

**PERCAMBAHAN BIJI BENIH DAN PROPAGASI
ORKID ENDEMIK, *Dendrobium tetrachromum* Dan
Dendrobium hamaticalcar SECARA IN VITRO**



PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

**SEKOLAH PERTANIAN LESTARI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH
2013**

**PERCAMBahan BIJI BENIH DAN PROPAGASI
ORKID ENDEMIK, *Dendrobium tetrachromum* Dan
Dendrobium hamaticalcar SECARA IN VITRO**

MASLINI BINTI JAPAR ALI



UMS

**TESIS DIKEMUKAKAN BAGI MEMENUHI SYARAT
UNTUK MEMPEROLEH IJAZAH SARJANA SAINS
PERTANIAN**

**PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

**SEKOLAH PERTANIAN LESTARI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH
2013**

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN TESIS

JUDUL : _____

_____IJAZAH : _____

_____SAYA : _____ SESI PENGAJIAN : _____
(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 (/)

SULIT

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

TERHAD

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

TIDAK TERHAD

Disahkan oleh:

(TANDATANGAN PENULIS)

Alamat Tetap: _____

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

TARIKH: _____

(NAMA PENYELIA)

TARIKH: _____

Catatan:

*Potong yang tidak berkenaan.

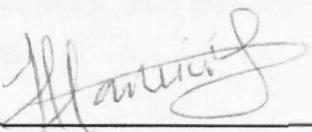
*Jika tesis ini SULIT dan TERHAD, sila lampirkan surat daripada pihak berkuasa/organisasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT dan TERHAD.

*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).

PENGAKUAN

Karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan, ringkasan, dan rujukan yang tiap-tiap satunya telah saya jelaskan sumbernya.

30 September 2013


Maslini Binti Japar Ali
PC2008-8017



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGESAHAN

NAMA : **MASLINI BINTI JAPAR ALI**
NO. MATRIK : **PC20088017**
TAJUK : **PERCAMBAHAN BIJI BENIH DAN PROPAGASI ORKID
ENDEMIK, *Dendrobium tetrachromum* dan *Dendrobium
hamaticalcar* SECARA *IN VITRO***
IJAZAH : **SARJANA SAINS PERTANIAN**
TARIKH VIVA : **25 JULAI 2013**

PENGESAHAN OLEH;

1. PENYELIA

Prof. Datin. Dr. Mariam Abd. Latip

Tandatangan



PENGHARGAAN

Alhamdulillah, syukur ke hadrat Allah S.W.T kerana dengan limpah rahmat dan kasihNya, saya menyiapkan kajian penyelidikan bagi keperluan Ijazah Sarjana ini. Saya dengan seikhlas hati ingin mengucapkan jutaan terima kasih kepada penyelia projek saya iaitu Prof Datin Dr. Hajjah Mariam Abdul Latip, di atas segala bimbingan, nasihat, panduan, peluang, idea dan kepercayaan yang telah beliau berikan selama ini. Dan juga tidak lupa kepada Puan Rosmah Murdad selaku penyelia bersama yang turut membantu dalam menjalankan kajian ini. Ucapan terima kasih ini juga saya rakamkan buat Dekan Sekolah Pertanian Lestari (SPL), pensyarah-pensyarah SPL dan Sekolah Sains dan Teknologi (SST), kakitangan bukan akademik SPL dan SST yang turut terlibat secara langsung ataupun tidak. Ucapan penghargaan juga saya tujukan kepada Prof Madya Dr. Harpal Singh Saini selaku penyelaras pelajar Pascasiswazah SPL diatas bantuan, sokongan dan nasihat yang telah diberikan sepanjang pengajian saya.

Sekalung ribuan terima kasih juga turut ditujukan kepada pihak Biasiswa Yayasan Tunku Abdul Rahman (YBSTAR) yang telah menaja pengajian saya. Ucapan terima kasih juga saya tujukan kepada pembiayaan Geran Penyelidikan Pascasiswazah, Pusat Penyelidikan dan Inovasi UMS (PPI) yang turut membiayai kajian saya ini. Ucapan teristimewa buat sumber inspirasi saya iaitu bapa saya, Allahyarham Japar Ali Bin Hj Yassin dan juga buat ibunda yang tercinta, Dayang Aishah Bt Awg Seraill serta adik-beradik saya yang telah banyak membantu saya dari segi kewangan dan sokongan moral. Tidak lupa pula kepada semua rakan-rakan yang turut membantu dan memberi sokongan selama ini. Sesungguhnya hanya Allah S.W.T sahaja yang dapat membala jasa-jasa baik kalian semua. Amin.....

Sekian, terima kasih

Maslini Binti Japar Ali

ABSTRAK

PERCAMBAHAN BIJI BENIH DAN PROPAGASI ORKID ENDEMIK, *Dendrobium tetrachromum* DAN *D. hamaticalcar* SECARA *IN VITRO*

Kajian terhadap percambahan biji benih dan propagasi *in vitro* orkid endemik Borneo, *Dendrobium tetrachromum* (DT) dan *D. hamaticalcar* (DH) telah dijalankan. Kesan terhadap faktor media asas, kompleks aditif dan fotokala terhadap percambahan biji benih, proliferasi protokorm serta pertumbuhan dan perkembangan protokorm dikaji. Kesan auksin, sitokinin dan sumber karbon berbeza (sukrosa, glukosa dan fruktosa) terhadap proliferasi serta pertumbuhan dan perkembangan protokorm turut dikaji. Media pengkulturan terbaik untuk pembesaran anak benih *in vitro* juga dikenalpasti. Hasil kajian mendapati $\frac{1}{2}$ MS merupakan media asas yang paling baik untuk percambahan *in vitro* biji benih, proliferasi serta pertumbuhan dan perkembangan protokorm bagi kedua-dua spesies orkid yang dikaji. Penambahan air kelapa (AK) 15% (v/v) atau pepton (Pep) 0.2% (w/v) ke dalam media $\frac{1}{2}$ MS dapat meningkatkan peratus percambahan biji benih DT (100%). Manakala ekstrak kentang (EK) 0.1% (w/v) baik untuk percambahan biji benih DH (100%). Penggunaan AK 10% atau 15% mampu mengaruhkan protokorm DT berproliferasi. Sementara, penambahan ekstrak yis (EY) atau EK pada kepekatan 0.1 atau 0.2% (w/v) dapat mengalakkan protokorm DH berproliferasi. Media mengandungi 1.0 mgL^{-1} NAA (91%) atau 2.0 mgL^{-1} BAP (98%) baik untuk proliferasi protokorm DT. Manakala protokorm DH didapati lebih baik berproliferasi di atas media 1.0 mgL^{-1} 2, 4-D (91%) atau 1.0 mgL^{-1} kinetin (61%). Penambahan 1.0 mgL^{-1} NAA atau IAA dalam media memberikan kesan baik ke atas pertumbuhan dan perkembangan protokorm DT dan DH. Penggunaan sukrosa 3% (w/v) dan tempoh 24j cahaya adalah paling sesuai bagi percambahan *in vitro* biji benih (97-100%), proliferasi (40-100%) serta pertumbuhan dan perkembangan protokorm (100%) DT dan DH. Hasil kajian mendapati anak benih *in vitro* DT dan DH yang berumur 270 hari dapat dipindahkan ke rumah hijau.

ABSTRACT

The study was conducted to determine the most suitable media for in vitro seed germination and propagation of Bornean endemic orchids, *Dendrobium tetrachromum* (DT) and *D. hamatocalcar* (DH). Various types of basic media, complex additives and photoperiod were investigated on in vitro seeds germination, proliferation and protocorms growth and development. The effects of auxins, cytokinin and different carbon sources(sucrose, glucose and fructose) of proliferation, growth and development protocorms are also being studied. The result showed that the $\frac{1}{2}$ MS is the suitable medium for the in vitro seeds germination, proliferation, growth and development protocorms of DT and DH species. The addition of coconut water (CW) 15% (v/v) or Peptone 0.2% (w/v) into the $\frac{1}{2}$ MS medium enhanced the germination of seed DT (100%). However, the Potatoes extract (PE) 0.1% (w/v) is the best additive for the germination of seed DH (100%). The usage of coconut water (CW) 10% or 15% (v/v) induced protocorms proliferation of DT. The addition of yeast extract (YE) or PE at 0.1 or 0.2% (w/v) stimulated the protocorms proliferation of DH. 1.0 mgL^{-1} NAA and 2.0 mgL^{-1} BAP was the best media for the protocorms proliferation of DT. While the usage of 1.0 mgL^{-1} 2, 4-D (91%) and 1.0 mgL^{-1} kinetin (61%) stimulated the DH protocorms proliferation. Addition of 1.0 mgL^{-1} NAA and IAA into media showed the good effect on protocorms growth and development for DT and DH. Sucrose 3% (w/v) and 24h light was suitable for in vitro seeds germination (97-100%), proliferation (40-100%) and protocorms growth and development (100%) of DT and DH. The research showed that 270-old-days in vitro seedlings of DT and DH were suitable to transfer at green house.

SENARAI KANDUGAN

	Halaman
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI FOTO	xi
SENARAI JADUAL	xiii
SENARAI RAJAH	xv
SENARAI SIMBOL	xvi
 BAB 1: PENGENALAN	 1
BAB 2: ULASAN LITERATUR	
2.1 Taburan Orkid	4
2.2 Genus <i>Dendrobium</i>	4
2.2.1 <i>Dendrobium tetrachromum</i>	7
2.2.2 <i>Dendrobium hamatocalcar</i>	9
2.3 Propagasi orkid	
2.3.1 Percambahan Semulajadi Biji benih Orkid	13
2.3.2 Percambahan <i>in vitro</i> biji benih	13
2.3.3 Propagasi Vegetatif orkid secara Konvensional	15
2.3.4 Propagasi Vegetatif orkid secara <i>In vitro</i>	15
2.4 Faktor-faktor kejayaan percambahan dan propagasi <i>in vitro</i> orkid	
2.4.1 Sumber Eksplan	17
2.4.2 Media Asas	18
2.4.3 Kompleks aditif	19
2.4.4 Sumber Karbon	22
2.5 Fotokala	24
2.6 Peranan Hormon Dalam Kultur Tisu	
2.6.1 Auksin	27
2.6.2 Sitokinin	27
 BAB 3: PERCAMBAHAN <i>IN VITRO</i> BIJI BENIH	
3.1 Pengenalan	28
3.1.1 Objektif Kajian	28
3.2 Bahan dan Kaedah	29

3.2.1	Biji Benih <i>D. terachromum</i> dan <i>D. Hamatricalcar</i>	29
3.2.2	Penyediaan Stok Larutan	29
3.2.3	Penyediaan Media Pengkulturan	30
3.2.4	Penyediaan Bahan Kompleks Aditif	30
3.2.5	Pensterilan Kapsul	30
3.2.6	Pengkulturan Biji Benih	31
3.3	Faktor-Faktor yang diuji dalam Kajian Percambahan <i>in vitro</i> Biji Benih	
3.3.1	Media asas	31
3.3.2	Kompleks Aditif	31
3.3.3	Fotokala	32
3.4	Cerapan Data dan Analisis Data	32
3.5	Keputusan	
3.5.1	Kesan Media Asas	34
3.5.2	Kesan Kompleks Aditif	40
3.5.3	Kesan Fotokala	47
3.6	Perbincangan	
3.6.1	Kesan Media Asas	50
3.6.2	Kesan Kompleks Aditif	54
3.6.3	Kesan Fotokala	57
3.7	Kesimpulan	57



BAB 4: PROLIFERASI PROTOKORM

4.1	Pengenalan	59
4.1.1	Objektif Kajian	60
4.2	Bahan dan Kaedah	60
4.2.1	Sumber Eksplan	60
4.2.2	Penyediaan Media	60
4.2.3	Pengkulturan	60
4.3	Faktor-Faktor Yang Diuji Dalam Proliferasi Protokorm	
4.3.1	Media asas	60
4.3.2	Kompleks aditif	61
4.3.3	Hormon	61
4.3.4	Sumber karbon	61
4.3.5	Fotokala	62
4.3.6	Arang teraktif	62
4.4	Cerapan Data dan Analisis Data	62

4.5	Keputusan	
4.5.1	Kesan media asas	63
4.5.2	Kesan kompleks aditif	67
4.5.3	Kesan hormon	72
4.5.4	Kesan sumber karbon	82
4.5.5	Kesan fotokala	85
4.5.6	Kesan arang teraktif	88
4.6	Perbincangan	
4.6.1	Kesan media asas	91
4.6.2	Kesan kompleks aditif	92
4.6.3	Kesan hormon	94
4.6.4	Kesan sumber karbon	95
4.6.5	Kesan fotokala	96
4.6.6	Kesan arang teraktif	98
4.7	Kesimpulan	98

BAB 5: PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN PROTOKORM

5.1	Pengenalan	100
5.1.1	Objektif Kajian	101
5.2	Bahan dan kaedah	101
5.2.1	Sumber eksplan	101
5.2.2	Penyediaan media	101
5.2.3	Penyediaan bahan kompleks aditif	101
5.2.4	Pengkulturan eskplan	102
5.2.5	Faktor-Faktor yang diuji dalam kajian pertumbuhan dan perkembangan protokorm	102
5.2.6	Cerapan dan Analisis Data	104
5.3	Kajian Pembesaran Anak benih <i>in vitro</i>	
5.3.1	Bahan dan Kaedah	105
5.3.2	Rawatan	107
5.3.3	Cerapan dan Analisis Data	107
5.4	Penyesuaian anak pokok <i>in vitro</i>	108
5.4.1	Bahan dan Kaedah	108
5.5	Keputusan	
5.5.1	Kesan media asas	108
5.5.2	Kesan kompleks aditif	114
5.5.3	Kesan hormon	121
5.5.4	Kesan sumber karbon	135

5.5.5	Kesan fotokala	140
5.5.6	Kesan arang teraktif	144
5.5.7	Pembesaran anak benih <i>in vitro</i>	148
5.6	Perbincangan	
5.6.1	Kesan media asas	153
5.6.2	Kesan kompleks aditif	153
5.6.3	Kesan hormon	155
5.6.4	Kesan sumber karbon	156
5.6.5	Kesan fotokala	157
5.6.6	Kesan arang teraktif	158
5.6.7	Pembesaran anak benih <i>in vitro</i>	159
5.7	Kesimpulan	180
BAB 6: RUMUSAN DAN CADANGAN		162
RUJUKAN		168
LAMPIRAN		184



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

SENARAI JADUAL

	Halaman
Jadual 2.1 Penggunaan sumber eksplan bagi kaedah kultur tisu orkid <i>Dendrobium</i>	18
Jadual 2.2 Penggunaan pelbagai jenis media dalam dalam percambahan <i>in vitro</i> biji benih dan kultur tisu orkid <i>Dendrobium</i>	19
Jadual 2.3 Penggunaan kompleks aditif dalam media dalam percambahan <i>in vitro</i> biji benih dan kultur tisu orkid <i>Dendrobium</i>	22
Jadual 2.4 Penggunaan jenis sumber karbohidrat yang digunakan dalam percambahan <i>in vitro</i> biji benih dan kultur tisu orkid bagi orkid <i>Dendrobium</i>	24
Jadual 2.5 Penggunaan cahaya dalam percambahan <i>in vitro</i> biji benih dan kultur tisu orkid <i>Dendrobium</i> .	25
Jadual 2.6 Kesesuaian auksin dan sitokinin dalam teknik kultur tisu bagi orkid genus <i>Dendrobium</i>	27
Jadual 3.1 Kesan media asas terhadap percambahan <i>in vitro</i> biji benih <i>D. tetrachromum</i> mengikut hari pengkulturan.	34
Jadual 3.2 Kesan media asas terhadap percambahan <i>in vitro</i> biji benih <i>D. hamaticalcar</i> mengikut hari pengkulturan.	35
Jadual 3.3 Kesan kompleks aditif terhadap percambahan <i>in vitro</i> biji benih <i>D. tetrachromum</i> mengikut hari pengkulturan.	41
Jadual 3.4 Kesan kompleks aditif terhadap percambahan <i>in vitro</i> biji benih <i>D. hamaticalcar</i> mengikut hari pengkulturan.	42
Jadual 3.5 Kesan fotokala terhadap percambahan <i>in vitro</i> biji benih <i>D. tetrachromum</i> mengikut hari pengkulturan.	48
Jadual 3.6 Kesan fotokala terhadap percambahan <i>in vitro</i> biji benih <i>D. hamaticalcar</i> mengikut hari pengkulturan.	48
Jadual 4.1 Kesan media asas terhadap proliferasi protokorm <i>D. tetrachromum</i> pada 60 hari pengkulturan	64
Jadual 4.2 Kesan media asas terhadap proliferasi protokorm <i>D. hamaticalcar</i> pada 60 hari pengkulturan	64
Jadual 4.3 Kesan kompleks aditif terhadap proliferasi protokorm <i>D. tetrachromum</i> pada 60 hari pengkulturan	68

Jadual 4.4	Kesan kompleks aditif terhadap proliferasi protokorm <i>D. hamaticalcar</i> pada 60 hari pengkulturan.	69
Jadual 4.5	Kesan auksin terhadap proliferasi protokorm <i>D. tetrachromum</i> pada 60 hari pengkulturan	73
Jadual 4.6	Kesan auksin terhadap proliferasi protokorm <i>D. hamaticalcar</i> pada 60 hari pengkulturan.	74
Jadual 4.7	Kesan sitokinin terhadap proliferasi protokorm <i>D. tetrachromum</i> pada 60 hari pengkulturan.	78
Jadual 4.8	Kesan sitokinin terhadap proliferasi protokorm <i>D. hamaticalcar</i> pada 60 hari pengkulturan.	79
Jadual 4.9	Kesan sumber karbon terhadap proliferasi protokorm <i>D. tetrachromum</i> pada 60 hari pengkulturan.	83
Jadual 4.10	Kesan sumber karbon terhadap proliferasi protokorm <i>D. hamaticalcar</i> pada 60 hari pengkulturan.	83
Jadual 4.11	Kesan fotokala terhadap proliferasi protokorm <i>D. tetrachromum</i> pada 60 hari pengkulturan	86
Jadual 4.12	Kesan fotokala terhadap proliferasi protokorm <i>D. hamaticalcar</i> pada 60 hari pengkulturan	86
Jadual 4.13	Kesan arang teraktif terhadap proliferasi protokorm <i>D. tetrachromum</i> pada 60 hari pengkulturan	89
Jadual 4.14	Kesan arang teraktif terhadap proliferasi protokorm <i>D. hamaticalcar</i> pada 60 hari pengkulturan	89
Jadual 5.1	Rawatan media yang digunakan dalam pembesaran anak benih orkid secara <i>in vitro</i>	107
Jadual 5.2	Kesan media asas terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm <i>D. tetrachromum</i> pada 120 hari pengkulturan.	111
Jadual 5.3	Kesan media asas terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm <i>D. hamaticalcar</i> pada 120 hari pengkulturan.	112
Jadual 5.4	Kesan kompleks aditif terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm <i>D. tetrachromum</i> pada 120 hari pengkulturan.	117
Jadual 5.5	Kesan kompleks aditif terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm <i>D. hamaticalcar</i> pada 120 hari pengkulturan.	118
Jadual 5.6	Kesan auksin terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm <i>D. tetrachromum</i> pada 120 hari pengkulturan	123

Jadual 5.7	Kesan auksin terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm <i>D. hamaticalcar</i> pada 120 hari pengkulturan.	126
Jadual 5.8	Kesan sitokinin terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm <i>D. tetrachromum</i> pada 120 hari pengkulturan.	132
Jadual 5.9	Kesan sitokinin terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm <i>D. hamaticalcar</i> pada 120 hari pengkulturan.	133
Jadual 5.10	Kesan sumber karbon terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm <i>D. tetrachromum</i> pada 120 hari pengkulturan.	137
Jadual 5.11	Kesan sumber karbon terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm <i>D. hamaticalcar</i> pada 120 hari pengkulturan.	138
Jadual 5.12	Kesan fotokala terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm <i>D. tetrachromum</i> pada 120 hari pengkulturan.	142
Jadual 5.13	Kesan fotokala terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm <i>D. hamaticalcar</i> pada 120 hari pengkulturan.	142
Jadual 5.14	Kesan arang teraktif terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm <i>D. tetrachromum</i> pada 120 hari pengkulturan.	146
Jadual 5.15	Kesan arang teraktif terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm dan <i>D. hamaticalcar</i> pada 120 hari pengkulturan.	146
Jadual 5.16	Kesan campuran aditif ke dalam media asas $\frac{1}{2}$ MS terhadap pertumbuhan dan perkembangan anak benih <i>D. terachromum</i> dan <i>D. hamaticalcar</i> pada 270 hari pengkulturan.	149

SENARAI RAJAH

	Halaman	
Rajah 2.1	Rajah skimatik orkid <i>D. tetrachromum</i> Rchb.f	8
Rajah 2.2	Rajah Skimatik orkid <i>D. hamaticalcar</i> J.J.Wood dan Dauncey	11
Rajah 3.1	Gambaran bagi peringkat percambahan <i>in vitro</i> biji benih orkid.	33
Rajah 3.2	Kesan media asas terhadap Indeks pertumbuhan (IP) biji benih (A) <i>D. tetrachromum</i> dan (B) <i>D. hamaticalcar</i> mengikut hari pengkulturan	39
Rajah 3.3	Kesan kompleks aditif ke atas Indeks pertumbuhan biji benih <i>D. tetrachromum</i> mengikut hari pengkulturan.	43
Rajah 3.4	Kesan kompleks aditif ke atas Indeks pertumbuhan biji benih <i>D. hamaticalcar</i> mengikut hari pengkulturan.	44
Rajah 3.5	Kesan fotokala terhadap Indeks pertumbuhan (IP) biji benih (A) <i>D. tetrachromum</i> dan (B) <i>D. hamaticalcar</i> mengikut hari pengkulturan.	49
Rajah 5.1	Kesan media asas ke atas Indeks pertumbuhan (IP) protokorm <i>D. tetrachromum</i> dan <i>D. hamaticalcar</i> pada 120 hari pengkulturan.	110
Rajah 5.2	Kesan kompleks aditif ke atas Indeks pertumbuhan bagi protokorm <i>D. tetrachromum</i> pada 120 hari pengkulturan.	115
Rajah 5.3	Kesan kompleks aditif ke atas Indeks Pertumbuhan (IP) bagi protokorm <i>D. hamaticalcar</i> pada 120 hari pengkulturan	116
Rajah 5.4	Kesan auksin ke atas Indeks pertumbuhan protokorm <i>D. tetrachromum</i> pada 120 hari pengkulturan	122
Rajah 5.5	Kesan auksin ke atas Indeks pertumbuhan protokorm <i>D. hamaticalcar</i> pada 120 hari pengkulturan	129
Rajah 5.6	Kesan sitokinin ke atas Indeks pertumbuhan protokorm <i>D. tetrachromum</i> (DT) dan <i>D. hamaticalcar</i> (DH) pada 120 hari pengkulturan.	131

	(A, B= BAP) dan (C, D=Kinetin)	
Rajah 5.7	Kesan sumber karbon ke atas Indeks Pertumbuhan (IP) protokorm <i>D. tetrachromum</i> (DT) dan <i>D. hamaticalcar</i> (DH) mengikut hari pengkulturan. A=Sukrosa, B= glukosa dan C= Fruktosa	136
Rajah 5.8	Kesan fotokala terhadap Indeks pertumbuhan protokorm <i>D. tetrachromum</i> (DT) dan <i>D. hamaticalcar</i> (DH) pada 120 hari pengkulturan	141
Rajah 5.9	Kesan arang teraktif terhadap Indeks pertumbuhan protokorm <i>D. tetrachromum</i> (DT) dan <i>D. hamaticalcar</i> (DH) pada 120 hari pengkulturan	145



SENARAI FOTO

	Halaman	
Foto 2.1	Orkid spesies <i>D. tetrachromum</i> (A) Gambar keseluruhan pokok orkid, (B) Bunga dan (C) Kapsul	9
Foto 2.2	Orkid spesies <i>D. hamaticalcar</i> (A) Gambar keseluruhan pokok orkid, (B) Bunga dan (C) Kapsul	12
Foto 3.1	(A) Kapsul dan (B) Biji benih (i) <i>D. tetrachromum</i> dan (ii) <i>D. hamaticalcar</i>	35
Foto 3.2	Kesan media asas terhadap percambahan biji benih <i>D. tetrachromum</i> mengikut hari pengkulturan.	36
Foto 3.3	Kesan media asas terhadap percambahan biji benih <i>D. hamaticalcar</i> mengikut hari pengkulturan.	37
Foto 3.4	Kesan kompleks aditif terhadap percambahan <i>in vitro</i> biji benih <i>D. tetrachromum</i> pada 70 hari selepas pengkulturan.	45
Foto 3.5	Kesan kompleks aditif terhadap percambahan <i>in vitro</i> biji benih <i>D. hamaticalcar</i> di bawah 24j cahaya pada 70 hari selepas hari pengkulturan.	46
Foto 3.6	Kesan fotokala terhadap percambahan biji benih <i>D. tetrachromum</i> dan <i>D. hamaticalcar</i> di atas media ½ MS yang mengandungi air kelapa 15% (v/v) mengikut hari pengkulturan.	50
Foto 4.1	Kesan media asas terhadap proliferasi protokorm <i>D. tetrachromum</i> mengikut hari pengkulturan	65
Foto 4.2	Kesan media asas terhadap proliferasi protokorm <i>D. hamaticalcar</i> mengikut hari pengkulturan	66
Foto 4.3	Kesan kompleks aditif terhadap proliferasi protokorm <i>D. tetrachromum</i> pada 60 hari pengkulturan	70
Foto 4.4	Kesan kompleks aditif terhadap proliferasi protokorm <i>D. hamaticalcar</i> pada 60 hari pengkulturan	71
Foto 4.5	Kesan auksin terhadap proliferasi protokorm <i>D. tetrachromum</i> pada 60 hari pengkulturan	75
Foto 4.6	Kesan auksin terhadap proliferasi protokorm <i>D. hamaticalcar</i> pada 60 hari pengkulturan	76
Foto 4.7	Kesan sitokinin terhadap proliferasi protokorm <i>D. tetrachromum</i> mengikut hari pengkulturan.	80
Foto 4.8	Kesan sitokinin terhadap proliferasi protokorm <i>D. hamaticalcar</i> mengikut hari pengkulturan.	81

	<i>hamaticalcar</i> mengikut hari pengkulturan.	
Foto 4.9	Kesan sumber karbon terhadap proliferasi protokorm <i>D. tetrachromum</i> dan <i>D. hamaticalcar</i> selepas 60 hari pengkulturan.	84
Foto 4.10	Kesan fotokala terhadap proliferasi protokorm <i>D. tetrachromum</i> dan <i>D. hamaticalcar</i> mengikut hari pengkulturan.	87
Foto 4.11	Kesan arang teraktif terhadap proliferasi protokorm <i>D. tetrachromum</i> mengikut hari pengkulturan.	90
Foto 4.12	Kesan arang teraktif terhadap proliferasi protokorm <i>D. hamaticalcar</i> mengikut hari pengkulturan.	90
Foto 5.1	Kesan media asas terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm <i>D. tetrachromum</i> dan <i>D. hamaticalcar</i> pada 60 dan 120 hari selepas pengkulturan	113
Foto 5.2	Kesan kompleks aditif terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm <i>D. tetrachromum</i> pada 120 hari pengkulturan.	119
Foto 5.3	Kesan kompleks aditif terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm <i>D. hamaticalcar</i> pada 120 hari pengkulturan	120
Foto 5.4	Kesan auksin terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm <i>D. tetrachromum</i> mengikut hari pengkulturan	125
Foto 5.5	Kesan auksin terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm <i>D. hamaticalcar</i> mengikut hari pengkulturan	128
Foto 5.6	Kesan sitokinin terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm <i>D. tetrachromum</i> dan <i>D. hamaticalcar</i> pada 120 hari pengkulturan	134
Foto 5.7	Kesan sumber karbon terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm <i>D. tetrachromum</i> dan <i>D. hamaticalcar</i> pada 120 hari pengkulturan	139
Foto 5.8	Kesan fotokala terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm <i>D. tetrachromum</i> dan <i>D. hamaticalcar</i> mengikut hari pengkulturan.	143
Foto 5.9	Kesan arang teraktif terhadap pertumbuhan dan perkembangan protokorm <i>D. tetrachromum</i> dan <i>D. hamaticalcar</i> mengikut hari pengkulturan.	147

Foto 5.10	Kesan campuran aditif ke dalam media asas 1/2 MS terhadap pembesaran anak benih <i>in vitro</i> <i>D. tetrachromum</i> dan <i>D. hamaticalcar</i> pada 270 hari pengkulturan	150
Foto 5.11	Penyesuaian anak pokok <i>in vitro</i> <i>D. tetrachromum</i> dan <i>D. hamaticalcar</i> ke pasu. (A) anak pokok yang berumur 120 hari selepas pengkulturan di dalam kultur <i>in vitro</i> (B) anak pokok yang terhasil pada 270 HSP. (C) Anak pokok di dalam pasu yang mengandungi kombinasi kayu reput lumut dan arang 1:1:1 dan (D) Anak pokok selepas 60 hari pemindahan ke persekitaran luar.	152



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

SENARAI SIMBOL

ANOVA	Analisis varians
AK	Air kelapa
B	Boron
Ca	Kalsium
Ca (OH)2	Kalsium hidroksida
Cl	Klorin
cm	Centimeter
Co	Kobalt
CRD	Completely randomized Design
Cu	Kuprum
DT	<i>Dendrobium tetrachromum</i>
DH	<i>Dendrobium hamaticalcar</i>
EK	Ekstark kentang
EY	Ekstark yis
F	F-value/ nilai F statistik
Fe	Ferum
g	Gram
gL⁻¹	Gram per liter
HCl	Asid hidroklorik
I	Besi
IP	Indeks pertumbuhan
HSP	Hari selepas pengkulturan
JSP	Jasad seperti protokorm
K	Kalium
KC	Media Knudson C
kg	Kilogram
KOH	Kalium hidroksida
kPa	Kilopascal
L	Liter
m	Meter
mm	Millimeter
MARDI	Institut Penyelidikan dan Kemajuan Pertanian Malaysia
Mg	Magnesium
mg	Milligram
mL⁻¹	Mililiter per liter
ml	Milliliter
m² s⁻¹	<i>Mean square speed</i>
Mn	Mangan
Mo	Molibdenum
MS	Media Murashige dan Skoog
N	Nitrogen

NaOH	Natrium hidroksida
Ni	Nikel
°C	Darjah celcius
P	Fosfat (PO_4)
pH	Bacaan keasidan dan kealkalian
p.s.i	<i>Pounds/ square inch</i>
S	Sulfur
Sig.	Signifikan
SPSS	Pakej statistik untuk Sains dan Bukan sains
v/v	Isipadu per isipadu
VW	Media Vacin dan Went
w/v	Berat per isipadu
p	Kebarangkalian
±	Tambah tolak
=	Sama dengan
.	Titik perpuluhan
½	Setengah
+	Tambah
-	Tolak
<	Kurang daripada
÷	Bahagi
×	Darab
µM	Mikro molar
µmol m⁻²s⁻¹	Mikromol per meter persegi per saat



BAB 1

PENGENALAN

Borneo kaya dengan spesies orkid liar seperti dari genus *Paphaeopedillum*, *Dendrobium*, *Renanthera*, *Vanda*, *Oncidium*, *Cattleya* dan *Phalaenopsis*. Parnata dan Noraida (2009) melaporkan orkid *Dendrobium* merupakan penyumbang terbesar dalam industri ornamental dengan kuantiti pengeluaran setahun iaitu kira-kira 9, 799, 286 keratan. Genus *Dendrobium* amat terkenal dengan pelbagai kombinasi warna bunganya yang cantik, unik dan menarik. Oleh itu, orkid genus ini mendapat permintaan yang tinggi di pasaran tempatan dan juga di luar negara.

Kebanyakan orkid Borneo dari genus *Dendrobium* adalah terdiri dari spesies liar yang jarang ditemui dan berada dalam keadaan terancam. Aktiviti-aktiviti seperti pembukaan tanah untuk pertanian, pembalakkan, pembangunan dan aktiviti pengambilan orkid secara haram yang berleluasa menyebabkan pengurangan bilangan orkid di habitat asalnya (Wood *et al.*, 1997). Justeru itu, kebanyakan orkid liar yang terdapat di Sabah atau Borneo telah dikelaskan dalam Appendiks II (terancam) CITES (*Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Flora and Fauna*) yang bertujuan untuk memelihara dan melindungi spesies yang terancam (CITES, 2010).

Dendrobium tetrachromum dan *D. hamaticalcar* adalah merupakan antara spesies orkid liar yang endemik dan tersenarai dalam Appendiks II CITES (Wood *et al.*, 1997; CITES, 2010). Kedua-dua spesies ini mempunyai nilai hortikultur yang tinggi kerana bunganya yang cantik, unik dan menarik (Chan *et al.*, 1994). Ini menjadi suatu daya tarikan kepada para penggemar orkid untuk menggumpul orkid spesies-spesies ini dan dijadikan sebagai koleksi sendiri mahupun dijual. Seperti pada spesies-spesies orkid yang lain, kedua-dua orkid *Dendrobium* ini mempunyai biji benih yang sukar bercambah dan mempunyai kadar pertumbuhan yang sangat perlahan di habitat semulajadinya. Untuk itu kaedah propagasi yang efisien adalah amat diperlukan bagi mengelakkan spesies ini pupus sepenuhnya daripada habitat

semulajadi. Ini adalah kerana orkid mempunyai biji yang sangat sukar untuk bercambah secara semulajadi (Rubluo *et al.*, 1993; Buyun *et al.*, 2004; Santos-Herna'ndez *et al.*, 2005) dan propagasi vegetatif secara konvensional perlahan (Arditti, 1992). Justeru itu, pendekatan bioteknologi melalui penggunaan kaedah kultur tisu adalah amat diperlukan bagi mengatas masalah ini.

Propagasi orkid secara *in vitro* atau kultur tisu untuk penghasilan anak pokok secara komersial dan pengwujudan semula populasi di habitat asal yang telah musnah merupakan satu alternatif untuk mengurangkan tekanan ke atas populasi semulajadi. Kaedah propagasi orkid ini telah dipraktiskan lebih dari seabad yang lalu. Seperti yang dilaporkan oleh Arditti dan Krikorian (1996), kultur *in vitro* merupakan kaedah yang sangat penting dan berguna bagi propagasi orkid endemik dan terancam untuk tujuan pemuliharaan. Propagasi orkid melalui percambahan *in vitro* juga membenarkan pengekalan kepelbagaian genetik yang tinggi.

Protokol percambahan *in vitro* kebanyakan spesies orkid telah dibangun dan dilaporkan oleh ramai saintis sebelum ini (Alam *et al.*, 2002; Lo *et al.*, 2004a, 2004b; Znaniecka *et al.*, 2005; Kauth *et al.*, 2006; Das *et al.*, 2007; Kananont *et al.*, 2010; Roy *et al.*, 2011; Zheng *et al.*, 2012). Melalui kaedah ini biji benih dibekalkan dengan nutrien dan keadaan yang bersesuaian bagi mencapai percambahan yang optima. Walau bagaimanapun, keperluan percambahan, pertumbuhan dan perkembangan anak benih orkid secara *in vitro* adalah berbeza mengikut spesies (Zaharah dan Rozlaily, 1991; Luo *et al.*, 2008). Menurut Rao (1995), Kauth *et al.* (2006) dan Arditti (2008), peringkat kematangan kapsul, komponen kultur media, cahaya serta suhu adalah di antara faktor yang mempunyai kesan ke atas percambahan *in vitro* dan pertumbuhan serta perkembangan *in vitro* anak benih orkid.

Sehingga kini, bagi spesies orkid *Dendrobium tetrachromum* dan *D. hamaticalcar* belum terdapat sebarang laporan berkaitan dengan kajian propagasi secara *in vitro* yang telah dilakukan. Justeru itu, kajian ini dijalankan untuk menentukan keperluan percambahan *in vitro* biji benih, proliferasi serta pertumbuhan dan perkembangan protokorm orkid *Dendrobium tetrachromum* dan