

4000006265



**PERCAMBahan BIJI BENIH ORKID DENDROBIUM MACROPHYLLUM
SECARA IN VITRO**

ANIZAN BIN DAUD

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

**PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

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

PERPUSTAKAAN UMS



AC 2005

1400006265



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: PERCAMPBahan Bui Binih ORKID DENDROBIUM MACROPHYLLUMSECARA IN VITROIJAZAH: IJAZAH SARJANA MUDA DENGAN KEPULJIANSESI PENGAJIAN: 2004/2005Saya ANIDAN BIN DAUD

(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 sabaja.
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)

Alamat Tetap: KG LAYANG -
LAYANGAN 87008W.P LABUANTarikh: 31/3/2005

Nama Penyelia

Tarikh:

CATATAN: * Potong yang tidak berkenaan.

- ** Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampirkan surat daripada pihak berkuasa/organisasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT dan TERHAD.
- @ Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana secara penyelidikan, atau disertasi bagi pengajian secara kerja kursus dan penyelidikan, atau Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).



PENGAKUAN

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

Tarikh : 31 Mac 2005



ANIZAN BIN DAUD

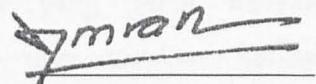
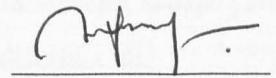
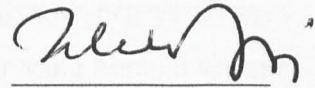
HS 2001 - 2910



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PERAKUAN PEMERIKSA**DIPERAKUKAN OLEH****Tandatangan**

1. **PENYELIA**
(DR. JUALANG AZLAN BIN GANSAU)
2. **PEMERIKSA 1**
(DR. ZALEHA ABDUL AZIZ)
3. **PEMERIKSA 2**
(DR. WONG NYET KUI)
4. **DEKAN**
(PROFESOR DR. AMRAN AHMED)

**UMS**
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGHARGAAN

Alhamdulillah, syukur saya ke hadrat Allah kerana dengan taufiq dan hidayahNya maka dapatlah saya menyiapkan projek ini.

Jutaan terima kasih saya ucapkan kepada Dr. Jualang Azlan Abdullah Gansau selaku penyelia projek di atas segala tunjuk ajar, cadangan, pandangan, komen serta nasihat yang telah diberikan sepanjang saya menyiapkan projek ini. Segala tunjuk ajar beliau tidak akan saya lupakan sampai bila-bila.

Ucapan terima kasih saya juga saya tujukan kepada pensyarah-pensyarah saya yang lain yang mana telah memberikan pendapat dan tunjuk ajar yang bernilai kepada saya. Tidak lupa juga kepada pembantu makmal Tisu Kultur iaitu Cik Rokiah yang telah banyak membantu. Terima kasih juga saya ucapkan kepada sesiapa sahaja yang telah terlibat secara langsung ataupun tidak di dalam penyediaan disertasi ini.

Kepada keluarga dan rakan-rakan seperjuangan yang telah banyak memberikan sokongan dan dorongan, jutaan terima kasih saya ucapkan. Segala bantuan dan pertolongan yang telah diberikan kepada saya selama ini amatlah saya hargai. Sekian, terima kasih.



ABSTRAK

Kajian ini dijalankan untuk mengkaji kesan media asas ($\frac{1}{2}$ MS dan VW) terhadap percambahan biji benih dan kesan media ($\frac{1}{2}$ MS dan VW), terhadap penambahan arang dan kompleks aditif terhadap perkembangan protokorm. Pengkulturan eksplan (biji benih dan protokorm) dilakukan di atas media pepejal. Pemerhatian dibuat pada setiap 20 hari dan dihentikan apabila ada biji benih di dalam satu-satu rawatan telah mencapai pembentukan anak pokok. Keputusan mendapati bahawa media $\frac{1}{2}$ MS memberikan hasil yang lebih baik berbanding media VW bagi percambahan biji benih dan perkembangan protokorm. Kesimpulan ini tercapai apabila kesan bagi media asas $\frac{1}{2}$ MS, pembentukan protokorm dicapai pada hari ke-32 selepas pengkulturan dengan nilai indeks pertumbuhan sebanyak 181.6 berbanding dengan media asas VW di mana pembentukan protokormnya dicapai pada hari ke-38 dengan nilai indeks pertumbuhannya sebanyak 144.3. Pembentukan anak pokok pula dicapai pada hari ke-134 dan hari ke-175 selepas pengkulturan bagi media asas ($\frac{1}{2}$ MS dan VW) masing-masing dengan nilai indeks pertumbuhan sebanyak 402.3 dan 399.7. Bagi kesan arang teraktif dan kompleks aditif pula, pembentukan anak pokok dicapai pada hari ke-47 bagi rawatan media $\frac{1}{2}$ MS + air kelapa 15% dengan nilai indeks pertumbuhan sebanyak 554.0, berbanding rawatan $\frac{1}{2}$ MS + air kelapa 20% dan $\frac{1}{2}$ MS + air kelapa 10% dimana pembentukan anak pokok dicapai pada hari ke-49 dan hari ke-52 masing-masing dengan nilai indeks pertumbuhan sebanyak 527.8 dan 532.8. Kombinasi media VW dengan arang teraktif dan kompleks aditif didapati kurang memberangsangkan di mana pembentukan anak pokoknya adalah lebih lewat iaitu pada hari ke-52 bagi rawatan VW + pepton dengan nilai indeks pertumbuhan sebanyak 455.3 dan pada hari ke-55 bagi rawatan VW + ekstrak yis dengan nilai indeks pertumbuhan sebanyak 438.1.



ABSTRACT

This research was carried out to study the effect of basal media ($\frac{1}{2}$ MS and VW) on the growth of orchid seeds and the effect of media ($\frac{1}{2}$ MS and VW) with the addition of activated charcoal or complex additives to protocorms growth. The explants (the seeds and the protocorm) were cultured on solid media. Observations were made routinely every 20 days up to the formation of plantlets. Results showed that $\frac{1}{2}$ MS medium gave better result compare to VW medium for seed germination and protocorm growth. Protocorms are formed after 32 days of culture with the G.I of 181.6 in $\frac{1}{2}$ MS compared to VW medium, which takes about 38 days with the G.I of 144.3. Plantlets are formed at 134 days and after 175 days for basal $\frac{1}{2}$ MS and VW media, with the G.I of both media are 402.3 and 399.7 respectively. Plantlets were observed after 47 days of culture in $\frac{1}{2}$ MS medium supplemented with 15% (v/v) CW with the G.I is 554.0. Plantlets development in $\frac{1}{2}$ MS medium containing 10% (v/v) and 20% (v/v) CW was achieved after 52 days and 49 days after cultured respectively, with the G.I is 532.8 and 527.8. Combination of VW media with activated charcoal and additives complexes are found insufficient for plantlets development which took about 52 days for the treatment of VW supplemented with peptone with the G.I of 455.3 and 55 days for the supplementation of yeast extract with its G.I worth 438.1.



SENARAI KANDUNGAN

PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	ix
SENARAI FOTO	x
SENARAI SIMBOL	xi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN	5
2.1 <i>Dendrobium macrophyllum</i>	5
2.2 Pengkulturan Biji Benih Orkid	6
2.3 Kompleks Aditif	9
2.4 Penambahan Arang Dalam Media	10
2.5 Keadaan Pengkulturan	11
2.5.1 Media kultur	11
a. Media asas	11
b. Sumber karbon	13
c. pH medium	14
2.5.2 Faktor fizikal/persekutaran	15
a. Suhu	16
b. Keamatan cahaya	16
c. Pengudaraan	17



BAB 3	BAHAN DAN KAEADAH	18
3.1	Sumber Eksplan	18
3.2	Penyediaan Peralatan	19
3.3	Penyediaan Media	19
3.3.1	Penyediaan larutan stok	19
3.3.2	Penyediaan 200 ml media untuk rawatan pengkulturan	20
3.3.3	Penambahan kompleks aditif	21
3.4	Pensterilan Pod	22
3.5	Pengkulturan Biji Benih	22
3.6	Cerapan Data	24
3.7	Pengiraan Indeks Pertumbuhan	26
3.8	Analisis Statistik	27
BAB 4	KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN	28
4.1	Pensterilan Pod Biji Benih	29
4.2	Kesan Media Asas	33
4.3	Kesan Arang Teraktif Dan Kompleks Aditif	37
4.3.1	Arang teraktif	40
4.3.2	Kompleks aditif	41
a.	Air kelapa	41
b.	Pepton	42
c.	Ekstrak yis	43
d.	Jus tomato	43
4.4	Faktor-Faktor Lain Yang Mempengaruhi Keputusan	45
BAB 5	KESIMPULAN	47
RUJUKAN		51
LAMPIRAN		55

SENARAI JADUAL

No jadual		Muka surat
2.1	Tempoh kematangan bagi beberapa genera orkid	7
2.2	pH yang dicadangkan bagi beberapa jenis genera	15
3.1	Jumlah isipadu bagi setiap komponen media bagi menyediakan 200 ml media	20
3.2	Kompleks aditif yang digunakan dan jumlah isipadu/jisim bagi setiap aditif	21
3.3	Senarai media yang digunakan untuk pengkulturan	24
3.4	Contoh jadual cerapan data	25
3.5	Singkatan kompleks aditif yang digunakan di dalam jadual cerapan data	25
3.6	Nilai indeks bagi setiap peringkat pertumbuhan	26
3.7	Contoh jadual cerapan data beserta dengan nilai indeks pertumbuhannya	27
4.1	Kaedah pensterilan yang digunakan bagi setiap rawatan berserta dengan keputusannya	30
4.2	Cerapan percambahan biji benih bagi rawatan media asas	34
4.3	Cerapan perkembangan protokorm bagi media rawatan $\frac{1}{2}$ MS	38
4.4	Cerapan perkembangan protokorm bagi media rawatan VW	39



SENARAI FOTO

No. foto	Muka surat
1.1 Struktur bunga orkid <i>Dendrobium macrophyllum</i>	4
4.1 Pod biji benih <i>D. macophyllum</i> yang digunakan di dalam kajian	29
4.2 Kontaminasi yang berlaku sepanjang pengkulturan	32
4.3 Peringkat-peringkat perkembangan biji benih sehingga menjadi anak pokok	36
4.4 Keadaan perkembangan protokorm pada media $\frac{1}{2}$ MS	44
4.5 Keadaan perkembangan protokorm pada media VW	45



SENARAI SIMBOL

%	Peratus
°C	Darjah Celcius
g	Gram
l	Liter
g/l	Gram per liter
mg	Miligram
½MS	Medium Murashige dan Skoog terubahsuai
VW	Medium Vacin dan Went
NaOH	Natrium hidroksida
HCl	Asid hidroklorik
G.I	Indeks pertumbuhan
CO ₂	Gas karbon dioksida



BAB 1

PENDAHULUAN

Heywood (1978) menganggarkan terdapat lebih kurang 250 000 spesies tumbuhan berbunga di dunia dengan *Orchidaceae* sebagai famili terbesar di dalam alam Tumbuhan dengan anggaran spesies sebanyak 20 000 hingga 30 000 spesies. Daripada jumlah ini, Whitmore (1984) telah menganggarkan bahawa terdapat di antara 3 000-4 000 spesies orkid di Kepulauan Melayu, iaitu merangkumi 14%-18% daripada jumlah keseluruhan tumbuhan berbunga di Kepulauan Melayu.

Di Borneo sahaja, dianggarkan terdapat 2 500-3 000 spesies orkid yang terdiri daripada 150 genera yang berbeza dengan Sabah mempunyai 1 500-2000 spesies di dalam 143 genera. Jumlah ini sahaja sudah merangkumi 70% daripada jumlah keseluruhan spesies orkid di Kepulauan Melayu dan 30% daripadanya adalah spesies yang endemik (Wong dan Phillipps, 1996). Kawasan gunung Kinabalu sahaja dianggarkan mempunyai lebih daripada 1000 spesies dengan 121 genera (Beaman dan Beaman, 1990). Kepelbagaiannya yang tinggi bagi orkid ini bertumpu di kawasan hutan di gunung Kinabalu dengan sekurang-kurangnya 30% daripada spesies yang terdapat di Sabah terdapat di kawasan ini (Wong dan Phillipps, 1996).



Orkid di Borneo pada hari ini sedang mengalami kepupusan habitat disebabkan pembukaan kawasan hutan untuk aktiviti pertanian dan perindustrian. Selain daripada aktiviti pembukaan kawasan hutan, aktiviti pengambilan pokok orkid daripada habitatnya yang dilakukan oleh pengumpul-pengumpul orkid untuk tujuan koleksi peribadi dan untuk tujuan komersil juga telah banyak menyumbang kepada kepupusan orkid ini. Bagi mengatasi masalah ini, CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) telah ditubuhkan pada tahun 1973. Undang-undang turut diadakan bagi melindungi orkid-orkid di Sabah daripada kepupusan. Melalui undang-undang ini, kerajaan telah mengharamkan aktiviti pengambilan orkid liar daripada habitatnya yang liar untuk apa sahaja tujuan tanpa kebenaran daripada pihak yang berkuasa.

Bagi memelihara orkid-orkid liar ini daripada pupus, kaedah tisu kultur telah digunakan secara meluas bagi menghasilkan anak pokok yang mempunyai ciri-ciri yang sama dengan induknya. Kaedah ini memberikan banyak kebaikan di mana biji benih orkid walaupun mempunyai sehingga berjuta-juta biji benih di dalam satu kapsul, adalah sukar untuk bercambah di dalam habitatnya yang biasa. Masalah ini telah dapat diatasi oleh Lewis Knudson melalui media yang telah beliau cipta pada tahun 1921 yang dikenali sebagai Knudson C. Dengan menggunakan media ini, percambahan biji benih secara asimbiotik bukanlah satu masalah di mana beliau telah menunjukkan bahawa biji benih orkid cuma memerlukan nutrien-nutrien yang tertentu sahaja untuk percambahannya.

Kaedah pembiakan orkid secara tisu kultur merupakan satu kaedah yang efisien di mana melalui kaedah ini, sesuatu spesies orkid yang sukar untuk ditemui di

dalam habitatnya boleh dibiakkan secara asimbiotik di dalam keadaan steril bagi menghasilkan banyak anak pokok yang mempunyai ciri-ciri yang sama dengan induknya di dalam masa yang singkat.

Orkid ialah tumbuhan berbunga yang unik di mana walaupun bentuk dan warna bunganya adalah berbeza mengikut spesiesnya, ia tetap terdiri daripada 3 sepal dan 3 petal. Satu daripada petalnya berubah bentuk menjadi labelum atau bibir. Stamennya pula bergabung dengan stil dan stigmania membentuk kolumn. Kolumn ini mengandungi cepu debunga di bahagian atas, stigma di bahagian tengah dan benang sari di bahagian bawah. Debunga orkid pula tidak berdebu dan ia terletak di dalam polinia dengan bilangan polinia yang biasanya genap (Zaharah dan Rozlaily, 1991).

Orkid daripada spesies *Dendrobium macrophyllum* telah di pilih sebagai sumber eksplan. Ia mempunyai bunga yang unik di mana bahagian belakang petalnya mempunyai bulu-bulu halus. *Dendrobium* boleh dikenali dengan mudah dengan melihat kepada bunganya yang berjambak dan mempunyai kolumn yang pendek. Selain daripada itu, bahagian bawah kolumnya yang juga di kenali sebagai kaki kolumn lebih panjang daripada genus-genus lain (Zaharah dan Rozlaily, 1991). Foto 1 menunjukkan gambar *D. macrophyllum*.



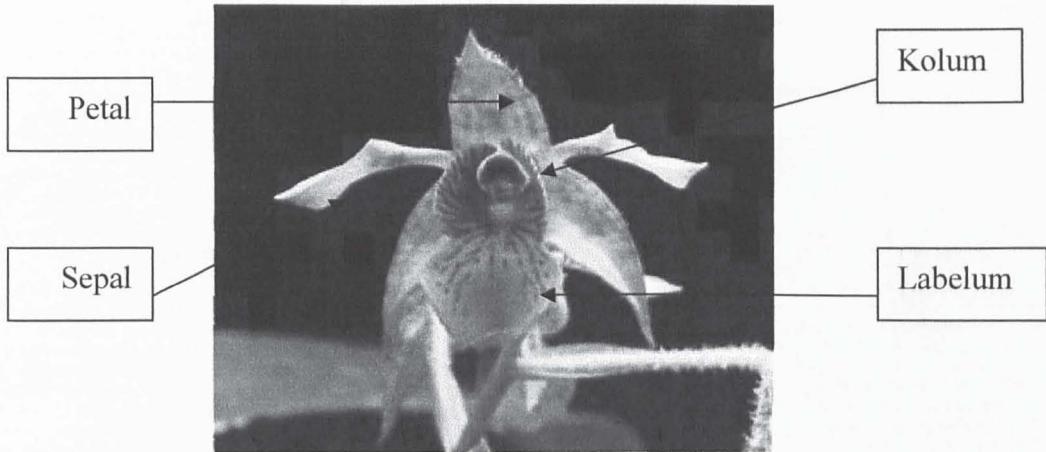


Foto 1.1 Struktur bunga orkid *Dendrobium macrophyllum*

Objektif kajian ini ialah untuk mengkaji kesan media asas $\frac{1}{2}$ MS dan VW serta kesan kompleks aditif terhadap percambahan biji benih dan perkembangan protokorm *Dendrobium macrophyllum*.

BAB 2

ULASAN PERPUSTAKAAN

2.1 *Dendrobium macrophyllum*

Dendrobium macrophyllum merupakan sejenis orkid epifit monopodial. Ia tersebar meluas di kawasan panas dan hutan hujan tropika seperti Papua New Guinea, Filipina, Borneo dan kepulauan Jawa.

Dendrobium macrophyllum boleh membesar sehingga 45 cm tinggi. Bunganya berwarna kuning kehijauan dan petalnya pula berbintik-bintik ungu sementara labellumnya berwarna hijau kekuningan. Orkid jenis ini mempunyai pseudobulb yang berbentuk ‘elavate’, daun panjang sehingga 25 cm dan bunga yang berlainan warna bergantung kepada variasinya dan bunga ini boleh membesar sehingga 5 cm lebar. Musim berbunganya adalah dari bulan Januari hingga bulan April dan dari bulan Jun hingga bulan Ogos.



2.2 Pengkulturan Biji Benih Orkid

Teknik kultur tisu ialah suatu teknik yang melibatkan pengambilan pucuk baru daripada tumbuhan orkid dan ditanam ke dalam media nutrien di dalam keadaan steril (Hodgson *et al.*, 1991). Di dalam kajian ini, biji benih orkid daripada spesies *D. macrophyllum* dikulturkan di dalam media nutrien di dalam keadaan yang steril supaya biji benih ini dapat berkembang secara asimbiotik dan seterusnya menjadi planlet yang baru.

Lewis Knudson ialah orang yang telah berjaya mereka formulasi media bagi percambahan biji benih orkid secara asimbiotik melalui kaedah *in vitro* melalui medianya yang dikenali sebagai Knudson C (1921). Lewis Knudson telah berjaya membuktikan bahawa biji benih orkid boleh dicambahkan secara asimbiotik di dalam makmal sedangkan pada masa itu ramai ahli pengkaji tumbuhan yang menyangkal dakwaannya dan mengatakan bahawa percambahan biji benih orkid tanpa jangkitan fungus adalah sesuatu yang mustahil. Hanya setelah beberapa tahun selepas Lewis Knudson berjaya di dalam kajiannya, barulah hasil kajiannya di terima secara meluas oleh pengkaji-pengkaji orkid (Ernst dan Arditti, 1993).

Pod yang mengandungi biji benih orkid bagi spesies *Dendrobium macrophyllum* adalah bersaiz kecil, 2-4 cm panjang dan mempunyai bulu-bulu halus di sekelilingnya yang mempunyai panjang antara 2-4 mm. Di dalam pengkulturan biji benih orkid, adalah lebih mudah untuk mensterilkan pod yang masih belum terbuka berbanding dengan pensterilan biji benih orkid daripada pod yang telah terbuka. Pemilihan pod yang cukup matang juga mempengaruhi hasil keputusan kajian. Lucke



(1971) menyatakan bahawa pod orkid boleh disterilkan setelah ianya mencapai 2/3 matang. Jadual 2.1 di bawah menunjukkan tempoh kematangan yang biasa bagi beberapa genus orkid (Lucke, 1971).

Jadual 2.1 Tempoh kematangan bagi beberapa genera orkid (bulan)

Genera	Tempoh kematangan (Bulan)
<i>Bulbophyllum</i>	3
<i>Calanthe</i>	4
<i>Cattleya</i>	11
<i>Coelogyne</i>	13
<i>Cymbidium</i>	10
<i>Cypripedium</i>	3.5
<i>Dendrobium</i>	12
<i>Epidendrum</i>	3.5
<i>Laelia</i>	9
<i>Masdevallia</i>	3.5
<i>Miltonia</i>	9
<i>Odontoglossum</i>	7
<i>Paphiopedilum</i>	10
<i>Phalaenopsis</i>	6
<i>Stanhopea</i>	7
<i>Vanda</i>	20

Sumber : Lucke (1971)



Salah satu peranan pengkulturan biji benih orkid ialah untuk memperbanyak suatu spesies yang dikulturkan untuk mengelakkannya daripada kepupusan. Contoh yang terbaik ialah pengkulturan orkid daripada spesies *Cattleya dowiana* yang mengalami masalah kepupusan di Costa Rica akibat daripada pemusnahan habitatnya untuk tujuan pembangunan (Pritchard, 1989).

Pengkulturan spesies ini di dalam medium Vacin dan Went (1949) tanpa pengubahsuaian telah mengalami perkembangan yang sangat memberangsangkan. Selepas pembentukan protokorm, ia seterusnya dipindahkan ke dalam medium baru yang mengandungi pisang terhomogenis dan selepas 12 bulan, anak-anak pokok *Cattleya dowiana* sudah boleh dipasukan dan ia sekarang telah diedarkan ke serata tempat termasuk di Costa Rica untuk menghalang kepupusannya (Pritchard, 1989).

Contoh kedua pula ialah pada orkid yang cuma endemik di Sabah sahaja iaitu *Dendrobium spectatissimum* yang juga mengalami masalah kepupusan. Orkid ini telah diserahkan podnya kepada Royal Botanic Garden Kew, di England oleh Phillip Cribb dan Christopher Beles pada tahun 1983. Biji benih orkid ini berkembang dengan baik di dalam medium Vacin dan Went (1949) dan seterusnya dipindahkan ke medium terubahsuai selepas pembentukan protokorm. Apabila ianya sudah cukup besar, ia seterusnya dipindahkan ke dalam pasu selepas 16 minggu dan anak orkid ini kemudiannya diserahkan kembali kepada Taman Negara Sabah (Pritchard, 1989).



2.3 Kompleks Aditif

Kesan penambahan air kelapa dan kulit pisang sebagai bahan kompleks medium tambahan telah lama diperhatikan. Walaubagaimanapun, kesan media tambahan yang lain seperti ekstrak yis, pepton dan jus tomato adalah masih lagi kurang difahami sampai sekarang dan kesan bahan-bahan ini sebagai kompleks medium tambahan masih lagi dikaji (Ernst dan Arditti, 1993).

Komponen medium tambahan seperti air kelapa telah digunakan secara meluas sejak 50 tahun yang lalu lagi. Ia pada mulanya digunakan pada penggandaan klonal tisu akar lobak (Caplin dan Steward, 1948; Hegarty dan Chaplin, 1952). Di dalam pengkulturan biji benih *Paphiopedilum* dan *Vanilla*, Hegarty (1955) menyatakan bahawa kesan pertumbuhan yang lebih baik di dapat pada medium yang ditambahkan dengan 10% (v/v) air kelapa.

Endosperma cair kelapa (air kelapa) sebenarnya mengandungi banyak bahan biokimia yang berperanan sebagai faktor perangsang pertumbuhan (Shantz dan Steward, 1952). Antara bahan yang terdapat di dalam air kelapa ialah 1,3-difenilurea yang bertindak sama seperti sitokinin (Shantz dan Steward, 1955). Walaubagaimanapun, keberkesanan air kelapa di dalam media bergantung kepada usia buah kelapa itu sendiri (samada ia kelapa yang sudah tua atau masih muda), musim ia diperolehi, dari mana ia diperolehi dan cara pensterilannya (samada secara autoklaf ataupun pensterilan bertapis).



2.4 Penambahan Arang Dalam Media

Arang telah digunakan sebagai bahan tambahan untuk pengubahsuaihan media semenjak tahun 1943 lagi melalui pengkulturan biji benih orkid dari spesies *Cypripedium* (Curtis, 1943). Walaubagaimanapun, hasil yang didapatkan adalah kurang memberangsangkan di mana percambahan biji benih secara asimbiotik tidak diperolehi. Hasil yang diingini diperolehi melalui pertambahan arang teraktif (menggunakan medium Nuchar C dengan jumlah arang sebanyak 2 mg l^{-1} (w/v)) yang berpunca daripada tumbuhan bagi orkid dari genus *Paphiopedilum* (Ernst, 1974) dan genus *Phalaenopsis* (Ernst, 1975, 1976).

Arang teraktif dipercayai memperbaiki pengudaraan di dalam kultur (Ernst dan Arditti, 1993). Kelebihan kedua penambahan arang teraktif ke dalam medium pengkulturan ialah ia menyerap etilena yang merupakan perencat pertumbuhan (Ernst, 1975). Arang teraktif juga menyerap 5-hidrosimetilfurfural yang terhasil semasa dehidrasi sukrosa semasa proses pengautoklafan dijalankan. Ia juga merupakan sejenis bahan perencat pertumbuhan. Selain daripada itu, bahan-bahan fenolik dan karboksilik yang terhasil sebagai bahan sampingan pengkulturan juga diserap oleh arang teraktif. Penggunaan arang sebagai bahan tambahan di dalam media juga mempunyai keburukan di mana arang teraktif juga menyerap hormon tumbuhan dan vitamin yang dibekalkan bagi pembesaran kultur dan ini seterusnya akan merencat kultur dari bertumbuh dengan baik. (Ernst dan Arditti, 1993).



2.5 Keadaan Pengkulturan

Terdapat dua faktor yang mempengaruhi keadaan pertumbuhan orkid daripada biji benih secara asimbiotik. Faktor yang pertama ialah kandungan media pengkulturan yang digunakan dan faktor yang kedua pula ialah fizikal/persekutaran.

2.5.1 Media kultur

a. Media asas

Media kultur tisu merupakan bahan bernutrien yang diperlukan membantu pertumbuhan sel atau tisu. Terdapat dua jenis media iaitu media cecair dan media pepejal. Di dalam media cecair, eksplan dibiarkan tenggelam dan biasanya digoncang menggunakan ‘rotary shaker’. Keadaan ini berbeza bagi media pepejal di mana penambahan agar dilakukan untuk mengeraskan medium. Medium yang dikeraskan tadi berfungsi untuk mengelakkan eksplan dari tenggelam serta membenarkan peredaran bahan nutrien di dalam tisu tumbuhan. Penggunaan media pepejal adalah lebih sesuai bagi pengkulturan biji benih orkid.

Terdapat banyak jenis formulasi media dan pemilihan media bergantung kepada jenis spesies tumbuhan yang hendak dikulturkan. Antara medium yang biasa digunakan untuk pengkulturan biji benih orkid ialah medium ubahsuaian Murashige dan Skoog (1962), medium Vacin dan Went (1949), medium Phytamax (1992), medium Knudson C (1921) dan banyak lagi. Bagi sesetengah spesies orkid, penggunaan medium Murashige dan Skoog (1962) pada kepekatan garam



makronutrien dan mikronutrien separuh daripada kepekatan asal memberikan hasil pengkulturan yang lebih baik. Ini adalah kerana kepekatan garam yang tinggi boleh menjadikan medium pengkulturan itu toksik kepada spesies orkid yang hendak dikultur.

Semasa penyediaan media, adalah penting untuk kita mengikuti arahan yang tercatat dengan penuh berhati-hati dan timbangan mestilah tepat di mana perbezaan berat bahan kimia yang sedikit sahaja boleh memberikan memberikan hasil yang berbeza daripada yang dikehendaki. Bahan kimia bagi kegunaan pembuatan media haruslah disimpan di dalam tempat yang kering kerana sesetengah bahan kimia boleh menyerap air dan menjadi pepejal dan melebur. Kejadian ini boleh dielakkan dengan menyimpan bahan-bahan yang berkaitan di dalam keadaan vakum atau dalam inkubator pada suhu yang sesuai bagi memastikan kelembapan adalah rendah (Ernst dan Arditti, 1993).

Makronutrien ialah bahan nutrien yang diperlukan oleh tumbuhan di dalam jumlah yang banyak. Ia terdiri daripada kalsium, magnesium, nitrogen, fosforus, ferum dan kalium. Bahan-bahan ini diperlukan secara berterusan di dalam media kultur. Makronutrien boleh menjadi bahan toksik kepada tumbuhan apabila ia terdapat dengan banyak di dalam tumbuhan itu (Ernst dan Arditti, 1993).

Mikronutrien pula merupakan bahan yang diperlukan oleh tumbuhan di dalam jumlah yang sedikit sahaja. Bahan-bahan ini terdiri daripada zink, boron, mangan, kobalt, kuprum, klorin, sulfur, iodin dan molibdenum (Ernst dan Arditti, 1993).



RUJUKAN

- Abdul Karim A.K. dan Hairani H., 1989. Perambatan Orkid Melalui Tisu Kultur. Dlm. Zakri, A.H. dan Latif, A. *Penyelidikan Semasa Sains Hayat*. 151-169. Bangi. Universiti Kebangsaan Malaysia.
- Adelberg, J., Pollock, R., Rajapakse, N., Young, R., 1998. Micropropagation, decontamination, transcontinental shipping and hydroponic growth of *Cattleya* while sealed in semipermeable membrane vessels. *Scientia Horticulturae*. **73**, 23-35.
- Arditti, J. 1967., The Botanical Review: *Factors Effecting the Germination of Orchid Seeds*: **33** (1). 1-30.
- Arditti, J., 1982. Seed Germination and Seedling Culture. Dlm Arditti, J. (pnyt.). *Orchid Biology: Review and Perspective II*. Cornell University Press, Ithaca, 245-278.
- Beaman, J.H. dan Beaman, R.S., 1990. Diversity and distribution patterns in the flora of Mount Kinabalu. In Baas, P., Kalkman, K. & Geesink, R. (ed.), *The Plant Diversity of Malesia*. Kluwer Academic Publisher, The Netherlands. Pp. 147-160.
- Bhadra, S.K. dan Hossain, M.M., 2003. *In vitro* germination and micropropagation of *Geodurum densiflorum* (Lam.) Schltr., an endangered orchid species. *Plant Tissue Culture*, December 2003, **13** (2), 165-171.
- Ernst, R., 1974. The use of activated charcoal in asymbiotic seedling culture of *Paphiopedilum*. *American Orchids Society Bulletin*. **43**. 35-38.
- Ernst, R. dan Arditti, J., 1993. *Micropopagation of Orchids*. Irvine: Department of Developmental and Cell Biology. University of California.

- Heywood, V.H. (ed.), 1978. *Flowering Plants of the World*. Oxford University Press.
- Keng, L.C., 1979. *Orchids: Their Cultivation and Hybridization*. Eastern University Press (M) Sdn Bhd, Kuala Lumpur.
- Khaw, C.H., Ong, H.T. dan Nair, H., 1978. Hormone in the nutrition of orchid tissue culture in orchid propagation. *Proceeding of the Symposium on Orchidology 1978*. 60-65.
- Knudson, L., 1950. Germination of Seeds of *Vanilla*. *American Journal of Botany* **37**. 241-247.
- Kotomori, S. dan Murashige., 1965. Some Aspects of Aseptic Propagation of Orchids. *American Orchid Society Bulletin*. **34**. 484-489.
- Kyte, L. dan Kleyn, J., 1996. *Plants from Test Tube. An Introduction of Micropropagation*. Timber Press, Portland.
- Launert, E., S.F.E. dan Hunt. P.F., 1972. *Orchid Care: A guide to Cultivation and Breeding*. Ritchter, W. (ptjr). Studio Vista Publisher, London.
- Letham, D.S., 1974. Regulators of Cell Division in Plant Tissues: The Cytokinins of Coconut Milk. *Physiology Plant* **32**. 66-70.
- Livy, W.G., 1992. *Budidaya Anggerik*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- McKendrick, S. *In vitro germination of orchids : a manual*. Ceiba Foundation for Tropical Conservation.
- Morel, G.M., 1974. Clonal Propagation of Orchid. Dlm: Whithner, C.L. (pnyt.). *The orchids scientific studies*. Wiley Interscience, New York. 169-222.
- Murashige, T. dan Koog, F., 1982. A revised medium for rapd growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiology Plant*. **15**. 473-497



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABA

- Pritchard, H.W., 1989. *Modern Methods in Orchid Conservation. The Role of Physiology, Ecology and Management.* Cambridge University Press, England.
- Rola, A. C. *Economic Perspective for Agricultural Biotechnology Research Planning.* Philippine Institute for Development Studies. Discussion paper series no. 2000-10. 2000.
- Schmude, H.V., Lucke, N.F., Ernst, R. dan Arditti, J. 1986. *Paphiopedilum rothchildianum.* *American Orchid Society Bulletin.* **55.** 579-584.
- Sheehan, T. dan Sheehan, M., 1985. *Orchid Genera Illustrated.* Cornstock Publishing Associates. London.
- Stewart, J., 1989. Orchid propagation by tissue culture technique-past, present and future. Dlm Pritchad, H.W. (ed.). *Modern Method in Orchid Conservation: The Role of Physiology, Ecology and Management.* pp. 87-100. Cambridge University Press.
- Teo, C.K.H., Kunisaki, J.T. dan Sagawa, Y., 1973. Clonal Propagation of Strap-leaved *Vanda* by Shoot-tip Culture. *American Orchid Society Bulletin* **42.** 402-405.
- Teoh, E.S., 1989. *Orchids of Asia.* Times Book International, Petaling Jaya, Selangor.
- Vermeulen, J.J. *Orchids of Borneo.* Royal Botanic Gardens, Kew. England
- Venamy Orchids. *A Comprehensive Guide to Orchid Culture.* Brewster, New York.
- Whithner, C.L., 1974. Development of Orchid Physiology. Dlm Withner C.L. (pnyt.). *The orchid: Scientific studies.* John Wiley & Sons, New York, 129-260.
- Whitmore, T.C., 1984. *Tropical Rain Forest of the Far East.* 2nd Edition. Clarendon Press, Oxford.

Wong, K.M. dan Phillipps, A.(ed.), 1996. *Kinabalu; Summit of Borneo*. The Sabah Society.

Wood, J.J., 1997. *Orchids of Borneo 3*. England: Royal Botanic Garden Kew.

Zaharah, H. dan Rozlaily, Z., 1991. *Penanaman Orkid*. Kuala Lumpur: Institut Penyelidikan dan Kemajuan Pertanian Malaysia (MARDI).