

KESAN KEPEKATAN AMMONIUM NITRAT TERHADAP REGENERASI *Centella
asiatica* DARI BAHAGIAN DAUN

YAP SIEW MING

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

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

April 2007

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: Kesan Ammonium Nitrat Terhadap Regenerasi Centella asiatica dari Bahagian Dasar

Ijazah: Sarjana Muda Sains Dengan Kepujian

SESI PENGAJIAN: 2006 / 2007

Saya YAP SIEW MING

(HURUF BESAR)

mengaku membenarkan tesis (LPS/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 dalam AKTA RAHSIA RASMI 1972)

TERHAD

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

TIDAK TERHAD

Disahkan oleh

yap

(TANDATANGAN PENULIS)

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: D234 Lorong 16,
Taman Segati Indah,
08000 Sg. Petani, Kedah

Nama Penyelia

Tarikh: 23/4/2007

Tarikh: _____

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 disertasi bagi pengajian secara kerja kursus dan penyelidikan, atau Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).



PENGAKUAN

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

27 April 2007



YAP SIEW MING
HS2004-1394



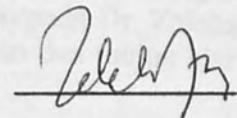
UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

DIPERAKUKAN OLEH

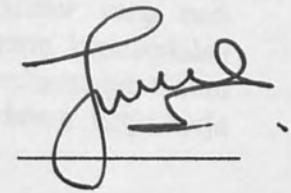
Tandatangan

1. PENYELIA

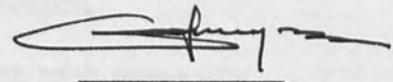
(DR. ZALEHA BTE ABD AZIZ)

**2. PEMERIKSA 1**

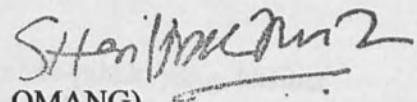
(DR. JUALANG @ AZLAN GANSAU)

**3. PEMERIKSA 2**

(DR. IVY WONG NYET KUI)

**4. DEKAN**

(SUPT / KS PROF. MADYA DR. SHARIFF A. KADIR S. OMANG)



PENGHARGAAN

Saya ingin mengambil kesempatan ini untuk merakamkan jutaan terima kasih dan setinngi-tinggi penghargaan kepada mereka yang telah memberi sokongan dan dorongan sepanjang kajian ini. Terlebih dahulu ucapan terima kasih ditujukan kepada Dr. Zaleha Abdul Aziz selaku penyelia saya yang telah banyak memberi sokongan dan tunjuk ajar dalam menjayakan projek kajian ini.

Di samping itu, penghargaan juga ditujukan kepada para *senior* yang sudi meluangkan masa untuk membantu saya dalam menyelesaikan sebarang kemasukan berkaitan kajian saya. Jutaan terima kasih juga diucapkan kepada pembantu-pembantu makmal Sekolah Sains dan Teknologi yang telah membantu saya dalam kerja-kerja makmal.

Dorongan dan sokongan daripada ahli-ahli keluarga amat penting. Buat ibu bapa dan keluarga yang tersayang, jutaan terima kasih diucapkan. Dorongan dan sokongan yang diberikan tidak dapat dinilai dengan wang ringgit walau apa sekalipun.

Ribuan terima kasih juga ditujukan kepada rakan-rakan yang telah memberikan bantuan sepanjang kajian ini terutamanya saudara Lim Gwo Yeong, saudari Michele Ak Udah dan saudari Yvonne Melse Laurence. Jasa anda semua amat bernilai dan tidak akan saya lupakan.

Akhir sekali, ribuan terima kasih diucapkan kepada pihak-pihak yang terlibat secara langsung atau tidak langsung dalam usaha penyempurnaan projek ini.

ABSTRAK

Centella asiatica dikenali di kalangan masyarakat Malaysia sebagai ulam yang mempunyai banyak khasiat seperti dapat menyembuhkan luka, merawat penyakit kusta, merawat penyakit kulit dan sebagainya. Dalam kajian ini, fungisid dengan kepekatan 250mg/l, antibiotik *Quilaxime* dengan kepekatan 250mg/l, dan klorox 15% (v/v) telah digunakan dalam kaedah pensterilan eksplan *C. asiatica*. Eksplan daun kemudian dikultur dalam media MS yang mengandungi kombinasi hormon BAP dan NAA. Kombinasi yang pertama merupakan 5mg/l hormon BAP dan 0.1mg/l hormon NAA manakala kombinasi yang kedua merupakan 2mg/l hormon BAP dan 0.4mg/l hormon NAA. Memandangkan objektif kajian ini adalah untuk mengkaji kesan kepekatan ammonium nitrat yang berbeza terhadap regenerasi pucuk, ammonium nitrat dengan kepekatan 0mg/l, 500mg/l, 1000mg/l, 1650mg/l, 2000mg/l, 3000mg/l, 4000mg/l dan 5000mg/l telah dimasukkan ke dalam media regenerasi yang mengandungi kombinasi hormon BAP dan NAA tersebut. Peratus eksplan membentuk kalus yang tertinggi ($90.6\% \pm 12$) boleh dilihat pada media yang mengandungi 2mg/l BAP dan 0.4mg/l NAA dalam kehadiran 1650mg/l ammonium nitrat. Pembentukan akar pula dapat diperhatikan pada media regenerasi yang mengandungi 2mg/l BAP + 0.4mg/l NAA dengan ammonium nitrat berkepekatan 1000mg/l ($3.13\% \pm 6.25$) dan 1650mg/l ($3.13\% \pm 6.25$). Regenerasi akar adalah melalui organogenesis secara tidak langsung. Walaupun tiada pembentukan pucuk yang berlaku, namun pembentukan kalus nodular sedikit sebanyak memberi harapan pucuk akan berkembang daripada kalus nodular tersebut.

ABSTRACT

Centella asiatica is one of the local herbs that is claimed to possess various physiological effects such as in wound healing, treating leprosy and skin disease. In this project, 250mg/l fungicide, 250mg/l antibiotic Quilaxime and 15% (v/v) clorox were used to sterile *C. asiatica*. The explants were then cultured in media containing two combinations of hormone BAP and NAA. The first combination consists of 5mg/l hormone BAP and 0.1mg/l hormone NAA while the second combination consists of 2mg/l hormone BAP and 0.4mg/l hormone NAA. Since the main objective was to evaluate the effect of different concentration of ammonium nitrate on shoot regeneration, approximately 0mg/l, 500mg/l, 1000mg/l, 1650mg/l, 2000mg/l, 3000mg/l, 4000mg/l and 5000mg/l of ammonium nitrate was added into media containing hormone BAP and NAA. The highest percentage of explant forming callus ($90.6\% \pm 12$) was seen on media containing 2mg/l BAP and 0.4mg/l NAA with 1650mg/l ammonium nitrate. Other than callus, roots formed on the media containing 2mg/l BAP and 0.4mg/l NAA with 1000mg/l ammonium nitrate ($3.13\% \pm 6.25$) and 1650mg/l ammonium nitrate ($3.13\% \pm 6.25$). Regeneration of roots was through indirect organogenesis. Although there was no regeneration of shoots, formation of nodular callus gave hope that shoots will be formed from the nodular callus.

KANDUNGAN

	Muka Surat
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	ix
SENARAI RAJAH	xi
SENARAI FOTO	xii
SENARAI SIMBOL	xiv
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
 BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN	 5
2.1 Taksonomi <i>Centella asiatica</i>	5
2.2 Pengenalan <i>Centella asiatica</i>	6
2.3 Ciri-ciri Morfologi	7
2.3.1 Daun	7
2.3.2 Bunga	8
2.3.3 Buah	8
2.4 Habitat	8
2.5 Cara Pemakanan	9
2.6 Kegunaan dalam Perubatan	10
2.7 Pembibitan dan Penanaman	11
2.8 Komponen Aktif dalam Pegaga	12
2.8.1 Asiatikosida	12
2.8.2 Asid madekassik	13
2.8.3 Asid asiatik	14
2.8.4 Madekassosida	14
2.8.5 Bahan Ekstrak yang Lain	14
2.9 Kandungan Nutrien, Garam Mineral dan Vitamin	15
2.10 Regenerasi	17
2.10.1 Organogenesis	18
2.11 Pembentukan Kalus	21
2.12 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Organogenesis	22
2.12.1 Hormon	22
2.12.2 Kepekatan Ammonium Nitrat	23
2.12.3 Persekitaran	25
 BAB 3 BAHAN DAN KAEDAH	 26
3.1 Kaedah Penyediaan Larutan Stok	26
3.1.1 Penyediaan 500mL Larutan Stok Makronutrien Media MS Tanpa Ammonium Nitrat (10x)	26
3.1.2 Penyediaan 500mL Larutan Stok Ammonium Nitrat (20g/L)	27



3.1.3 Penyediaan 1L Larutan Stok Mikronutrien Media MS (100x)	28
3.1.4 Penyediaan 1L Larutan Stok Vitamin Media MS (100x)	29
3.1.5 Penyediaan 1L Larutan Stok FeNaEDTA Media MS (100x)	30
3.1.6 Penyediaan 50mL Larutan Stok Hormon BAP (1mg/mL)	31
3.1.7 Penyediaan 50mL Larutan Stok Hormon NAA (1mg/mL)	32
3.2 Kaedah Penyediaan 100mL Media Agar untuk Pengkulturan Eksplan	32
3.3 Kaedah Penyediaan dan Pensterilan Eksplan Daun	37
3.4 Pengkulturan Eksplan pada Media MS yang Telah Disediakan	39
3.5 Parameter yang Dicerap	42
BAB 4 KEPUTUSAN	44
4.1 Perubahan Eksplan Daun Sepanjang Kajian Regenerasi	45
4.2 Pembentukan Organ Oleh Ekplan Daun	47
4.3 Penbentukan Kalus	53
4.4 Kontaminasi	67
4.5 Keperangan	68
BAB 5 PERBINCANGAN	69
5.1 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Regenerasi	69
5.2 Kontaminasi	72
5.3 Keperangan	74
BAB 6 KESIMPULAN	77
RUJUKAN	79
LAMPIRAN	86

SENARAI JADUAL

No. Jadual	Muka Surat
2.1 Kandungan nutrient yang terdapat dalam 100g bahagian pegaga yang boleh dimakan	16
2.2: Kandungan garam mineral yang terdapat dalam 100g bahagian pegaga yang boleh dimakan	16
2.3 Kandungan vitamin yang terdapat dalam 100g bahagian pegaga yang boleh dimakan	17
3.1 Komponen-komponen yang digunakan dalam penyediaan larutan stok makronutrien media MS tanpa ammonium nitrat (10x)	27
3.2 Komponen-komponen yang digunakan dalam penyediaan larutan stok mikronutrien media MS (100x)	29
3.3 Komponen-komponen yang digunakan dalam penyediaan larutan stok vitamin media MS (100x)	30
3.4 Komponen-komponen yang digunakan dalam penyediaan larutan stok FeNaEDTA media MS (100x)	31
3.5 Isipadu larutan stok ammonium nitrat yang perlu ditambah ke dalam 100mL media MS	35
3.6 Kombinasi hormon BAP dan NAA dalam media kod A dan media kod B	36
3.7 Kepekatan hormon BAP, hormon NAA, dan ammonium nitrat dalam setiap media	41



4.1 Peratus eksplan membentuk akar dalam media yang mengandungi 5mg/l BAP + 0.1mg/l NAA dan 2mg/l BAP + 0.4mg/l NAA	49
4.2 Peratus eksplan membentuk kalus nodular pada media yang mengandungi 5mg/l BAP + 0.1mg/l NAA dan 2mg/l BAP + 0.4mg/l NAA	51
4.3 Peratus eksplan membentuk kalus bagi eksplan yang dikultur dalam media yang mengandungi kombinasi 5mg/l hormon BAP dan 0.1mg/l hormon NAA dalam kehadiran ammonium nitrat berkepekatan dari 0mg/l hingga 5000mg/l	56
4.4 Peratus eksplan membentuk kalus bagi eksplan yang dikultur dalam media yang mengandungi kombinasi 2mg/l hormon BAP dan 0.4mg/l hormon NAA dalam kehadiran ammonium nitrat berkepekatan dari 0mg/l hingga 5000mg/l	57
4.5 Peratus eksplan membentuk kalus nodular pada eksplan daun yang dikultur dalam media set A (5mg/l BAP + 0.1mg/l NAA) dan set B (2mg/l BAP + 0.4mg/l NAA).	64



SENARAI RAJAH

No. Rajah	Muka Surat
2.1 Struktur kimia asiatiscosa	13
2.2 Struktur kimia asid madekassik	13
2.3 Struktur kimia asid asiatik	14
2.4 Perbezaan antara organogenesis secara langsung dengan organogenesis secara tidak langsung.	21
3.1 Kaedah pensterilan yang digunakan dalam kajian	38
3.2 Cara pemotongan daun pegaga kepada eksplan berbentuk segi empat	39

SENARAI FOTO

No. Foto	Muka Surat
2.1 <i>Centella asiatica</i>	5
2.2 Bunga <i>Centella asiatica</i>	8
3.1 Tumbuhan pegaga yang telah dipotong pada bahagian petiol	39
3.2 Cara pemotongan daun pegaga kepada eksplan berbentuk segi empat	39
3.3 Eksplan daun yang dikultur dalam piring Petri	42
4.1 Perubahan eksplan daun sepanjang kajian regenerasi selama lapan minggu	46
4.2 Akar yang tumbuh selepas penghasilan kalus pada media B2 pada minggu pengkulturan kelapan	52
4.3 Kalus yang terhasil dengan warna yang berlainan	58
4.4 Kalus solid yang terbentuk	59
4.5 Kalus yang terbentuk pada eksplan yang dikultur dalam 5mg/l hormon BAP dan 0.1mg/l hormon NAA	60
4.6 Kalus yang terbentuk pada eksplan yang dikultur dalam 2mg/l hormon BAP dan 0.4mg/l hormon NAA	61
4.7 Perkembangan kalus nodular dari minggu pengkulturen kelima hingga minggu pengkulturan kesembilan	65
4.8 Kalus nodular yang terhasil pada media yang mengandungi 2mg/l hormon BAP dan 0.4mg/l hormon NAA pada minggu pengkulturan kelapan	66
4.9 Eksplan yang telah terkontaminasi	67

4.10 Eksplan yang mengalami keperangan	68
--	----

SENARAI SIMBOL

Simbol	Maksud
%	peratus
ml	milliliter
L	liter
mg	milligram
g	gram
°C	darjah Celsius
cm	sentimeter
mm	millimeter
µg	mikro gram
min	minit

BAB 1

PENDAHULUAN

Centella asiatica merupakan ahli kepada famili Umbelliferae. Pegaga merupakan nama tempatan *C. asiatica* di Malaysia. Di India pula, ia lebih dikenali sebagai “Indian Pennywort” atau “Mandookaparni”. *Centella asiatica* merupakan herba yang tumbuh secara semula jadi di negara India, South Afrika dan Malaysia. Pegaga ialah sejenis herba yang tumbuh menjalar. Kebanyakan pegaga tumbuh dengan subur di kawasan yang teduh dan lembap (Ismail Saidin, 2000). Antara ciri-ciri pegaga ialah mempunyai daun yang berbentuk seperti buah pinggang (Tampubolon & Apoteker, 1981) dengan diameter daunnya bersaiz kira-kira dua centimeter hingga lima centimeter lebar. Terdapat jenis pegaga yang tepi daunnya bergerigi dan terdapat juga yang agak licin. Menurut Samy *et al.* (2005), panjang petiol pegaga pula kira-kira 10cm hingga 20cm bergantung kepada sub-spesiesnya. Bunganya berwarna merah sedangkan buahnya kecil seperti buni dan berbentuk lonjong

Centella asiatica dikenali di kalangan masyarakat Melayu Malaysia sebagai ulam yang enak dan mempunyai banyak khasiat. Antaranya khasiatnya ialah dapat menguatkan daya ingatan (Goh *et al.*, 1995) dan menyembuhkan luka (Kamarudin Mat-Salleh & Latiff, 2002). Pegaga telah digunakan sejak 3000 tahun dahulu dalam perubatan ayurvedic di India. Di samping itu, pegaga juga digunakan untuk merawat penyakit kusta, penyakit kulit, bronkitis dan asma (Nath & Buragohain, 2003). Dalam perubatan tradisional China pula, pegaga digunakan untuk merawat depresi dan juga untuk melanjutkan usia. Kebolehan pegaga untuk menyembuhkan pelbagai penyakit berkait rapat dengan komponen bioaktif yang terkandung di dalam extraknya.

Pegaga merupakan ulam yang sering dimakan sebagai sayuran mentah. Selain dimakan, air perahannya diminum untuk menyihatkan badan (Panel Penulis PCT, 2002). Menurut Jaganath & Ng (2000), pegaga juga diproses menjadi teh pegaga dan produk kesihatan. Ekstrak pegaga pula digunakan untuk menghasilkan produk penjagaan kulit dan juga barang kosmetik. Berita IDS melaporkan bahawa pegaga menduduki satu daripada tangga sepuluh teratas dalam senarai jenis herba yang paling popular digunakan di Amerika dan Eropah. Permintaan terhadap pegaga yang semakin meningkat khususnya pada peringkat global telah memberikan beberapa implikasi kepada negara pengeluar.

Eksploitasi yang berlebihan terhadap populasi pegaga yang sedia ada dan usaha penanaman semula yang kurang efisien menyebabkan bekalan pegaga semakin berkurangan. Di India, pegaga telah disenaraikan sebagai spesies yang diancam pemupusan oleh International Union for Conservation of Nature and National Resources

(IUCN) (Pandey *et al.*, 1993). Sumber yang lain pula menyatakan bahawa pegaga merupakan spesies yang hamper pupus di India (Singh, 1989; Sharma & Kumar, 1998).

Bagi memenuhi permintaan pasaran pegaga, para penyelidik mula menggunakan kaedah kultur tisu tumbuhan untuk membiakkan pegaga. Penggunaan kaedah kultur tisu juga penting dalam pemuliharaan pegaga yang mempunyai nilai perubatan yang tinggi ini (Tripathi & Tripathi, 2003). Kebaikan aplikasi kaedah kultur tisu tumbuhan dalam pembiakan pegaga ialah dapat menghasilkan tumbuhan pegaga dalam bilangan yang besar dalam masa yang singkat (Sangwan & Sangwan-Norreel, 1989). Babu *et al.* (1995) menyatakan pegaga yang dihasilkan melalui kaedah tisu kultur adalah lebih berkualiti berbanding dengan pegaga yang ditanam oleh para petani kerana proses pengkulturan pegaga dilakukan dalam keadaan yang steril.

Dalam kaedah kultur tisu seperti kaedah regenerasi, pucuk pegaga yang baru boleh dihasilkan daripada mana-mana bahagian yang terdapat pada pokok induk. Daripada kajian yang telah dilakukan, pucuk pegaga yang baru telah berjaya digenerasi daripada bahagian daun, pucuk (Patra *et al.*, 1998), petiol dan juga internod (Martin, 2004). Terdapat dua kaedah yang digunakan dalam regenerasi iaitu organogenesis dan somatik embryogenesis. Walaubagaimanapun, kebanyakan kajian regenerasi pegaga yang telah dilakukan di Universiti Malaysia Sabah adalah berasaskan organogenesis.

Dalam kajian ini, bahagian daun *C. asiatica* digunakan untuk menjalankan kaedah regenerasi. Regenerasi pegaga diramal melalui proses organogenesis. Eksplan daun akan

dikultur dalam media MS yang mengandungi kombinasi hormon BAP dan NAA dengan kepekatan ammonium nitrat yang berbeza. Kombinasi yang pertama merupakan 5.0mg/L hormon BAP + 0.1mg/L hormon NAA dengan ammonium nitrat berkepekatan dari 0mg/L hingga 5000mg/L. Kombinasi yang kedua pula terdiri daripada 2.0mg/L hormon BAP + 0.4mg/L hormon NAA dengan ammonium nitrat berkepekatan dari 0mg/L hingga 5000mg/L. Kedua-dua kombinasi hormon BAP dan NAA tersebut telah berjaya merangsang pembentukan pucuk pegaga dalam kajian regenerasi yang dilakukan tetapi tidak efisien. Objective utama kajian ini ialah untuk menilai kesan kepekatan ammonium nitrat yang berlainan terhadap frekuensi regenerasi pucuk.

BAB 2

ULASAN PERPUSTAKAAN

2.1 Taksonomi *Centella asiatica*

Alam : Plantae
Filum : Spermatophyta
Kelas : Dikotiledon
Order : Umbelliforae
Famili : Umbelliferae
Spesies : *Centella asiatica*

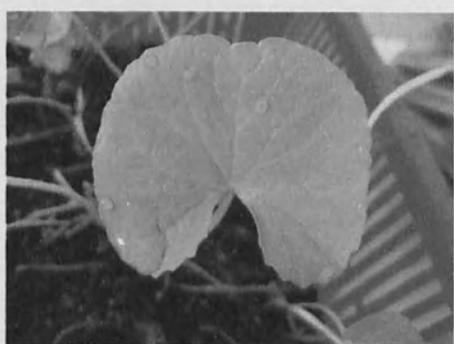


Foto 2.1 *Centella asiatica*

2.2 Pengenalan *Centella asiatica*

Centella asiatica merupakan ahli kepada famili Umbelliferae. *Centella asiatica* ataupun pegaga dikenali di kalangan masyarakat Melayu Malaysia sebagai ulam yang enak. Selain nama pegaga, *Centella asiatica* juga biasa dipanggil Gotu Kola. Di India, ia lebih dikenali sebagai *Indian Pennywort* atau “Mandookaparni”. Pegaga juga dipanggil gagan-gagan di Jawa dan bergelar antanan di Sunda (Tampubolon & Apoteker, 1981).

Centella asiatica merupakan herba yang tumbuh secara semula jadi di negara India, Afrika Selatan dan Malaysia. Pegaga telah digunakan sejak 3000 tahun dahulu dalam perubatan ayurvedic di India. Jaganath & Ng (2000) melaporkan nama indianya yang berbunyi brahm membawa maksud *bringing knowledge of the supreme reality*, dan digunakan dalam meditasi. Dalam perubatan tradisional China pula, pegaga digunakan untuk merawat depresi dan juga untuk melanjutkan usia (Samy *et al.*, 2005). Menurut Kamarudin Mat-Salleh & Latiff (2002), keseluruhan bahagian tumbuhan ini mempunyai khasiat yang tinggi dan telah digunakan sejak zaman-berzaman di Kepulauan Melayu untuk mengubati pelbagai penyakit. Mahanom Hussin *et al* (2005) menyatakan bahawa pegaga menjadi popular disebabkan potensinya sebagai agen pemulihan luka dan tonik. Pada masa kini, Pertubuhan Kesihatan Sedunia (WHO) telah menggolongkannya sebagai tumbuhan yang mempunyai nilai perubatan dan perlu dipelihara (MARDI, 2000).

Ulam ini biasanya tumbuh liar dan mudah didapati dengan harga yang murah. Oleh itu, pegaga sangat popular di kalangan penduduk kampung (Panel penulis PCT,

2002). Pegaga tempatan biasanya dijual oleh pengusaha-pengusaha kecil di mana mereka memperoleh pegaga ini daripada pekebun-pekebun setempat. Selain itu, segelintir penduduk tempatan juga menanamnya sendiri dan menjualnya di pasar.

2.3 Ciri-ciri Morfologi

Pegaga merupakan herba menjalar dengan batang stolon dan berizom pada buku ruas. Tumbuhan ini berupa tumbuhan menahun yang batangnya merayap, banyak menghasilkan cabang yang membentuk tumbuhan baru (Indu & Ng, 2000), sehingga membentuk rumpun yang menutupi tanah. Tiga sub-spesies daun pegaga boleh dijumpai di Malaysia. Antaranya ialah pegaga salad, pegaga ubi dan pegaga nyonya yang juga dikenali sebagai pegaga kerinting (Abdul Reezal Abdul Latif, 2005). Ciri-ciri fizikal seperti saiz dan bentuk daun membezakan tiga sub-spesies pegaga di Malaysia (Samy *et al.*, 2005).

2.3.1 Daun

Daun pegaga tumbuh roset pada buku ruas, berbentuk seperti ginjal selebar kira-kira dua hingga lima centimeter dengan panjang tangkai daunnya antara 10cm hingga 20cm bergantung kepada sub-spesies pegaga (Samy *et al.*, 2005). Menurut Mansor (1990), terdapat jenis pegaga berbentuk ginjal yang tepi daunnya bergerigi dan terdapat juga yang agak licin. Daunnya berwarna hijau tua dan beraroma sedikit apabila diramas (Ismail Saidin, 2000).

2.3.2 Bunga

Menurut MARDI (2000), warna bunga pegaga ialah di antara merah jambu ke merah dan tumbuh secara berkelompok berdekatan dengan permukaan tanah. Bunganya sangat kecil dan hampir tidak kelihatan (Samy *et al.*, 2005) dengan diameter tidak lebih daripada 3mm. Setiap bunga mempunyai lima hingga enam kelopak, lima stamen dan dua stil.



Foto 2.2 Bunga *Centella asiatica*

2.3.3 Buah

Buah pegaga kecil seperti buni, halus dan berwarna putih kehijauan (Ismail Saidin, 2000), berbentuk lonjong dan berbau agak wangi (Oswald, 1981).

2.4 Habitat

Pegaga dapat bertumbuh liar di bawah pelbagai jenis keadaan. Terdapat jenis pegaga yang hidup subur di tempat yang teduh. Walaubagaimanapun, terdapat juga pegaga yang lebih gemar tumbuh di tempat yang terdedah kepada sinaran matahari. Lazimnya,

kebanyakan tumbuhan ini dijumpai di kawasan yang lembap seperti kolam, tasik dan sebagainya (Jaganath & Ng, 2000). Selain itu, terdapat sumber lain yang melaporkan pegaga ditemui di celah-celah rumput di tanah yang subur dan bersaliran baik serta ditanam di halaman rumah (Panel Penulis PCT, 2002). Tampubolon & Apoteker (1981) pula megatakan tumbuhan ini tumbuh di sekitar pantai sampai ke ketinggian 2500 meter di atas permukaan laut. Habitatnya merangkumi kawasan tropika dan separa tropika (Samy *et al.*, 2005).

2.5 Cara Pemakanan

Pegaga sering dimakan sebagai sayur untuk penambah selera makan terutamanya di kalangan orang Melayu. Menurut Panel Penulis PCT (2002), pokok pegaga yang diambil daunnya boleh dijadikan sayuran mentah yang paling menyelerakan. Biasanya, pegaga dimakan dengan sambal kelapa dan udang kering atau dimasak dengan santan dan cili. Kadang-kala, pegaga juga dibuat kerabu atau sebagai ramuan nasi ulam (Ismail Saidin, 2000). Selain dimakan, pegaga juga boleh dibuat jus dengan mendidih daun pegaga dalam air. Untuk menghilangkan rasa pahitnya, gula atau madu boleh ditambah sebelum diminum (Samy *et al.*, 2005). Di negara Filipina, daun pegaga kerap diproses menjadi teh untuk diminum (James, 2000).

- Corbineau, F., Engelmann, F. & Come, D. 1990. Ethylene production as an indicator of chilling injury in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) somatic embryos. *Plant Sci* **71**, ms. 29-34.
- Das, S., Jha, T.B. & Jha, S. 1996. Organogenesis and regeneration from pigmented callus in *Camellia sinensis* (L.). *Jurnal of Plant Science*, ms. 207-212.
- Do, C. B. & Cormier, F. 1991. Effects of high ammonium concentration on growth and anthocyanin formation in grape (*Vitis vinifera* L.) cell suspension cultured in a production medium. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **27**, ms. 169-174.
- Evans, D. E., Coleman, J. O. D. & Kearns, A. 2003. *Plant Cell Culture*. BIOS Scientific Publishers, London.
- Gamborg, O. L. & Philips, G. C. 1995. *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture Fundamental Method*. Springer-verlag Berlin Heideberg, Germany.
- Ghosh, B. E. & Sen, S. 1994. Micropropagation of asparagus cooperi as affected by growth regulators. *Journal of Biologia Plantarum* **36**, ms. 527-534.
- Goh, S.H., Chuah, C.H., Mok, J. S. & Soepadimo, E. 1995. *Malaysian Medicinal Plants for The Treatment of Cardiovascular Disease*. Pelanduk Publication, Kuala Lumpur.
- Gollagunta, V., Adelberg, J. E., Rieck, J. & Rajapakse, N. 2005. Sucrose in storage media dan cultivar affects post-storage regrowth of *in vitro* Hosta propagules. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **80**, ms. 191-199.
- Green, J. F. & Muir, R.M. 1979. An analysis of the role of potassium in the growth effects of cytokinin, light and abscisic acid on cotyledon expansion. *Physiol Plant* **46**, ms. 19-24.

- Hall, R. D. 1991. *The Initiation and Maintenance of Callus Cultures of Carrot and Tabacco*. Kluwer Academic, The Netherlands.
- Hart, J. W. 1988. *Light and Plant Gowth*. Unwin Hyman, London.
- Herbert, D., Paramasvan, C. N., Prabhakar, R. & Swaminathan, G. 1994. *In vitro* experiment with *Centella asiatica*. *Indian J Leprosy* **66**(1), ms.65-68.
- Hsu Y. L., Kuo P. O., Lin L. T. & Lin C. C. 2005. Asiatic acid, a triterpene, induces apoptosis and cell cycle arrest through activation of extracellular signal regulated kinase and p38 mitogen-activated protein kinase pathways in human breast cancer cells. *J. Pharmacology and Experimental Therapeutics* **313**, ms. 333-344.
- Inamdar, P. K., Yeole, R. D., Ghogare, A.B. & Souza, N. J. 1996. Determination of biologically active constituents in *Centella asiatica*. *Jurnal of Chromatography A* **742**, ms. 127-130.
- Ismail Saidin. 2000. *Sayuran Tradisional Ulam dan Penyedap Rasa*. Penerbit Universiti Kebangsaan Malaysia Bangi, ms. 146.
- Jaganath, I. B. & Ng, L. T. 2000. *Herb: The Green Pharmacy of Malaysia*. Malaysian Agricultural Research and Development Institute (MARDI), ms. 21-24.
- James, A. D. 2000. *CRC Handbook of Medicinal Herbs*. CRC Press Inc, Boca Raton, ms.109-110.
- Kamarudin Mat Saleh & Latiff, A. 2002. *Tumbuhan Ubatan Malaysia*. Universiti Kebangsaan Malaysia Bangi, ms. 295-296.

- Kyte, L. & Kleyn, J. 1996. *Plants from Test Tubes: An Introduction to Micropropagation*. Timber Press, Portland.
- Larcher, W. 2003. *Physiological Plant Ecology*. Ed. ke-4. Springer, Germany.
- Lee, S. C. & Liew, S. L. 2000. *Biologi STPM*. Jilid 1. Penerbit Fajar Bakti, Selangor.
- Mahanom Hussin, Azizah Abdul-Hamid, Suhaila Mohamad, Nazamid Saari, Maznah Ismail, Mohd. Hair Bejo. 2005. Protective effect of *Centella asiatica* extract and powder on oxidative stress in rats. *Food Chemistry*.
- Mancinelli, A. L. 1989. Interaction between cryptochrome and phytochrome in higher plant photomorphogenesis. *Amer J Bot* **76**, ms.143-154.
- Mansor Puteh. 1990. *Teknologi Pelbagai Tanaman*. Institut Penyelidikan dan Kemajuan Pertanian Malaysia (MARDI), Kuala Lumpur, ms. 45-46.
- MARDI. 2000. *Herba Berpotensi di Malaysia*. Institut Penyelidikan dan Kemajuan Pertanian Malaysia.
- Marino, G., Bertazza, G., Magnanini, E. & Altan, A. D. 1993. Comparative effects of sorbitol and sucrose as main carbon energy source in micropropagation of apricot. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **34**, ms. 235-244.
- Marquart, F. X., Chastang, F., Simeon, A. Birembaut, P., Gillery, P. & Wegrowski, Y. 1999. Triterpenes from *Centella asiatica* stimulate extracellular matrix accumulation in rat experimental wound. *Eur. J. Dermatol* **9**, ms. 289-296.
- Martin, K. P. 2004. Plant regeneration through somatic embryogenesis in medicinally important *Centella asiatica*. *In vitro Cell. Dev. Biol.-Plant* **40**, ms. 586-591.

- Masuda, K., Kikuta, Y. & Okazawa, Y. 1981. Regulation of development by glutamine and nitrate in parsley endosperm culture. *Japan J Crop Sci* **50**, ms. 125-130.
- Morini, S., Sciutti, R. & Fortuna, P. 1992. *In vitro* growth response of *Prunus cerasifera* shoots as influenced by different light-dark cycles and sucrose concentrations. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **28**, ms. 245-248.
- Nath, S. & Buragohain, A. K. 2003. In Vitro method for propagation of *Centella asiatica* (L) urban by shoot tip culture. *J. Plant Biochemistry & Biotechnology* **12**, ms. 167-169.
- Niranjan, P. S. K.R. & Ninra, S. B. 1998. *Plant Cell and Tissue Culture*. Pelanduk Publication, Kuala Lumpur, ms. 207-304.
- Pandey, N. K., Tewari, K. C., Tewari, R. N., Joshi, G. C., Pande, V. N. & Pandey, G. 1993. *Medicinal Plants of Kumaon Himalaya Strategies for Conservation*. No. 3. Himavikas Publications, Nanital.
- Panel Penulis PCT. 2002. *Tanaman Sayuran*. Penerbitan PCT Sdn. Bhd., Selangor.
- Paramageetham, Ch., Prasad Babu, G. & Rao, J. V. S. 2004. Somatic embryogenesis in *Centella asiatica* L. An important medicinal and neutraceutical plant of India. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **79**, ms. 19-24.
- Park B. C., Bosire, K. O., Lee E. S., Lee Y. S. dan Kim J. A. 2005. Asiatic acid induces apoptosis in SK-MEL-2 human melanoma cells. *Cancer Letter* **218**, ms. 81-90.
- Patra, A., Rai, B., Rout, G.R. & Das, P. 1998. Successful plant regeneration from callus cultures of *Centella asiatica* (Linn.) Urban. *J. Plant Growth Regul* **18**, ms. 13-16.

Philips, G. C., Hubstenburger, J. F. & Hansen, E. E. 1995. *Plant Regeneration by Organogenesis from Callus and Cell Suspension Cultures*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany.

Poddar, K., Vishnoi, R. K. & Kothari, S. L. 1997. Plant regeneration from embryogenic callus of finger millet *Eleusine coracana* (L.) Gaertn. on higher concentration of NH_4NO_3 as a replacement of NAA in the medium. *Plant Science* **129** (1), ms. 101-106.

Rehm, H. J. & Reed, G. 1993. *A Multi Volume Comprehensive Treatise Biotechnology*. Velt, Weibhem

Ross, C. W. & Salisburg, F. B. 1992. *Fisiologi Tumbuhan*. Dewan Bahasa dan Pustaka, Kuala Lumpur, ms. 337-364.

Samy, J., Sugumaran, M. & Lee L. W. 2005. *Herbs of Malaysia*. Times Edition.

Sangwan, R.S. & Sangwan-Norreel, B.S. 1989. *The Impact of Biotechnology in Agriculture*. Kluwer Academic Publisher, The Netherlands.

Saxena, C., Palai, S. K., Samantaray, S., Rout, G. R. & Das, P. 1997. Plant regeneration from callus of *Psoralea corylifolia* Linn. *Plant Growth Reg* **24**, ms. 13-16.

Sharma, B. L. & Kumar A. 1998. *Biodiversity of Medicinal Plants of Trigugi Narain (Garhwal Himalaya) and Their Conservation*. National Conference on Recent Trends in Spices and Medicinal Plant Research, Calcutta.

Sharp, W. R. & Larsen, P. O. 1979. *Plant Cell and Tissue Culture: Current Application and Potential*. Ohio State University, Columbus.

- Shetty, K., Asano, Y. & Oosawa, K. 1992. Stimulation of *in vitro* shoot organogenesis in *Glycine max* (Merrill.) by allantoin and amides. *Plant Science* **81** (2), ms. 245-251.
- Singh, H. G. 1989. Himalaya herbs and drugs importance and extinction threat. *J. Sci. Res. Plants Med* **10**, ms. 47-52.
- Skoog, F. & Miller, C. O. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation. *Syimposium of The Society for Experimental Biology* **11**, ms. 118-131.
- Taji, A., Kumar, P. P. & Lakshmanan, P. 2002. *In Vitro Plant Breeding*. CBS Publisher, New Delhi, ms. 5-8.
- Tampubolon, O. T. & Apoteker. 1981. *Tumbuhan Obat bagi Pencinta Alam*. Penerbit bhratara Karya aksara, Jakarta, ms. 27-28.
- Trigiano, R. N. & Gray, D. J. 2000. *Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises*. CRC Press.
- Tripathi, L. & Tripathi, J. N. 2003. Role of biotechnology in medicinal plants. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* **2** (2), ms. 243-253.
- Zainol, M. K., Abd-Hamid, A., Yusof, S. & Muse, R. 2002. Antioxidative activity and total phenolic compounds of leaf, root and petiole of four accessions of *Centella asiatica* (L.) Urban. *Food Chemistry* **81**, ms. 575-581.