

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: Regenerasi Centella asiatica dari Bahagian Petiol.

Ijazah: Sarjana Muda Sains

SESI PENGAJIAN: 2004/2005

Saya MICHELE ANAK UDAH
(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 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 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

(TANDATANGAN PENULIS)

Ditahkan oleh
(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: 216, Lorong A5,
Gaman BDC Stampin,
93350 Kuching, Sarawak.

Dr. Zaleha Abdul Aziz
Nama Penyelia

Tarikh: 20/4/07

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).



REGENERASI *CENTELLA ASIATICA* DARI BAHAGIAN PETIOL

MICHELE ANAK UDAH

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

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

PROGRAM BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

April 2007

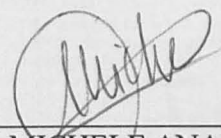


UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGAKUAN

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

April 2007



MICHELE ANAK UDAH
(HS2004-4415)

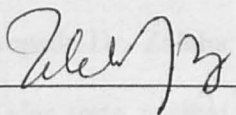


DIPERAKUKAN OLEH

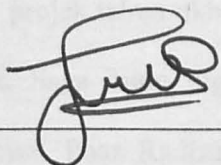
Tandatangan

1. PENYELIA

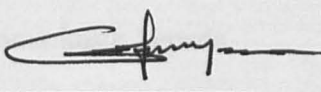
(DR ZALEHA BTE ABD AZIZ)

**2. PEMERIKSA 1**

(DR. JUALANG AZLAN GANSAU)

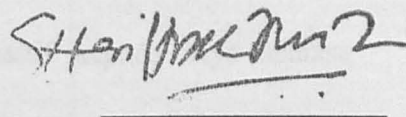
**3. PEMERIKSA 2**

(DR. IVY WONG NYET KUI)

**3. DEKAN**

(SUPT/KS. ASSOCIATE PROFESSOR

DR. SHARIFF A. KADIR S. OMANG)



PENGHARGAAN

Di sini saya ingin mengucapkan ribuan terima kasih khas ditujukan kepada Dr. Zaleha Abdul Aziz selaku penyelia saya atas segala bimbingan, dan tunjuk ajar serta nasihat yang telah diberikan kepada saya semasa melakukan dan menyiapkan projek tahun akhir ini. Segala tunjuk ajar dan nasihat daripada Dr. amat saya hargai. Saya ingin juga mengucapkan terima kasih kepada pembantu makmal-pembantu makmal, Puan Radizah dan Puan Rokiah sentiasa bersedia untuk memberi bantuan kepada saya semasa saya menjalani projek ini. Tidak lupakan juga saya ingin mengucapkan terima kasih kepada semua kakak-kakak, abang-abang pasca siswazah dan kakak-kakak RA yang turut memberi banyak nasihat dan bantuan kepada saya sepanjang menjalankan projek ini. Saya juga ingin mengucapkan terima kasih kepada kedua-dua ibu bapa serta keluarga saya sentiasa memberi galakan dan sokongan yang positif kepada saya semasa menyiapkan projek ini. Akhir sekali, saya ingin mengucapkan terima kasih kepada para pensyarah, rakan-rakan dan semua pihak yang terlibat semasa saya menjalani projek ini, segala bantuan anda amat saya hargai.



Abstrak

Centella asiatica yang juga dikenali sebagai pegaga yang berasal dari famili Apiaceae atau Umbelliferae, merupakan sejenis tumbuhan herba yang mempunyai nilai komersial yang tinggi. Oleh itu, tumbuhan herba ini perlu dikaji bagi mencari satu sistem regenerasi yang efisien dan optimal bagi menghasilkan *C. asiatica* yang bukan sahaja berkualiti tinggi tetapi juga mampu dihasilkan dalam kuantiti yang banyak bagi menampung permintaan pasaran. Kajian ini telah dijalankan untuk menilai kesan Pluronic F-68 ke atas regenerasi *C. asiatica* daripada bahagian petiol. Sebanyak 24 jenis rawatan Pluronic F-68 telah dikaji pada dua jenis media regenerasi dengan kombinasi hormon 2.0 mg/l BAP + 0.1 mg/l NAA + 1.0 mg/l kinetin (kombinasi hormon set I) dan 2.0 mg/l BAP + 0.1 mg/l NAA (kombinasi hormon set II). Kepekatan Pluronic F-68 yang dikaji ialah 0%, 0.001%, 0.01%, 0.1%, 0.5% dan 1.0% (w/v). Kesan penggunaan medium agar dan gelrite juga dikaji. Daripada keputusan yang telah diperoleh, eksplan pada media gelrite dengan kombinasi hormon 2.0 mg/l BAP + 0.1 mg/l NAA + 1.0 mg/l kinetin menunjukkan penghasilan kalus yang lebih memberangsangkan dan lebih cepat dibandingkan dengan eksplan pada media-media yang lain. Eksplan dari media gelrite dengan kombinasi hormon 2.0 mg/l BAP + 0.1 mg/l NAA + 1.0 mg/l kinetin dengan Pluronic F-68 pada kepekatan 0.001%, 0.01%, 0.1%, 0.5% dan 1.0% mempunyai 100% eksplan menghasilkan kalus pada minggu keempat dan minggu kelima. Daripada kajian ini juga, didapati media yang mengandungi Pluronic F-68 mempunyai kadar pertumbuhan kalus yang lebih cepat berbanding media yang tidak ditambah dengan Pluronic F-68. Kepekatan Pluronic F-68 yang mempunyai kadar penghasilan kalus yang paling memberangsang ialah 0.1% (w/v). Walaupun pembentukan pucuk tidak terhasil dalam kajian ini tetapi kedua-dua kombinasi hormon ini telah menghasilkan kalus-kalus nodular yang berpotensi menghasilkan pucuk.

Abstract

Centella asiatica which is also known as pegaga is originated from Apiaceae or Umbelliferae family, is a type of herbal plant that has a high commercial value need. Therefore, it is essential to find an optimal and efficient regeneration system that enable to produce not only high quality but as well able to produce in high quantity in amount of this herbal plant. This study was carried out to regenerate *C. asiatica* from petiol segment. There were 24 types of media used with two types of hormone combinations which include 2.0 mg/l BAP + 0.1 mg/l NAA + 1.0 mg/l kinetin (set I hormone combination) dan 2.0 mg/l BAP + 0.1 mg/l NAA (set II hormone combination) to test the effect of Pluronic F-68 with the concentrations of 0%, 0.001%, 0.01%, 0.1%, 0.5% and 1.0%. The effect of two types of gelling agents which were agar and gelrite were also evaluated. The results showed that media solidified with gelrite with combination of a hormone with set I gave the highest explants producing callus. Explants that cultured on gelrite media with a hormone combination of 2.0 mg/l BAP + 0.1 mg/l NAA + 1.0 mg/l kinetin and concentration of Pluronic F-68 0.001%, 0.01%, 0.1%, 0.5% and 1.0% formed 100% callus on the fourth and fifth week of culture. From this research, it was found that the media with Pluronic F-68 have higher percentage of explants forming callus than the media without Pluronic F-68. The concentration of Pluronic F-68 that gave the highest percentage of explants forming callus was 0.1% (w/v). Although the formation of shoots was not observed in this study the media tested should be further evaluated for media potential in producing shoots. This is because nodular callus have been reported to have the potential to regenerate into shoots.



KANDUNGAN

	Muka Surat
HALAMAN JUDUL	i
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	viii
SENARAI RAJAH	ix
SENARAI FOTO	x
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
 BAB 2 ULASAN LITERATUR	 2
2.1 <i>Centella asiatica</i>	4
2.2 Kompaun Aktif	5
2.3 Fungsi <i>Centella asiatica</i>	7
2.4 Kultur Tisu Tumbuhan	7
2.5 Regenerasi	8
2.6 Organogenesis	10
2.7 Somatik Embriogenesis	11
2.8 Faktor-faktor Mempengaruhi Organogenesis	
2.8.1 Pengawalan Pertumbuhan Tumbuhan	12
2.8.2 Faktor Sumber Eksplan	14
2.8 Pluronik F-68	15
2.9 Agen Gel	
2.9.1 Agar	16
2.9.2 Gelrite	17



BAB 3 BAHAN DAN KAEDAH

3.1 Kaedah Penyediaan Larutan Stok MS (Murashige & Skoog, 1962)	19
3.1.1 Penyediaan Larutan Stok Makronutrien (10x) untuk 1L	20
3.1.2 Penyediaan Larutan Stok Mikronutrien (100x) untuk 1L	21
3.1.3 Penyediaan Larutan Stok Vitamin (100x) untuk 1L	22
3.1.4 Penyediaan Larutan Stok FeNa EDTA (100x) untuk 1L	22
3.2 Penyediaan Media MS (1L) Untuk Regenerasi Petiol <i>Centella asiatica</i>	23
3.3 Kombinasi Hormon dan Kepekatan Hormon Yang Digunakan	24
3.4 Penyediaan Larutan Stok Pluronik F-68	25
3.5 Penyediaan Stok Hormon	
3.5.1 Penyediaan Stok Hormon Sitokinin BAP (1mg/ml)	28
3.5.2 Penyediaan Stok Hormon Auksin NAA (1mg/ml)	28
3.5.3 Penyediaan Stok Hormon Sitokinin Kinetin (1mg/l)	29
3.6 Pensterilan Eksplan Petiol	29
3.7 Parameter Yang Dicerap	30

BAB 4 KEPUTUSAN

4.1 Kesan Penggunaan Media Agar dan Gelrite Terhadap Kadar Penghasilan Kalus Dari Eksplan	33
4.2 Kesan Penggunaan Pluronic F-68 Terhadap Kadar Penghasilan Kalus Dari Eksplan	39
4.3 Perkembangan Kalus	40

BAB 5 PERBINCANGAN

5.1 Kesan Media Agar dan Gelrite Terhadap Kadar Penghasilan Kalus Dari Eksplan	49
5.2 Kesan Pluronic F-68 Terhadap Penghasilan Kalus Dari Eksplan	51
5.3 Faktor-faktor Mempengaruhi Eksplan Menghasilkan Kalus	53
5.4 Keperangan	54
5.5 Masalah Kontaminasi	55



SENARAI JADUAL

No. Jadual	Muka Surat
3.1 Komponen-komponen MS Makronutrien	20
3.2 Komponen-komponen MS Mikronutrien	21
3.3 Komponen-komponen MS Vitamin	22
3.4 Komponen-komponen FeNa EDTA	22
3.5 Set media pertama dengan kombinasi hormon BAP dan NAA serta Pluronic F-68 yang digunakan ke atas media agar dengan media gelrite.	26
3.6 Set media kedua dengan kombinasi hormon BAP, NAA dan Kinetin serta Pluronic F-68 digunakan ke atas media agar dengan media gelrite.	27
4.1 Peratus eksplan menghasilkan kalus bagi media gelrite dengan kombinasi hormon 2.0 mg/l BAP+0.1 mg/l NAA+1.0 mg/l Kinetin.	36
4.2 Peratus eksplan menghasilkan kalus bagi media gelrite dengan kombinasi hormon 2.0 mg/l BAP+0.1 mg/l NAA.	36
4.3 Peratus eksplan menghasilkan kalus bagi media agar dengan kombinasi hormon 2.0 mg/l BAP+0.1mg/l NAA+1.0 mg/l Kinetin.	37
4.4 Peratus eksplan menghasilkan kalus bagi media agar dengan kombinasi hormon 2.0 mg/l BAP+0.1 mg/l NAA.	37
4.5 Peratus eksplan menghasilkan pucuk bagi media gelrite dengan kombinasi hormon 2.0 mg/l BAP + 0.1 mg/l NAA + 1.0 mg/l Kinetin..	41
4.6 Peratus eksplan menghasilkan pucuk bagi media gelrite dengan kombinasi hormon 2.0 mg/l BAP + 0.1 mg/l NAA.	42
4.7 Peratus eksplan menghasilkan pucuk bagi media gelrite dengan kombinasi hormon 2.0 mg/l BAP + 0.1 mg/l NAA + 1.0 mg/l Kinetin..	42
4.8 Peratus eksplan menghasilkan pucuk bagi media agar dengan kombinasi hormon 2.0 mg/l BAP + 0.1 mg/l NAA.	43

SENARAI RAJAH

No. Rajah	Muka Surat
2.1 Struktur-struktur kimia yang terdapat dalam tumbuhan <i>Centella asiatica</i> , struktur (I) asid asiatik, (II) asiatikosida, (III) asid madekassik dan (IV) madekassosida (Inamdar <i>et al.</i> 1996).	6
2.2 Formula struktur bagi Pluronik F-68 (Khatun <i>et al.</i> 1993).	17
3.1 Carta aliran untuk kaedah pensterilan eksplan.	29

SENARAI FOTO

No. Foto	Muka Surat
1.1 Struktur am <i>Centella asiatica</i> .	5
1.2 Struktur bunga <i>Centella asiatica</i> .	5
4.1 Pembentukan kalus daripada eksplan petiol yang dikulturkan pada media gelrite dengan kombinasi hormon 2.0 mg/l BAP + 0.1 mg/l NAA + 1.0 mg/l Kinetin + 0.001% Pluronic F-68 (Media berkod AI).	44
4.2 Penghasilan kalus pada media agar dengan kombinasi hormon 2.0 mg/l BAP + 0.1 mg/l NAA + 1.0 mg/l Kinetin + Pluronic F-68 0.001% (media berkod AI).	44
4.3 Penghasilan kalus pada media CI gelrite (2.0 mg/l BAP+0.1mg/l NAA+1.0 mg/L kinetin dengan 0.1% Pluronic F-68).	45
4.4 Pembentukan kalus pada media CI agar (2.0 mg/l BAP+0.1mg/l NAA+1.0 mg/L kinetin dengan 0.1% Pluronic F-68).	45
4.5 Kalus yang terbentuk pada medium yang berkod CII (Gelrite + 2.0 mg/l BAP + 0.1mg/l NAA + 0.1% Pluronic F-68).	46
4.6 Perubahan pada kalus yang dikulturkan pada media agar yang mengandungi kombinasi hormon 2.0 mg/l BAP + 0.1mg/l NAA + 1.0 mg/L kinetin (kombinasi hormon set I) dengan kepekatan Pluronic F-68 yang berbeza.	47
4.7 Perubahan pada kalus yang dikulturkan pada media agar yang mengandungi kombinasi hormon 2.0 mg/l BAP + 0.1mg/l NAA (kombinasi hormon set II) dengan kepekatan Pluronic F-68 yang berbeza.	48

BAB 1

PENDAHULUAN

Centella asiatica, juga dikenali sebagai 'Indian Pennywort', 'Gotu Kola' dan 'Mandookaparni', berasal dari famili Umbelliferae atau nama lain dipanggil famili Apiaceae. Secara umumnya, famili Umbelliferae merangkumi spesies-spesies tumbuhan herba yang secara kebiasaannya tumbuh di kawasan yang beriklim sederhana. Contoh tumbuhan yang juga berasal dari famili ini termasuk lobak merah (*Daucus carota*) dan saderi. *Centella asiatica* merupakan sejenis tumbuhan menjalar yang mempunyai daun bersaiz kecil. Secara kebiasaannya, *C. asiatica* tumbuh dalam keadaan yang redup serta di tempat-tempat lembap dan berair seperti di paya, kolam dan di sekitar tasik (Jaganath *et al.*, 2000).

Centella asiatica merupakan sejenis tumbuhan yang mempunyai khasiat yang banyak, di antaranya menguatkan daya ingatan dan menyembuhkan luka. *Centella asiatica* juga banyak diguna sebagai perubatan tradisional dan moden. *Centella asiatica* dipercayai mampu mengubah selera makan dan merawat penyakit seperti bronkitis, asma, penyakit kusta, demam dan penyakit kulit (Kakkar, 1988).



Centella asiatica merupakan salah satu jenis tumbuhan herba yang mempunyai nilai komersial yang tinggi di Malaysia seperti dalam bidang farmaseutikal, kimia industri, pertanian dan perubatan. Terdapat banyak kajian telah dilakukan ke atas *C. asiatica* seperti menguji kandungan nutrien dan kehadiran metabolit sekunder. *Centella asiatica* merupakan sejenis tumbuhan herba yang sangat penting pada masa sekarang sebab tumbuhan ini mempunyai nilai perubatan dan nilai nutrien yang tinggi yang mampu membantu dalam banyak rawatan (Ajitkumar & Seeni, 1998).

Oleh sebab permintaan yang tinggi terhadap penggunaan tumbuhan *C. asiatica* ini, suatu sistem regenerasi perlu dikaji bagi mencari suatu sistem regenerasi yang efisien dan optimal bagi menghasilkan *C. asiatica* yang berkualiti dan berkuantiti tinggi. Dalam projek ini, petiol eksplan *C. asiatica* telah digunakan bagi mengkaji kesan penggunaan bahan Pluronic F-68 terhadap pembentukan pucuk. Selain itu, dua jenis agen gel iaitu agar dan gelrite yang digunakan dalam media dengan kombinasi hormon yang telah ditetapkan turut digunakan bagi menguji kesan penggunaan agen gel yang berbeza terhadap pertumbuhan pucuk dari petiol. Berdasarkan kajian yang telah dilakukan, penggunaan bahan Pluronic F-68 dipercayai mampu merangsangkan pembentukan pucuk dari eksplan dalam kadar yang lebih tinggi berbanding dengan tiada penambahan bahan Pluronic F-68 (Khatun *et al.*, 1993). Penggunaan agen gel pula memberi kesan yang berbeza terhadap spesies tumbuhan yang berbeza dan juga pada spesies tumbuhan yang sama tetapi pada bahagian tumbuhan yang berbeza.

Dalam projek ini, jenis media yang digunakan dalam regenerasi *C. asiatica* ialah MS media (Murashige & Skoog, 1962) di mana media ini merupakan salah satu media yang terbaik



BAB 2

ULASAN LITERATUR

2.1 *Centella asiatica*

Centella asiatica merupakan sejenis tumbuhan herba yang bersaiz kecil dan mempunyai daun yang berbentuk seperti ginjal. Selain itu, *C. asiatica* turut mempunyai bunga yang berwarna merah atau merah jambu di mana saiz bunganya adalah sangat kecil dan tumbuh secara berkumpulan pada internod tumbuhan. *Centella asiatica* mempunyai petiol yang panjang dan daunnya banyak bertumbuh secara berkelompok pada internod tumbuhan. *Centella asiatica* boleh dipropagasikan secara asexual dengan kaedah vegetatif atau melalui penanaman biji benih.

Centella asiatica atau pegaga dalam Bahasa Melayu biasa digunakan di kalangan rakyat Malaysia sebagai sayuran, ulam, minuman kesihatan, perubatan dan sebagainya. Tumbuhan ini semakin mendapat sambutan dalam pasaran disebabkan oleh nilai komersial yang tinggi dalam bidang farmaseutikal, perubatan, pertanian dan kimia industri.

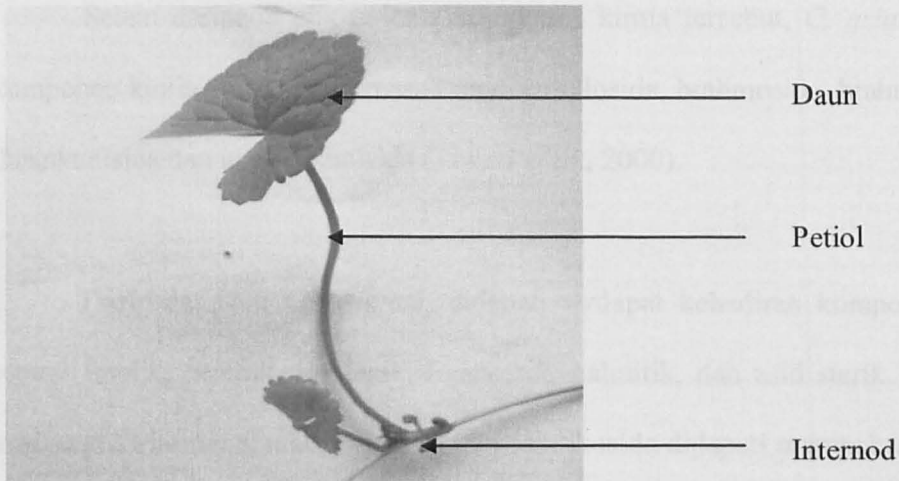


Foto 1.1 Struktur am *Centella asiatica*.

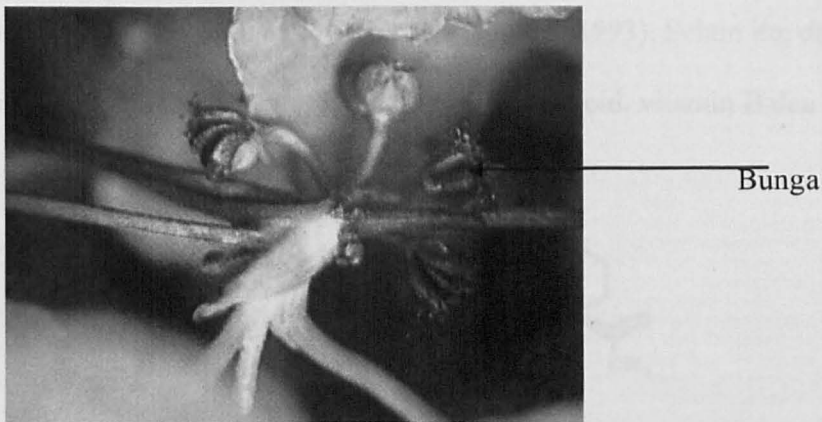


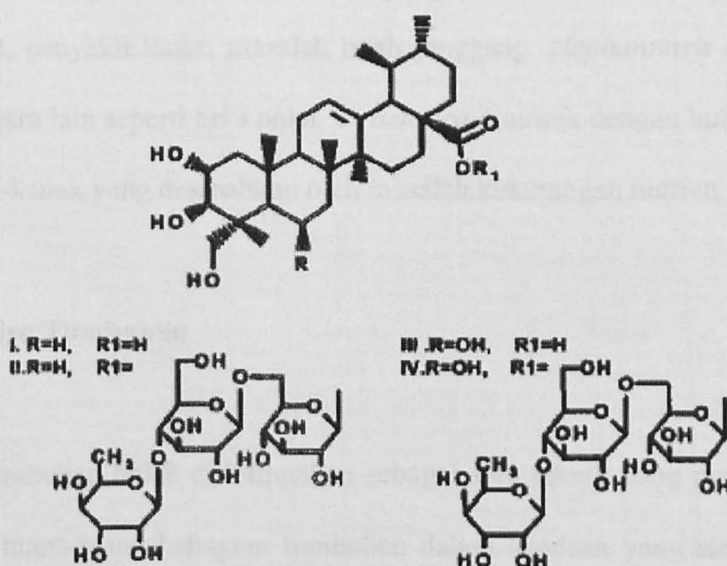
Foto 1.2 Struktur bunga *Centella asiatica*.

2.1.2 Kompaun Aktif

Asid asiatik, asiatikosida, asid madekassik dan madekassosida merupakan empat jenis pecahan triterpenoid yang didapati terkandung dalam tumbuhan *C. asiatica*. Keempat-empat jenis komponen kimia ini dipercayai berpotensi untuk dikomersialkan.

Selain daripada empat jenis komponen kimia tersebut, *C. asiatica* turut mempunyai komponen kimia yang lain termasuk indocentellosida, brahmosida, brahminosida, asiaticosida, theankunisida dan isothankunisida (Tiwari *et al.*, 2000).

Daripada daun *C. asiatica*, didapati terdapat kehadiran komponen-komponen kimia seperti linolik, centoik, linolenik, lignoserik, palmitik, dan asid sterik. Tambahan pula, asid madasiatik triterpene, madekassoide, dan asiaticosida didapati merupakan kompaun aktif yang terlibat dalam rawatan penyakit kusta bersama dengan komponen-komponen lain seperti 3-glycosyl quercetin, 3-glycosyl kaemferol, and 7-glycosyl kaempferol yang turut didapati hadir dalam daun *C. asiatica* (Rastogi and Mehrotra, 1993). Selain itu, daun *C. asiatica* juga didapati mengandungi kandungan nutrien seperti karotenoid, vitamin B dan C yang tinggi.



Rajah 2.1 Struktur-struktur kimia yang terdapat dalam tumbuhan *Centella asiatica*, struktur (I) asid asiatik, (II) asiaticosida, (III) asid madekassik dan (IV) madekassossida (Inamdar *et al.*, 1996) .

2.3 Fungsi *Centella asiatica*

Centella asiatica merupakan sejenis tumbuhan herba tempatan yang telah dikenali ramai di mana tumbuhan ini mempunyai pelbagai fungsi terapi yang berguna. Terdapat banyak laporan telah melaporkan kegunaan *C. asiatica*. Di antaranya oleh Goh *et al.* (1995) menyatakan bahawa *C. asiatica* membantu dalam penyembuhan luka, mempertingkatkan daya ingatan dan merawat kelesuan. Selain itu, *C. asiatica* juga diketahui mempunyai kemampuan sebagai antialergi, antikanser, merawat demam (Kan, 1986), aktiviti antitekanan dan antituberculosis (Chakraborty *et al.*, 1996; Srivastava *et al.*, 1997).

Dalam sistem perubatan tradisional India, *C. asiatica* merupakan sejenis tumbuhan herba yang dipercayai boleh membantu dalam pelbagai rawatan seperti asma, bronkitis, penyakit kulit, penyakit kusta, masalah buah pinggang, *elephantiasis* dan *urethritis* (Kakkar, 1988). Di negara lain seperti Sri Lanka, *C. asiatica* dimasak dengan bubur untuk dibagi makan kepada kanak-kanak yang disebabkan oleh masalah kekurangan nutrien (Cox *et al.*, 1993).

2.4 Kultur Tisu Tumbuhan

Kultur tisru tumbuhan boleh didefinisikan sebagai satu teknik yang melibatkan pengkulturan eksplan atau mana-mana bahagian tumbuhan dalam keadaan yang steril pada medium yang telah ditetapkan komponen-komponen yang diperlukan bagi tujuan propagasi tumbuhan (Imelda *et al.*, 2003). Kejayaan dalam kultur tisru tumbuhan bergantung kepada beberapa faktor termasuk kebersihan dan kesterilan persekitaran semasa membuat kerja pengkulturan, pilihan

dalam menentukan komponen nutrien media, jenis dan kepekatan pengawalan pertumbuhan tumbuhan (plant growth regulators) dan pemindahan platlet ke persekitaran *ex vitro* (Imelda *et al.*, 2003).

Tujuan utama kultur tisú tumbuhan ini dilakukan adalah untuk regenerasi tumbuhan dan menghasilkan klon tumbuhan melalui dua kaedah utama iaitu organogenesis dan embryogenesis. Kultur tisú tumbuhan merupakan sebuah bidang yang boleh diaplikasikan dalam pelbagai bidang yang lain seperti pertanian, hortikultur dan kejuruteraan genetik tumbuhan. Teknologi kultur tisú tumbuhan atau kultur *in vitro* melibatkan pelbagai kaedah dalam pengkulturan tumbuhan seperti mikropropagasi, pemencilan dan pengkulturan protoplas, penghasilan metabolit sekunder daripada kultur ampaián sel dan kultur akar berambut (*hairy root culture*) serta kejuruteraan genetik tumbuhan.

2.5 Regenerasi

Regenerasi boleh didefinisikan sebagai kecenderungan yang ditunjukkan oleh sesuatu organisma tumbuhan dalam memulihkan bahagian yang telah secara fisikalnya dialihkan ke suatu tempat (medium) bagi membentuk suatu organisma yang lengkap (Sinnott, 1979). Apabila suatu eksplan atau kalus dikulturkan pada suatu medium (pejal atau cecair), regenerasi tumbuhan boleh dilakukan dalam dua cara iaitu organogenesis dan somatik embryogenesis.

Terdapat banyak regenerasi telah dilakukan ke atas *C. asiatica*. Ini disebabkan *C. asiatica* merupakan salah satu tumbuhan herba yang sangat penting dalam bidang perubatan



dan ekonomi sekarang maka regenerasi perlu dilakukan untuk mendapat satu kaedah yang efisien bagi meningkatkan hasil propagasi yang tinggi untuk memenuhi target pasaran. Dalam kajian yang telah dijalankan oleh Martin (2004), beliau telah memperoleh somatic embryogenesis dan regenerasi *C. asiatica* dalam frekuensi yang tinggi bagi penghasilan kalus daripada bahagian daun (petiol dan lamina) serta eksplan internode. Dalam kajian beliau menunjukkan pengawalan pertumbuhan (growth regulators) adalah penting dalam mempengaruhi frekuensi penghasilan somatik embryogenesis dan juga regenerasi tumbuhan di mana kombinasi auksin (NAA atau 2,4-D) dengan KN dapat menghasilkan frekuensi yang sangat tinggi dalam embryogenesis daripada kalus. Dalam kajian yang dijalankan oleh Paramageetham *et al.* (2004) pula menunjukkan kepekatan BAP (4.44 dan 8.87 μM) atau Kinetin (4.65 dan 9.29 μM) yang tinggi dikombinasikan dengan IAA (0.57 dan 2.85 μM) atau NAA (0.54 dan 2.69 μM) dapat menghasilkan organogenesis pucuk.

2.6 Organogenesis

Suatu proses dipanggil organogenesis apabila struktur seperti pucuk atau akar tumbuh daripada permukaan eksplan atau kalus. Proses organogenesis boleh dibahagi kepada dua kaedah iaitu organogenesis secara langsung dan tidak langsung. Organogenesis secara langsung melibatkan pembentukan organ (adventitious shoot or root) terus daripada eksplan. Organogenesis secara tidak langsung pula ialah suatu proses pembentukan organ daripada kalus.



Rujukan

- Ajitkumar, D. & Seeni, S. 1998. Rapid clonal multiplication through *in vitro* axillary shoot proliferation of *Aegle marmelos* (L.). Corr., a medicinal tree. *Plant Cell Reports* **17**, ms. 422-426.
- Baird, J. K., Sandford, P. A., & Cottrell, I. W. 1983. Industrial applications of some new microbial polysaccharides. *Bio/Technology* **1**, ms. 778-783.
- Banerjee, S., Zehra, M., & Kumar, S. 1999. *In vitro* multiplication of *Centella asiatica*, a medicinal herb from leaf explant. *Curr. Sci.* **76**, ms. 147-148.
- Bonga, J. M., & Aderkas, P. V. 1992. *In Vitro Culture of Trees*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Chakraborty, T., Sinha Babu, S. P., & Sukul, N. C. 1996. Preliminary evidence of antifilarial effect of *Centella asiatica* on *Canine dirofilariasis*. *Fitoterapia* **67**, ms. 110-112.
- Cox, D. N., Rajasuriya, S., Soysa, P. E., Gladwin, J., & Ashworth, A. 1993. Problems encountered in the community based production of leaf concentrate as a supplement for pre-school children in Sri Lanka. *International Journal of Food Science and Nutrition*, **44**, 123-132.
- Evans, D. E., Coleman, J.O.D., dan Kearns, A. 2003. *Plant Cell Culture: The Basics*. BIOS Scientific Publishers, London.
- Goh, S. H., Chuah Mok, J. S. L. & Soepadmo, E. 1995. *Malaysian Medicinal Plants for the Treatment of Cardiovascular Diseases*. Petaling Jaya: Pelanduk Publication Sdn. Bhd.



- Huang, L. C., Kohashi, C., Vangundy, R., & Murashige, T. 1996. Effect of common components on hardness of culture media prepared with gelrite. *In Vitro Cell Dev Biol* **31**, ms. 84–89.
- Hunault, G. & Du Manoir, J. 1992. Micropropagation of fennel (*Foeniculum vulgare* Miller). In: Bajaj, Y. P. S., ed. High-tech and micropropagation III. *Biotechnology in agriculture and forestry* **19**. Berlin: Springer-Verlag, ms. 119-217.
- Ichi, T., Kado, T., Asai, T., Hatanaka, A. & Sekiya, J. 1986. Effects of gelling agents on *in vitro* culture of plant tissues. *Agric Biol Chem* **50**, ms. 2397–2399.
- Imelda, M., Ermayanti, T. M., dan Rahmawati, S., 2003. Laboratory manual for plant tissue culture. Dlm: *Agricultural Biotechnology : Principle and Practice*. ASEAN SCB dan LIPI, Indonesia, ms. 117.
- Inamdar, P. K., Yeole, R. D., Ghogare, A. B. & De Souza, N. J. 1996. Determination of biologically active constituents in *Centella asiatica*. *Journal of Chromatography A* **742**, ms. 127-130.
- Jaganath, I. B. & Ng, L. T. 2000. *The Green Pharmarcy of Malaysia*. MARDI, Serdang.
- Jayanthi, M & Mandal , P. K. 2001. Plant regeneration through somatic embryogenesis and RAPD analysis of regenerated plants in *Tylophora indica* (Burm. f. Merrill.). *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* **37**, ms. 576-580.



- Kakkar, K. K. 1988. Mandukaparni-medicinal uses and therapeutic efficacy. *Indian Drugs* **26**, ms. 92-97.
- Kan, W. S. 1986. *Pharmaceutical botany*, ms. 416. Taiwan: National Research Institute of Chinese Medicine.
- Khatun, A., Laouar, L., Davey, M. R., Power, J. B., Mulligan, B. J., & Lowe, K. C. 1993. Effects of Pluronic F-68 on shoot regeneration from cultured jute cotyledons and on growth of transformed roots. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **34**, ms. 133-140.
- Khehra, M., Lowe, K. C., Davey, M. R. & Power, J. B. 1995. An improved micropropagation system for *Chrysanthemum* based on Pluronic F-68-supplemented media. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **41**, ms. 87-90.
- Kumar, U. 2003. *Methods in Plant Tissue Culture*. Agrobios, India.
- Kumar, V., Laouar, L., Davey, M. R., Mulligan, B. J., & Lowe, K. C. 1992. Pluronic F-68 stimulates growth of *Solanum dulcamara* in culture. *Journal of Experimental Botany* **43**, ms. 487-492.
- Kyte, L. dan Kleyn, J. 1999. *Plants From Test Tubes: An Introduction to Micropropagation*. Ed. Ke-3. Timber press, Inc., U.S.A.
- Lowe, K. C., Davey, M. R., Power, J. B. & Mulligan, B. J. 1993. Surfactant supplements in plant culture systems. *Agro-Food Industry Hi-Tech* **4**, ms. 9-13.
- Martin, K. P. 2004. Plant regeneration through somatic embryogenesis in medicinally important *Centella asiatica* L. *In Vitro Cell. Dev. Biol.* **40**, ms. 586-591.



- Murashige, T. & Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiology Plant* **15**, ms. 473-497.
- Nagl, W. & Popp, F. 1983. A physical (electromagnetic) model of differentiation: I. Basic considerations. *Cytobios* **37**, ms. 45-62.
- Omar, M. S. & Novak, F. J. 1990. *In vitro* plant regeneration and ethylmethanesulphonate (EMS) uptake in somatic embryos of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **20**, ms. 185-190.
- Paramageetham, C., Babu, G. P. & Rao, J.V.S. 2004. Somatic embryogenesis in *Centella asiatica* L. an important medicinal and nutraceutical plant of India. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **79**, ms. 19-24.
- Pasqualetto, P. L., Zimmerman, R. H. & Fordham, I. 1988. The influence of cation and gelling agent concentrations on vitrification of apple cultivars *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **14**, ms. 31-40.
- Patra, A., Rai, B., Rout, G. R., & Das, P. 1998. Successful plant regeneration from callus cultures of *Centella asiatica* (Linn.) Urban. *Plant Growth Regulation* **24**, ms.13-16.
- Puchooa, D., Purseramen, P. N., & Rujbally, B. R. 1999. Effects of medium support and gelling agent in the tissue culture of tobacco (*Nicotiana tabacum*). University of Mauritius.



- Pulido, M., Harry, I. S. & Thorpe, T. 1990. *In vitro* regeneration of plantlets of Canary Island pine (*Pinus canariensis*). *Canadian Journal of Forest Research* **20**, ms.1200-1211.
- Rastogi, R. P., Mehrotra, B. N., eds. Compendium of Indian medicinal plants, vol. 3, 1980-1984. New Delhi: CDRI Publication Information Directorate: 1993: 80-84.
- Romberger, J. A. & Tabor, C. 1971. The *Picea abies* shoot apical meristem in culture. I. agar and autoclaving effects. *American Journal of Botany* **58**, ms. 131-140.
- Sahrawat, A. K. & Chand, S. 2002. Somatic embryogenesis and plant regeneration from root segments of *Psoralea corylifolia* L., an endangered medicinally important plant. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* **38**, ms. 33-38.
- Scherer, P. A., Muller, E., Lippert, H., & Wolff, G. 1988. Multielement analysis of agar and gelrite impurities investigated by inductively coupled plasma emission spectrometry as well as physical properties of tissue culture media prepared with agar or the gellan gum gelrite. *Acta Hort* **226**, ms. 655-658.
- Sinnott, E. W. 1979. *Plant Morphogenesis*. McGraw-Hill, U.S.A.
- Srivastava, R., Shukla, Y. N. & Kumar, S. 1997. Chemistry and pharmacology of *Centella asiatica*: a review. *Journal of Media Arom. Plant Sci.* **19**, ms. 1049-1056.
- Tawfik, A. A. & Noga, G. 2002. Cumin regeneration from seedling derived embryogenic callus in response to amended kinetin. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **69**, ms. 35-40.



Tiwari, K. N., Sharma, N. C., Tiwari, V. & Singh, B. D. 2000. Micropropagation of *Centella asiatica* (L.), a valuable medicinal herb. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **63**, ms. 179-185.

Von, A. S., 1987. Improved efficiency of somatic embryogenesis in mature embryos of *Picea abies* (L.) Karst. *Journal of Plant Physiology* **128**, ms. 233-244.

Witjaksono, 2003. Organogenesis and somatic embryogenesis: recent advances. Dlm: *Agricultural Biotechnology : Principle and Practice*. ASEAN SCB dan LIPI, Indonesia, ms. 16.

