

159 006
4000009003
HADIAH



**PEMENCILAN, PENULENAN DAN PENGKULTURAN
PROTOPLAS *Centella asiatica* DARIPADA
SEL TERAMPAI**

TEOH WAI LENG

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

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

**PROGRAM BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

2006



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

ABSTRAK

Centella asiatica (Linn.) Urban merupakan tumbuhan herba semusim yang tergolong dalam famili Umbelliferae. Kalus dari petiol *C. asiatica* telah diaruh pada medium separa pejal MS yang mengandungi 0.23 mgL^{-1} BAP, 0.21 mgL^{-1} 2,4-D, 3% (w/v) sukrosa dan 0.5 gL^{-1} kasein hidrolisat. Sel terampai dihasilkan dengan mengkultur kalus rapuh dalam medium cecair pengaruh kalus. Protoplas dipencilkan dengan menginkubasikan kalus dalam larutan enzim selama 14 jam. Empat jenis kombinasi enzim dan tempoh subkultur yang berlainan telah diuji terhadap penghasilan protoplas. Protoplas yang dipencilkan telah dikultur dalam medium $\frac{1}{2}$ B5 + 0.30 mgL^{-1} ZEA + 0.10 mgL^{-1} 2,4-D + 3% (w/v) sukrosa + 9% (w/v) manitol dengan kaedah titikan agarose pada *plating density* 1×10^5 protoplas/mL dalam keadaan gelap, suhu 25 ± 2 °C. Kombinasi enzim 1.5% (w/v) *Cellulase Onazuka* RS + 1.0% (w/v) *Macerozyme* R-10 + 0.5% (w/v) *Driselase* telah menghasilkan bilangan protoplas yang tertinggi iaitu 2.67×10^5 protoplas/mL pada tempoh subkultur 5 hari diikuti oleh kombinasi yang sama dengan hasil 1.28×10^5 protoplas/mL pada tempoh subkultur 7 hari. Seterusnya kombinasi enzim 1.5% (w/v) *Cellulase Onazuka* R-10 + 1.0% (w/v) *Macerozyme* R-10 + 0.5% (w/v) *Driselase* telah berjaya menghasilkan sebanyak 8.33×10^4 protoplas/ml pada tempoh subkultur 7 hari. Protoplas gagal dipencilkan dengan menggunakan kombinasi enzim 2.0% (w/v) *Cellulase Onazuka* R-10 + 1.0% (w/v) *Macerozyme* R-10 serta kombinasi enzim 2.0% (w/v) *Hemicellulase* + 1.0% (w/v) *Macerozyme* R-10. Keberdayaan protoplas hasil dari kombinasi enzim 1.5% (w/v) *Cellulase Onazuka* R-10 + 1.0% (w/v) *Macerozyme* R-10 + 0.5% (w/v) *Driselase* 1.5% (w/v) adalah lebih tinggi daripada *Cellulase Onazuka* RS + 1.0% (w/v) *Macerozyme* R-10 + 0.5% (w/v) *Driselase* dengan nilai 62.50% dan 57.98% masing-masing. Namun, protoplas yang dikultur gagal membahagi dalam media pengkulturan.

