

**KESAN MEDIA KE ATAS ROLIFERASI PROTOKOM ORKID
*CYMBIDIUM FINLAYSONIANUM***

MARLINA BINTI ABDUL RASYAK

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

**PROGRAM TEKNOLOGI TUMBUHAN
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

2006



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGAKUAN

Saya akui karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang

PUMS99:1

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

J: Kesan media ke atas proliferasi protokom orkid

Cymbidium finlaysonianum

AH: Ijazah Sarjana Muda Sains dengan Keujian
Teknologi Tumbuhan

Marlina Abdul Rasyak

(HURUF BESAR)

SESI PENGAJIAN: 2003/2004

DUL RASYAK

HS2003-3420

aku membenarkan tesis (LPSM/Sarjana/Doktor Falsafah) ini disimpan di Perpustakaan Universiti
Sabah dengan syarat-syarat kegunaan seperti berikut:-

Tesis adalah hakmilik Universiti Malaysia Sabah.

Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dibenarkan membuat salinan untuk tujuan pengajian sahaja.

Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institusi pengajian tinggi.

Sila tandakan (/)

SULIT

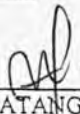
(Mengandungi maklumat yang berdarjah keselamatan atau Kepentingan Malaysia seperti yang termaktub di dalam AKTA RAHSIA RASMI 1972)

TERHAD

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

TIDAK TERHAD

Disahkan Oleh


TANDATANGAN PENULIS)

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

at Tetap: Ranc. Sg. Mandu
1253, ~~1253~~
F12 Sandakan

Prof. Madya Datin Dr. Mariam Abd Latif
Nama Penyelia

tarikh: 28/04/06

Tarikh: _____

TAMBAHAN:- *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).

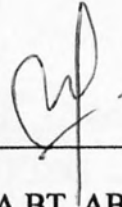


UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGAKUAN

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

26 April 2006



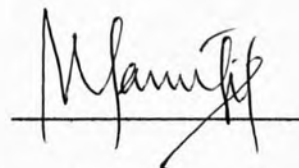
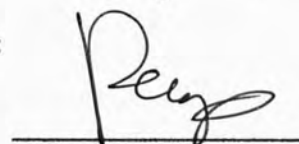
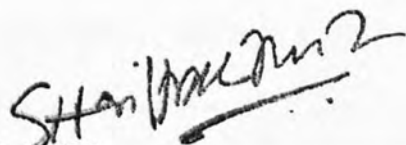
MARLINA BT. ABDUL RASYAK

HS2003-3420



DIPERAKUKAN OLEH

Tandatangan

1. PENYELIA**(PROF. MADYA DR. MARIAM AB. LATIF)****2. PEMERIKSA 1****(EN. CHONG KHIM PHIN)****CHONG KHIM PHIN MRES (LONDON), DIC**
Lecturer
School of Science & Technology
Universiti Malaysia Sabah**3. DEKAN****(SUPT. (K) PROF. MADYA DR. SHARIFF A.K OMANG, ADK)**

PENGHARGAAN

Assalamualaikumwarahmatullahiwabarakatuh...

Terlebih dahulu saya merakamkan Alhamdulillah dan syukur kepada Allah S.W.T kerana rahmatnya saya dapat menyiapkan projek tahun akhir ini pada tempoh masa yang ditetapkan. Berkat dari dorongan, galakan dan nasihat daripada Prof. Madya Datin Dr. Mariam Abd. Latif selaku penasihat projek ini membolehkan saya menyiapkan projek ini. Tidak lupa juga Kepada Puan Abidah Abdullah dan Cik Rosmah kerana sudi menyelia dan memberi tunjuk ajar kepada saya semasa di makmal dan menyiapkan tesis, juga tidak lupa kepada pembantu makmal Teknologi Tumbuhan iaitu Cik Christina dan En Airin yang membantu dalam menyediakan bahan-bahan dan radas serta bahan kimia untuk tujuan makmal, serta kepada semua rakan-rakan yang banyak membantu dan berkongsi ilmu. Akhir sekali ucapan terima kasih yang tidak terhingga kepada kedua ibu bapa saya yang banyak memberi dorongan dan galakan yang tidak terhingga. Projek tahun akhir ini tidak akan dapat disiapkan tanpa orang-orang yang disebutkan di atas.

Sekian, terima kasih.

MARLINA ABDUL RASYAK



ABSTRAK

Kajian kesan kombinasi media asas Murashige dan Skoog (1962) dengan kepekatan air kelapa dan sukrosa yang berbeza ke atas proliferasi protokom *Cymbidium finlaysonianum* telah dijalankan. Kepekatan air kelapa yang digunakan ialah pada 10% (v/v) dan 25%(v/v) sementara kuantiti sukrosa yang digunakan ialah 15g/l, 30g/l dan 45g/l. Pada hari ke 10 selepas kultur, kombinasi media 15g/l sukrosa dan 25% air kelapa (v/v) menunjukkan peratus protokom berproliferasi dan bilangan protokom baru terhasil per eksplan yang agak baik iaitu masing-masing 41% dan 0.42. Pada hari ke 60 selepas pengkulturan, semua protokom (100%) yang dikultur pada media yang ditambah dengan kepekatan sukrosa berbeza tanpa air kelapa dan media yang ditambah dengan kombinasi air kelapa dan sukrosa telah berproliferasi. Walau bagaimanapun, hanya media yang ditambahkan dengan 45g/l sukrosa mencatatkan bilangan protokom baru terbentuk yang tertinggi iaitu sebanyak 4.25.



ABSTRACT

This study was carried out to determine the effect of different concentrations of sucrose and coconut water on the proliferation of *Cymbidium finlaysonianum* protocorms. The protocorms were cultured on Murashige and Skoog (1962) basal medium and MS media supplemented with coconut water (10% and 25%) and sucrose (15g/L, 30g/L and 45g/L) individually or in combination. The result obtained after 10 days of culture showed that the medium containing 15g/L sucrose plus 25% coconut water (v/v) exhibited the best protocorms proliferation (41%) and the number of new protocorms formed per explant (0.42). After 60 days in culture, all protocorms (100%) cultured on all media containing different concentrations of sucrose without coconut water and also on all media containing both coconut water and sucrose were proliferated. The highest number of new protocorm formed per explant, however, was observed from the medium added with 45g/L sucrose without coconut water (4.25).



KANDUNGAN

	Muka surat
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	x
SENARAI RAJAH	xiii
SENARAI GAMBAR	xiv
SENARAI SIMBOL	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Pengenalan	1
1.2 Objektif kajian	2
BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN	3
2.1 <i>Cymbidium finlaysonianum</i>	3
2.2 Kultur tisu orkid	4
2.3 Jenis-jenis kultur	5
2.4 Medium kultur	6



2.4.1 Medium kultur pepejal dan cecair	7
2.4.2 Medium kultur Murashig dan Skoog (1962)	7
2.5 Komponen medium kultur	8
2.5.1 Sumber karbon	8
2.5.2 Kompleks tabii	9
2.5.3 Hormon	11
2.6 Protokom	13
BAB 3 BAHAN DAN KAEDAH	14
3.1 Bahan	14
3.1.1 Protokom	14
3.1.2 Medium	16
3.1.3 Air kelapa dan sukrosa	17
3.2 Metodologi	17
3.2.1 Penyediaan larutan stok	18
3.2.2 Penyediaan media kultur tisu	18
3.2.3 Pengkulturan protokom	20
3.3 Rekabentuk eksperimen	21
3.4 Cerapan	21
3.5 Analisis data	22
BAB 4 KEPUTUSAN	23
4.1 Pengkulturan awal	23



4.2 Cerapan pada 10 hari selepas kultur	25
4.3 Cerapan pada 20 hari selepas kultur	31
4.4 Cerapan pada 30 hari selepas kultur	37
4.5 Cerapan pada 40 hari selepas kultur	44
4.6 Cerapan pada 50 hari selepas kultur	50
4.7 Cerapan pada 60 hari selepas kultur	57
4.8 Hubungan korelasi proliferasi terhadap masa	64
BAB 5 PERBINCANGAN	65
5.1 Kesan air kelapa terhadap proliferasi	65
5.2 Kesan sukrosa terhadap proliferasi	66
5.3 Kesan kombinasi air kelapa dan sukrosa	68
BAB 6 KESIMPULAN	70
RUJUKAN	73



SENARAI JADUAL

No. Jadual	Halaman
3.1 Komposisi media Murashige dan Skoog (1962)	16
3.2 Komposisi media bagi setiap rawatan	19
4.1 Peratus min protokom yang berproliferasi, min protokom baru yang terhasil, dan protokom yang berregenerasi 10 hari selepas kultur.	26
4.2 Jadual ANOVA 2 hala untuk melihat kesan proliferasi sukrosa, air kelapa dan kombinasi air kelapa dengan sukrosa pada 10 hari selepas kultur.	28
4.3 Jadual ujian LSD untuk kesan sukrosa sendiri pada 10 hari selepas kultur	29
4.4 Jadual ujian LSD untuk kesan kombinasi sukrosa dan air kelapa pada 10 hari selepas kultur.	30
4.5 Min peratus protokom yang berproliferasi, min protokom baru yang terbentuk, dan peratus protokom yang beregenerasi selepas 20 hari.	32
4.6 Jadual ANOVA 2 hala untuk melihat kesan proliferasi sukrosa, air kelapa dan kombinasi air kelapa dengan sukrosa pada 20 hari selepas kultur.	34
4.7 Jadual ujian LSD kesan sukrosa pada 20 hari selepas kultur.	35
4.8 Jadual ujian LSD untuk kesan kombinasi sukrosa dan air kelapa pada 20 hari selepas kultur.	36
4.9 Peratus min protokom berproliferasi, min protokom baru yang terbentuk, dan peratus protokom yang beregenerasi selepas 30 hari.	38



4.10 Jadual ANOVA 2 hala untuk melihat kesan proliferasi sukrosa, air kelapa dan kombinasi air kelapa dengan sukrosa pada 30 hari selepas kultur.	40
4.11 Jadual ujian LSD kesan sukrosa sendiri pada 30 hari selepas kultur.	41
4.12 Jadual ujian LSD kesan air kelapa sendiri pada 30 hari selepas kultur.	42
4.13 Jadual ujian LSD untuk kesan kombinasi sukrosa dan air kelapa pada 30 hari selepas kultur.	43
4.14 Peratus protokom yang berproliferasi, min protokom yang terbentuk, dan protokom yang berregenerasi selepas 40 hari.	45
4.15 Jadual ANOVA 2 hala untuk melihat kesan proliferasi sukrosa, air kelapa dan kombinasi air kelapa dengan sukrosa pada 40 hari selepas kultur.	47
4.16 Jadual ujian LSD kesan sukrosa sendiri pada 40 hari selepas kultur.	48
4.17 Jadual ujian LSD untuk kesan kombinasi sukrosa dan air kelapa pada 40 hari selepas kultur.	49
4.18 Peratus protokom yang berproliferasi, min protokom yang terbentuk, dan % protokom yang berregenerasi selepas 50 hari.	51
4.19 Jadual ANOVA 2 hala untuk melihat kesan proliferasi sukrosa, air kelapa dan kombinasi air kelapa dengan sukrosa pada 50 hari selepas kultur.	53
4.20 Jadual ujian LSD kesan sukrosa sendiri pada 50 hari selepas kultur.	54
4.21 Jadual ujian LSD kesan air kelapa sendiri pada 50 hari selepas kultur.	54
4.22 Jadual ujian LSD untuk kesan kombinasi sukrosa dan air kelapa pada 50 hari selepas kultur.	56
4.23 Min peratus protokom yang berproliferasi, min protokom baru yang terbentuk, dan min peratus protokom yang beregenerasi 60 hari selepas pengkulturan.	58



4.24 Jadual ANOVA 2 hala untuk melihat kesan proliferasi sukrosa, air kelapa dan kombinasi air kelapa dengan sukrosa pada 60 hari selepas kultur.	60
4.25 Jadual ujian LSD kesan sukrosa sendiri pada 60 hari selepas kultur.	61
4.26 Jadual ujian LSD kesan air kelapa sendiri pada 60 hari selepas kultur.	62
4.27 Jadual ujian LSD untuk kesan kombinasi sukrosa dan air kelapa pada 60 hari selepas kultur.	63
4.28 Hubungan korelasi antara proliferasi dan masa	64



SENARAI RAJAH

No. Rajah	Halaman
3.1 Carta aliran metodologi kajian	17



SENARAI GAMBAR

No. Gambar	Halaman
3.1 (a) Pokok, (b) dan (c) bunga, (d) dan (e) pod (buah) <i>C. finlaysonianu</i>	15
4.1 Protokom yang di kulturkan selepas 10 hari (a) rawatan 1, (b) rawatan 7, dan (c) rawatan 6.	27
4.2 Protokom yang dikulturkan selepas 20 hari, (a) rawatan 1, (b) rawatan 4, (c) rawatan 6, dan (d) rawatan 7	33
4.3 Protokom 30 hari selepas kultur, (a) rawatan 1, (b) rawatan 6, (c) rawatan 7, dan (d) rawatan 8	39
4.4 Protokom 40 hari selepas kultur, (a) rawatan 1, (b) rawatan 6, (c) rawatan 7, dan (b) rawatan 10	46
4.5 Protokom selepas 50 hari, (a) rawatan 1, (b) rawatan 6, (c) rawatan 7, (d) rawatan 8, dan (e) rawatan 10	52
4.6 Protokom selepas 60 hari, (a) rawatan 1, (b) rawatan 6, (c) rawatan 7, (d) rawatan 8, dan (e) rawatan 10.	59



SENARAI SIMBOL

2,4-D	2,4-dichlorophnoxyacetic
ABA	Asid abisik
BAP/BP	6-benzylaminopurine
GA ₃	Asid giberellin
IAA	Indole-3-acetic acid
IBA	Indole-3-butyric acid
NAA	1-naphthylactic acid
PLB	Protokom (Protocorm like bodies)



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Pengenalan

Orchidaceae adalah salah satu daripada keluarga tumbuhan berbunga yang terbesar di dunia yang mendominasi kira-kira 10% tumbuhan berbunga. Orkid boleh dijumpai diseluruh kawasan di dunia kecuali di kawasan Antartika. Kebanyakan saintis percaya bahawa orchid adalah tumbuhan primitif yang telah wujud kira-kira 120 milion tahun dahulu. Dianggarkan kira-kira 15 000 hingga 30 000 spesies orkid terdapat di dunia dengan 750 genus. Walau bagaimanapun, dipercayai masih banyak lagi yang belum diterokai dikebanyakan tempat di seluruh dunia (David, 1990). Di Malaysia sahaja terdapat lebih daripada 111 genus dan 808 spesies orkid yang boleh didapati daripada sekecil-kecil tiga milimeter hingga empat meter atau lebih (Nuraini, 1987).

Sabah dipercayai mempunyai 21 genus dan 84 spesies orkid yang hampir pupus seperti *Phalaenopsis*, *Arachnis*, *Vanda*, *Renanthera*, *Phaphiopedilum*, *Dendrobium*, *Dimorphochis*, *Macodes*, *Acriopsis* dan *Cymbidium*. *Cymbidium finlaysonianum* adalah spesies orkid liar dari genus *Cymbidium* yang dianggap mempunyai populasi yang kecil



di dunia dan hampir pupus (Lamb, 1980). Oleh itu, membiakkan orkid ini adalah penting untuk mengekalkan populasi mereka.

Selain itu, terdapat beberapa spesies yang mempunyai potensi untuk dikomersialkan sebagai bunga kacukan baik di pasaran tempatan mahupun dunia seperti *Dendrobium*, *Aranda*, *Arachnis*, *Cymbidium*, *Phaphiopedilum* dan *Phalaenopsis* (Nuraini *et al.*, 1987).

1.2 Objektif kajian

Objektif kajian ini adalah untuk mengkaji:

1. Kesan kepekatan air kelapa terhadap proliferasi protokom *C. finlaysonianum*
2. Kesan sukrosa terhadap proliferasi protokom *C. finlaysonianum*.



BAB 2

ULASAN PERPUSTAKAAN

2.1 *Cymbidium finlaysonianum*

Cymbidium berasal daripada perkataan Greek yang membawa maksud perahu, kerana bentuk bibir atau labelumnya yang seakan-akan bentuk perahu. Genus ini terdiri daripada kira-kira 50 spesies yang tersebar keseluruh dunia. Spesies ini biasanya hidup secara epifitik iaitu hidup menumpang di atas pokok, litofitik hidup di celah-celah batu, dan teresterial yang hidup di atas kompos (Chan *et al.*, 1994). Terdapat kira-kira 44 spesies boleh didapati hidup liar di kawasan Himalaya hingga ke Jepun, merentasi Selatan Indochina, Malaysia, Indonesia, Selatan Filipina dan New Guinea (Wood *et al.*, 1993). Manakala 11 spesies daripada jumlah tersebut telah dikenalpasti hidup secara semulajadi di Borneo (Teofila *et al.*, 2001).

C. finlaysonianum berasal dari Indo-China merentasi Indonesia, Borneo sehingga ke Sulawesi dan Utara Filipina. Ia mempunyai bebawang yang tinggi dan panjang sehingga 80cm, bebawangnya hampir bulat dan nipis, biasanya berwarna gelap. Setiap bebawang mempunyai 4 hingga 7 daun. Jambak bunga antara 20 cm hingga 170 cm



panjang dengan 7 hingga 62 kuntum bunga. Bunga berukuran 4 hingga 5.7cm diameter. Sepal dan petal berwarna kehijauan dan mempunyai garisan kuning atau merah coklat, biasanya mempunyai mempunyai bibir yang putih dengan sedikit ungu. Habitat dan ekologiinya mudah dijumpai di celah-celah batu kapur yang mempunyai humus terperangkap, ia boleh hidup dengan cahaya matahari yang terus. Di Sabah, spesies ini boleh dijumpai menumpang pada batu di pesisir pantai. Ia boleh toleran pada kawasan yang teduh, ladang getah lama dan hutan dara serta hutan tanah rendah sehingga ke paras altitud 1200 m di atas paras laut (Chan *et al.*,1994).

2.2 Kultur tisu orkid

Teknik kultur *in vitro* (dalam kaca) atau kultur tisu adalah merujuk kepada pertumbuhan dan penggandaan sel, tisu dan organ-organ lain tumbuhan samada menggunakan media pepejal atau cecair dalam keadaan yang steril dan keadaan persekitaran yang terkawal. Teknik ini adalah teknologi yang dapat digunakan untuk mengandakan haploid, membiakkan varieti baru, mengekalkan populasi tumbuhan yang mempunyai populasi yang kecil serta spesies tumbuhan hampir pupus dan membiakkan tumbuhan yang sukar dibiakkan. Walau bagaimanapun, kelebihan utama teknologi kultur tisu lebih tertumpu kepada kebolehnya menghasilkan tumbuhan yang berkualiti di bawah keadaan steril (Ahloowalia *et al.*, 2004).

Teknik ini membolehkan pengeluaran anak orkid secara besar-besaran dan telah dimanipulasikan sejak beberapa dekad dahulu. Melalui teknik ini beribu-ribu anak orkid



boleh dihasilkan dalam jangka masa yang pendek berbanding dengan cara pembahagian pokok (Nuraini *et al.*, 1987).

Teknik *in vitro* pada orkid bermula apabila Dr Georges Morel mendapati sel meristem pada hujung akar dan pucuk tumbuhan bebas daripada virus walaupun hampir keseluruhan tumbuhan tersebut telah dijangkiti virus. Beliau juga mendapati sel yang membahagi tersebut sering berlaku proliferasi (Leigh, 1990). Kejayaan Morel pada 1960 yang menggunakan hujung akar *Cymbidium* yang membentuk protokom untuk mendapatkan tumbuhan yang bebas virus menjadi titik permulaan bagi saintis yang lain mengembangkan teknik *in vitro* terhadap orkid (Aktari *et al.*, 1994).

2.3 Jenis-jenis kultur

Teknik kultur *in vitro* meliputi teknik kultur biji benih dan kultur tisu. Jenis-jenis kultur dibahagikan mengikut bahagian tanaman yang digunakan seperti kultur tunas pucuk, meristem, tunas sisi, daun, hujung akar, tangkai bunga, biji benih, embrio, sel, dan protoplas. Kultur tunas pucuk dan tunas sisi digunakan untuk mendapatkan tanaman yang banyak dengan cepat dan mudah. Kultur meristem pula digunakan untuk mendapatkan tanaman yang bebas daripada penyakit. Meristem yang digunakan biasanya berukuran 0.1 hingga 0.5 mm daripada hujung pucuk. Kultur daun, hujung akar dan tangkai bunga pula digunakan untuk mendapatkan orkid yang sumber tunas pucuk dan sisinya sukar diperolehi atau terhad seperti *Phalaenopsis* (Nuraini *et al.*, 1987).

2.4 Medium kultur

Terdapat pelbagai jenis medium yang boleh digunakan untuk membiakkan orkid secara *in vitro*. Medium yang digunakan hendaklah mengandungi tiga komponen asas yang utama, iaitu unsur makro, unsur mikro dan unsur besi. Medium juga mestilah mengandungi komponen lain seperti bahan organik, sumber karbon, hormon tumbesaran dan agen pengeras media. Bahan organik yang digunakan biasanya adalah dalam bentuk asid amino atau vitamin. Kebanyakan sel kultur adalah tidak fotosintesis, oleh itu sumber karbon juga perlu dibekalkan di dalam medium untuk memastikan pertumbuhan kultur yang baik. Medium kultur juga boleh disediakan dalam bentuk pepejal atau cecair. Agen pengeras media yang biasa digunakan ialah seperti agar (Prakash *et al.*, 2004).

Unsur makro dalam medium kultur *in vitro* biasanya mengandungi unsur-unsur penting bagi tumbuhan seperti nitrogen, fosforus, kalsium, Magnesium, Kalium dan Sulfur. Unsur-unsur tersebut diperlukan dalam jumlah yang banyak oleh tumbuhan. Manakala unsur mikro diperlukan dalam jumlah yang kecil. Unsur-unsur mikro yang biasanya terdapat dalam medium ialah mangan, kobalt, boron, molybdenum, ferum dan zink (Hinnen *et al.*, 1989). Walau bagaimanapun, kandungan setiap bahan-bahan adalah berbeza bagi setiap media. Sejak dekad yang lalu, terdapat pelbagai jenis media tisu kultur telah dicipta dan diperbaiki. Komposisi media telah diformulasi mengikut kesesuaian sesuatu tumbuhan (Prakash *et al.*, 2004).



2.4.1 Medium kultur pepejal dan cecair

Media kultur boleh disediakan dalam bentuk pepejal atau cecair. Sesetengah tisu mempunyai tindak balas yang baik terhadap media agar, manakala yang lain bertindak balas dengan baik dalam media cecair (Prakash *et al.*, 2004). Kajian ini dikuatkan lagi oleh Pamfil (2002) yang mendapati pembentukan protokom *Cymbidium* dalam media agar dan media cecair menunjukkan protokom membahagi dengan lebih baik dalam media cecair berbanding media agar. Selain itu, media cecair juga mempunyai kelebihan dalam menyediakan suatu keadaan yang dapat mengurangkan nekrosis terhadap protokom.

2.4.2 Medium kultur Murashige Dan Skoog (1962)

Media Murashige dan Skoog (1962) dicipta oleh Tashio Murashige dan Folke skoog untuk melihat kesan media terhadap tembakau. Media tersebut berasal daripada media White yang telah diubahsuai. Media MS mengandungi empat komposisi utama, iaitu garam mineral yang terdiri daripada nutrien major dan nutrien minor, bahan organik penting dan unsur besi. Mereka mencadangkan nutrien major yang penting terdiri daripada unsur-unsur nitrogen, fosforus, kalium, kalsium, magnesium, dan sulfur. Manakala nutrien minor terdiri daripada unsur-unsur seperti boron, mangan, zink, cuprum, cobalt, iodin dan natrium. Di akhir kajian, mereka membuat kesimpulan dengan menggunakan unsur-unsur pada kuantiti yang dicadangkan dapat memberi pertumbuhan kalus tembakau yang dianggap baik.

2.5 Komponen medium kultur

2.5.1 Sumber Karbon

Gula adalah sumber karbon yang biasa digunakan dalam tisu kultur. Terdapat pelbagai jenis gula yang boleh digunakan, antaranya ialah laktosa, sukrosa, fruktosa, dan maltosa. Sukrosa dapat menyediakan substrat sistem pernafasan selain menjadi sumber karbon kepada tisu di dalam kultur. Sukrosa juga boleh mempengaruhi metabolisma sekunder dalam sel dan organ kultur. Kajian sukrosa terhadap tumbuhan mawar mendapati konsentrasi sukrosa yang tinggi menggalakkan pertumbuhan akar pada kultur tersebut, tetapi pada konsentrasi sukrosa yang rendah dalam media boleh meningkatkan kebolehan fotosintetik eksplan. Kajian terhadap tumbuhan *Tamarindus spp.* pula menunjukkan kepekatan 2% hingga 4% sukrosa di dalam media dapat meningkatkan tindakbalas kalus daripada 34% kepada 48% bagi setiap eksplan. Kesimpulannya kesan sukrosa terhadap tumbuhan adalah berbeza bagi setiap spesies tumbuhan (Hazarika, 2003).

Walau bagaimanapun, tindakbalas orkid terhadap sumber karbon adalah berbeza antara satu sama lain. Sebahagian spesies orkid boleh menggunakan lebih daripada satu jenis gula. Manakala sebahagian yang lain memerlukan gula atau kombinasi gula yang spesifik. Medium tisu kultur yang tidak mengandungi sukrosa akan bertukar warna kepada coklat dalam beberapa minggu dan biasanya akan mati. Walau bagaimanapun, seperti juga garam yang lain, sukrosa mempengaruhi sistem osmosis dalam sistem kultur. Pada kepekatan yang tinggi, media mungkin menjadi hipertonik terhadap sap sel kalus

RUJUKAN

- Ahloowalia, B. S., Prakash, J., Savangikar, V. A., dan Savangikar, C., 2004. Plant tissue culture. *Low cost options for tissue culture technology in developing countries*. Vienna, Austria. 3-10.
- Al-Khayri, J. M., Huang, F. H., Morelock, E. T. dan Busharar, T. A., 1992. Spinach tissue culture improved with coconut water. *Hort Science*. **27** (4), 357-358.
- Arditti, J., 1967. Factors effecting the germination of orchid seeds. *The Botanical Research*. **33** (1), 1-30.
- Arditti, J., 1981. Tissue Culture of orchid. *Proceeding of the symposium as a satellite of the international Orchid Congress, Sydney, Australia 1981*. 65-67.
- Begum, A. A., Tamaki, M., dan Kako, S., 1994. Formation of Protocorm like bodies (PLB) and shoot development through in vitro culture of outer tissue of *Cymbidium* PLB. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* **63** (3), 663-673.
- Chan, C.I., Lamb, A., Shim, P.S. dan Wood, J.J., 1994. *Orchids of Borneo*. Royal Botanic Gardens KEW. England.



- Chang, C., Chen, Y.C. dan Yen, H. F., 2005. Protocorm or Rhizome? The morphology of seed germination in *Cymbidium dayanum* Reichb. *Bot Bull Acad Sin.* **46**, 71-74.
- Chen, L. R., Chen J. T. dan Chang W. C., 2002. Efficient production of protocorm-like bodies and plant regeneration from flower stalk explants of the sympodial orchid *Epidndrum radicans*. *Plant.* **38**, 441-445.
- Corrie, S. dan Tandon, P., 1992. Propagation of *Cymbidium giganteum* Wall. through high frequency conversion of encapsulated protocorms under in vivo and in vitro conditions. *Indian Journal of Experimental Biology.* **31**, 61-64.
- Haw, C. K., Tatt, O. H. dan Nair H., 1978. Hormones in the Nutrition of orchid tissue in mericlone. *Proceedings of the Symposium on Orchidology 1978.* 422-427.
- Hazarika, B. N., 2003. Acclimatization of tissue cultured plants. *Current Science.* **85** (12), 1704-1712.
- Hinnen, Pierik, R.L.M. dan Bronsema, F.B.F., 1989. Influence of macronutrients and some other factors on growth of *Phalaenopsis* hybrid seedlings in vitro. *Horticulturae.* **41**, 105-116.



- Huan, L. V., Takamura, T. dan Tanaka, M., 2004. Callus formation and plant regeneration from callus through somatic embryo structures in *Cymbidium* orchid. *Plant Science*. **166** (6), 1443-1449.
- Kusumoto, N., 1998. Effect of basal medium and concentration of sugar and banana flesh on the growth of *Oncidium* PLB cultured in vitro. *IPPS Toyohsahi*.
- Lam (a misspelling of Yam), Ernst, T. W. R., Arditti, J. dan Ichihashi, S., 1991. The effects of complex additives and 6-(dimethylamino)-purine on the proliferation of *Phalaenopsis* protocorms. *Lindleyana*. **6**, 24-26
- Lamb, A., 1980. Prospects for the conservation of the interesting wild species of orchids in the State of Sabah, East Malaysia (Borneo). Dlm: Singh, K. G. (pnyt.) *Proceedings of the Third ASEAN Orchid Congress 1980*, 22- 26 Ogos 1980, Malaysia. 147-150.
- Leigh, D., 1990. *Orchids: their care and cultivation*. Cassell Publisher. 11-32.
- Murashige, T. dan Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio assay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. **15**, 473-497.



- Nuraini**, 1987. Morfoligi. Dlm: *Panduan menanam orkid* . MARDI. Kuala Lumpur. 7-26.
- Nuraini, J., Mohd. Shaib dan Zaharah, H.**, 1987. Pembiakan. Dlm: *Panduan menanam orkid*. MARDI. KL. 41-60.
- Pamfil, D.**, 2002. Comparison of the formation of *Cymbidium* protocorms and Plantlets on agar-solidified and liquid mediums (stationary, agitated and bioreactor). *In vitro Mass Propagation of Plants*. 120-121.
- Pindel, A. Dan Miczunski, K.**, 1996. Regeneration of *Cymbidium* orchids from leaf and root explants. *Foliar Horticulturae*. **8** (2), 95-105.
- Prakash, S., Hoque, M. I. dan Brinks, T.**, 2004. Culture media and containers. *Low cost options for tissue culture technology in developing countries*. Vienna, Austria. 29-40.
- Ravindra, B. M., Gangadhar, S. M. dan Nataraja, K.**, 2004. Efficient regeneration of *Vanda coerulea*, an endangered orchid using thidiazuron. *Plant cell, Tissue and Organ Culture*. **76**, 289-293.
- Saharan, H. A.**, 1987. Perusahaan orchid. Dlm: *Panduan menanam orkid*. MARDI. Kuala Lumpur. 1-6.



- Shiong, L. C., Jin, G. C. dan Rao, A. N., 1978. Some factors affecting morphogenesis of *Aranda* orchid tissue culture. *Proceedings of the Symposium on orchidology 1978*. 405-417.
- Tatyana, B. B., Elena, A. B. dan Valentina, E. V., 2003. The reproductive system and germination in orchids. *Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica*. **45** (2), 21-34.
- Teofila, E. B., Wood, J. J., Reed, S. B. dan Jhon, H. B., 2001. *Orchids of Sarawak*. Natural History Publications (Borneo). 74-75.
- Wood, J.J., Read, R. B. dan Jhon, H. B., 1993. *The plants of Mount Kinabalu*. Royal Botanic Gardens KEW. 156-759.

