

## BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: Kesan Hormon dan Agen Pengeras Terhadap Regenerasi Centella asiatica Dari segmen Petiol

Ijazah: SARJANA MUDA SAINS DENGAN KEPUJIAN

SESI PENGAJIAN: 2004/2007

Saya Yvonne Melse Laurence

(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

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Y.  
(TANDATANGAN PENULIS)

Alamat Tetap: Peti Surat 359,  
89608 Papar, Sabah.

Dr. Zaleha Abd Aziz

Nama Penyelia

Tarikh: 23-04-07

Tarikh: 23-04-07

CATATAN: \* Potong yang tidak berkenzan.

\*\* 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).



KESAN HORMON DAN AGEN PENGERS TERHADAP REGENERASI *CENTELLA  
ASIATICA* DARIPADA SEGMENT PETIOL

YVONNE MELSE LAURENCE

PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

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

PROGRAM BIOTEKNOLOGI  
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

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.

12 March 2006

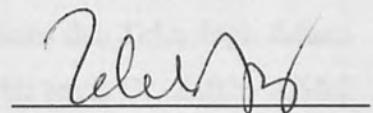
(G)

---

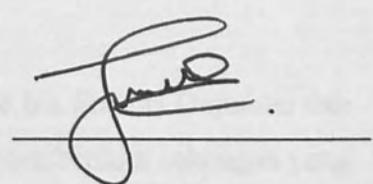
YVONNE MELSE LAURENCE  
HS 2004 – 4163

**PERAKUAN PEMERIKSA****DIPERAKUKAN OLEH****1. PENYELIA**

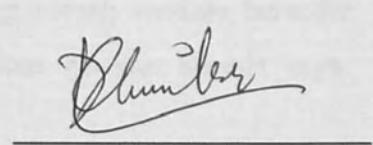
(DR. ZALEHA ABDUL AZIZ)

**Tandatangan****2. PEMERIKSA 1**

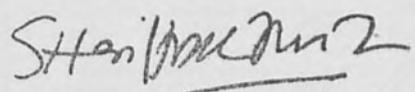
(DR. JUALANG AZLAN GANSAU)

**3. PEMERIKSA 2**

(DR. LEE PING CHIN)

**4. DEKAN**

(PROF. MADYA DR. SHARIFF A. KADIR S. OMANG)



## PENGHARGAAN

Disertasi ini tidak mungkin boleh disiapkan tanpa nasihat, pertolongan dan komitmen pihak-pihak tertentu. Pertama sekali, saya ingin berterima kasih kepada Prof. Datuk Dr. Mohd. Noh bin Dalimin, Naib Canselor University Malaysia Sabah (UMS) dan Assoc. Prof. Dr. Shariff A. Kadir S. Omang, Dekan Sekolah Sains dan Teknologi. Jutaan terima kasih juga diucapkan kepada penyelia projek tahun akhir saya, Dr. Zaleha Abdul Aziz kerana memberikan tunjuk ajar, nasihat, teguran dan didikan yang tidak ternilai sepanjang tempoh kajian ini dijalankan.

Tidak lupa juga kepada kedua ibu bapa saya, Laurence bin Francis Onjuman dan Natile Anang serta adik beradik saya kerana tidak jemu-jemu memberikan sokongan yang padu sepanjang tempoh kajian ini. Akhir sekali, terima kasih diucapkan kepada rakan-rakan seperjuangan saya, pelajar-pelajar jurusan Bioteknologi kerana sentiasa bersedia memberikan kerjasama, berkongsi maklumat dan memberikan galakan kepada saya. Sesungguhnya saya amat menghargai jasa anda semua

## ABSTRAK

*Centella asiatica* adalah sejenis herba yang mempunyai daun berwarna hijau dan berbentuk seperti ginjal. Kajian ini dijalankan untuk menentukan media yang paling berkesan untuk digunakan dalam regenerasi pucuk daripada eksplan petiol *C. asiatica* dan menilai kesan dua jenis agen pengeras iaitu agar dan Gelrite. Pada permulaan kajian, eksplan petiol dikultur ke atas media regenerasi set A yang mempunyai enam jenis kombinasi hormon 2,4-D (1.0mg/l, 1.2mg/l, 1.4mg/l) dan kinetin (0.5mg/l, 1.0mg/l, 2.0mg/l, 3.0mg/l) dan enam jenis kombinasi hormon NAA (0.25mg/l, 0.50mg/l, 0.75mg/l, 1.0mg/l) dan kinetin (0.5mg/l, 1.0mg/l, 2.0mg/l, 3.0mg/l). Selepas empat minggu, eksplan yang menghasilkan kalus disubkultur ke atas media regenerasi set B yang mempunyai empat jenis kombinasi hormon NAA (0.1mg/l, 0.5mg/l) dan kinetin (1.0mg/l, 2.0mg/l) dan empat jenis kombinasi hormon NAA (0.1mg/l, 0.5mg/l) dan BAP (1.0mg/l, 2.0mg/l) serta satu kombinasi hormon 0.48mg/l NAA + 0.24mg/l kinetin yang diletak di dalam keadaan gelap. Pada akhir kajian, objektif utama iaitu regenerasi melalui penghasilan pucuk tidak tercapai. Namun begitu, salah satu media regenerasi R7 (0.1mg/l NAA + BAP 2.0mg/l) telah menghasilkan kalus nodular yang berpotensi untuk beregenerasi. Agen pengeras yang digunakan di dalam media ini adalah agar. Media Gelrite dengan kepekatan hormon yang sama hanya menghasilkan kalus *friable*. Regenerasi melalui pembentukan organ akar diperhatikan pada beberapa media regenerasi set B. Dalam media agar, kepekatan hormon yang berjaya mengaruhkan pembentukan akar adalah 0.1mg/l NAA + 1.0mg/l kinetin, 0.5mg/l NAA + 1.0mg/l kinetin, 0.1mg/l NAA + 2.0mg/l BAP, 0.5mg/l NAA + 2.0mg/l BAP dan 0.48mg/l NAA + 0.24mg/l kinetin. Dalam media Gelrite, kepekatan hormon yang berjaya menghasilkan akar adalah 0.1mg/l NAA + 1.0mg/l kinetin dan 0.48mg/l NAA + 0.24mg/l kinetin.

## ABSTRACT

*Centella asiatica* is a type of herb with green leaves that are shaped like kidney. This research was done to detect the most suitable media that can be used in the regeneration of shoots from petiole explants of *C. asiatica* and to evaluate the influence of two types of gelling agent, agar and Gelrite. In the beginning of the project, the explants were cultured on media regeneration set A which has six combination of hormone 2,4-D (1.0mg/l, 1.2mg/l, 1.4mg/l) and kinetin (0.5mg/l, 1.0mg/l, 2.0mg/l, 3.0mg/l) and another six combination of hormone NAA (0.25mg/l, 0.50mg/l, 0.75mg/l, 1.0mg/l) and kinetin (0.5mg/l, 1.0mg/l, 2.0mg/l, 3.0mg/l). After four weeks, explants that produces callus are subculture on regeneration media set B which has four combination of hormone NAA (0.1mg/l, 0.5mg/l) and kinetin (1.0mg/l, 2.0mg/l) and another four combination of hormone NAA (0.1mg/l, 0.5mg/l) and BAP (1.0mg/l, 2.0mg/l) and also one combination of hormone 0.48mg/l NAA + 0.24mg/l kinetin that is put in dark condition. At the end of the research, the main objective which is regeneration through shoot formation was not accomplished. But, one of the regeneration media R7 (0.1mg/l NAA + BAP 2.0mg/l) has produced nodular callus which has potential to regenerate. The gelling agent used in the media was agar. Gelrite media with the same hormone concentration only produces friable callus. Regeneration through the formation of roots were observed on certain regeneration media set B. In agar media, the hormone concentration that successfully initiated root formation are 0.1mg/l NAA + 1.0mg/l kinetin, 0.5mg/l NAA + 1.0mg/l kinetin, 0.1mg/l NAA + 2.0mg/l BAP, 0.5mg/l NAA + 2.0mg/l BAP and 0.48mg/l NAA + 0.24mg/l kinetin. In Gelrite media, the hormone concentration that was successful in regenerating roots are 0.1mg/l NAA + 1.0mg/l kinetin and 0.48mg/l NAA + 0.24mg/l kinetin.

## KANDUNGAN

	Muka Surat
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	x
SENARAI RAJAH	xii
SENARAI FOTO	xiii

<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	<b>1</b>
--------------------------	----------

<b>BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN</b>	<b>4</b>
2.1 Pengenalan <i>Centella asiatica</i>	4
2.1.1 Kandungan kimia <i>Centella asiatica</i>	6
2.1.2 Kegunaan <i>Centella asiatica</i>	7
2.2 Tisu Kultur Tumbuhan	10
2.3 Kepentingan Tisu Kultur Tumbuhan	11
2.4 Regenerasi	12
2.5 Organogenesis	13
2.5.1 Organogenesis Secara Langsung	14
2.5.2 Organogenesis Secara Tidak Langsung	15
2.6 Embriogenesis Somatik	16
2.7 Faktor-faktor Yang Mempengaruhi Regenerasi	18
2.7.1 Komposisi Media	18
2.7.2 Agen Pengeras	22
2.7.3 Cahaya	23
2.7.4 Suhu	24

2.7.5 pH	24
2.7.6 Eksplan	25
<b>BAB 3 BAHAN DAN KAEADAH</b>	<b>26</b>
3.1 Penyediaan Larutan Stok	26
3.1.1 Penyediaan MS Makronutrien (10X) Untuk Satu Liter	26
3.1.2 Penyediaan MS Mikronutrien (100X) Untuk Satu Liter	27
3.1.3 Penyediaan MS Vitamin (100X)	28
3.1.4 Penyediaan larutan FeNa <sub>2</sub> EDTA (10X)	29
3.2 Penyediaan Stok Hormon NAA, 2,4-D dan Kinetin Dalam Kepekatan 1 mg/ml (100 ml)	29
3.4.1 Penyediaan Stok Hormon NAA Dalam Kepekatan 1 mg/ml (100 ml)	30
3.4.2 Penyediaan Stok Hormon 2,4-D Dalam Kepekatan 1 mg/ml (100 ml)	30
3.4.3 Penyediaan Stok Hormon Kinetin Dalam Kepekatan 1 mg/ml (100 ml)	31
3.4.4 Penyediaan Stok Hormon BAP Dalam Kepekatan 1 mg/ml (100 ml)	31
3.3 Penyediaan Media Tanpa Hormon Untuk Satu Liter	32
3.3 Pennyediaan Media Untuk Regenerasi Dari Segmen Petiol (Satu Liter)	33
3.5 Penyediaan Eksplan Dari <i>Centella asiatica</i>	37
3.6 Kaedah Pensterilan Segmen Petiol	37
3.7 Pengkulturan Segmen Petiol <i>Centella asiatica</i>	37
3.8 Parameter Yang Dicerap	39
<b>BAB 4 KEPUTUSAN</b>	<b>41</b>
4.1 Perubahan Eksplan Sepanjang Tempoh Pengkulturan Di Dalam Media Regenerasi Set A	41
4.2 Perubahan Kalus Eksplan Dalam Media Regenerasi Set B Sepanjang Tempoh Pengkulturan	47

4.2.1 Perkembangan Kalus Dalam Media Regenerasi Set B	47
4.2.2 Penghasilan Akar Dalam Media Regenerasi Set B	57
<b>BAB 5 PERBINCANGAN</b>	<b>61</b>
5.1 Pembentukan Kalus Pada Eksplan Petiol	61
5.2 Perkembangan Kalus Dalam Media Regenerasi	64
5.3 Pembentukan Akar Dalam Media Regenerasi Set B	65
5.4 Media Yang Menghasilkan Kalus yang Berpotensi Untuk Beregenerasi	67
5.5 Masalah-masalah Yang Dihadapi Sepanjang Hasil Kajian	68
<b>BAB 6 KESIMPULAN</b>	<b>70</b>
<b>RUJUKAN</b>	<b>72</b>
<b>LAMPIRAN</b>	<b>77</b>

## SENARAI JADUAL

No. Jadual	Muka Surat
3.1 Komposisi larutan makronutrien untuk MS (10X)	27
3.2 Komposisi larutan mikronutrien untuk MS (100X)	28
3.3 Komposisi larutan vitamin untuk MS (100X)	28
3.4 Komposisi larutan FeNa2EDTA untuk MS (10X)	29
3.5 Rekabentuk kombinasi hormon 2,4-D, NAA dan kinetin untuk media regenerasi agar set A	34
3.6 Rekabentuk kombinasi hormon 2,4-D, NAA dan kinetin untuk media regenerasi Gelrite set A	35
3.7 Rekabentuk kombinasi hormon NAA, BAP dan kinetin untuk media regenerasi agar set B	36
3.8 Rekabentuk kombinasi hormon NAA, BAP dan kinetin untuk media regenerasi Gelrite set B	36
4.1 Peratus eksplan yang menghasilkan kalus di media regenerasi agar set A dalam media MS dengan kombinasi hormon 2,4-D, NAA dan kinetin	45
4.2 Peratus eksplan yang menghasilkan kalus di media regenerasi Gelrite set A dalam media MS dengan kombinasi hormon 2,4-D, NAA dan kinetin	46
4.3 Peratus perkembangan kalus dalam media regenerasi agar set B dalam media MS dengan kombinasi hormon NAA, kinetin dan BAP	48

4.4 Peratus perkembangan kalus dalam media regenerasi Gelrite set B dalam media MS dengan kombinasi hormon NAA, kinetin dan BAP	49
4.5 Peratus kalus yang menghasilkan akar dalam media regenerasi agar set B dalam media MS dengan kombinasi hormon NAA, kinetin dan BAP	58
4.6 Peratus kalus yang menghasilkan akar dalam media regenerasi Gelrite set B dalam media MS dengan kombinasi hormon NAA, kinetin dan BAP	59

## SENARAI RAJAH

No. Rajah	Muka Surat
2.1 Struktur kimia asiaticosida yang terdapat pada <i>C. asiatica</i>	7
2.3 Peringkat perkembangan dalam embriogenesis somatik susu kacang soya	17
2.3 Struktur kimia bagi hormon a) 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) b) Naphthaline acetic acid (NAA)	20
2.4 Struktur kimia bagi hormon kinetin atau <i>6-furfurylaminopurine</i>	21
4.1 Graf palang menunjukkan peratusan eksplan yang menghasilkan kalus pada media regenerasi agar set A selepas empat minggu pengkulturan	97
4.2 Graf palang menunjukkan peratusan eksplan yang menghasilkan kalus pada media regenerasi Gelrite set A selepas empat minggu pengkulturan	97
4.3 Graf palang menunjukkan peratusan perkembangan kalus pada media regenerasi agar set B selepas empat minggu pengkulturan	98
4.4 Graf palang menunjukkan peratusan perkembangan kalus pada media regenerasi Gelrite set B selepas empat minggu pengkulturan	98
4.5 Graf palang menunjukkan peratus kalus yang menghasilkan akar pada media regenerasi agar set B selepas empat minggu pengkulturan	99
4.6 Graf palang menunjukkan peratus kalus yang menghasilkan akar pada media regenerasi Gelrite set B selepas empat minggu pengkulturan	99



## SENARAI FOTO

No. Foto	Muka Surat
2.1 Struktur am <i>C. asiatica</i> (1) <i>C. asiatica</i> adalah tumbuhan menjalar pada permukaan tanah (2) Struktur daun (3) Bahagian internod (4) <i>Inflorescence</i> (5) Struktur bunga (6) Buah <i>C. asiatica</i> yang kecil dan mampat	6
3.1 Anak panah menunjukkan bahagian petiol pada <i>C. asiatica</i>	39
4.1 Eksplan pada media kawalan K1 dan K1.G yang tidak mengandungi sebarang hormon pada minggu keempat pengkulturan	43
4.2 Perbandingan jenis kalus yang terbentuk pada media regenerasi agar dan Gelrite	50
4.3 Perbandingan kadar pertumbuhan kalus pada media regenerasi agar dan Gelrite yang sama	51
4.4 Kesan hormon terhadap perkembangan kalus dalam media regenerasi agar set B pada minggu keempat pengkulturan	52
4.5 Kesan hormon terhadap perkembangan kalus dalam media regenerasi Gelrite Set B pada minggu keempat pengkulturan	53
4.6 Peringkat perkembangan kalus nodular pada media regenerasi R7 (0.1mg/l NAA dan 2.0mg/l BAP)	55
4.7 Perkembangan kalus pada media regenerasi Gelrite R7 (0.1mg/l NAA dan 2.0mg/l BAP)	56

**4.8 Perkembangan akar pada salah satu eksplan petiol media****R8 (0.5mg/l NAA dan 2.0mg/l BAP)****60**

## BAB 1

### PENDAHULUAN

*Centella asiatica* adalah sejenis tumbuhan dari famili Umbelliferae atau Apiaceae (Jayashree *et al.*, 2003). Contoh-contoh spesis lain bagi famili Umbelliferae adalah seperti ketumbar (*Coriandrum sativum L.*), saderi (*Apium graveolens L.*), selom (*Oenanthe stolonifera DC.*) dan lobak merah (*Daucus carota*); (Halimathul, 1998). Spesis-spesis bagi famili ini bertaburan di banyak tempat di seluruh dunia.

Kini, pertubuhan kesihatan sedunia (WHO) menganggarkan sebanyak 80 peratus orang masih bergantung kepada jamu tradisional seperti herba untuk ubat mereka (Tripathi & Tripathi, 2003). Dengan bertambahnya penyelidikan terhadap *C. asiatica*, penyelidik mula menyedari kebaikan herba ini dan potensinya untuk dikomersialkan. Ini seterusnya menambahkan permintaan dunia terhadap bekalan *C. asiatica*. Penggunaan herba ini yang meluas menyebabkan populasi *C. asiatica* yang liar semakin berkurangan.

Ini adalah antara sebab mengapa teknik tisu kultur tumbuhan memainkan peranan yang penting. Teknik tisu kultur boleh diaplikasikan untuk mikropropagasi *C. asiatica* yang berkualiti dalam kuantiti yang banyak dan pada jangka masa yang singkat. Dengan ini, permintaan industri tertentu seperti industri farmaseutikal terhadap bekalan *C. asiatica* boleh dipenuhi. Mikropropagasi melalui teknik tisu kultur tumbuhan lebik baik berbanding penanaman *C. asiatica* yang tradisional kerana selain menghasilkan tumbuhan klon yang berkualiti, tumbuhan tersebut bebas daripada patogen dan propagasi secara *in vitro* juga boleh dijalankan sepanjang tahun tanpa mengira musim.

Teknik tisu kultur tumbuhan yang tertentu, seperti regenerasi mempunyai potensi untuk dikembangkan pada masa hadapan. Teknik ini membolehkan pokok *C. asiatica* yang lengkap dihasilkan dari mana-mana bahagian tumbuhan tersebut. Pada masa ini, teknik regenerasi digunakan untuk propagasi induk yang mempunyai ciri-ciri yang baik, contohnya ciri tahan kepada serangan penyakit. Teknik regenerasi juga boleh digunakan bersama-sama dengan kejuruteraan genetik untuk menghasilkan dan memperbanyak tumbuhan transgenik. Kejuruteraan genetik membolehkan para saintis mengasingkan gen yang mempunyai nilai komersial yang tinggi dalam tumbuhan dan kemudian memasukkan gen-gen tersebut ke dalam tumbuhan yang dikehendaki (Kung & Wu, 1993). Objektif utama kejuruteraan genetik tumbuhan adalah untuk menghasilkan tumbuhan yang mempunyai ciri-ciri yang tidak boleh diperolehi melalui teknik kacukan tradisional dan pemilihan baka. Pada masa akan datang, suatu sistem transformasi bagi *C. asiatica* mungkin akan diperolehi dan pada masa tersebut, sistem regenerasi yang sesuai

boleh digunakan untuk memperbanyakkan tumbuhan transgenik ini dalam masa yang singkat.

Objektif kajian ini adalah untuk menentukan kepekatan hormon yang sesuai untuk regenerasi *C. asiatica*. Dua jenis set media regenerasi digunakan. Media regenerasi set A menggunakan tiga jenis hormon iaitu asid  $\alpha$ -asetik naftalena (NAA), asid 2,4-diklorofenoksi asetik (2,4-D) dan kinetin. Media regenerasi set B menggunakan hormon NAA, 6-benzilamino purin (BAP) dan kinetin. Selain itu, kajian ini juga dijalankan untuk menilai kesan penggunaan Gelrite dan agar dalam regenerasi *C. asiatica*.

## BAB 2

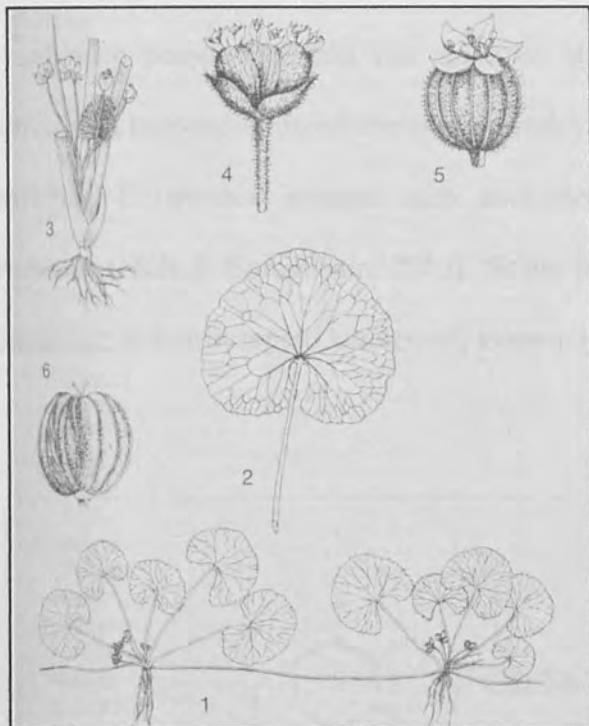
### ULASAN PERPUSTAKAAN

#### 2.1 Pengenalan *Centella asiatica*

*Centella asiatica* digunakan sebagai ubat secara meluas di India dalam sistem perubatan tradisional mereka yang dikenali sebagai sistem Ayurvedik. Selain India, *C. asiatica* juga digunakan sebagai ubat herba di benua-benua lain yang mempunyai budaya dan etnik yang berbeza (Inamdar *et al.*, 1996). Malahan, Abdul Hamid *et al.* (2002) melaporkan bahawa tumbuhan herba ini merupakan tumbuhan asli kepada negara-negara seperti Sri Lanka, Madagascar, Afrika Selatan dan Malaysia. Jadi, *C. asiatica* dikenali dengan pelbagai nama di seluruh dunia. Contohnya di India, *C. asiatica* dikenali dengan nama tempatan *Indian pennywort* atau *mandookaparni* (Nath & Buragohain, 2003). Di Indonesia, *C. asiatica* dikenali sebagai daun kaki kuda dan pegagan. Di Filipina, tumbuhan ini dikenali sebagai *takip-kohol*, *tapingan-daga* dan *hahang-halo*. Di Burma pula, *C. asiatica* dikenali sebagai *min-kuabin*, manakala di Laos tumbuhan ini dikenali sebagai *phak nok*. Nama tempatan bagi *C. asiatica* di Malaysia, Singapura dan Brunei

adalah sama iaitu pegaga (de Padua *et al.*, 1999). Pegaga boleh dijumpai tumbuh liar di merata-rata tempat di Malaysia kerana iklim negara kita yang sesuai. Segelintir penjual sayur hanya memetik pokok pegaga yang tumbuh liar untuk dijual. Tetapi terdapat juga penjual sayur yang menanam pegaga dalam kuantiti yang banyak untuk dijual secara komersial.

*Centella asiatica* adalah sejenis tumbuhan merayap dengan pengakaran di bahagian internod. Secara umumnya, *C. asiatica* mempunyai daun berwarna hijau yang berbentuk seperti ginjal. Daun *C. asiatica* mempunyai tekstur permukaan yang licin dan ia boleh mencapai lebar satu inci. Batang pokok *C. asiatica* pula langsing dan bunga yang dihasilkan adalah biseksual dan berwarna hijau ke merah jambu. Selalunya bunga pada pokok *C. asiatica* tumbuh dalam kelompok satu hingga lima. *Centella asiatica* juga menghasilkan buah yang kecil dan mampat (WHO, 1989). *Centella asiatica* adalah sejenis pokok yang tumbuh dan berbunga sepanjang tahun. Di negara seperti Filipina, *C. asiatica* dilaporkan menjadi antara sumber debunga yang utama bagi lebah madu (de Padua *et al.*, 1999). *Centella asiatica* boleh dijumpai tumbuh liar di negara tropikal dan sub-tropikal (Mahanom *et al.*, 2005). Pada kebiasaannya, *C. asiatica* akan tumbuh di kawasan yang lembap dan terlindung daripada pancaran matahari. Contohnya, di kawasan tepi sungai, parit tepi jalan, kawasan lapang yang redup dan halaman yang lembap.

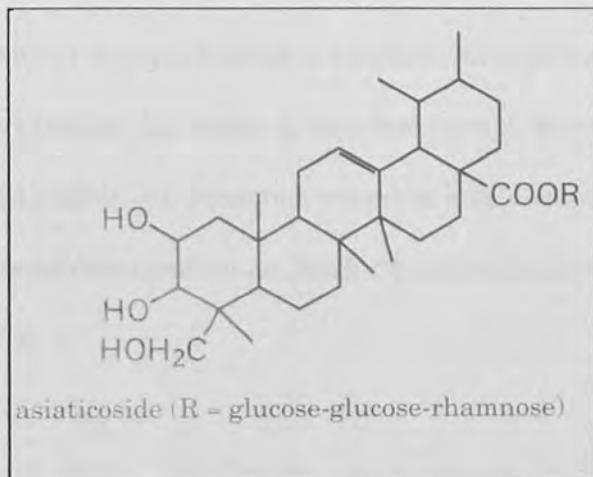


**Foto 2.1** Struktur am *C. asiatica* (1) *C. asiatica* adalah tumbuhan menjalar pada permukaan tanah (2) Struktur daun (3) Bahagian internod (4) Inflorescence (5) Struktur bunga (6) Buah *C. asiatica* yang kecil dan mampat (de Padua *et al.*, 1999)

### 2.1.1 Kandungan Kimia *Centella asiatica*

Pelbagai kajian saintifik yang dijalankan ke atas *C. asiatica* membuktikan tumbuhan ini mempunyai kandungan aktif yang berguna dalam merawat pelbagai jenis penyakit. Antara sebatian yang boleh dijumpai di dalam *C. asiatica* adalah *indocentelloside*, *brahmosida*, *brahminosida*, *asiaticosida*, *theankuniside* dan *iso-thankuniside* (Tiwari *et al.*, 2000). Komponen triterpenoid yang dianggap paling penting di dalam *C. asiatica* adalah *asiaticosida*, *madekassosida*, *asid asiatik* dan *asid madekasik*. Inamdar *et al.* (1996)

melaporkan sebatian-sebatian ini bertanggungjawab terhadap kebolehan *C. asiatica* sebagai agen penyembuh luka dan stimulasi otak. Sebatian asiaticosida di dalam *C. asiatica* juga berperanan dalam merawat penyakit seperti penyakit kusta dan tuberkulosis. Kebolehan *C. asiatica* sebagai agen antitumor pula adalah disebabkan oleh asid madekasik (Nath & Buragohain, 2003). Selain itu, daun *C. asiatica* juga kaya dengan pelbagai zat makanan seperti karotenoid, vitamin B dan vitamin C (Tiwari *et al.*, 2000).



**Rajah 2.1** Struktur kimia asiaticosida yang terdapat pada *C. asiatica* (de Padua *et al.*, 1999)

### 2.1.2 Kegunaan *Centella asiatica*

*Centella asiatica* telah diperakui oleh Pertubuhan Kesihatan Sedunia (WHO) kerana kaya dengan pelbagai ramuan ubatan. *Centella asiatica* sebenarnya telah lama dijadikan ubat tradisional untuk merawat penyakit tertentu di seluruh dunia. Nama herba ini didapati tercatat dalam manuskrip Ayurvedik di India pada zaman lampau. Menurut manuskrip

tersebut, *C. asiatica* digunakan sebagai *Rasayana* atau dadah *rejuvenate* (Jayashree *et al.*, 2003). *Centella asiatica* digunakan dalam merawat pelbagai jenis penyakit kulit, penyakit ulcer, *rheumatism* yang kronik, penyakit kusta, malaria, demam, sawan dan pembesaran kelenjar (Patra *et al.*, 1998). Selain itu, Tiwari *et al.* (2000) melaporkan yang *C. asiatica* digunakan sebagai tonik saraf yang berkesan dan juga dalam rawatan penyakit asma, bronkitis, *dropsy*, *elephantiasis*, gastrik, masalah buah pinggang, penyakit kusta, *leucorrhoea*, penyakit kulit dan *urethritis* di dalam perubatan Ayurvedik. Di Malaysia, *C. asiatica* atau pegaga dimakan sebagai ulam-ulaman kerana khasiatnya, terutama oleh komuniti melayu. Penduduk tempatan percaya yang daun *C. asiatica* boleh memperbaiki daya ingatan dan merawat keletihan mental, keresahan dan *eczema* (Abdul Hamid *et al.*, 2001) Selain itu, penduduk tempatan juga mempercayai daun atau akar *C. asiatica* yang dilumat dan dijadikan jus boleh membantu menurunkan tekanan darah (Ong & Norzalina, 1999).

Shukla *et al.* (1999) telah melakukan kajian terhadap aktiviti asiaticosida dalam menyembuhkan luka secara *in vitro* dan *in vivo*. Kajian mereka mendapati luka hasil tebukan pada tikus belanda menunjukkan peningkatan sebanyak 56% dalam penghasilan *hydroxyproline*, kekuatan ketegangan pada tisu luka pula meningkat sebanyak 57% dan kandungan kolagen turut meningkat apabila disapu dengan 0.2% larutan asiaticosida. Tikus yang mempunyai penyakit *streptozotocin diabetic* turut menunjukkan peningkatan di dalam kandungan *hydroxyproline*, kekuatan ketegangan tisu luka dan kandungan kolagen apabila disapu dengan 0.4% larutan asiaticosida. Shetty *et al.* (2006) juga menjalankan kajian untuk menilai potensi *C. asiatica* dalam penyembuhan luka.

Keputusan hasil kajian mereka mendapati ekstrak daun *C. asiatica* meningkatkan aktiviti penyembuhan luka dengan berkesan pada luka tikus eksperimen.

Ujian-ujian ke atas binatang ini membuktikan bahawa ekstrak *C. asiatica* mempunyai kebolehan untuk menyembuhkan luka. Ekstrak herba ini didapati meransang penghasilan kolagen jenis I yang seterusnya meningkatkan penghasilan *myofibroblast* dan menurunkan kesan keradangan (Shetty *et al.*, 2006). Oleh itu, ekstrak *C. asiatica* sebenarnya mempunyai potensi yang besar untuk dikomersialkan kerana semakin berumur seseorang, semakin kurang kolagen yang yang dihasilkan badan. Penghasilan kolagen diperlukan dalam badan untuk meransang proses penyembuhan semulajadi luka. Jadi, ekstrak herba ini boleh digunakan untuk bertindak secara spesifik terhadap bahagian yang luka dan mengurangkan jangka masa penyembuhan bahagian tersebut.

Tiwari *et al.* (2000) melaporkan daun pegaga kaya dengan karotenoid, vitamin B dan vitamin C. Vitamin B bertanggungjawab dalam mengawalatur fungsi sistem saraf yang normal (Fujii *et al.*, 1996). Jadi, pegaga sememangnya memberi kesan yang baik kepada otak kerana sistem saraf yang sihat membolehkan otak berfungsi dengan lebih baik. Vitamin C atau juga dikenali sebagai asid askorbik bertindak sebagai agen penurun dalam beberapa proses penting dalam badan. Selain itu, vitamin C juga merupakan agen anti-oksida yang turut membantu dalam meningkatkan penyerapan ion logam dan penggunaan asid folik oleh badan (Ciancaglini *et al.*, 2001).

## RUJUKAN

- Abdul Hamid, A., Md. Shah. Z., Muse, R. & Mohamed, S. 2002. Characterisation of antioxidative activities of various extracts of *Centella asiatica* (L) urban. *Food Chemistry* 77, ms. 465-469.
- Altman, A. 1998. *Agricultural Biotechnology*. Marcel Dekker, Inc, New York, ms 21-38.
- Arteca, R.N. 1996. *Plant Growth Substances. Principles and Applications*. Chapman and Hall, New York, ms 17-20.
- Bhojwani, S.S. & Razdan, M. K. 1983. *Plant Tissue Culture. Theory and Practice*. Elsevier Science Publishers B.V., The Netherlands, ms 320-335.
- Bonga, J. M. & Aderkas, P. V. 1992. *In Vitro Culture of Trees*. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, ms 1-54.
- Chrispeels, M. J. & Sadava, D, E. 1994. *Plants, Genes, and Agriculture*. Jones and Bartlett Publishers, Inc, Boston, ms 385-399.
- Ciancaglini, P., Santos, H. L., Daghastanli, K. R. P. & Thedei Jr, G. 2001. Laboratory exercises using a classical method of vitamin C quantification as a tool for discussion of its role in the body. *Biochemistry and Molecular Biology Education* 29, ms 110-114.
- de Padua, L. S., Bunyaphraphatsara, N. & Lemmens, R. H. M. J. 1999. *Plant Resources of South-East Asia No 12 (1). Medicinal and Poisonous Plants 1*. Backhuys Publishers, Leiden, the Netherlands, ms 190-194.

- Ebrahimie, E., Habashi, A. A., Ghareyazie, B., Ghannadha. M., & Mohammadie, M. 2003. A rapid and efficient method for regeneration of plantlets from embryo explants of cumin (*Cuminum cyminum*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **75**, ms 19-25.
- Ebrahim, M.K.H. & Ibrahim, I.A. 2000. Influence of medium solidification and pH value on in vitro propagation of *Maranta Leuconeura* cv. *Kerchoviana*. *Scientia Horticulturae* **86**, ms. 211-221.
- Fujii, A., Matsumoto, H. & Yamamoto, H. 1996. Effect of vitamin B complex on neurotransmission and neurite outgrowth. *Gen. Pharmacology* **27**(6), ms 995-1000.
- Gamborg, D.L. & Phillips, G.C. 1995. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture. Fundamental Methods*. Springer- Verlay, Berlin Heidelberg, ms 45-46.
- Geneve, R. L., Preece, J. E. & Merkle, S. A. 1997. *Biotechnology of Ornamental Plants*. Cab International, United Kingdom, ms 45-65.
- Halimathul S. A. S. 1998. *Sayur-Sayuran Semenanjung Malaysia*. Dewan Bahasa dan Pustaka, Selangor Darul Ehsan, ms 107.
- Hartmann, H. T., Kester, E. D., Davies, Jr., F. T. & Geneve, R. L. 1997. *Plant Propagation: Principles and Practices*. 6<sup>th</sup> ed. Prentice-Hall, Inc, New Jersey, ms 549-611.
- 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.

- Jayashree, G., Muraleedhara, G.K., Sudarslal, S. & Jacob, V.B. 2003. Anti-oxidant activity of *Centella asiatica* on lymphoma-bearing mice. *Fitoterapia* **74**, ms 431-434.
- Kung, S. & Wu, R. 1993. *Transgenic Plants*, Academic Press, Inc, California, ms 147-173.
- Mahanom, H., Azizah, A. H., Suhaila, M., Nazamid, S., Maznah, I. & Mohd. Hair, B. 2005. Protective effect of *Centella asiatica* extract and powder on oxidative stress in rats. *Food Chemistry* **100**, ms 535-541.
- Mackay, W.A. & Kitto, S.L. 1988. Factors affecting in vitro shoot proliferation French Tarragon. *HortScience* **113**(2), ms. 282-287
- Murashige, T. & Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* **15**, ms 473-497
- 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.
- Nath, S. & Buragohain, A. K. 2005. Establishment of callus and cell suspension cultures of *Centella asiatica*. *Biologia Plantarum* **49**(3), ms 411-413.
- Ong, H. C. & Norzalina, J. 1999. Malay herbal medicine in Gemencheh, Negeri Sembilan, Malaysia. *Fitoterapia* **70**, ms 10-14.
- Paramageetham, Ch., Babu, G. P. & 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.

- 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.
- Purohit, S. S. 2003. *Agricultural Biotechnology*. 2<sup>nd</sup> edi. Jodhpur Agrobios, India, ms 256-296.
- Santos, K. G. B.D., Mariath, J. E. D. A., Maria C. C. M.& Bodanese-Zanettini, M. H. 2006. Somatic embryogenesis from immature cotyledons of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.): ontogeny of somatic embryos. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **49**(1), ms 49-55
- Sharma, R.K. & Wakhlu, A.K. 2003. Regeneration of *Heracleum candicans* wall plants from callus cultures through organogenesis. *J. Plant Biochemistry & Biotechnology* **12**, ms 71-72.
- Shetty, B. S., Udupa, S. L., Udupa, A. L. & Somayaji, S. N. 2006. Effect of *Centella asiatica* L (Umbelliferae) on normal and dexamethasone-suppressed wound healing in wistar albino rats. *Lower Extremity Wounds* **5**(3), ms 137-143.
- Shrivasta, N. & Rajani, M. 1999. Multiple Shoot Regeneration Monnier (L.) Pennell. *Plant Cell Reports* **18**, ms. 919-923.
- Shukla, A., Rasik, A. M., Jain, G. K., Shankar, R., Kulshrestha, D. K. & Dhawan, B. N. 1999. *In vitro* and *in vivo* wound healing activity of asiaticoside isolated from *Centella asiatica*. *Journal of Ethnopharmacology* **65**, ms 1-11.
- Stuart, D.A. & McCall, C.M. 1992. Induction of somatic embryogenesis using side chain and ring modified forms of phenoxy acid growth regulators. *Plant Physiol.* **99**, ms 111-118.

Thorpe, T. A. 1981. *Plant Tissue Culture. Methods and Applications in Agriculture.* Academic Press, Inc, California, ms 21-45.

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.

Tripathi, L. & Tripathi, J.N. 2003. Role of biotechnology in medicinal plants. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* **2** (2), ms 243-253.

World Health Organization (WHO). 1989. *Medicinal Plants in Vietnam.* Institute of Materia Medica, Hanoi.