# KAJIAN FITOKIMIA DAN AKTIVITI BIOLOGI KE ATAS TUMBUHAN ORKID

NORMALA ROHAIZA BINTI HASSAN

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

PROGRAM BIOTEKNOLOGI

SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH



Mac 2004

PUMS 99:1

**UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

**BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@**

JUDUL: Penyaringan fitokimia dan aktiviti biologi ke atas tumbuhan orkid

Ijazah: Sarjana muda sains dengan kepujian

**SESI PENGAJIAN:** 2001/2002

Saya NORMALA ROHAIZA BINTI HASSAN

**(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/badan di mana penyelidikan dijalankan) |
| [/] | TIDAK TERHAD | |

Disahkan oleh

(TANDATANGAN PENULIS)

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: 277 (F) Kampung Sertik 28610 Karak Pahang

Nama Penyelia

Tarikh: 13 Mac 2004

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.

15 Mac 2004

NORMALA ROHAIZA BINTI HASSAN
HS 2001-3025

# PENGESAHAN

## DIPERAKUKAN OLEH

Tandatangan

1. **PENYELIA**
   **(Dr. Jualang Azlan Gansau)**

2. **KO-PENYELIA BERSAMA**
   **(Prof. Dr. Ho Coy Choke)**

3. **PEMERIKSA 1**
   **(Dr. Zaleha Abd. Aziz)**

4. **PEMERIKSA 2**
   **(Dr. Roziah Kambol)**

5. **DEKAN**
   **(Prof. Madya Dr. Amran Ahmed)**

# PENGHARGAAN

Saya ingin mengambil kesempatan ini untuk merakamkan setinggi-tinggi penghargaan dan terima kasih kepada Dr. Jualang Azlan @ Gansau Abdullah, selaku penyelia saya atas bimbingan dan nasihat yang telah diberikan. Beliau juga banyak membantu dalam menyelesaikan masalah dan kemusykilan yang dihadapi serta kesediaan beliau dalam menyediakan sebahagian bahan kimia dan peralatan makmal sepanjang kajian ini dijalankan.

Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada Prof. Dr. Ho Coy Choke selaku penyelia bersama saya yang telah memberi banyak komen dan idea yang bernas dalam melaksanakan projek ini.

Setinggi penghargaan dan terima kasih juga kepada Dr. Zaleha yang telah memberikan kerjasama dan membenarkan saya dan rakan seperjuangan menggunakan Makmal Fisiologi serta meminjamkan beberapa alat radas.

Selain itu, ucapan terima kasih juga kepada Cik Radizah dan Cik Rokiah yang memberikan kerjasama dalam meminjamkan alat-alat radas dan juga membenarkan menggunakan bahan kimia yang diperlukan.

Tidak lupa juga kepada rakan-rakan saya yang sudi membantu dan berkongsi idea serta pendapat sepanjang disertasi ini dijalankan.

Khas buat keluarga tersayang yang sentiasa memberikan sokongan, semangat, nasihat dan juga selalu mendoakan kejayaan saya.

Dan akhir sekali, kepada yang terlibat secara langsung dan tidak langsung dalam menjayakan kajian ini.

# ABSTRAK

Dalam kajian ini, 15 sampel yang terdiri daripada akar, batang dan daun bagi spesies *Dendrobium kinolcii*, *Dendrobium parthenium*, *Dendrobium spectatissimum*, *Dendrobium terenensii* dan *Dendrobium cinerium* telah dikeringkan dan diekstrakkan dengan metanol. Hasil daripada pengekstrakan tersebut, ekstrak telah dipekatkan bagi menjalankan ujian penyaringan fitokimia, ujian antibakteria dan ujian alelopati. Bagi ujian perencatan ras dan raf, 45 ekstrak daripada *Dendrobium kinolcii*, *Dendrobium parthenium*, *Dendrobium spectatissimum*, *Dendrobium terenensii*, *Dendrobium cinerium*, *Aerides odorata*, *Vanda helvola*, *Dendrobium sp.*, *Phalaenopsis amabilis*, *Grammatophyllum specium*, *Coelogyne venusta*, *Dendrobium sekundum*, *Dendrobium anosmum*, *Phalaenopsis cornu-cervi* dan *Bulbophyllum lobii* yang diekstrakkan dengan kaedah yang sama telah digunakan. Dalam penyaringan fitokimia, tiada kehadiran sebatian alkaloid dan glikosida kardium dalam kesemua ekstrak. Ekstrak daun bagi semua spesies yang dikaji dan ekstrak batang bagi *D. kinolcii* dan *D. pathrenium* menunjukkan kehadiran flavonoid. Setiap ekstrak bagi semua spesies memberikan keputusan ujian yang positif dalam penyaringan tanin dan polifenol. Antrakuinon hanya hadir pada ekstrak batang *D. parthenium* dan *D. terenensii*. Saponin hadir dalam ekstrak akar bagi semua spesis yang dikaji dan ekstrak akar bagi *D. kinolcii* menunjukkan kehadiran saponin yang paling stabil. Bagi ujian antibakteria, ekstrak yang memberikan keputusan ujian yang positif adalah ekstrak batang *D. cinerium* (6mm) dan *D.terenensii* (10mm), ekstrak daun *D. kinolcii* (6mm) dan *D. terenensii* (8mm) dan ekstrak akar bagi *D. kinolcii* (7mm). Dalam ujian alelopati pula, ekstrak batang *D. spectatissimum* merupakan perangsang pertumbuhan sawi yang tertinggi manakala setiap spesies merencat pertumbuhan bayam dalam kadar yang hampir sama. Bagi ujian perencatan ras dan raf, ekstrak yang memberikan keputusan ujian yang positif adalah ekstrak akar bagi *Dendrobium parthenium* (7mm), *Dendrobium kinolcii* (9mm), *Aerides orodata* (6mm) dan *Dendrobium sp* (10mm).

## ABSTRACT

In this project, 15 dried samples which consist of roots, leaves and stems from *Dendrobium kinolcii*, *Dendrobium parthenium*, *Dendrobium spectatissimum*, *Dendrobium terenensii* and *Dendrobium cinerium* were soaked with methanol to extract secondary metabolites. Several tests were conducted on the extracts, this included screening of phytochemicals, antibacteria and allepathy test. For ras and raf inhibition test, 45 extracts from *Dendrobium kinolcii*, *Dendrobium parthenium*, *Dendrobium spectatissimum*, *Dendrobium terenensii*, *Dendrobium cinerium*, *Aerides odorata*, *Vanda helvola*, *Dendrobium sp.*, *Phalaenopsis amabilis*, *Grammatophyllum specium*, *Coelogyne venusta*, *Dendrobium sekundum*, *Dendrobium anosmum*, *Phalaenopsis cornu-cervi* and *Bulbophyllum lobii* were used. In phytochemical screening, no alkaloid and glycoside cardium were found in all extracts. Flavonoid was found in all leaf extracts and stem extracts of *D. kinolcii* and *D. parthenium* whereas tannin was found in all extracts. Antrakuinon only found in stem extracts of *D. parthenium* and *D. terenensii*. Saponins were found in all root extracts and stable saponins were found in the root extracts of *D. kinolcii*. For antibacterial test, stem extracts of *D. terenensii* (10mm) and *D. cinerium* (6mm), leaf extracts of *D. kinolcii* (6mm) and *D. terenensii* (8mm) and root extracts of *D. kinolcii* (7mm) showed the positive results. Allelopathy test showed that stems extracts of *D. spectatissimum* induced the growth of mustard seedling. For spinach, the growth was inhibited by all extracts. Root extracts for *Dendrobium parthenium* (7mm), *Dendrobium kinolcii* (9mm), *Aerides orodata* (6mm) and *Dendrobium sp.* (10mm) showed positive results for ras and raf inhibition test.

# KANDUNGAN

## SENARAI JADUAL

# SENARAI RAJAH

# SENARAI FOTO

# SENARAI SIMBOL

| | |
|---|---|
| M | molar |
| ppm | bahagian per juta |
| mg | milligram |
| L | liter |
| cm | sentimeter |
| ml | milliliter |
| mm | millimeter |
| s | saat |
| g | gram |
| µl | mikroliter |
| µg | microgram |
| DMSO | dimetil sulfida |

# BAB 1

# PENDAHULUAN

Famili orkid (Orchidaceace) merupakan salah satu kumpulan terbesar dalam famili tumbuh-tumbuhan dan terdapat lebih kurang 20000 hingga 25000 spesis orkid di seluruh dunia. Nama saintifik bagi tumbuhan orkid diberikan berdasarkan abjad dan negara di mana ia dijumpai (Lawler, 1984).

Orkid merupakan tumbuhan monokotiledon berbunga disebabkan oleh kehadiran satu kotiledon semasa percambahan, urat daun yang selari dan bahagian bunga dalam tiga atau lebih bahagian. Namun begitu, tidak semua monokotiledon menunjukkan ciri-ciri tersebut, di mana kebanyakan orkid contohnya mempunyai biji benih yang kecil dan tidak menghasilkan kotiledon.

Di Sabah sahaja terdapat lebih kurang 2500 spesis orkid yang telah dikenalpasti dengan *Bulbophyllum* adalah genus yang terbesar (Vermeulen, 1991). Genus *Dendrobium* pula merupakan genus yang kedua terbesar di Borneo dengan 1400 spesis yang telah dikenalpasti dan kebanyakkannya dapat dijumpai di Gunung Kinabalu (Wood *et al.*, 1993).

Kewujudan tumbuhan orkid yang meluas di serata dunia menyebabkan tumbuhan tersebut telah menjadi semakin popular ketika ini. Ini disebabkan nilai komersialnya yang tinggi di pasaran dan boleh mendapatkan keuntungan bagi pengusaha-pengusaha orkid. Orkid digunakan sebagai tumbuhan hiasan disebabkan keindahan bunga dan keunikan pokoknya. Penggunaan kaedah tisu kultur yang berleluasa memudahkan lagi penghasilan pokok orkid dengan kadar yang lebih tinggi dan bermutu (Rao, 1977; Rao dan Avadhani, 1963; Loh *et al.*, 1978).

Terdapat juga nilai komersial yang tinggi dalam bidang perubatan bagi tumbuhan orkid. Menurut Lawler (1984), tumbuhan orkid adalah berguna dalam industri pemakanan, kesenian, dan industri perubatan. Kajian yang telah dilakukan ke atas genus *Dendrobium* mendapati bahawa sesetengah batang bagi genus tersebut dapat mengubati penyakit demam dan batuk (Lawler, 1984). Selain itu juga, kaum Cina telah menggunakan tumbuhan orkid ini untuk merawat penyakit batuk kering (TB).

Objektif kajian ini adalah untuk mengkaji sebatian fitokimia dan aktiviti biologi ke atas spesis orkid yang dikaji. Penyaringan fitokimia yang dijalankan adalah seperti penyaringan saponin, penyaringan flavonoid, penyaringan tanin dan polifenol, penyaringan alkaloid, penyaringan antrakuinon dan penyaringan glikosida kardium. Di samping itu, kajian aktiviti biologi yang merangkumi ujian alelopati, ujian antibakteria serta ujian perencatan ras dan raf turut dijalankan. Kajian-kajian tersebut dijalankan untuk mengkaji dan mengenalpasti jenis-jenis sebatian fitokimia dan aktiviti biologi dalam sampel yang dipilih untuk digunakan dalam bidang perubatan. Oleh sebab itu, ia adalah

berpotensi untuk dikaji selidik bagi penemuan-penemuan baru untuk kemudahan pada masa akan datang.

# BAB 2

# ULASAN LITERATUR

## 2.1 Spesies orkid yang dikaji

*Dendrobium* merupakan tumbuhan yang tumbuh di atas dahan pokok yang besar dan di atas batu di tempat yang lapang. Bunganya mempunyai pelbagai saiz sama ada besar atau kecil dan mempunyai warna yang menarik. Selain itu, bunga bagi genus ini juga selalunya mempunyai corak yang pelbagai dan mempunyai jangka hayat yang panjang. Batangnya mempunyai kepanjangan lebih kurang sebanyak 0.5 cm hingga 5 cm dan keras. Manakala daunnya tumbuh sepanjang batang tersebut dan berbentuk linear (Yong, 1990). Terdapat banyak cabang di sepanjang batang orkid ini. Daunnya terdapat dengan banyak yang tumbuh pada apeks atau sepanjang batang dan urat daunnya adalah selari. Bunganya mempunyai saiz dan warna yang berbeza di antara spesis yang berlainan. Bunganya mempunyai bentuk dan bau yang menarik. Kelopak bunganya mempunyai 0.1 cm hingga 3 cm panjang dan berbentuk samada terpisah atau bercantum antara satu sama lain. Foto 2.1 hingga 2.5 merupakan foto spesies di bawah genus *dendrobium* yang dikaji dalam projek ini.


**Foto 2.1** Gambaran keseluruhan pokok *D. cinerium*

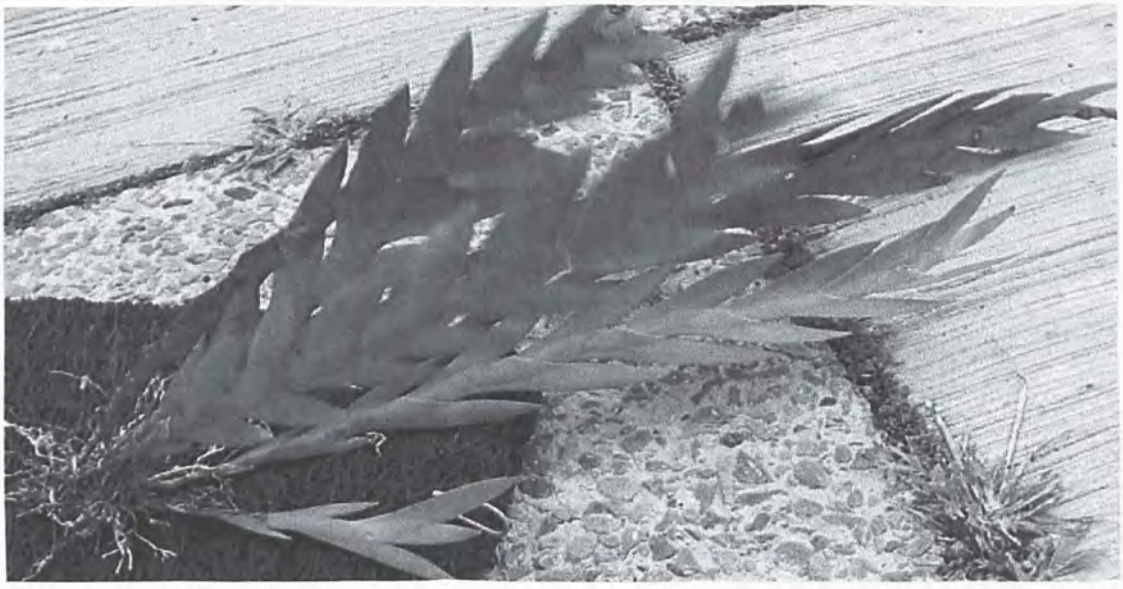


**Foto 2.2** Gambaran keseluruhan pokok *D. kinolcii*

**Foto 2.5** Gambaran keseluruhan pokok *D. parthenium*

## 2.2 Sebatian Hasilan Semulajadi

Hasil semulajadi merupakan sebatian yang dihasilkan oleh semua organisma hidup, iaitu tumbuhan dan haiwan. Hasil semulajadi ini terbahagi kepada dua iaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer menunjukkan fungsi sel yang jelas yang bertindak sebagai unit pembinaan untuk semua komponen dalam sel. Sebatian dalam kelas ini termasuklah asid amino protein, asid nukleik, lipid dan karbohidrat (Fasihuddin dan Hasmah, 1993). Manakala metabolit sekunder tidak memainkan peranan yang penting kepada tumbuhan dan sebatian ini hanya terdapat di tempat-tempat yang tertentu. Walau bagaimanapun, kini metabolit sekunder menjadi sebatian yang diperlukan kepada

tumbuhan. Kebanyakkan sebatian ini penting sebagai agen bakteria yang menghalang jangkitan bakteria ke atas organisma yang menghasilkannya atau mungkin berfungsi sebagai satu cara perlindungan atau pertahanan daripada musuh. Sebatian metabolit sekunder boleh dikelaskan kepada beberapa kumpulan utama berdasarkan struktur dan komposisinya. Kumpulan-kumpulan tersebut adalah alkaloid, sebatian fenolik, glikosida kardium, antioksida, sebatian polifenol dan lain-lain.

Pada tahun 1960-an, kajian tentang metabolit sekunder telah menjadi tarikan kepada ramai penyelidik terutama sekali ahli kimia organik kerana ia menunjukkan kepelbagaian sebatian luar biasa dan menunjukkan aktiviti-aktiviti antibakteria, antikulat, antitumor, antivirus dan sebagainya (Georg *et al.*, 1999). Ini membolehkan metabolit sekunder tertentu digunakan dalam farmakologi dan farmaseutikal untuk merawat pelbagai penyakit. Faktor ini menyebabkan banyak metabolit sekunder yang baru ditemui dan diasingkan daripada berbagai-bagai organisma (Fasihuddin dan Hasmah, 1993).

## 2.3 Sebatian Fitokimia

### 2.3.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan sebatian fenolik yang terbesar berbanding dengan metabolisma sekunder yang lain. Flavonoid boleh ditemui hampir dalam semua bahagian tumbuhan seperti daun, bunga, buah, bahagian tisu yang berkayu dan lain-lain (Fasihuddin dan Hasmah, 1993). Daripada segi struktur, semua flavonoid berhubung rapat dengan struktur

asal iaitu flavon. Sesetengah flavonoid menghasilkan warna spektrum dari merah hingga biru dalam bunga, buah dan daun. Walaubagaimanapun, terdapat juga flavonoid yang tidak berwarna dan menghasilkan warna putih (Harborne dan Herbert,1999).

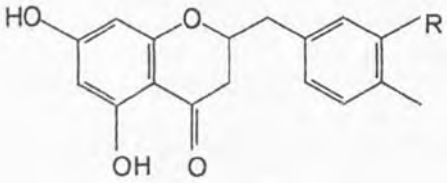
Flavonoid terbahagi kepada 2 kelas yang terbesar iaitu sebatian tepu dan tidak tepu. Bagi sebatian yang tepu adalah terdiri daripada flavanon dan flavon. Manakala sebatian yang tidak tepu adalah flavon dan flavonol. Flavonoid juga dapat diklasifikasikan berdasarkan sebagai hasil biosintesis dan saiz molekul. Bagi hasil biosintesis tersebut, flavonoid dapat dihasilkan pada pertengahan biosintesis atau sebagai hasil akhir biosintesis (Harborne dan Herbert, 1999).

Flavonoid adalah penting kepada tumbuhan kerana ia memainkan peranan dalam pertumbuhan dan pembiakan tumbuhan tersebut (Georg *et al.*, 1999). Ini kerana flavonoid menjadi penghalang daripada dimusnahkan oleh sinar radiasi UVB. Selain itu juga, ia dijadikan sebagai antifungal dalam daun tumbuhan supaya segala penyakit dan mikroorganisma dapat dihalang. Dalam industri perubatan pula, kajian telah banyak dijalankan sama ada secara *in vitro* atau *in vivo* dan mengesahkan bahawa aktiviti biologi dalam flavonoid adalah penting untuk mengurangkan risiko penyakit-penyakit kronik seperti penyakit koronari dan kanser (Harborne dan Herbert, 1999). Dalam kajian ini 3 jenis flavonoid telah dikaji iaitu flavonol, flavon dan flavanon.

**Jadual 2.1** : Jenis-jenis flavonoid (Chye, 1990)

| Jenis flavonoid | Ciri-ciri |
|---|---|
| Flavanon | ○ Bebas tidak pernah ditemui tetapi terikat dengan kumpulan hidroksil ditemui.<br>○ Merupakan sebatian yang berwarna dan mempunyai serapan maksimum pada 275 hingga 290 nm. |
| Flavonol | ○ Biasanya wujud sebagai ko-pigmen bersama-sama dengan antosianin dalam bunga dan daun.<br>○ Merupakan sebatian yang tidak berwarna dan mempunyai serapan maksimum pada 350 hingga 390 nm. |
| Flavon | ○ Mempunyai hubungan rapat dengan flavonol, perbezaan disebabkan oleh ketiadaan kumpulan hidroksil pada kedudukan nombor 3 pada gelang pirang.<br>○ Merupakan sebatian yang tidak berwarna dan mempunyai serapan maksimum pada 330 hingga 350 nm. |

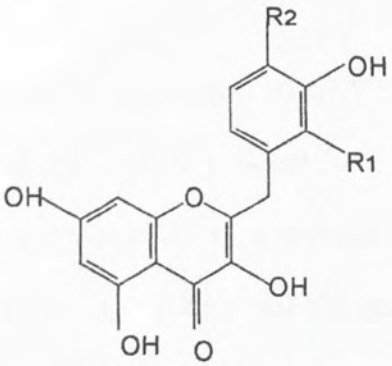
<u>Flavanon</u>




(R = H) Noringenin

(R = OH) Eriodiktiol

Flavonol

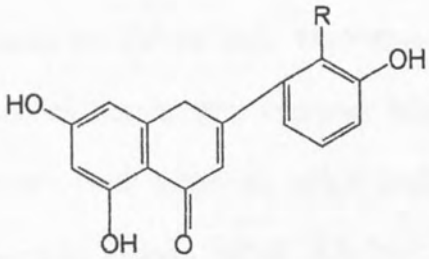



($R_1 = R_2 = H$) Koemferol

($R_1 = OH_1$. $R_2 = H$) Kuersetin

($R_1 = R_2 = OH$) Mirisetin

Flavon




(R = H) Apigenin

(R = OH) Luteolin

**Rajah 2.1** : Struktur kimia bagi sebatian flavonoid yang dikaji (Chye, 1990).

## RUJUKAN


Basu, N. dan Rastogi, R. D., 1967. *Phytochemistry*. Churchill Livingstone, London.

Bate-Smith, E. C. dan Swain, T., 1962. *Comparative Biochemistry*. Academic Press, London.

Bell, A.A., 1981. *Plant Pathology and Plant Pathogen*. Blockwell Scientific Publication Oxford, London.

Brian, A. dan Patrick, W., 1993. *Wild Orchids of Scotland*. Norma M Gregory dan Mary Bates (eds). Crown Copyright, Scotland.

Chhabra, S. C., Viso, F. C. Dan Mshia, E. N., 1984. Phytochemical screening of *Tanzanian* medicinal plants. *Journal of Phytochemical* **236**, 347-354.

Chye T. S., 1990. *Biokimia Tumbuhan Hijau*. Dewan Bahasa dan Pustaka, Kuala Lumpur, Malaysia.

Crossland, J., 1980. *Lewis's Pharmacology*. Ed. ke-6. Churchill Livingstone, London.

Dashek, W. V., 1997. *Methods in Plant Biochemistry*. CRC Press LLC, New York.

David Leigh, 1990. *Orchids*: *Their Care and Cultivation*. Cassell Publishers Limited, London.

Donald Voet, Judith G. V. dan Charlotte W. P., 1999. *Fundamentals of Biochemistry*. John Wiley & sons, United States of America.

Fasihuddin, A. dan Hasmah. R., 1993. *Kimia Hasilan Semulajadi dan Tumbuhan Ubatan*. Dewan Bahasa dan Pustaka, Kuala Lumpur.

Georg, G. G., Richard W. H. dan Takashi Y., 1999. *Plant Polyphenols 2*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

Goodman, A. dan Gilman, H., 1980. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Ed. ke-6. Mac-Millan Publishing, London.

Gustin, M. C., Albertyn, J., Alexander, M. dan Davenport, K., 1998. MAP kinase pathways in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Cells* **62** (4), 1264-1300.

Haslam, E., 1981. Vegetable tannins. Dlm: Conn, E. E. dan Stumpf, P. K. (pnyt.) *The Biochemistry of Plants*. Academic Press, London.

Harborne, J. B. dan Herbert Boxter, 1999. *The Handbook of Natural Flavonoid*. Ed. ke-2. John Wiley & sons, United States of America.

Hoffman E. J., 1999. *Cancer and the Search for Selective Biochemical Inhibitors*. CRC Press, London.

Hu, W. L., Zhu, J. P., Prewo, R. Dan Hesse, M., 1989. Quaternary Indole Alkaloids from *Alstonia Angustifolia*. *Journal of Phytochemical* **115**, 167-172.

Ikram, M. S., Zuriati, Z., Nik Idris, Y., Laily, D., 1999. *Interdisciplinary approaches in Natural Product Sciences*. The Malaysia Natural Product Society, Kuala Lumpur.

Kamada, Y., Jung, U. S., Piotrowski, J., dan Levin, D. E., 1995. The protein kinase C-activated MAP kinase pathway of *Saccharomyces cerevisiae* mediates a novel aspect of the heat shock response. *Journal of Antibiotics* **9**, 1559-1571.

Kendall, J. B., Gary, L. J. dan Carol A.L. C., 1994. *MEKK Can Funtion in Yeast MAPK Pathways Downstream of Protein Kinase C*. National Academy of Sciences, USA.

Ki, S.W., Kasahara, K., Kwon, H.J. dan Eishima, J., 1998. Identification of radicicol as an in vivo ras/raf interaction with the yeast two hybrid screening system. *Journal of Antibiotics* **51**, 936-944.

Kojima, R., 1970. *Phytochemical, Microbioligical and Pharmacological Screening of Medicine Plants*. University Santo Tomas, Manila, Phillipine.

Lawler, L. J., 1984. Ethobotany of the Orchidaceae. Dlm: Arditti, J. (pnyt.) *Orchid Biology III*. Cornell University Press, Ithaca.

Latiff, A., Zainuddin, A., Petol, G. H., Ujang, S., Naemah, A. A., Rahmah, M. dan Ikram, M. S., 1995. Phytochemical and Toxicity Screening of Plants from Frasers Hill. Dlm: *Chemical Prospecting in the Malaysian Forest*. Pelanduk Publication (M) Sdn. Bhd., Kuala Lumpur.

Loh, C. S., Goh, C. J. dan Rao, A. N., 1978. Some factors affecting morphogenesis of *Aranda* orchid tissue culture. *Journal of Science and Technology* **16**, 43-55.

Mandava, N. B., 1985. Chemistry and Biology of Allelopathy Agents. Dlm: Thompson, A. C. *The Chemical of Allelopathy: Biochemical Interactions Among Plants*. American Journal Society, Washington.

Manitto, P., 1981. *Biosynthesis of Natural Product*. Ellis Horwood, England.

Oleszeck, W. dan Marston, A., 2000. *Saponin in Food, Feed Stuffs and Medical Plants*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.

Putnam, A. R., 1985. Allelopathic Research in Agriculture: Past Highlight and Potential. Dlm: Thompson, A. C. *The Chemical of Allelopathy: Biochemical Interactions Among Plants*. American Journal Society, Washington.

Rao, A. N., 1977. Tissue culture in orchid industry. *Journal of Science and Technology* **20**, 44-69.

Rao, A. N. dan Avadhani, P. N., 1963. Effect of Chlorox on the germination of *Vanda* seeds. *Journal of Current Science* **6**, 20-27.

Rizvi, S. J. dan Rizvi, V., 1992. *Allelopathy*. Chapman and Hall, Great Britain.

Robinson, T., 1970. *The Biochemistry of Alkaloids*. Van Nostrand Reinhold, New York.

Sinnot, E. E., dan Dunn, L. C., 1939. *Principles of Genetics*. McGraw-Hill, New York.

Sugita, K., dan Ohtani, M., 1997. Inhibitors of Ras-transferase. Dlm: *Current Pharmaeceutical Design*.

Swan, G. A., 1967. *An Introduction to Alkaloids*. John Wiley & sons, United States of America.

Swain, T., 1977. *The Principles of Plant Pathology*. MacMillan, London.

Tang, C. S., Cai, W. F., Kohl, K. dan Nishimoto, R. K., 1995. *Plant Stress and Allelopathy*. American Journal Society, Washington.

Tariq, A. R., 1982. *Farmakologi Perubatan*. Dewan Bahasa dan Pustaka, Kuala Lumpur, Malaysia.

Vermeulen, J. J., 1991. *Orchids of Borneo*. Ed. ke-2. Bentham-Moxon Trust, England.

Vojtek, A. B., Hollenberg, S. M. dan Cooper, J. A., 1993. Mammalian Ras interacts directly with the serine/ threonine kinase Raf. *Cell* **9**, 4925-4929.

Wilma Rittershausen, 1989. *Exotic Orchids*. Salamander Books Ltd., United Kingdom.

Wood, J. J., Beaman, R. S., dan Beaman, J. H., 1993. *The Plants of Mount Kinabalu: Orchids*. Royal Botanic Garden, Great Britain.

Yong, H. S., 1990. *Orchid Portraits: Wild Orchids of Malaysia and Southeast Asia*. Tropical Press Sdn. Bhd., Kuala Lumpur.