



REGENERASI PUCUK DARI PETIOL
CENTELLA ASIATICA

OOI YIN YEN

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PROGRAM BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

TAHUN 2003

PERPUSTAKAAN UMS



1400005596



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: REGENERASI PAKUK DARI PETIOL
CANTILLA ASIATI CA

Ijazah: _____

SESI PENGAJIAN: 2001/2002 (May)

Saya OOI YIN YEN

(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 hakmilik 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/badza di mana penyelidikan dijalankan)

TIDAK TERHAD

Disahkan oleh

[Signature]
(TANDATANGAN PENULIS)

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: 63-A, Jalan Kayrat,
23000 Kuala Kayrat,
Perak.

Nama Penyelia

Tarikh: 10-3-04

Tarikh: _____

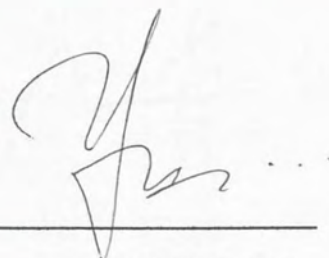
- CATATAN:
- * Potong yang tidak berkenaan.
 - ** Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampirkan surat daripada pihak berkuasa/organisasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT dan TERHAD.
 - @ Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor 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.

11 March 2004



OOI YIN YEN

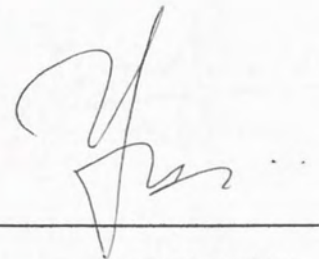
HS2001-2530



PENAKUAN

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

11 March 2004



OOI YIN YEN

HS2001-2530



DIPERAKUKAN OLEH

Tandatangan

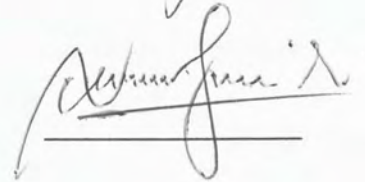
1. PENYELIA

(DR. ZALEHA ABDUL AZIZ)



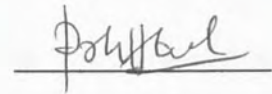
2. PEMERIKSA 1

(DR. JUALANG AZLAN GANSAU)



3. PEMERIKSA 2

(DR. ROZIAH HJ. KAMBOL)



4. DEKAN

(PROF. MADYA DR. AMRAN AHMED)



PENGHARGAAN

Terlebih dahulu ingin saya mengucapkan ribuan terima kasih kepada Dr. Zaleha Abdul Aziz, penyelia projek tahun saya. Penyelia yang amat bertanggung jawab ini telah memudahkan kerja projek ini, serta telah membolehkan kerja projek saya disiapkan dengan begitu lancar. Segala jasa dan pengorbanan yang diberikan akan tetap saya kenang.

Ucapan terima kasih juga kepada kawan sekerja yang menolong saya dalam kerja projek ini. Mereka adalah Ruth Koo Geok Chin, Czylum Wong, Choy San San dan Ann Loh Poh Ian (sekadar menyebut beberapa nama). Terima kasih atas menyumbangkan masa dan tenaga serta setiap bantuan yang dihulurkan.

Kepada ibu bapa dan keluarga tercinta, terima kasih kerana selalu mengambil berat tentang kemajuan projek ini semasa projek ini dijalankan. Sokongan sepenuhnya telah mereka berikan supaya kerja projek ini dapat dijalankan dengan lebih lancar lagi.

Akhirnya, kepada individu-individu yang telah terlibat saa ada secara langsung atau tidak, jutaan terima kasih saya ucapkan atas apa jua bantuan yang dihulurkan.

Sekian, terima kasih.



ABSTRAK

Kajian ini dijalankan adalah untuk menentukan kesan kombinasi kepekatan hormon BAP dan NAA dalam media MS dan separuh MS bagi merangsang regenerasi pucuk *Centella asiatica* dari eksplan petiol. *Centella asiatica* diperolehi dari stok pokok yang ditanam di rumah hijau UMS. Dua kaedah pensterilan telah digunakan untuk pensterilan eksplan petiol *C. asiatica* diuji. Untuk pensterilan eksplan, dua kepekatan fungisid yang berlainan telah digunakan, ia itu 100mg/l fungisid pada kaedah pensterilan I dan 200mg/l fungisid pada kaedah pensterilan II. Dua jenis antibiotik (ampicillin dan quilaxime) telah digunakan dalam kedua-dua kaedah pensterilan dengan kepekatan yang sama (50mg/l). Dua kepekatan klorox 15% (v/v) bagi kaedah pensterilan I dan 10% (v/v) bagi kaedah pensterilan II telah digunakan. Sebanyak 18 kombinasi hormon BAP (2.0mg/l, 5.0mg/l, 10.0mg/l) dan NAA (0.0mg/l – 0.5mg/l) dalam media MS dan ½ MS telah diuji untuk penjanaan pucuk. Untuk mengurangkan kadar kontaminasi, antibiotik cefotaxime (300mg/l) telah ditambahkan ke dalam semua media yang digunakan untuk mengkultur eksplan. Peratus kontaminasi eksplan oleh bakteria telah berkurang dari $21.2\% \pm 11.7$ ke $6.7\% \pm 1.4$, manakala kontaminasi oleh fungi pula telah berkurangan dari $23.5\% \pm 7.6$ ke $8.7\% \pm 6.9$ apabila menggunakan kaedah pensterilan II. Eksplan yang dikulturkan pada semua media membentuk kalus. Bagi regenerasi pucuk, hanya kalus pada eksplan dalam media MS dengan kombinasi BAP (2.0mg/l) dan NAA (0.0mg/l) telah menghasilkan pucuk ($8.4\% \pm 11.8$). Regenerasi adalah melalui organogenesis.



ABSTRACT

The objectives of this project was to evaluate several combinations of BAP and NAA in full MS and half MS basal medium for shoot regeneration of *Centella asiatica*. The explants of *C. asiatica* were collected from the plants that were growing at UMS green house. Two techniques of sterilization were used to sterilize petiole explant of *C. asiatica*. Two different concentration of fungicide (100mg/l) for sterilization technique I and 200mg/l for sterilization technique II were used. Two types of antibiotics (ampicillin and quilaxime) were also be used. Two different concentrations of Clorox ,15% (v/v), for sterilization technique I and 10% (v/v) for sterilization technique II were used There were 18 combinations of hormones, BAP (2.0mg/l, 5.0mg/l, 10.0mg/l) and NAA (0.0mg/l – 0.5mg/l) were evaluated for MS and ½ MS to induce the formation of shoots. Antibiotic cefotaxime (300mg/l) was added into media to reduce the percentage of contamination from bacteria. Percentage of contamination from bacteria was reduced from 21.2% ± 11.7 to 6.7% ± 1.4, while percentage of contamination from fungi was reduced from 23.5% ± 7.6 to 8.7% ± 6.9 when the second sterilization technique was used. As for shoot regeneration, only callus from the explants cultered in full MS media with the combination of hormone of BAP (2.0mg/l) and NAA (0.0mg/l) induced shoots (8.4% ± 11.8). Shoot regeneration was via organogenesis.



KANDUNGAN

	Muka Surat
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	ix
SENARAI RAJAH	x
SENARAI FOTO	xi
SENARAI SIMBOL	xii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN	3
2.1 <i>CENTELLA ASIATICA</i>	3
2.1.1 Morfologi <i>Centella asiatica</i>	4
2.1.2 Komposisi Kimia	4
2.1.3 Kepentingan dan Kegunaan	5
2.2 REGENERASI	6
2.2.1 Organogenesis	7
2.2.2 Embriogenesis Embriotik	9
2.3 HORMON	10
2.3.1 Auksin	11
2.3.2 Sitokinin	12
2.6 SUMBER-SUMBER LAIN	12
BAB 3 BAHAN DAN KAEDAH	14
3.1 PENYADIAAN MEDIA	14
3.1.1 Penyediaan media MS	14
3.1.2 Penyediaan Medium MS dengan separuh kepekatan (1/2-MS)	15



3.1.3	Kombinasi hormon dan kepekatan yang digunakan	16
3.1.4	Gabungan Kombinasi dan Kepekatan Hormon dalam Media MS dan Separuh MS	17
3.2	PENYEDIAAN EKSPLAN	17
3.3	KAEDAH PENSTERILAN EKSPLAN	18
3.3.1	Kaedah pensterilan I	18
3.3.2	kaedah pensterilan II	18
3.4	PENSTERILAN RADAS	19
3.5	PENKULTURAN EKSPLAN	19
BAB 4	KEPUTUSAN	20
4.1	KONTAMINASI EKSPLAN	20
4.2	PERANGSANGAN PERTUMBUHAN KALUS	22
4.3	PERATUSAN PEMBENTUKAN PUCUK	29
BAB 5	PERBINCANGAN	32
5.1	PERKEMBANGAN KULTUR KALUS	32
5.2	PERKEMBANGAN KULTUR PUCUK	39
5.3	KONTAMINASI EKSPLAN	41
5.4	CADANGAN	42
BAB 6	KESIMPULAN	44
	RUJUKAN	46
	LAMPIRAN A	49
	LAMPIRAN B	50
	LAMPIRAN C	51



SENARAI JADUAL

No. Jadual		Muka Surat
Jadual 4.1	Peratusan kontaminasi yang berlaku dalam kaedah pensterilan I dan kaedah pensterilan II pensterilan yang dijalankan.	20
Jadual 4.2	Peratusan kontaminasi bakteria dalam media tanpa dan dengan tambahan antibiotik bagi kaedah pensterilan I dan kaedah pensterilan II.	21
Jadual 4.3	Peratusan pembentukan kalus dalam kedua-dua media MS dan separuh MS.	29
Jadual 4.4	Peratusan eksplan yang menghasilkan pucuk.	30
Jadual 5.1	Cadangan kombinasi hormon yang digunakan dalam kajian masa depan.	42



SENARAI RAJAH

No. Rajah	Muka Surat
Rajah 4.1 Peratusan min eksplan menghasil kalus melawan kepekatan hormon (mg/l) dalam media MS.	28
Rajah 4.2 Peratusan min eksplan menghasil kalus melawan kepekatan hormon (mg/l) dalam media ½ MS	28



SENARAI FOTO

No. Foto		Muka Surat
Foto 4.1	Eksplan yang dikultur dalam media MS tanpa penambahan hormon selepas 23 hari. (Bar = 1.5)	22
Foto 4.2	Kalus dalam media asal MS 2.0mg/l BAP + 0.4mg/l NAA selepas 14 hari. (Bar = 0.17)	23
Foto 4.3	Kalus dalam media asal separuh MS 5.0mg/l BAP + 0.2mg/l NAA selepas 23 hari. (Bar = 0.15)	24
Foto 4.4	Kalus dalam media asal MS 10.0mg/l BAP + 0.5mg/l NAA selepas 25 hari. (Bar = 0.15)	25
Foto 4.5	Kalus dalam media asal MS selepas 23 hari. Foto A merupakan kawalan (Bar = 0.14), Foto B merupakan eksplan daripada kombinasi hormon 2.0mg/l BAP + 0.2mg/l NAA (Bar = 0.18), Foto C merupakan eksplan daripada kombinasi hormon 5.0mg/l BAP + 0.2mg/l NAA (Bar = 0.18), Foto D merupakan eksplan daripada kombinasi hormon 10.0mg/l BAP + 0.2mg/l NAA (Bar = 0.17).	26
Foto 4.6	Eksplan yang dikultur dalam media MS yang berkepekatan hormon 2.0mg/l BAP+0mg/l NAA yang pertama menghasilkan regenerasi setelah 38 hari dikulturkan.	31
Foto 4.7	Eksplan yang dikultur dalam media MS yang berkepekatan hormon 2.0mg/l BAP + 0mg/l NAA yang kedua menghasilkan regenerasi setelah 40 hari dikulturkan.	31



SENARAI SIMBOL

NAA	Asid α -asetik naftalena
g	Gram
ml	Mililiter
mg	Miligram
cm	Sentimeter
L	Liter
Min	Minit
$^{\circ}\text{C}$	Darjah celcius
w/v	Berat / isipadu
%	Peratus



BAB 1

PENDAHULUAN

Centella asiatica merupakan sejenis tumbuhan herbacius yang tergolong dalam famili Umbelliferea. *Centella.asiatica* telah diperkenalkan sebagai sejenis herba yang mempunyai daun berbentuk bulat teratur dalam roset (Goh *et al.*, 1995) yang berkebolehan untuk menyembuhkan kecederaan. *Centella asiatica* juga telah dikatakan sebagai sejenis herba yang mempunyai ciri-ciri sebagai antibiotik, dan anti-bengkak.

Dalam projek tahun akhir ini, petiol akan digunakan sebagai eksplan dalam menghasil pucuk secara *in vitro* untuk mendapat tumbuhan yang serupa dengan induknya.

Didapati bahawa berbagai eksplan boleh digunakan dalam pertumbuhan *in vitro* tumbuh-tumbuhan. Dalam projek tahun akhir ini, pengkulturan petiol dijalankan dalam media pepejal media basal MS (Murashige dan Skoog, 1962) dan sumber karbon serta perangsang pertumbuhan (hormon).



Terdapat beberapa faktor-faktor penting yang bertindak untuk merangsang penjaan semula pucuk secara *in vitro*. Faktor-faktor ini termasuk kandungan jenis hormon, media, cahaya, dan suhu yang dipertimbangkan dalam kajian ini.

Objektif utama projek tahun akhir ini adalah untuk mengenalpasti kombinasi dan kepekatan hormon (auksin dan sitokinin) yang optimum untuk regenerasi pucuk *C. asiatica* daripada petiol. Adalah diharapkan sistem regenerasi *C. asiatica* yang dihasilnya akan dapat digunakan dalam transformasi tumbuhan ini pada masa akan datang.



BAB 2

ULASAN PERPUSTAKAAN

2.1 CENTELLA ASIATICA

Centella asiatica merupakan sejenis tumbuhan herbacius yang tergolong dalam famili Umbelliferea. Sungguhpun *C. asiatica* diketahui dalam *French Codex* (buku yang merokodkan cara perawatan jangkitan di Perancis) hanya pada 1884, tumbuhan ini telah lama dikenali di India disebabkan oleh kebolehannya untuk menyembuhkan kecederaan. Tumbuhan ini dikenali dengan beberapa nama seperti gotukola dan 'Indian Pennywort', di Malaysia, ianya dikenali sebagai Pegaga.

Centella asiatica telah digunakan sebagai tumbuhan perubatan sejak zaman prasejarah. Ia telah digunakan dalam rawatan 'Indian Ayurvedic' pada zaman itu. Tumbuhan ini dipercayai boleh dijadikan sebagai ubat awet muda (Jayaweera, 1982). Tambahan pula, ia dipercayai dapat menurunkan tekanan darah (Jayaweera, 1982). *C. asiatica* juga dikatakan mengandungi keupayaan sebagai antibiotik, anti-bengkak, dan ubat pelali (Jayaweera, 1982).



2.1.1 Morfologi *Centella asiatica*

Centella asiatica telah dikenali sebagai sejenis herba yang bertangkai lampai dan halus serta menjalar yang boleh hidup lama (Anon, 1983; Turton, 1993; Goh *et al.*, 1995). Tangkainya panjang, berwarna merah jambu dan dengan internod yang panjang serta terdapat akar pada setiap nodul.

Bunga *C. asiatica* adalah berwarna merah jambu yang tumbuh dengan lebat. Bunga *C. asiatica* bersama batangnya mempunyai ukuran yang setanding bagi semua tanaman jenis ini.

Daun *C. asiatica* adalah bersambungan dengan petiol yang panjang, dan 1 hingga 3 cm dari setiap nodus batang. Ia berciri dengan mempunyai daun yang berbentuk bulat yang teratur dalam roset (Goh *et al.*, 1995). Tambahan pula, daun juga mempunyai banyak saraf halus dari dasar kordata dalaman.

Kepanjangan buah bagi *C. asiatica* adalah 8 mm. Ia adalah berbentuk bujur dengan perikap yang tebal dan keras. Biji *C. asiatica* pula adalah berbentuk biji labu dengan kepanjangan 3 hingga 5 mm.

2.1.2 Komposisi Kimia

Didapati bahawa, terdapat tiga jenis komponen asas terkandung dalam *C. asiatica*: asiatikosida, brahmosida dan brahminosida, dan medekassosida.



Asiatikosida bertindak seperti antibiotik dalam membantu menyembuhkan luka (Kiesswetter, 1964; Tan dan Eisenbrdan, 1992; Turton, 1993). brahmosida dan brahminosida, memberi kesan diuretik dan apabila disuntikkan dalam amaun yang banyak dalam badan manusia akan memberi kesan ketenangan.

Medekassosida, bertindak sebagai kompaun anti-bengkak yang kuat, *theobromine* yang terkandung dalam medekassosida diandaikan untuk membantu meningkatkan kandungan oksigen dalam otak. Maka, dapat dikatakan bahawa kompaun ini dapat menawarkan kapasiti mental yang kuat terdapat sesiapa yang mengambilnya. Oleh yang demikian, tumbuhan ini juga dikenali sebagai ‘makanan kepada otak’, terutamanya kepada kanak-kanak yang sedang membesar.

2.1.3 Kepentingan dan Kegunaan

Centella asiatica telah digunakan untuk menubuh dan mengekalkan tisu penggabungan kesihatan serta untuk memudahkan penjanaan semula kesihatan apabila seseorang mengalami kecederaan atau dijangkiti penyakit. Ia juga banyak digunakan dalam menyembuhkan cedera pada kulit (contohnya lecet, terpotong, terbakar dan barah) (Languillon, 1959) serta bertindak sebagai tonik untuk meremaja semula dan kekedutan pada kulit.

Kebelakangan ini, beberapa eksperimen telah dijalankan untuk mengenalpastikan kompaun-kompaun yang bertanggungjawab terhadap ketegangan emosi dan mekanisme bagi tindakan *C. asiatica*. Jayaweera (1982) dan Goh *et al.*



(1995) mendedahkan faktor-faktor kebolehan tumbuhan ini menjadi tumbuhan herba anti-ketegangan emosi.

2.2 REGENERASI

Salah satu aspek yang terpenting dalam kultur sel dan tisu adalah kebolehan untuk menjana semula dan menghasilkan tumbuh-tumbuhan daripada sel, tisu dan organ.

Definisi bagi pengkulturan sel tumbuhan dan tisu adalah satu huraian yang melibatkan protoplas tumbuhan, sel tumbuhan, tisu tumbuhan dan organ tumbuhan. Di mana kesemua jenis kultur ini melibatkan satu faktor am, iaitu pertumbuhan baka tumbuhan bebas daripada mikrob dalam media yang kaya dengan nutrien yang telah disterilisasi dalam tabung uji.

Regenerasi tumbuhan secara *in vitro* dapat dicapai dengan mengkultur sel dan tisu. Secara perbandingan, regenerasi adventitious berlaku pada tapak kultur tisu yang spesifik seperti, internod, daun, kotiledon, dan zon pemanjangan akar, di mana meristem tidak tumbuh semula jadi. Regenerasi adventitious tumbuhan selalu berlaku dengan pembentukan tisu eksplan.

Sama ada adventitious atau *de novo* pada asal, regenerasi pucuk boleh berlaku berdasarkan dua proses, iaitu secara organogenesis dan embriogenesis somatik. Organogenesis merupakan pembentukan organ seperti pucuk atau akar. Manakala, embriogenesis somatik adalah pembentukan struktur bipolar yang mengandungi



kedua-dua pucuk dan akar, serta berkembang dengan cara hampir sama dengan embrio zigotik.

Secara perbandingan, organogenesis memerlukan dua media kultur yang berlainan. Somatik embriogenesis memerlukan medium yang berlainan, dengan tanpa menambahkan hormon atau dengan hormon yang berkepekatan rendah dalam perkembangan sel embriogenik kepada anak tumbuhan.

Kuasa penjanaan pucuk dalam pengklonan *in vitro* telah membenarkan penghasilan tumbuhan yang mempunyai sifat yang sama dengan bilangan yang besar dalam masa yang singkat.

2.2.1 Organogenesis

Organogenesis merupakan pembentukan organ induk seperti pucuk atau akar. Organogenesis pucuk dipengaruhi oleh media yang digunakan untuk mengkultur tisu, terutamanya kandungan media, sumber karbohidrat dan hormon yang digunakan. Pengurangan kepekatan medium bagi separuh MS dapat menawarkan adventisius regenerasi sesetengah tumbuhan. Kandungan medium juga dapat mempengaruhi kapasiti regenerasinya.

Unsur organik seperti karbohidrat dan vitamin dapat mempengaruhi kapasiti regenerasi eksplan. Bagi kebanyakan spesies, sukrosa merupakan sumber karbohidrat yang dipilih dan diguna pada kepekatan lebih kurang 3% (w/v). Eksplan dapat menghasilkan lebih tunas apabila dikulturkan dalam media yang mengandungi 2 atau



3% (w/v) sukrosa berbanding dengan 1 atau 4% (w/v) sukrosa (Gamborg dan Philips, 1995). Sebagai sumber tenaga, karbohidrat dapat mempengaruhi organogenesis dengan berperanan sebagai satu *osmoticum* (Gamborg dan Philips, 1995). Vitamin pula dapat merangsang pembentukan pucuk bagi eksplan jenis herbacius. Dalam semua komponen media yang digunakan, perangsang pertumbuhan tumbuhan (hormon) merupakan unsur yang paling penting dalam perangsangan pembentukan pucuk (Gamborg dan Philips, 1995).

Jenis hormon yang diperlukan untuk organogenesis pucuk adalah spesifik kepada spesies yang berlainan, benzilamino purin (BAP) dan asid α -asetik naftalena (NAA) adalah di antara hormon yang paling kerap digunakan. Nisbah sitokinin kepada auksin yang tinggi dapat merangsang pembentukan pucuk pada eksplan.

Organogenesis pucuk adventitious adalah sejenis regenerasi *in vitro* yang boleh diguna untuk penghasilan semula klonal atau regenerasi besar-besaran bagi sesuatu tumbuhan. Organogenesis melibatkan hasil *de novo* bagi pucuk adventitious pada eksplan daripada banyak sumber yang berbeza (Gamborg dan Philips, 1995). Tumbuhan yang membiak melalui proses organogenesis adalah untuk memendekkan kadar pembiakan, untuk mempertingkatkan kejuruteraan genetik, dan yang paling penting ialah untuk mengawal ciri-ciri klonal tumbuhan itu (Gamborg dan Philips, 1995).

Terdapat banyak faktor yang dapat mempengaruhi organogenesis pucuk. Secara amnya faktor-faktor itu dapat dikelaskan dalam tiga katagori, iaitu keadaan persekitaran, kultur medium dan jenis eksplan .



Keadaan persekitaran yang perlu dipertimbangkan dalam organogenesis pucuk adalah seperti keterangan suasana dan suhu. Kultur medium yang mengandungi pelbagai jenis garam dan jenis hormon tumbuhan yang berbeza juga penting dalam organogenesis pucuk. Jenis eksplan seperti tisu, daun, protoplas, biji dan petiol serta perkembangan fisiologi eksplan itu juga adalah selalu dipertimbangkan.

Walaupun bagaimanapun, faktor-faktor tersebut itu tidak semestinya memberi kesan yang sama kepada jenis tumbuhan yang berlainan sungguhpun tumbuhan itu adalah dalam spesies yang sama. Oleh itu, ini dapat diterangkan bahawa pengaruh faktor-faktor tersebut adalah bergantung kepada spesies tumbuhan.

Organogenesis pucuk adalah dirangsang oleh kepekatan tinggi sitokinin berbanding dengan auksin (Flick et al., 1983; Pierik, 1987; Rashid, 1988). Demikian, dalam penjanaan semula melalui sistem organogenesis itu, medium kultur yang tunggal diperlukan untuk membekalkan hormon untuk merangsangkan organ yang bersesuaian, sama ada pucuk ataupun akar. Kadangkala pembekalan dua jenis hormon yang berlainan dalam media kultur dapat menghasilkan tumbuhan dengan lebih efisien.

2.2.2 Embriogenesis Somatik

Dalam embriogenesis somatik, sel somatik berkembang dengan pembahagian untuk membentuk embrio lengkap yang analogus kepada embrio zigotik. Struktur bipolar bagi embrio somatik adalah mengandungi kedua-dua pucuk dan meristem akar. Dalam perkembangan embrio, embrio itu akan melalui peringkat-peringkat perbezaan



struktur yang nyata, iaitu globular, hati, torpedo, kotiledonari dan juga peringkat matang (Gamborg dan Philips, 1995).

Perangsangan dalam embriogenesis somatik memerlukan auksin yang berkepekatan tinggi. Biasanya, sitokinin adalah tidak diperlukan dalam perangsangan embriogenesis somatik. Kepekatan tinggi auksin dapat menghalang embrio somatik untuk berkembang ke peringkat yang lebih lanjut (Gamborg dan Philips, 1995).

Media bebas daripada hormon biasanya diguna dalam perkembangan peringkat globular embrio somatik kepada anak tumbuhan. Manakala, perangsangan embriogenesis somatik memerlukan hormon yang tunggal untuk merangsang struktur dipolar supaya berkebolehan untuk membentuk satu tumbuhan yang sempurna (Gamborg dan Philips, 1995).

2.3 HORMON

Hormon perangsang pertumbuhan merupakan satu faktor yang memainkan peranan yang paling penting dalam merangsangkan pembentukan kalus dan penghasilan organ pada eksplan yang dikulturkan dalam proses organogenesis dan embriogenesis somatik.

Kebanyakan hormon yang digunakan dalam pengkulturan *in vitro* adalah auksin dan sitokinin. Kedua-dua hormon ini diperlukan dalam pertumbuhan dan penghasilan kalus eksplan tumbuhan.



RUJUKAN

- Anon. (1983). *British herbal pharmacopoeia*. British Herbal Medicine Association, U.K.. 56-57.
- Benton Jones J. , Jr, 1998. *Plant Nutrition manual*. Boca Raton Boston London New York Washington.
- Brinkhaus B, Lindner M, Schuppan D, Hahn EG. 2000. *Chemical, Pharmacological and Clinical Profile of the East Asian Medical Plant Centella Asiatica*. Department of Traditional and Complementary Medicine, Medical Department I, Friedrich-Alexander University, Erlangen-Nuremberg, Germany. <http://www.plantasmedicinales.org/abstract/feb2002/Centella%20asiatica%20III.htm>
- Chan, S.H., Harahap, U., and Asmawi, M.Z. (2000). *The Effects of Centella Asiatica Extracts on the Reactivity of Heart and Vascular Preparations*. 15th Scientific Meeting of the Malaysian Society of Pharmacology and Physiology. Universiti Sains Malaysia, Kubang Kerian, Malaysia. P19.
- Daniel Herbert, Paramasivan, C.N.,Prabhakar, R., Swaminathan, G. 1994. *In vitro Experiments with Centella asiatica : Investigation to Elucidate the Effect of an Indigenously Prepared Powder of This Plant on Acid-Fastness and Viability of M. Tuberculosis*. Indian Journal of Leprosy, India. <http://www.trc-chennai.org/Publications/pub262.htm>
- Flick CE, Evans DA, Sharp WR,1983. *Isolation of mutants from Cell Culture*. In: Evans DA, Sharp WR, Ammirato PV, Yamada Y (eds) *Handbook of Plant Cell Culture*, vol 1. Macmillan, New York, pp 13-88.



- Gamborg O. L. and Philips G. C., 1995. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture Fundamental Method*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany.
- Geneve R. L., Preece J. E. and Merkle S. A., 1997. *Biotechnology of Ornamental Plants*. CAB International. United Kingdom.
- Goh, S.H., Chuah, C.H., Mok, J.S.L., and Soepadmo, E. (1995). Malaysian medicinal plants for the treatment of cardiovascular diseases. Pelanduk Publications, Malaysia. **77-55**.
- Jayaweera, D.M.A. (1982). Medicinal plants (indigenous and exotic) used in Ceylon, part V: Rutacea-Zygophyllaceae. The National Science Council of Sri Lanka, Sri Lanka. **135-136**.
- Kiesswetter, H. (1964). Erfahrungsericht ber behandlung von wunden mit asisticosids (madecassol). *Wien Med. Wschr.* **114:124-126**.
- Kyte, L. and Kleyn, J. 1996. *Plants from test tubes: An Introduction to Micropropagation*. Portland, OR: Timber Press. 240 pp.
- Languillon, J. 1959. *Bulletin of Social Phatological Exot.* **52**, 249.
- Mantell, S.H., Matthews, J.A. dan McKee, R.A. 1985. *Principles of Plant Biotechnology: An Introduction To Genetic Engineering In Plants*. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Mohammad Pessarakli, 1995. *Handbook of Plant and Crop Physiology*. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Murashige T, Skoog F (1962). *A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobbacco Tissue Cultures*. *Physiol Plant* 15:67-76.



- Pierik RLM, 1987. *In Vitro Culture of Higher Plants*. Martinus Nijhoff, Dordrecht, pp 183-230.
- Rashid A, 1988. *Cell Physiology and Genetics of Higher Plants*, vol 1. CRC Press, Boca raton, FL, pp 1-38, 67-103.
- Rick Parker, 2000. *Introduction to Plant Science*. Delmar Publishers. United States, America.
- Szweykowska, A. 1974. *The Role of Cytokinins in the Control of Cell Growth and Differentiation. in Culture. Tissue Culture and Plant Science*. Proc. of 3rd Intl. Cong. of Plant Tissue and Cell Culture: Leicester
- Tang, W., and Eisenbrand, G. (1992). Chinese drugs of plant origin: chemistry, pharmacology, and use in traditional and modern medicine. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. 273-276.
- Turton, S. (1993). *Centella asiatica*. *Aust. J. Med. Herbalism*. 5(3):57-61.

