://www.uic.edu/classes/bios/bios100/labs/plantanatomy.htm> Retrieved 9 December 2013.

Singh, A.K., Varshney, R., Sharma, M. Agarwal, S.S. and Bansal, K.C. 2006. Regeneration of plants from alginate-encapsulated shoot tips of *Withania somnifera* (L.) Dunal, a medicinally important plant species. *Journal of Plant Physiology*. **163** :220-223.

Smith, R.H. 2013. *Plant Tissue Culture: Techniques and Experiments*. San Diego: Elsevier Inc.

Sridhar, T.M. and Aswath, C.D. 2014. Influence of additives on enhanced *in vitro* shoot multiplication of *Stevia rebaudiana* (Bert.)-An important anti diabetic medicinal plant. *American Journal of Plant Sciences*. **5**: 192-199.

Srivastava, L.M. 2002. *Plant Growth and Development : Hormones and Environment*. Florida: Elsevier Science.

Sujatha, M., Seymour, J.A., Mitchell, S.A., Ahmad, M.H. 2003. Shoot bud proliferation from axillary nodes and leaf sections of non-toxic *Jatropha curcas* L. *Plant Growth Regulation*. **47**: 83-90.

Thiagarajan, M. and Venkatachalam, P. 2012. Large scale *in vitro* propagation of *Stevia rebaudiana* (Bert) for commercial application: Pharmaceutically important and antidiabetic medicinal herb. *Industrial Crops and Products*. **37** :111-117.

Thorpe, T.A. 1981. *Plant Tissue Culture: Methods and Applications in Agriculture*. New York: Springer.

Trigiano, R.N. and Gray, D.J. 2005. *Plant Development and Biotechnology*. Florida: CRC Press.

Trigiano, R.N. and Gray, D.J. 2011. *Plant Tissue Culture, Development and Biotechnology*. Boca Raton: Taylor and Francis Group.

Vasil, I.K. 1986. *Plant Regeneration and Genetic Variability*. London: Academic Press.

Vila, S., Gonzalez, A., Rey, H. and Mroginski, L. 2005. Plant regeneration , origin and development of shoot buds from root segments of *Melia Azedarach* L. (Meliaceae) seedlings. *In Vitro Cell. Dev. Biol- Plant*. **41**: 746-751.

Wang, H., Petri, C., Burgos, L. and Alburquerque, N. 2013. Efficient *in vitro* shoot regeneration from mature apricot (*Prunus ameniaca L.*) cotyledons. *Scientia Horticulturae*. **160**: 300-305.

Watanabe, K.N. and Pehu, E. 1997. *Plant Biotechnology and Plant Genetic Resources for Sustainability and Productivity*. Texas: R.G. Landes.

Wolpert, L. and Tickle, C. 2011. *Principles of Development*. UK: Oxford.

Zakaria, M. and Mohd, M.A. 1994. *Traditional Malay Medicinal Plant*. Institut Terjemahan Negara Malaysia Berhad, Kuala Lumpur. Pg 30.

Zaidah, R. and Nazri, M.S. 2005. The effect of different plant growth regulators on shoot induction of *Orthosiphon aristatus* Boldingh. Skudai: Universiti Teknologi Malaysia.