

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: PENGENALPASTIAN PIGMEN DI DALAM DUA SP. ORKID

VANDA YANG DIKULTUR PADA KEDADAAU CAHAYA YAU
 BERBEZA DENGAN MENGGUNAKAN MIKROSKOP PENDAFLOUR
 ULTRAUNGU (UV)

IJAZAH: SARJANA MUDA SAINS DENGAN KEPUSTAKAAN BIOTEKNOLOGISAYA JURY TISE TAUNSON SESI PENGAJIAN: 2003 - 2006
 (HS2003-2820) (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 (/)

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

(Mengandungi maklumat yang berdarjah keselamatan atau Kepentingan Malaysia seperti yang termaktub di dalam AKTA RAHSIA RASMI 1972)

 SULIT TERHAD TIDAK TERHAD

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

Disahkan Oleh

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

DR. JUALANG AZLAN GANSAL

Nama Penyelia

(TANDATANGAN PENULIS)

Alamat Tetap: PERUNIATAN S.E.C.,
 LG DURIAN TUNJUNG, P84,
 B7000 W.P. LARUAN

Tarikh: 26/04/06

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 disertai bagi pengajian secara kerja kursus dan Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).



PENGENALPASTIAN PIGMEN DI DALAM DUA SPESIES ORKID *VANDA* YANG
DIKULTUR PADA KEADAAN CAHAYA YANG BERBEZA
DENGAN MENGGUNAKAN
MIKROSKOP PENDARFLOUR
ULTRAUNGU (UV).

JURY TISE

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

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

PROGRAM BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

MAC 2006

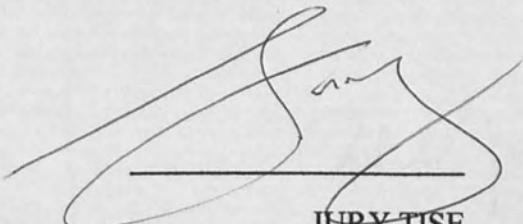


UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGAKUAN

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

Mac 2006



A handwritten signature consisting of several loops and lines, appearing to read "Sany".

JURY TISE

HS2003-2820

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

DIPERAKUKAN OLEH

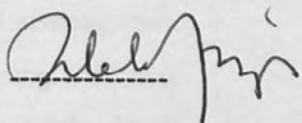
Tandatangan


1. PENYELIA

(Dr. Jualang Azlan Abdullah Gansau)

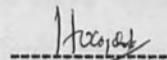
2. PEMERIKSA 1

(Dr. Zaleha Abdul Aziz)

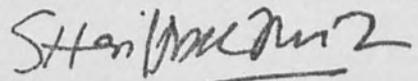

3. PEMERIKSA 2

(Prof. Ho Coy Choke)

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH


4. DEKAN

(SUPT/KS Prof. Madya Dr. Shariff A. Kadir S. Omang, ADK)




PENGHARGAAN

Setinggi-tinggi kesyukuran dipanjangkan ke hadrat Illahi kerana dengan limpah kurnia dan keizinanNya dapat saya siapkan projek II ini walaupun terdapat banyak rintangan pada peringkat awal sehingga peringkat penulisan.

Pertama dan terutama kalinya, saya ingin menyatakan terima kasih saya kepada penyelia projek tahun akhir saya, Dr. Jualang Azlan Abdullah Gansau kerana kesabaran dalam membimbing, mengajar dan bantuan yang telah diberikan kepada saya. Saya telah mempelajari banyak dari Dr. Jualang bukan sahaja untuk menjadi seorang ahli bioteknologi yang baik tetapi bagaimana untuk hidup, dari komunikasi yang baik dan bernes dengan segala prihatin yang telah diberikan. Saya mungkin tidak dapat mengingati segala fakta daripada kuliah yang telah diberikan, tetapi saya tidak akan melupakan segala bantuan dan bimbingan dalam tahun akhir saya ini. Saya tidak mungkin dapat menjadi seperti Dr. Jualang, tetapi apabila saya lebih berkeupayaan kelak, saya akan cuba untuk membantu kehidupan orang lain seperti yang telah dilakukan dan ditunjukkan oleh Dr. Jualang.

Kepada semua pensyarah-pensyarah Bioteknologi, terutamanya Dr. Zaleha Abdul Aziz, saya ingin mengucapkan jutaan terimakasih kepada bantuan yang berlarutan. Tanpa nasihat dan komen, laporan projek ini tidak akan menjadi seperti sekarang ini. Segala inspirasi yang telah diberikan akan saya bawa dan terapkan dalam diri. Pengetahuan yang saya perolehi daripada kamu semua telah membentuk saya untuk menjadi seorang yang lebih berpengetahuan, berbeza daripada saya pada tiga tahun yang lalu.

Kepada semua pelajar Sarjana, terutamanya cik Devina David, terima kasih kerana menjawab soalan saya, meminjamkan radas, usaha untuk mengajar saya menggunakan banyak instrumen, dan juga kepada semua yang tidak dapat saya nyatakan dalam ruangan yang terhad ini. Juga kepada, Cyril dan Gzelum kerana sudi sedia membuka makmal apabila kami ingin menggunakan makmal pada waktu lebih masa bekerja.

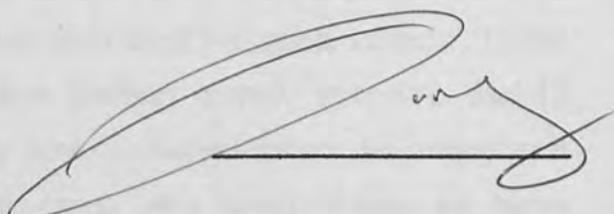


Jutaan terima kasih juga kepada pembantu makmal Sekolah Sains dan Teknologi (SST), terima kasih kerana menyediakan segala bahan kimia dan meminjamkan segala perkakas kaca.

Kepada keluarga saya, terutamanya ibubapa saya, terima kasih kepada doa yang telah diberikan. Adik saya, terima kasih kepada semangat dan dorongan moral yang telah diiberikan.

Kepada rakan-rakan sekelas, terutamanya Veronica Empin dan Anna Felicia, saya amat diberkati kerana mempunyai rakan yang baik seperti kamu.

Terdapat nama yang tidak dapat saya nyatakan, tetapi sesiapa sahaja secara langsung atau tidak langsung yang telah menyumbangkan dalam penyiapan projek II ini. Sesiapa sahaja mereka, saya amat bersyukur kepada sumbangan yang telah diberikan. Semoga Allah Yang Mahakuasa sahaja yang dapat membala budi baik yang telah diberikan. Sekian, terima kasih, daun keladi.



JURY TISE TAUNSON



ABSTRAK

Kajian ini dijalankan adalah bertujuan untuk mengenalpastikan pigmen terutamanya klorofil di dalam keadaan *in vitro* pada dua spesies orkid *Vanda* yang dikultur pada keadaan cahaya yang berbeza dengan menggunakan mikroskop pendarflour ultraungu (UV). Dua spesies orkid adalah *Vanda helvola* dan *Vanda dearei*. Pokok orkid ini masing-masing dikultur di dalam media Vacin & Went dengan 15% (v/v) air kelapa dan media Knudson C dengan 20% (v/v) air kelapa. Keadaan rawatan yang digunakan dalam kajian ini ialah dalam keadaan 24 jam cerah, 16 jam cerah dan 8 jam gelap (dalam kebuk pertumbuhan) dan dalam keadaan 12 jam cerah dan 12 jam gelap (normal) selama lebih kurang 2 bulan. Sumber lampu yang digunakan adalah lampu fluoresen 18 W. Semua kultur disimpan pada suhu bilik $25^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Pada setiap rawatan, sebanyak 20 pokok orkid dianalisis. Sebanyak 40 gambar yang diambil dan hanya 80 bilangan sel penuh yang diberi skor intensiti pada setiap sampel. Melalui tapak jalan penghasilan molekul pigmen dan kompoun aromatik, klon orkid elit yang berkualiti dapat dikenalpastikan. Keputusan menunjukkan klon *Vanda dearei* dikultur dalam keadaan cahaya 24 jam cerah, sampel yang memberikan skor intensiti yang agak rendah ialah sampel 18, 13 dan 15. Sampel 11, 13, 14 dan 20 memberikan nilai skor yang rendah apabila didedahkan pada 16 jam cerah dan 8 jam gelap. Sementara itu, dalam keadaan normal pula sampel 1, 2, 3, 12, 13 dan 14 memberikan nilai skor yang terendah. Manakala, pada *Vanda helvola*, sampel 7 dan 20 memberikan skor intensiti pigmen yang rendah. Dalam keadaan, 16 jam cerah dan 8 jam gelap, sampel 5, 11 dan 14 memberikan skor yang rendah. Dalam keadaan normal, sampel 2 dan 12 memberikan skor intensiti pigmen yang rendah. Sampel-sampel ini mempunyai kebolehan untuk menghasilkan kompoun aroma yang tinggi. Kajian ini hanya memberikan maklumat tentang kandungan atau intensiti pigmen dalam setiap sampel di mana ia boleh diaplikasikan untuk memperolehi klon orkid yang baik. Kepastian kualiti orkid ini hanya boleh dilakukan melalui kaedah lain seperti kromatografi gas. Ia dapat mempertingkatkan ekonomi negara dalam industri minyak wangi dan makanan.

ABSTRACT

This study was carried out to determine the pigments especially chlorophyll in an *in vitro* plantlets of two *Vanda* sp. grown in a different light culture conditions using UV fluorescence microscope. The two orchid species are *Vanda helvola* and *Vanda dearei*. The plantlets were cultured in Vacin & Went media with 15% (v/v) coconut water and Knudson C media with 20% (v/v) coconut water, respectively. The treatments used in this study were in 24 hours light, in 16 hours light 8 hours dark (in growth chamber) and in 12 hours light 12 hours in the dark (normal condition) for about 2 months. The light source is 18 W fluorescent lights. All cultures was grown under room temperature (RT), $25^{\circ} \pm 2^{\circ}$ C. For each treatment, 20 plantlets of orchid are being analysed. A total of 40 photographs are taken and only 80 full cells are scored for the intensity for each sample. Through the pigments molecule and the aromatic compounds production pathway, quality clone orchid can be screen. From the result, *Vanda dearei* clone, cultured in 24 hours light, sample 18, 13 and 15 gives less score for the intensity of pigments. Sample 11, 13, 14 and 20 gives less score when exposed to 16 hours light and 8 hours dark. While, in normal condition, sample 1, 2, 3, 12, 13 and 14 gives less score. Meanwhile, for *Vanda helvola*, sample 7 and 20 gives less score for the intensity of pigments. In 16 hours light and 8 hours dark, sample 5, 11 and 14 gives less score. In normal condition, sample 2 and 12 gives less score for the intensity of pigments. These samples have the tendency to produce higher aromatic compound. This study only reveals the information about the content or intensity of the plant pigment in each sample which can be applied in order to obtain better clone orchids. The confirmation of its quality can only be done through another method for instance gas chromatography. This could improve the country's economy in perfumery and food industry.



KANDUNGAN

Mukasurat

HALAMAN JUDUL	i
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
KANDUNGAN	viii
SENARAI JADUAL	xi
SENARAI RAJAH	xii
SENARAI FOTO	xiii
SENARAI SIMBOL, UNIT SINGKATAN DAN ISTILAH	xiv

BAB 1 PENDAHULUAN	1
BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN	4
2.1 Spesies Orkid <i>Vanda</i>	4
2.1.1 Pengkelasan saintifik	5
2.1.2 Anatomi bunga orkid spesies <i>Vanda</i>	6
2.1.3 Taburan orkid	7
2.1.4 Habitat dan ekologi	7
2.1.5 Kegunaan orkid	7
2.2 <i>Vanda dearei</i>	8
2.3 <i>Vanda helvola</i>	9
2.4 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Orkid Spesies <i>Vanda</i>	10
2.4.1 Suhu	10
2.4.2 Cahaya	10
2.4.3 Pergerakan udara	11
2.4.4 Air	11



2.5	Kompoun Aroma dalam Tumbuhan	12
2.5.1	Terpenoid	12
2.5.2	Fenilpropanoid	13
2.5.3	Terbitan Asid Lemak	14
2.6	Pigmen-Pigmen Fotosintetik Tumbuhan	14
2.6.1	Klorofil	15
a.	Ciri-ciri	16
b.	Struktur	16
2.6.2	Karotenoid	17
a.	Ciri-ciri	17
b.	Struktur	18
c.	Biosintesis pigmen klorofil dan karotenoid	19
i.	Laluan asid mevalonik (MVA)	19
ii.	Laluan tidak bergantung asid mevalonik (MEP/DOXP)	23
2.6.3	Antosianin	23
a.	Ciri-ciri	23
b.	Struktur	24
c.	Biosintesis pigmen antosianin	25
i	Laluan fenilpropanoid	25
2.7	Tapak Fotosintesis	33
2.8	Kaitan antara Pigmen-pigmen dan Aroma Tumbuhan	34
2.9	Mikroskop dan Pigmen	37
3.0	Faktor-faktor yang Mempengaruhi Perkembangan Pigmen Tumbuhan	41
3.0.1	Medium	41
3.0.2	Cahaya	41
3.0.3	Suhu	41
3.0.4	pH	42
BAB 3 BAHAN DAN KAEDAH		43
3.1	Bahan	43
3.1.1	Sampel orkid	43
3.1.2	Media	44



3.2	Instrumen	45
	3.2.1 Mikroskop pendafluor ultraungu (UV)	45
3.3	Kaedah	46
	3.3.1 Penyediaan larutan stok	46
	3.3.2 Penyediaan media	46
	3.3.3 Pengsubkulturan sampel	47
	3.3.4 Penyediaan sampel	48
	3.3.5 Cerapan	50
	3.3.6 Penskoran	50
	3.3.7 Analisis data	53
BAB 4 KEPUTUSAN DAN ANALISIS DATA		54
4.1	Intensiti Pigmen dalam Daun <i>Vanda dearei</i>	54
	4.1.1 Keadaan 24 jam cerah	55
	4.1.2 Keadaan 16 jam cerah, 8 jam gelap	59
	4.1.3 Keadaan 12 jam cerah, 12 jam gelap	62
4.2	Intensiti Pigmen dalam Daun <i>Vanda helvola</i>	65
	4.2.1 Keadaan 24 jam cerah	65
	4.2.2 Keadaan 16 jam cerah, 8 jam gelap	70
	4.2.3 Keadaan 12 jam cerah, 12 jam gelap	73
4.3	Perbandingan Gambar antara Lampu Fluoresen dan Lampu tanpa Fluoresen pada Mikroskop	76
BAB 5 PERBINCANGAN		77
5.1	Pigmen Tumbuhan dan Cahaya	77
5.2	Pigmen dan Aroma Tumbuhan	79
5.3	Intensiti Pigmen dalam Daun <i>Vanda sp.</i>	81
	5.3.1 Keadaan 24 jam cerah	81
	5.3.2 Keadaan 16 jam cerah, 8 jam gelap	84
	5.3.3 Keadaan 12 jam cerah, 12 jam gelap	84
5.4	Penggunaan Mikroskop Pendaflour UV dalam Pengenalpastian Pigmen Tumbuhan	87
BAB 6 KESIMPULAN		90
RUJUKAN		92
LAMPIRAN		99

SENARAI JADUAL

No. Jadual	Muka Surat
2.1 Pengkelasan saintifik bagi tumbuhan orkid spesis <i>Vanda</i> .	5
3.1 Penskoran untuk menentukan intensiti pigmen dalam satu sel tumbuhan	52
3.2 Rumus untuk mencari purata skor intensiti pigmen dalam daun sampel.	53



SENARAI RAJAH

No. Rajah		Muka Surat
2.1	Struktur klorofil <i>a</i> .	17
2.2	Struktur karotenoid, beta-karoten.	18
2.3	Ringkasan biosintesis kompoun isoprenoid.	21
2.4	Ringkasan tahap-tahap biosintesis karotenoid.	22
2.5	Struktur antosianin dengan gula.	24
2.6	Biosintesis kompoun-kompoun flavonoid.	28
2.7	Laluan asas fenilpropanoid.	30
2.8	Unit asas binaan dan kaitan diantara kelas-kelas flavonoid.	31
2.9	Tapak fotosintesis di dalam tumbuhan.	33
4.1	Histogram intensiti pigmen pada keadaan yang berbeza: <i>Vanda dearei</i>	57
4.2	Histogram intensiti pigmen pada keadaan 24 jam cerah: <i>Vanda dearei</i>	58
4.3	Histogram intensiti pigmen pada keadaan 16 jam cerah dan 8 jam gelap: <i>Vanda dearei</i>	61
4.4	Histogram intensiti pigmen pada keadaan 12 jam cerah dan 12 jam gelap: <i>Vanda dearei</i>	64
4.5	Histogram intensiti pigmen pada keadaan yang berbeza: <i>Vanda helvola</i>	68
4.6	Histogram intensiti pigmen pada keadaan 24 jam cerah: <i>Vanda helvola</i>	68
4.7	Histogram intensiti pigmen pada keadaan 16 jam cerah dan 6 jam gelap: <i>Vanda helvola</i>	71
4.8	Histogram intensiti pigmen pada keadaan 12 jam cerah dan 12 jam gelap: <i>Vanda helvola</i>	



SENARAI FOTO

No. Foto		Mukasurat
2.1	Anatomi bunga orkid spesies <i>Vanda</i>	6
2.2	Bunga orkid <i>Vanda dearei</i> .	8
2.3	Bunga orkid <i>Vanda helvola</i> .	9
2.4	Morfologi antosianin yang terkumpul di dalam sel organ bunga jagung.	32
2.5	A) Keratan rentas daun <i>Elodea</i> . B). Keratan rentas <i>Red pepper</i> .	32
2.6	Anatomi mikroskop pendaflour (<i>Fluorescence Microscope</i>).	40
3.2	Mikroskop pendaflour ultraungu (UV) dari makmal Tisu Kultur.	48
3.3	(A). Orkid <i>Vanda</i> di dalam bikar 50ml. (B). Orkid <i>Vanda</i> di dalam piring Petri. (C). Orkid <i>Vanda</i> di dalam bilik pertumbuhan. (D). Orkid <i>Vanda</i> dalam keadaan 24 jam terang.	50
3.4	Daun sampel	49
4.1	Sampel daun <i>Vanda dearei</i>	54
4.2	Gambar keratan rentas daun <i>Vanda dearei</i> : 24 jam cerah.	56
4.3	Gambar keratan rentas daun <i>Vanda dearei</i> : 16 jam cerah, 8 jam gelap.	60
4.4	Gambar keratan rentas daun <i>Vanda dearei</i> : 12 jam cerah, 12 jam gelap.	63
4.5	Gambar keratan rentas daun <i>Vanda helvola</i> : 24 jam cerah.	67
4.6	Gambar keratan rentas daun <i>Vanda helvola</i> : 16 jam cerah, 8 jam gelap.	70
4.7	Gambar keratan rentas daun <i>Vanda helvola</i> : 12 jam cerah, 12 jam gelap.	73
4.8	Keratan rentas sampel A). dengan fluoresen B). tanpa fluoresen	75



SENARAI SIMBOL, UNIT SINGKATAN DAN ISTILAH

ATP	adenosina trifosfat
NADPH	nikotinamida adenina dinukleotida fosfat, koenzim terturun
IDP/IPP	isopentil difosfat
DMADP	dimetilalil difosfat
MVA	asid mevalonat
MEP/ DOXP	<i>mevalonate-independent methylerythritol phosphate</i>
PEP	fosfoenolpiruvat
VW	media Vacin & Went
KC	media Knudson C
Mg	magnesium
N	nitrogen
R	kumpulan berfungsi
C	karbon
H	hidrogen
W	watt
%	peratus
(v/v)	isipadu/isipadu
>	lebih daripada
sm	sentimeter
g	gram
mL	milliliter
L	liter
+	tambah
X	darab/kali
-	hingga
&	dan
°C	darjah selsius
Σ	jumlah



BAB 1

PENDAHULUAN

Tumbuhan hijau mendapat semua tenaga daripada fotosintesis, iaitu proses dimana tenaga cahaya ditukarkan kepada tenaga kimia. Proses fotosintesis amat penting kepada pertumbuhan dan dalam penghasilan makanan tumbuhan itu sendiri (Ridge, 2002). Pigmen-pigmen fotosintesis bertanggungjawab dalam menyerap dan memerangkap tenaga cahaya pada langkah awal fotosintesis. Pigmen-pigmen ini adalah klorofil, karotenoid dan antosianin. Pigmen-pigmen fotosintesis ini amat berguna kepada tumbuhan kerana mereka berinteraksi dengan cahaya di mana tenaga foton yang dipancarkan daripada cahaya matahari ini diperangkap untuk proses fotosintesis (Roger, 2001).

Kebolehan tumbuhan berbunga untuk terus berkembang maju dalam evolusinya adalah amat bergantung kepada strategi tumbuhan ini untuk memikat agen pendebunga. Ia berdasarkan kepada bentuk warna yang cantik dan spektrum aroma yang luas tumbuhan tersebut. Aroma bunga adalah ciri-ciri yang ditentukan oleh gabungan kompleks berat molekul yang rendah dan molekul volatil. Kebanyakkan kompoun aroma adalah dari tiga kumpulan utama iaitu fenilpropanoid, terbitan asid lemak, dan terpenoid. Penjelasan laluan biosintesis kompoun-kompoun aroma ini, adalah berkait rapat dengan enzim dan gen yang terlibat dalam pengawalan mekanisme molekular.



Kompoun aroma ini, memainkan peranan yang penting dalam interaksi diantara tumbuhan dengan persekitarannya, terutamanya untuk memikat serangga sebagai agen pendebungaan (Vainstein *et al.*, 2001). Tumbuhan berinteraksi dengan persekitaran mereka dengan menghasilkan pelbagai metabolit sekunder (Harborne, 1996). Kebanyakkan kompoun adalah bernilai kerana ciri-ciri aktiviti farmakologikal dan industri atau pertanian dimana ia meningkatkan nilai hasil tanaman komersial (Paganga *et al.*, 1999; Bingham *et al.*, 1998).

Kajian ini bertujuan untuk mengenalpasti kehadiran pigmen tumbuhan peringkat tinggi contohnya orkid, terutamnya pigmen klorofil dalam dua spesies orkid *Vanda* pada keadaan cahaya yang berbeza dengan menggunakan mikroskop fluoresen ultraungu (UV) model Axioskop 2 plus.

Kepentingan kajian ini dijalankan adalah untuk menentukan pigmen-pigmen fotosintetik (terutamanya klorofil) di dalam dua spesies *Vanda* orkid yang dikultur dalam keadaan cahaya yang berbeza dibawah mikroskop fluoresen ultraungu dengan perkaitannya terhadap kualiti tumbuhan yang terhasil. Klon-klon orkid yang elit boleh diskrin melalui kajian ini. Dengan menggunakan analisis mikrosopik, analisis kuantitatif digunakan untuk menentukan intensiti pigmen yang dipancarkan dari daun orkid spesies *Vanda*. Faktor-faktor seperti jenis media yang digunakan, suhu, dan cahaya (Soontornchainaksaeng *et al.*, 2001) mempengaruhi pembentukan dan perkembangan pigmen-pigmen fotosintetik tumbuhan. Pembentukan dan perkembangan pigmen-pigmen tumbuhan amat penting untuk dipelajari kerana pengaruhnya yang tinggi dalam penghasilan sebatian aroma dan warna kepada tumbuhan orkid ini selain daripada membantu pertumbuhan tumbuhan itu sendiri.



Selain itu juga, ia bertujuan untuk mengetahui kesan daripada keadaan cahaya yang berbeza kepada pertumbuhan dan intensiti pigmen-pigmen di dalam daun tumbuhan. Justeru itu, ia membolehkan teknik-teknik asas dalam teknik tisu kultur tumbuhan di aplikasikan di dalam kajian ini. Pengaplikasian konsep biokimia dan perkaitannya dalam kajian juga dapat dijalankan serta dapat dipelajari dan menimba pengalaman dalam menggunakan mikroskop pendaflour ultraungu (UV).

BAB 2

ULASAN PERPUSTAKAAN

2.1 Spesies Orkid *Vanda*

Orchidaceae merupakan famili tumbuhan berbunga yang terbesar. Ia merupakan kumpulan yang banyak dan tersebar lebih daripada 35,000 spesies. Jumlah ini meningkat dengan penemuan-penemuan spesimen baru oleh pengumpul-pengumpul yang amatur dan profesional (Hodgson *et al.*, 1991). Industri orkid merupakan industri yang penting dalam Malaysia dimana penghasilannya adalah bernilai lebih kurang RM 80 juta setahun. Orkid bukan hanya mempunyai struktur bunga dan warna yang cantik tetapi juga mempunyai aroma yang dapat memikat bukan sahaja serangga tetapi juga manusia. Orkid-orkid ini biasanya di eksport ke negara-negara yang berdekatan. Objektif untuk mendapatkan kultur orkid yang baik adalah untuk membantu orkid supaya dapat tumbuh dengan sihat, menjadi tumbuhan yang bebas daripada penyakit dengan kualiti pertumbuhan orkid yang tinggi iaitu mendapat klon orkid yang elit. Sasaran ini adalah penting terutamanya kepada orkid famili *Vandaceous* untuk penghasilan kualiti bunga yang tinggi dan ini hanya dapat diperolehi daripada tumbuhan orkid yang tumbuh dengan kuat dan sihat (Fuchs, 2005).

Nama *Vanda* berasal daripada perkataan bahasa India atau Sanskrit. Masyarakat suka akan bunga ini kerana keharumannya, warna serta bentuk bunga orkid *Vanda* ini



yang menawan hati. Ia mempunyai nama yang berasal daripada perkataan Latin, iaitu *helvus*. Bunganya bewarna kecoklatan terang atau merah pucat, serta berwarna seperti tanah. Bunga akan dihasilkan pada jarak normal dalam satu tahun.

Bunganya mempunyai bentuk seperti gunung tembaga merah dan mempunyai haruman yang kuat. Spesies *Vanda* merupakan orkid monopodial, dan kebanyakannya adalah epifit. Di Jawa, Indonesia, tumbuhan ini boleh dijumpai pada dahan dan cabang-cabang pokok di dalam hutan. Kadang-kala, tumbuhan ini juga tumbuh sebagai litofit di atas batu. Semua spesies *Vanda* memerlukan cahaya dan dengan cahaya matahari yang mencukupi, ia akan berbunga dua atau tiga kali setahun (Hodgson *et al.*, 1991).

2.1.1 Pengkelasan saintifik

Orchidaceae merupakan famili tumbuhan berbunga yang terbesar (Fadelah Aziz, 2001). Terdapat lebih 35,000 spesies yang dijumpai oleh pengumpul amatur dan profesional. Oleh itu, penamaan dan pengkelasan harus dibuat untuk memudahkan pengenalan spesies.

Jadual 2.1 Pengkelasan saintifik bagi tumbuhan orkid spesis *Vanda* (Hodgson *et al.*, 1991).

Alam	:	Plantae
Filum	:	Magnoliophyta
Kelas	:	Liliopsida
Oder	:	Asparagales
Famili	:	Orchidaceae
Subfamili	:	Epidendroideae



2.1.2 Anatomi bunga orkid spesies *Vanda*

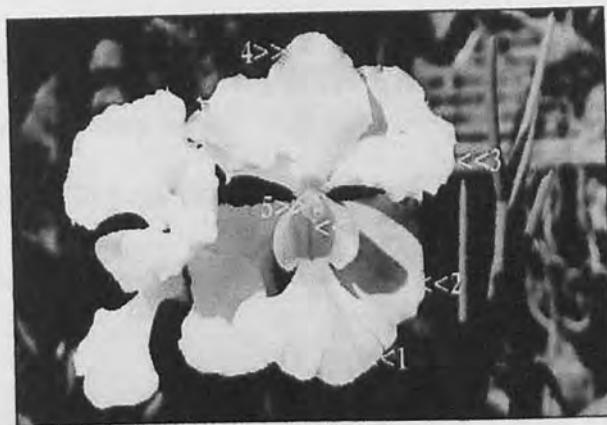


Foto 2.1 Bahagian pada bunga *Vanda* (*Vanda mundi*) iaitu; labelum (1), lateral sepal (2), petal (3), sepal dorsal (4), dan penutup anter dengan debunga di bawah (5), dan kerongkong (6).

(Sumber: <http://www.orchids.mu/index.html>).

Orkid *Vandaceous* boleh dikategorikan berdasarkan kepada bentuk daun dan dapat dibahagikan kepada 3 kumpulan iaitu, daun berjalur, teret dan separa teret (Fuchs, 2005).

- Tumbuhan yang mempunyai daun berjalur, daunnya adalah agak mendatar dan berkulit.
- Orkid yang berdaun teret pula mempunyai daun yang mengecil, berbentuk seperti pensil, dimana ia berbentuk bulat pada bahagian potongan tepi daun.
- Tumbuhan orkid yang mempunyai daun separa-teret, merupakan hibrid gabungan dengan spesies teret. Daun adalah berbentuk seperti pensil tetapi tidak selalu berbentuk bulat pada bahagian potongan tepi daun.

2.1.3 Taburan orkid

Terdapat lebih kurang 80 spesies orkid ini yang telah dijumpai dimana ia berasal dari China, Himalaya, Indonesia, di bahagian utara Australia dan Asia Tenggara (Hodgson *et al.*, 1991). Ia juga banyak tersebar di Borneo dan biasanya dijumpai di kawasan Gunung Kinabalu, kawasan Tambunan, Sabah (Chan *et al.*, 1994).

2.1.4 Habitat

Habitat bagi tumbuhan orkid spesies *Vanda* ini adalah seperti di dalam gabungan hutan-gunung, hutan yang berdekatan dengan sungai, di dalam hutan gabungan *montane* hutan rendah, biasanya pada tanah daripada batu-pasir, batu dan tanah liat dan biasanya dijumpai pada pokok dimana ia tergantung berdekatan dengan sungai dan juga pada hujung dahan (Chan *et al.*, 1994).

2.1.5 Kegunaan orkid

Sesetengah spesies orkid bukan sahaja sebagai tanaman hiasan yang cantik dengan aroma yang harum tetapi juga sebagai tumbuhan perubatan (Soontornchainaksaeng *et al.*, 2001). Di Mexico, bunga orkid digunakan sebagai simbolik dalam satu komuniti; dalam sesuatu perayaan ataupun acara keagamaan. Dari masa orkid ini di import dari Bahamas ke Britain (pada awal abad ke-18), bunga orkid ditanam untuk tujuan komersial dan telah berjaya dihibrid dan dipelbagaikan. Contohnya, genus orkid *Vanilla* dari hutan tropika Amerika merupakan sumber ekonomi yang penting dalam perisa semulajadi vanila (Columbia Encyclopedia, 2005).



2.2 *Vanda dearei*



Foto 2.2 Bunga orkid *Vanda dearei*.

Merupakan herba epifitik dengan akar robust yang tebal. Batang akan mencapai 100cm atau lebih panjang, tegak kepada setengah-berjuntai, tidak mudah patah, tumbuhan yang lebih tua mempunyai satu kumpulan tumbuhan, hampir semua berdekatan dalam satu kumpulan tumbuhan. Daunnya agak banyak, berligut, mempunyai dua lobus pada apeks dan bergigi serta tebal. Bunganya berisi, mempunyai aroma yang kuat, akan terbuka selama lebih kurang seminggu, sepal dan petal bertindih, ia akan memberi tindakbalas yang kuat selepas dua hari yang pertama dalam kebanyakan tumbuhan, bewarna krim pucat, kuning (terutamanya pada populasi di Sarawak) atau kuning pucat. Habitat dan ekologinya biasanya di hutan yang berdekatan dengan sungai. Ia dipercayai tersebar luas di kawasan tebing sungai pada pokok, terutamanya di Sarawak. Ia akan berbunga pada bulan Mac hingga Mei. Ia juga tersebar luas di kawasan Borneo.

2.3 *Vanda helvola*



Foto 2.3 Bunga orkid *Vanda helvola*.

Spesies orkid ini mempunyai akar robust yang tebal. Dahannya boleh memanjang kepada lebih kurang 100 sentimeter, tegak, tetapi lebih biasa separa-pendolus kepada pendolus, batang yang lebih tua mempunyai satu atau lebih pertumbuhan baru pada bahagian dasar yang membentuk satu kelompok tumbuhan. Daunnya adalah atas daripada dahan yang tersembunyi, berbentuk lengkung, kerasit, berkulit, berligut, dan berbentuk seperti gigi. Bunganya pula, mempunyai ciri-ciri seperti terbuka luas, berisi, berlilin, dapat bertahan selama satu minggu, beraroma harum, warna bunga seperti dari warna pucat kuning-coklat kepada merah tembaga; mulutnya dengan lobus tepi seperti berbuah, tergantung diantara lobus kuning dari warna kuning keperangan dengan garis ungu, apeks bewarna merah coklat pucat atau ungu-coklat dan biasanya berlilin (Chan *et al.*, 1994).

RUJUKAN

- Barber J., dan Andersson, B., 1992. Reviews: Too Much of a Good Thing: Light can be Bad for Photosynthesis. *Elsevier Science publishers* (UK).
- Barz, W. dan Wiermann, R., 1981. Recent Aspects of Flavonoid Biosynthesis and Degradation in Plants, Studies in Organic Chemistry, 11, Flavonoids and Bioflavonoids. *Elsevier Scientific Publishing*, New York.
- Bilger, W., Johnsen, T., Schreiber, U., 2001. UV-excited chlorophyll fluorescence as a tool for the assessment of UV-protection by the epidermis of plants. *Journal of Experimental Botany* **52** (363), 2007-2014.
- Britton, G. dan Liaaen-Jensen, S., 1998. *Carotenoids Vol. 3: Biosynthesis & Metabolism*. H. Pfander, Switzerland.
- Britz, S. J., 1990. Regulation of photosynthesis partitioning into starch in soybean leaves, response to natural daylight. *Plant Physiology* **94**, 350-356.
- Broun, P. dan Somerville, C., 2001. Progress in plant metabolic engineering. *PNAS* **98** (16), 8925-8927.
- Chaerle, L., Hagenbeek, D., De Bruyne, E., Valcke, R., dan Van Der Straeten, D., 2004. Thermal and chlorophyll-fluorescence imaging distinguish plant-pathogen interactions at an early stage. *Plant Cell Physiology* **45** (7): 887-896.
- Chan, C.L., Lamb, A., Shim P.S. dan Wood, J.J., 1994. *Orchids of Borneo, volume 1: Introduction & a Selection of species*. Sabah Society & The Royal Botanic Gardens, Kew, Kuala Lumpur.

De-Ping Guo, Yan-Ping Guo, Jian-Ping Zhao, Hui Liu, Yan Peng, Qiao-Mei Wang, Ji-Shuang Chen, Gui-Zhen Pao, 2005. Photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence in leaves of stem mustard (*Brassica juncea* var. *tsaitsai*) after turnip mosaic virus infection. *Plant Science* **168**, 57-63.

Dietrich, Jr. W. E., 2003. Chapter 9: *Isolation and Spectral Characterization of Chlorophyll-Protein Complexes of Chloroplast Thylakoid Membranes*, Department of Biology Indiana University of Pennsylvania.

Dixon, R.A., dan Paiva, N.L., 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The Plant Cell* **7**, 1085-1097.

Dudareva, N., Anderson, S., Orlova, I., Gatto, N., Reichelt, M., Rhodes, D., Boland, W. dan Gershenzon, J., 2005. The nonmevalonate pathway supports both monoterpene and sesquiterpene formation in snapdragon flowers. *PNAS* **102** (3), 933-938.

Dudareva, N. dan Pichersky, E., 2000. Biochemical and molecular genetic aspects of floral scents. *Plant Physiology* **122**, 627-633.

Dudareva, N., Pichersky E. dan Gershenzon J., 2004. Biochemistry of plant volatiles. *Plant Physiology* **135**, 1893-1902.

Fadelah Abdul Aziz, 2001. *Orchids (The Living Jewels of Malaysia)*. MARDI (Malaysian Agricultural Research and Development Institute), Kuala Lumpur.

Falcone, D. L., 2000. Lecture Twenty: *Phenylpropanoids*.
<http://www.uky.edu/~dhild/biochem/welcome.html>

Field, T. S., Lee, D.W. dan Holbrook, N.M., 2001. Why leaves turn red in autumn. The role of anthocyanins in senescing leaves of red-osier dogwood. *Plant Physiology* **127**, 566-574.



- Fuschmann, C., Langsdore, G. dan Lichtenthaler, H.K., 2000. Imaging of the blue, green and red fluorescence emission of plants: An Overview. *Photosynthetica* **38** (4), 483-491.
- Fuchs, R. F., 2005. *Vanda, Vandaceous Orchids: Their Care and Culture.* <http://www.orchids.mu/index.html>
- Fumi Tatsuzawa, Norio Saito, Hiroko Seki, Masato Yokoi, Tomohisa Yukawa, Koichi Shinoda dan Toshio Honda, 2004. Acylated anthocyanins in the flowers of *Vanda* (Orchidaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* **32**, 651-664.
- Garstka, M., Drozak, Rosiak, M., Venema, J. H., Kierdaszuk, B., Simeonova, E., van Hasselt, P.R., Dobrucki, J. dan Mostowska, A., 2005. Light-dependent reversal of dark-chilling induces changes in chloroplast structure and arrangement of chlorophyll-protein complexes in bean thylakoid membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* **1710** (1): 13-23.
- Grohol, J., 2005. *Terpenoids.* <http://psychcentral.com/psypsych/Terpenoid>
- Hamman, L., 1999. *Fragrance and Orchids: A talk given at the LOG seminar in November 1999.* www.OrchidsSA.co.za.
- Hans, M. dan Peter, S., 1995. *Plant Physiology.* Springer-Verlag, New York.
- Hodgson, M., Anderson N., dan Paine, R., 1991. *Letts Guide to Orchids of the World.* Griffin Press, United Kingdom.
- Holton, T.A., dan Cornish, E.C., 1995. Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. *The Plant Cell* **7**, 1071-1083.
- Hopkins, W. G., 1999. *Introduction to plant physiology.* 2nd edition. John Wiley & Sons, United State of America.



- Huttunen, S., 2004. Evergreen plant Surfaces as targets under changing climate archives of EnviroNews. *Newsletter of ISEB India* **10** (3).
- Irani, N. G. dan Grotewold, E., 2005. Light-induced morphological in anthocyanin- accumulating vacuoles of maize cells. *BMC Plant Biology* **5**:7.
- Kanji, G. K., 1993. Statistical Tests. *SAGE Publications*, Great Britain.
- Koizumi, M., Takahashi, K., Mineuchi, K., Nakamura, T. dan Kano, H., 1998. Light gradients and the tranverse distribution of chlorophyll fluorescence in mangrove and camellia leaves. *Annals of Botany* **81**, 527-533.
- Kolosova, N., Sherman, D., Karlson, D., dan Dudareva, N., 2001. Cellular and subcellular localization of S-Adenosyl-L-Methionine: Benzoic acid carboxyl methyltransferase, the enzyme responsible for biosynthesis of the volatile ester methylbenzoate in Snapdragon flowers. *Plant Physiology* **126**, 956-964.
- Kong, J. M., Chia, L. S., Goh, N. K., Hia, T.F., Brouillard, R., 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry* **64**, 923-933.
- Krause, G.H. dan Weis E., 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics plant physiology. *Plant Molecular Biology* **42**, 313-49.
- Leaf Pigments, 2004. Faculty of Arts and Sciences of Harvard University.
<http://harvardforest.fas.harvard.edu/index.html>
- Lichtenthaler, H.K., Babani, F.G., Langsdorf dan Buschmann, C., 2000. Measurement of differences in red chlorophyll fluorescence and photosynthetic activity between sun and shade leaves by fluorescence imaging. *Photosynthetica* **38** (4), 521-529.



- Lücker, J., Schwab, W., van Hautum, B. Blaas J., van der Plas, L. H. W., Bouwmeester, H. J. dan Verhoeven H. A., 2004. Increased and altered fragrance of tobacco plants after metabolic engineering using three monoterpene synthases from lemon. *Plant Physiology* **134**, 510-519.
- Martens, S., Knott, J., Seitz, C. A., Janvari, L., Sun-Nam Yu, Forkmann, G., 2003. Impact of biochemical pre-studies on specific metabolic engineering strategies of flavonoid biosynthesis in plant tissues. *Biochemical Engineering Journal* **14**, 227-235.
- Mayer M. J., Narbad A., Parr A.J., Parker M. L., Walton N. J., Mellon F. A. dan Michael A. J., 2001. Rerouting the plant phenylpropanoid pathway by expression of a novel bacterial Enoyl-CoA Hydratase/Lyase enzyme function. *The Plant Cell* **13**, 1669-1682.
- McConkey, M. E., Gershenson, J. dan Croteau, R. B., 2000. Developmental regulation of monoterpene biosynthesis in the glandular trichomes of peppermint. *Plant Physiology* **122**, 215-223.
- Merzlyak, M.N., Solovchenko, A. E., Chivkunova, O. B., 2002. Patterns of pigment changes in apple fruits during adaptation to high sunlight and sunscald development. *Plant Physiology and Biochemistry* **40**, 679-684.
- Microscopy from Carl Zeiss, Axioskop 2 plus, Axioskop 2 FS plus: *Microscopes for the Life Sciences*. <http://www.zeiss.com/>
- Ming-Ju Lin, Ban-Dar Hsu, 2004. Photosynthetic plasticity of *Phalaenopsis* in response to different light environments. *Journal of Plant Physiology* **161**, 1259-1268.
- Oyaert, E., Volckaert, E. dan Debergh, P.C., 1999. Growth of chrysanthemum under coloured plastic films with different light qualities and quantities. *Scientia Horticulturae* **79** (3-4), 195-205.

- Pastenes, C. E., Santa-Maria, Infante, R. dan Franck, N., 2003. Domestication of the Chilean guava (*Ugni Molinae* Turcz), a forest understorey shrub, must consider light intensity. *Scientia Horticulturae* **98**(1), 71-84.
- Pichersky, E., Raguso, R. A., Lewinsohn E., dan Croteau, R., 1994. Floral scent production in *Clarkia* (*Onagraceae*) I. Localization and developmental modulation of monoterpene emission and linalool synthase activity. *Plant Physiology* **106**, 1533-1540.
- Rendell, D., 1987. *Fluorescence and phosphorescence*. John Wiley & Sons, London.
- Ridge, I., 2002. *Plants*. Oxford University Press, New York.
- Roger, M. J. R. (eds), 2001. *Handbook of plant ecophysiology techniques*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Rohmer M., 2003. Mevalonate-independent methylerthritol phosphate pathway for Isoprenoid Biosynthesis. Elucidation and Distribution. *Pure Applied Chemistry* **75** (2-3), 375-387.
- Saito, K., 1974. Possible site of flavonoid synthesis in the photosynthetic apparatus. *Journal of Biochemistry* **144**, 431-432.
- Smith, H.B., 1999. Photosynthetic pigmentation-variegations on a theme. *The Plant Cell* **11**: 1.
- Soontornchainaksaeng, P., Chaichaoen, S., Sirijuntarut M. dan Kruatrachue, M., 2001. In vitro studies on the effect of light intensity on plant growth of *Phaius tankervilliae* (Banks ex L' Herit.) Bl. and *Vanda coerulea* Griff. *ScienceAsia* **27**, 233-237.
- Sorrentino, G., Cerio, L., Alvino, A., 1997. Effect of shading and air temperature on leaf photosynthesis, fluorescence and growth in lily plants. *Scientia Horticulturae* **69**, 259-273.



Vanda dearei Rchb. F., 1886. http://zanaf.dyndns.biz/Vanda/Vanda_dearei.htm.

Vanda helvola Blume, 1849. http://zanaf.dyndns.biz/Vanda/Vanda_helvola.htm.

Valladares, F., Hernandez, L. G., Dobarro, I., Garcia-Perez, C., Sanz, R. dan Pugnaire, F. I., 2003. The ratio of leaf to total photosynthetic area influences shade survival and plastic response to light of green-stemmed leguminous shrub seedlings. *Annals of Botany* **91**, 577-584.

Vainstein, A., Lewinsohn, E., Pichersky, E. dan Weiss, D., 2001. Scientific correspondence floral fragrance. New Inroads into an old commodity. *Plant Physiology* **127**, 1383-1389.

Wells, R., 2001. Leaf pigment and canopy photosynthetic response to early flower removal in cotton. *Crop Science* **41**, 1522-1529.

Wikipedia, the free encyclopedia, 2005. *Vanda*. <http://en.wikipedia.org/wiki/Vanda>.

Williams, B.D., 1999. *Fluorescence Microscopy*.
<http://www.cimc.cornell.edu/Pages/Fluor.htm>.

Winkel-Shirley, B., 2001. Flavonoid biosynthesis: A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiology* **126**, 485-493.

Young, A. dan Britton, G., 1993. *Carotenoids in Photosynthesis*. Chapman & Hall, London.

