

4000008672



PROLIFERASI *In vitro* PROTOKORM ORKID  
*Phalaenopsis gigantea*

KUIK SOK HWA

DISERTASI YANG DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI SEBAHAGIAN  
DARIPAPADA SYARAT MEMPEROLEHI IJAZAH SARHANA  
MUDA SAINS DENGAN KEPUJIAN

PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PROGRAM TEKNOLOGI TUMBUHAN  
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PERPUSTAKAAN UMS



1400008672

MAC 2006



**UMS**  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

## UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

## BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

Proliferasi In vitro Protokorm orkid *Phalaenopsis*  
gigantea.

Sarjana muda Sains dengan Kepujian Teknologi Tumbuhan

KUIK SOK HWA SESI PENGAJIAN: 2003/04  
 (HURUF BESAR)

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

Tesis adalah hak milik 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

DATANGAN PENULIS)

etap: 64, Jalan Kundang 6,  
 1 Bukit Pasir,  
 2 Batu Pahat, Johor -

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Prof. Dr. Mariam Abdul Latip

Nama Penyelia

3/04/06

Tarikh: \_\_\_\_\_

N:- \*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.

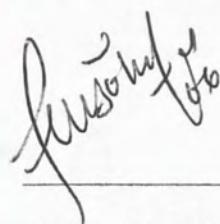
@Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana secara penyelidikan atau disertai bagi pengajian secara kerja kursus dan Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).



## PENGAKUAN

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

20 Mac 2006



KUIK SOK HWA

(HS 2003 – 3414)



**UMS**  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

**DIPERAKUKAN OLEH**

Tandatangan

**1. PENYELIA**

(Prof. Madya Dr. Mariam Abd Latip)

**2. PEMERIKSA 1**

(Encik Chong Khim Phin)

CHONG KHIM PHIN MRES (LONDON), DIC  
Lecturer  
School of Science & Technology  
Universiti Malaysia Sabah

**3. DEKAN**

(SUPT/KS Prof. Madya Dr. Shariff A. Kadir S. Omang)

**UMS**  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

## PENGHARGAAN

Ribuan terima kasih ingin saya ucapkan kepada penyelia projek tahun akhir saya, Prof. Madya Dr. Mariam Abdul Latip kerana telah banyak memberi nasihat, bimbingan dan dorongan kepada sepanjang saya melakukan penyelidikan sehingga projek tahun akhir saya ini dapat disiapkan pada tempoh yang ditetapkan.

Penghargaan buat saudari Rosmah Murdad sentiasa mengemukakan idea-idea yang terbaik. Selain itu saya juga ingin memberikan penghargaan yang tinggi kepada pembantu makmal Sekolah Sains dan Teknologi iaitu Cik Christina dan Puan Rokiah kerana telah banyak memberikan bantuan dan nasihat semasa kajian penyelidikan ini dijalankan.

Tidak diketepikan juga segala bantuan, toleransi dan kerjasama yang diberikan oleh rakan-rakan seperjuangan saya yang sentiasa berada di sisi saya dan sedia memberi pertolongan apabila saya menghadapi masalah dan kesulitan dalam meneruskan kajian ini. Serta rakan baik saya, Tan Mei Hui yang memberi bantuan dari segi analisis data.

Akhir sekali, ucapan terima kasih yang paling istimewa kepada kedua ibu bapa saya iaitu En. Kuik dan Puan Oo, adik-beradik dan rakan-rakan baik yang tersayang (BP Gang) kerana sentiasa memberikan sokongan moral dan semangat dalam menjayakan kajian ini.

## ABSTRAK

Kajian terhadap kesan medium terhadap proliferasi protokorm orkid *Phalaenopsis gigantea* telah dijalankan. Eksperimen dijalankan selama 112 hari di Makmal Tisu Kultur, Universiti Malaysia Sabah dengan menggunakan rekabentuk eksperimen rawak lengkap. Protokorm bagi *P. gigantea* yang dalam peringkat tiga digunakan sebagai eksplan yang dikultur. Medium XER digunakan sebagai medium basal. Kepekatan air kelapa pada kepekatan 0 %, 10 %, 15 % dan 20 % (w/v) dan arang pada jisim 0 g, 1 g, 2 g dan 2.5 g (w/v) telah digunakan sebagai jenis rawatan yang berlainan. Medium XER tanpa sebarang komponen tambahan digunakan sebagai kawalan. Parameter yang dikaji ialah bilangan protokom yang berproliferasi dan bilangan protokorm baru yang terbentuk. Ujian ANOVA 2-hala menunjukkan bahawa tidak terdapat perbezaan bererti di antara kesemua media rawatan yang dikaji. Terdapat dua jenis media yang lebih berpotensi dalam proliferasi protokorm iaitu media XER + 10 % air kelapa + 1 g/l arang dan media XER + 15 % air kelapa + 2 g/l arang. Kedua-dua media ini telah mencatatkan julat bilangan protokorm yang berproliferasi di antara (1 – 7) biji dan (0 – 6) biji masing-masing. Sementara julat bilangan protokorm baru yang terhasil adalah (2 – 34) biji dan (0 – 38) biji masing-masing.

*IN VITRO PROLIFERATION OF PROTOCORM  
PHALAEENOPSIS GIGANTEA*

ABSTRACT

The effect of medium in protocorm proliferation of *Phalaenopsis gigantea* was investigated. The experiment was carried out for 112 days in the Tissue Culture Laboratory of University of Malaysia Sabah using a complete random experiment design. Protocorms of *P.gigantea* in stage three in germination medium were used as explants. Medium XER used as a basal medium. Complex additives of 0 %, 10 %, 15 % and 20 % (w/v) of coconut water and 0 g, 1 g, 2 g and 2.5 g (w/v) of activated charcoal added to an XER-based medium. The parameters studied were the number of proliferated protocorms as well as number of new protocorms produced. The 2-way ANOVA showed no significant difference among all the treatment media studied. There were two media that gave potential effect which were media XER + 10 % coconut water + 1 g/l activated charcoal and XER + 15 % coconut water + 2 g/l. Medium containing XER + 10 % coconut water + 1 g/l activated charcoal showed the amount of proliferated protocorms was in range (1 – 7) and the amount of new protocorms was in range (2 – 34). While medium containing XER + 15 % coconut water + 2 g/l showed the amount of proliferated protocorms was in range (0 – 6) and the amount of new protocorms was in range (0 – 38).

## KANDUNGAN

### Muka Surat

PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	x
SENARAI RAJAH	xii
SENARAI FOTO	xiii
SENARAI SIMBOL	xiv

<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	<b>1</b>
--------------------------	----------

1.1 Pengenalan	1
1.2 Objektif Kajian	3

<b>BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN</b>	<b>4</b>
----------------------------------	----------

2.1 Taburan Orkid	4
2.2 Status Orkid di Borneo	5
2.3 Ciri-ciri Orkid	6
2.4 <i>Phalaenopsis gigantea</i>	8
2.5 Kultur Tisu Orkid	9
2.5.1 Percambahan Biji Benih	9
2.5.2 Proliferasi Protokorm	10
2.6 Faktor-faktor Mempengaruhi Kejayaan	
Kultur Tisu Orkid	12
2.6.1 Makronutrien	13
2.6.2 Mikronutrien	13
2.6.3 Sumber Karbon	13
2.6.4 Kompleks Tabii	14
2.6.5 Arang	16
2.7 Keadaan Medium	17



2.8	Keadaan Semasa Kultur	18
2.8.1	Suhu	18
2.8.2	pH Medium	19
2.8.3	Intensiti Cahaya	20
2.8.4	Fotokala	20
2.9	Kebaikan Teknik <i>in vitro</i>	21
2.10	Masalah dan Keburukan Teknik <i>in vitro</i>	22
<b>BAB 3 BAHAN DAN KAEDAH</b>		24
3.1	Bahan	24
3.1.1	Protokorm <i>Phalaenopsis gigantea</i>	24
3.1.2	Medium	25
3.2	Kaedah	25
3.2.1	Penyediaan Larutan Stok XER	25
3.2.2	Penyediaan Medium Proliferasi Protokorm	26
3.2.3	Pengkulturan Protokorm	29
3.2.4	Rekabentuk Eksperimen	30
3.2.5	Pencerapan	30
<b>BAB 4 KEPUTUSAN</b>		31
4.1	Proliferasi Protokorm 1 Minggu Selepas Kultur	32
4.2	Proliferasi Protokorm 2 Minggu Selepas Kultur	32
4.3	Proliferasi Protokorm 4 Minggu Selepas Kultur	37
4.4	Proliferasi Protokorm 6 Minggu Selepas Kultur	41
4.5	Proliferasi Protokorm 8 Minggu Selepas Kultur	45
4.6	Proliferasi Protokorm 10 Minggu Selepas Kultur	49
4.7	Keputusan Pengulangan Rawatan Kajian Selepas 10 minggu Pengkulturan	53
4.8	Proliferasi Protokorm 12 Minggu Selepas Kultur	56
4.9	Proliferasi Protokorm 14 Minggu Selepas Kultur	60
4.10	Keputusan Pengulangan Rawatan Kajian Selepas 14 minggu Pengkulturan	64
4.11	Proliferasi Protokorm 16 Minggu Selepas Kultur	66

4.12	Keputusan Pengulangan Rawatan Kajian Selepas 16 minggu Pengkulturan	70
4.13	Kadar Perubahan Bilangan Protokorm Baru dan Purata Peratus Protokorm yang Berproliferasi mengikut Masa	72
<b>BAB 5 PERBINCANGAN</b>		76
5.1	Kesan Air Kelapa Terhadap Proliferasi Protokorm	76
5.2	Kesan Arang Terhadap Proliferasi Protokorm	78
5.3	Kesan Sumber Karbon Terhadap Proliferasi Protokorm	79
5.4	Kesan Media Terhadap Proliferasi Protokorm	80
5.5	Kesan Keadaan Medium dan Keadaan Protokorm Terhadap Proliferasi Protokorm	82
<b>BAB 6 KESIMPULAN</b>		85
<b>RUJUKAN</b>		87
<b>LAMPIRAN A</b>	STATUS BEBERAPA SPESIES ORKID DI SABAH DAN SARAWAK	94
<b>LAMPIRAN B</b>	LARUTAN STOK MEDIUM XER	95



## SENARAI JADUAL

No. Jadual		Muka Surat
3.1	Jenis-jenis rawatan dan kod-kod medium yang digunakan dalam kajian proliferasi protokorm.	28
4.1	Kesan medium ke atas purata ( $\pm$ SD) peratusan protokorm berproliferasi, mati, berpucuk dan julat bilangan protokorm yang berproliferasi, berdaun, berakar dan protokorm baru yang terhasil <i>P. gigantea</i> selepas seminggu pengkulturan	35
4.2	Kesan medium ke atas purata ( $\pm$ SD) peratusan protokorm berproliferasi, mati, berpucuk dan julat bilangan protokorm yang berproliferasi, berdaun, berakar dan protokorm baru yang terhasil <i>P. gigantea</i> selepas 2 minggu pengkulturan	36
4.3	Kesan medium ke atas purata ( $\pm$ SD) peratusan protokorm berproliferasi, mati, berpucuk dan julat bilangan protokorm yang berproliferasi, berdaun, berakar dan protokorm baru yang terhasil <i>P. gigantea</i> selepas 4 minggu pengkulturan	39
4.4	Kesan medium ke atas purata ( $\pm$ SD) peratusan protokorm berproliferasi, mati, berpucuk dan julat bilangan protokorm yang berproliferasi, berdaun, berakar dan protokorm baru yang terhasil <i>P. gigantea</i> selepas 6 minggu pengkulturan	43
4.5	Kesan medium ke atas purata ( $\pm$ SD) peratusan protokorm berproliferasi, mati, berpucuk dan julat bilangan protokorm yang berproliferasi, berdaun, berakar dan protokorm baru yang terhasil <i>P. gigantea</i> selepas 8 minggu pengkulturan	47
4.6	Kesan medium ke atas purata ( $\pm$ SD) peratusan protokorm	

berproliferasi, mati, berpucuk dan julat bilangan protokorm yang berproliferasi, berdaun, berakar dan protokorm baru yang terhasil <i>P. gigantea</i> selepas 10 minggu pengkulturan	51
4.7 Kesan medium ke atas purata ( $\pm$ SD) peratusan protokorm berproliferasi, mati, berpucuk dan julat bilangan protokorm yang berproliferasi, berdaun, berakar dan protokorm baru yang terhasil <i>P. gigantea</i> selepas 12 minggu pengkulturan	57
4.8 ANOVA bagi kesan kesemua rawatan terhadap purata peratus protokom berproliferasi selepas 12 minggu pengkulturan.	58
4.9 Kesan medium ke atas purata ( $\pm$ SD) peratusan protokorm berproliferasi, mati, berpucuk dan julat bilangan protokorm yang berproliferasi, berdaun, berakar dan protokorm baru yang terhasil <i>P. gigantea</i> selepas 14 minggu pengkulturan	61
4.10 ANOVA bagi kesan kesemua rawatan terhadap purata peratus protokom berproliferasi selepas 14 minggu pengkulturan.	62
4.11 Kesan medium ke atas purata ( $\pm$ SD) peratusan protokorm berproliferasi, mati, berpucuk dan julat bilangan protokorm yang berproliferasi, berdaun, berakar dan protokorm baru yang terhasil <i>P. gigantea</i> selepas 16 minggu pengkulturan	67
4.12 ANOVA bagi kesan kesemua rawatan terhadap purata peratus protokom berproliferasi selepas 16 minggu pengkulturan.	68

## SENARAI RAJAH

No. Rajah	Muka Surat
4.1 Keputusan bagi Pengulangan Rawatan Kajian dengan Sepuluh Replikasi selepas 10 minggu pengkulturan	54
4.2 Keputusan bagi Pengulangan Rawatan Kajian dengan Sepuluh Replikasi selepas 14 minggu pengkulturan	65
4.3 Keputusan bagi Pengulangan Rawatan Kajian dengan Sepuluh Replikasi selepas 16 minggu pengkulturan	71
4.4 Kadar Perubahan Purata Bilangan Protokorm Baru yang Terhasil pada Jenis Media yang Berlainan mengikut Masa	74
4.5 Kadar Perubahan Purata Peratus Protokorm yang Berproliferasi pada Jenis Media yang Berlainan mengikut Masa	75



## SENARAI FOTO

No. Foto	Muka Surat
3.1 Bunga <i>P. gigantea</i>	24
3.2 Protokom <i>P. gigantea</i> (stage 3) yang digunakan sebagai eksplan	25
4.1 Protokorm yang berproliferasi dalam media PE 13	34
4.2 A-D Keadaan protokorm selepas 4 minggu pengkulturan.	40
4.3 A-D Keadaan protokorm selepas 6 minggu pengkulturan	44
4.4 A-E Keadaan protokorm selepas 8 minggu pengkulturan	48
4.5 A-D Keadaan protokorm selepas 10 minggu pengkulturan	52
4.6 A-B Keadaan protokorm selepas 10 minggu pengkulturan pada pengulangan rawatan	55
4.7 A-E Keadaan protokorm selepas 12 minggu pengkulturan	59
4.8 A-D Keadaan protokorm selepas 14 minggu pengkulturan	63
4.9 A-D Keadaan protokorm selepas 16 minggu pengkulturan	69



## SENARAI SIMBOL

PLB	- Protocorm-like bodies
in	- Inci
cm	- sentimeter
ml	- milliliter
g	- gram
mg	- milligram
g/l	- gram per liter
ft	- feet
CRD	- Rekabentuk rawak lengkap
HCl	- Asid hidroklorik
NaOH	- Natrium hidroksida
NAA	- Asid naphthaleneacetic
IAA	- Asid indole-3-acetic
2, 4-D	- 2, 4-dichlorophenoxyacetic
XER	- Formula medium Experimental Ernst Robert
MS	- Formula medium Murashige dan Skoog
VW	- Formula medium Vacin dan Went
%	- Peratus
-	- Hingga
° F	- Darjah Fahrenheit
° C	- Darjah Selsium

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Pengenalan

Orkid merupakan tumbuhan yang mempunyai famili yang terbesar iaitu 650 hingga 800 genus (Dillon, 1971). Di Pulau Borneo, terdapat 2500 hingga 3000 spesies orkid dan 34.4% daripadanya adalah endemik (Chan *et al.*, 1994). Tetapi sejumlah 290 spesies orkid yang dijumpai di Pulau Borneo berada dalam keadaan terancam dan mengalami kepupusan (Alphonso, 1987). Mengikut Rao (1964), keadaan ini disebabkan aktiviti manusia seperti pembalakan, pertanian, pemungutan spesies secara haram atau aktiviti yang dapat menguntungkan manusia.

Spesies orkid liar yang boleh ditemui di Gunung Kinabalu, Sabah adalah seperti *Cymbidium atropurpureum*, *C. pubescens*, *C. finlaysoniana*, *C. rectum*, *C. dayanum*, *C. ensifolium*, *Paphiopedilums rothschildeanum*, *P. lowii*, *Dendrobium liguella*, *D. sanguinolentum*, *D. secundum*, *D. anosmum*, *D. crumenatum* dan sebagainya (Lamb, 1978). Dengan merujuk kepada Lampiran A, kita boleh mendapati bahawa banyak spesies orkid yang terdapat di Sabah dan Sarawak telah mengalami keadaan yang terancam, jarang dan berbahaya termasuklah *Phalaenopsis gigantea*.

*Phalaenopsis* merupakan sejenis monopodial orkid. Orkid jenis ini tumbuh sehala dan batangnya tidak bercabang (Nuraini, 1987). Dalam keadaan yang tertentu, *Phalaenopsis* akan menghasilkan keikis (plantlet) pada bahagian batangnya. Contohnya, apabila bahagian hujungnya telah dibuang (Arditti & Ernst, 1992).

Mengikut Teo (1990), orkid *Phalaenopsis* merupakan salah satu spesies yang amat sukar dipropagasi secara vegetatif, bijinya susah bercambah dan pertumbuhannya agak lambat, sedangkan ia juga menghadapi masalah semakin pupus. Oleh itu, kaedah kultur tisu amat sesuai untuk memperbanyakkan genus ini untuk tujuan pemeliharaannya. Tetapi, mengkulturkan eksplan *Phalaenopsis* sentiasa mengalami satu masalah iaitu tisu-tisunya sering merembeskan fenolik. Sekiranya rembesan ini teroksidasi, hasil oksidasi akan meresap masuk ke dalam media dan menyebabkan media menjadi toksik. Sebagai kesannya, eksplan akan menjadi hitam atau perang dan akhirnya mati (Arditti & Ernst, 1992).

Kultur *in vitro* merupakan salah satu cara pembiakan tanaman yang dilakukan dalam medium kultur dimana medium kultur itu mengandungi nutrien yang diperlukan oleh anak benih atau eksplan dalam proses tumbesarnya. Syarat yang paling penting bagi kultur *in vitro* ialah kaedah ini mesti dijalankan dalam keadaan steril iaitu bebas daripada bakteria atau fungus. Teknik ini dibahagi kepada kultur biji benih dan kultur tisu. Mengikut Arditti dan Ernst (1993), Gavino Rotor, seorang pelajar dari Cornell University pertama sekali berjaya mempropagasikan orkid dalam media Knudson C secara *in vitro*. Kultur beliau menggunakan batang bunga yang mempunyai tunas. Kaedah beliau diabaikan pada peringkat awal. Tetapi selepas 10 tahun, prosedur yang baru dicipta untuk meneruskan kerja-kerja Rotor. Manakala

kaedah yang mengkulturkan tunas pucuk *Phalaenopsis* dengan berjaya telah dilaporkan di University of Hawaii (Arditti & Ernst, 1992).

Untuk *P. gigantea*, banyak kajian telah dilakukan untuk menggandakan PLB (Protocorm-like body) dan mencambahkan bijinya secara *in vitro*. Hasil kajian mendapati percambahan biji dan penggandaan PLB mengambil masa yang lama (Arditti & Ernst, 1992). Maka kajian untuk mendapat prosedur bagaimana boleh menggandakan tumbuhan ini secara *in vitro* untuk penghasilan klon adalah sedang dilakukan.

## 1.2 Objektif Kajian

Mengkaji kesan arang dan air kelapa terhadap proliferasi *in vitro* protokorm orkid *Phalaenopsis gigantea*.

## **BAB 2**

### **ULASAN PERPUSTAKAAN**

#### **2.1 Taburan Orkid**

Orkid tergolong dalam famili Orchidaceae. Tumbuhan seperti rumput, palma, lili dan lain-lain juga dikategori dalam famili ini. Di Malaysia masih terdapat banyak orkid-orkid liar yang belum dikenali lagi tetapi mempunyai ruang yang luas untuk diperbaiki mutunya dan potensi pasaran. Famili ini mengandungi kira-kira 700 genus, 20,000-25,000 spesies dan sekurang-kurangnya mempunyai 100,000 hibrid orkid sama ada antara atau dalam spesies dan genus (Hew *et al.*, 2002). Lebih kurang 1000 kacukan yang baru dihasilkan pada setiap tahun. Malaysia telah memula pengacukan orkid sejak awal kurun ke-20, tetapi hanya tahun 1960an industri tersebut mula berkembang.

Terdapat lebih kurang 12 genus orkid yang biasa ditanam di Malaysia iaitu *Aerides*, *Arachnis*, *Ascocentrum*, *Cattleya*, *Dendrobium*, *Doritis*, *Oncidium*, *Phalaenopsis*, *Renanthera*, *Rhynchostylis*, *Vanda* dan *Vandopsis*. Sementara itu, terdapat berpuluhan-jenis orkid kacukan yang telah dihasilkan oleh pembiak-pembiak orkid seperti *Ascocenda*, *Aranda*, *Bandacinis* dan sebagainya

(Kamal & Shariff, 2002). Hasil kacukan ini telah digunakan oleh penanam-penanam orkid di pelbagai tempat seterusnya memberikan Malaysia reputasi antarabangsa sebagai pusat pengacukan orkid.

Malaysia menghasilkan sendiri orkid kacukan Vandaceous pada tahun 1960. Aranda, kacukan antara genus *Arachnis* dan *Vanda* dihasilkan. *Aranda Wendy Scott* dan *Aranda Christine* yang terkenal dibiakkan oleh Mr. L. E. Wong di Pulau Pinang dan dijual ke seluruh Negara. Pada tahun 1970an, penanaman orkid secara komersial seperti penghasilan orkid kacukan, penanaman biji benih dan perkhidmatan kultur tisu dilakukan di Negara Thai. Pada tahun 1980an, perkembangan minat dalam penanaman orkid komersial di Malaysia telah memuncak dimana beberapa kawasan di Selangor dan Johor dibangunkan untuk penanaman orkid.

## 2.2 Status Orkid di Borneo

Di Borneo, terdapat 3000 spesies orkid dan 2500 di antaranya terdapat di Sabah dan Sarawak. Menurut International Union for Conservation of Nature and natural Resources (ICUN), 200 spesies orkid di Sabah dan Sarawak telah dikategorikan dalam status jarang, berbahaya dan terancam (Abang & Gombak, 1990).

Masalah kepupusan ini telah menyedarkan kita bahawa betapa pentingnya mengekalkan spesies orkid tertentu. Oleh itu, pelbagai pusat pemuliharaan *ex-situ* telah ditubuhkan di Borneo untuk mewujudkan banyak hutan simpanan. Tetapi hutan simpanan yang diwujudkan tidak semesti dapat menyediakan habitat yang bersesuaian kepada orkid yang mempunyai sifat endimisme yang sangat tinggi. Lagipun hutan

simpanan hanya merangkumi 3 – 5 % daripada keluasan tanah di Sabah dan Sarawak (Lamb & Chan, 1989). Maka teknik tisu kultur dijadikan jalan alternatif untuk meningkatkan populasi orkid.

### **2.3 Ciri-ciri Orkid**

Orkid merupakan sejenis tumbuhan yang berbunga iaitu angiosperma. Oleh kerana ia hanya mempunyai satu daun anak benih pada embrio sahaja maka ia digolong dalam kumpulan monokotiledon. Ciri-ciri bunga orkid yang berbeza dengan bunga tumbuhan lain ialah ia mempunyai empat bahagian jelas iaitu sepal belakang, sepal sisi, petal serta labelum. Bunga tumbuhan biasa pula terdiri daripada sepal dan petal (Arditti & Ernst, 1992).

Orkid dikategori kepada lima subfamili. Orkid yang hanya mempunyai satu cepudebunga pula dibahagi kepada tiga subfamily iaitu Epidendoideae, Vanilloideae dan Orchidoideae. Orkid Selipar (Cypripedioideae) mempunyai dua cepudebunga yang jelas kelihatan dan dua sepal yang bergabung. Apostasiodeae dikatakan sebagai subfamily paling asas. Mereka masih mempunyai dua atau tiga cepudebunga tetapi hanya kelihatan sebagai ‘rudiment’. Organ jantan dan betina Neuwiedia dan Apotasia bercantum pada bahagian bawah. Mereka tidak mempunyai kolum seperti orkid yang lain.

Bentuk bunga orkid berbeza mengikut jenis tetapi pada asasnya bunga ini mengandungi tiga sepal dan tiga petal. Satu daripada petal tersebut berubahsuai menjadi struktur yang dipanggil bibir (labelum). Sementara itu, stamen bergabung

dengan stil dan stigma untuk membentuk kolum. Biasanya, pendebungaan orkid liar dilakukan oleh serangga. Bagi orkid yang ditanam pula pendebungaan dan penyemaian biji benih selalunya perlu dibantu oleh manusia melalui teknik-teknik yang berlainan (Kamal & Shariff, 2002).

Terdapat dua kumpulan orkid iaitu kumpulan simpodium dan monopodium. Orkid simpodial seperti *Cattleya* dan *Dendrobium* hanya mengeluarkan satu jambak bunga pada satu bantang (dipanggil bebwang palsu jika ia membengkak). Pengeluaran jambak seterusnya adalah daripada pucuk baru yang keluar daripada rizom. Batang-bantang atau bebwang-bebwang palsu keluar daripada rizom ini membuat orkid jenis ini seolah-oleh hidup serumpun (Kamal & Shariff, 2002).

Orkid monopodial seperti *Phalaenopsis*, *Arachnis* dan *Vanda* mempunyai sifat pertumbuhan yang berbeza dengan simpodial. Orkid-orkid ini mempunyai satu batang yang akan tumbuh meninggi dan mempunyai daun dan akar yang keluar daripada sisinya. Ini menyebabkan orkid ini kelihatan seperti lipan. Bunganya keluar di bahagian pucuk orkid dan pembiakan vegetatif boleh dilakukan dengan menggunakan anak-anak pokok yang keluar daripada batang (Kamal & Shariff, 2002).

#### **2.4 *Phalaenopsis gigantea***

*Phalaenopsis gigantea* yang hampir pupus berasal dari Sabah (kawasan Merutai dan Gunung Harimau). Daunnya yang besar memberikannya nama sebagai ‘telinga gajah’. Ia juga didapati di bahagian barat Gunung Crocker di Sarawak, kawasan barat

Kalimantan dan hutan yang tua di Java. *P. gigantea* yang dikatakan mudah tumbuh di atas paras laut 500 kaki sesuai dengan suhu 18.9 °C – 34.4 °C (Baker, 1990).

*P. gigantea* adalah monopodial epifit yang amat besar dan mengambil masa 8-12 tahun untuk berbunga. Pertumbuhan *P. gigantea* amat lambat dan mudah dijangkiti oleh penyakit. Biasanya, sebatang *P. gigantea* mempunyai 5-6 helai daun. Daunnya berkilat dan berpanjang 22-36 in (56-91 cm). Gugus bunga *P. gigantea* mempunyai panjang 6-15 in (15-38 cm) dan mempunyai 1 atau 2 cabang. Terdapat 20-30 bunga dalam satu gugus. Setiap bunga bersilang dengan jarak 1.50-2.75 in (3.8-7.0 cm) dan berbentuk bintang. Bunganya berwarna hijau keputihan kepada kuning bersama dengan perang atau maroon tompok. Bibir yang putihnya ditanda dengan warna merah keungguan yang cerah (Baker, 1990).

Mengikut kajian Baker (1990), *P. gigantea* mempunyai masa rehat pada waktu siang musim sejuk iaitu pada suhu purata 85 – 88°F (30 -31°C) dan waktu malam 72-74°F (22 -24°C) dengan julat diurnal 13°F (7°C). Masa rehatnya seragam dari satu tahun ke tahun yang seterusnya. Orkid jenis ini tidak dapat hidup di Singapura yang mempunyai suhu lebih tinggi daripada Malaysia. Manakala di Bogor dan Java, ia tidak berbunga walaupun berupaya hidup.

## 2.5 Kultur Tisu Orkid

Terdapat dua cara mempropagasikan tumbuhan, iaitu seksual dan aseksual. Propagasi seksual menggunakan biji benih dimana memerlukan pendebungaan dan gabungan gamet. Tumbuhan yang tumbuh melalui kaedah seksual adalah berbeza dengan

induknya kerana prosesnya terlibat kombinasi gen. Oleh itu, apabila kita ingin menghasilkan progeni yang mempunyai ciri-ciri yang sama seperti induk, cara aseksual adalah cara yang paling sesuai. Pada masa dahulu, progeni aseksual bagi orkid terlibat pemotongan dan pembahagian. Manakala mikropropagasi adalah salah satu cara aseksual yang digunakan untuk mempropagasi orkid semenjak 50 tahun dahulu dan menjadi semakin popular pada masa kini (Prasad & Kumar, 2003).

Mikropropagasi merupakan propagasi “true-to-type” kepada genotip yang terpilih. *In vitro* adalah kultur sel, cebisan tisu atau organ secara aseptik di dalam kaca sama ada dalam botol kecil atau piring Petri. Sekeping cepisan tisu tumbuhan berupaya tumbuh menjadi tumbuhan yang baru kerana setiap sel dalam tisu tumbuhan itu mempunyai kandungan genetik yang sama dengan induk dan mereka adalah “totipoten” iaitu setiap sel dalam tumbuhan berpotensi tumbuh menjadi tumbuhan yang sempurna (Prasad & Kumar, 2003). Kaedah ini diaplikasikan dalam penghasilan tumbuhan yang hampir pupus secara besar-besaran.

### **2.5.1 Percambahan Biji Benih**

Pada tahun 1974, penanam di UK pertama sekali menggunakan cara percambahan biji benih untuk menghasilkan bunga orkid dengan berjaya. Rahsia kejayaan percambahan biji benih orkid ditemui oleh seorang ahli botani dari Perancis, Noël Bernard pada tahun 1899 apabila beliau mendapati bahawa anak pokok orkid mengandungi mikoriza dan menyimpulkan bahawa biji benih memerlukan tembusan fungi untuk percambahan. Penemuan Bernard menjadi asas bagi cara percambahan biji benih orkid secara simbiotik (Hew *et al.*, 2002).

### Rujukan

Abang, Hj. dan Gombek, F., 1990. species conservation in Sarawak. Dlm: *Proceedings International Conferences on Forest Biology and Conservation in Borneo.*

Abdul Karim, A. G. dan Hairani, H., 1989. Perambatan orkid melalui kultur tisu. Dlm: Zahri, A. H. & Latiff A. (eds). *Penyelidikan Semasa Sains Hayat.* UKM, 151-169.

Alphonso, A. G., 1987. Orchidology in Southeast Asia: A history. Dlm: Arditti, J (pnyt.), *Orchid Biology: Reviews and perspectives* 4. Cornell University Press, Ithaca.

Andrew, K., 1997. *Phalaenopsis-The Moth Orchid.* Dlm: *Cultural Handbook-What, Where and How of Orchids.* Orchid Review Ltd, Dorchester.

Arditti, J., 1992. *Fundamentals of Orchid Biology.* John Wiley & Sons, New York.

Arditti, J. dan Ernst, R., 1992. *Micropropagation of Orchids.* John Wiley & Sons, London.

Baker, M. L., Baker, C. O., 1990. *Orchid Species Culture-Pescatorea, Phaius, Phalaenopsis, Pholidota, Phragmipedium, Pleione.* Timber Press, Portland.

Begum, A. A., Tamaki, M. dan Kako, S., 1994. Formation of protocorm like bodies (PLB) and shoot development through *in vitro* of outer tissue of *Cymbidium* PLB. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* **63** (3), 663-673.

Bhojwani, S. S. dan Razdan, M. K., 1983. *Plant Tissue Culture: Theory and Practices.* Elsevier Science Publisher B. V. The Netherlands.

Bonga, J. M. dan Aderkas, P. V., 1992. *In vitro Culture of Trees.* Kluwer Academic Publisher, London.



- Chan, C. L., Lamb, A., Shim, P. S. dan Wood, J. J., 1994. *Orchids of Borneo Vol 1 introduction and selection of species*: Kota Kinabalu: The Sabah Society and kew: The Royal Botanic Gardens.
- Cheah, K. T. dan Sagawa, Y., 1978. *In vitro propagation of Aranda Wendy scott and Aranthera James Storeii*. *Hort. Science*. **11**: 503.
- Chia, T. F., Hew, C. S., Loh, C. S. dan Lee, Y. K., 1988. Carbon nitrogen ratio & greening & protocorm formation in orchid callus tissues. *Horticulture Science* **23**: 599-601.
- Choon, S. Y., 2004. *Kesan medium terhadap proliferasi protokorm orkid Phalaenopsis gigantea*. Disertasi Sarjana Sains, Universiti Malaysia Sabah (tidak diterbitkan).
- Christenson, E. A., 1995. An Overview of the Genus *Phalaenopsis*, *Orchid Digest* **59**, 19-21.
- Chua, B. K. dan Paramsothy, S., 1980. Clonal Propagation of *Dendrobium* by means of Tissue Culture Techniques. *Mardi Buletin Penyelidikan* **8** (1), 1-7.
- Ernst, R., 1967. Effect of carbohydrate selection on growth rate of *Phalaenopsis* and *Dendrobium* seed. *American Orchid Society Bulletin* **36**: 10689-1073.
- Ernst, R., 1974. The use of activated charcoal in asymbiotic seedling culture of *Paphiopedilum*, *American Orchid Society Bulletin* **43**: 35-38.
- Ernst, R., 1994. Effects of thidiazuron on in vitro propagation of *Phalaenopsis* and *Doritaenopsis*. *Plant Cell Tissue Organ Culture* **39**:273-275.

- Fridborg, G., Pedersen, M., Landstron, L. dan Eriksson, T., 1978. The effect of activated charcoal on tissue culture: absorption of metabolites inhibiting morphogenesis. *Physiology Plant* **43**, 104-106.
- Goh, C. J., 1973. Meristem culture of *Aranda Deborah*. *Malayan Orchid Review*, **12** 10-13
- Hartmann, H. T., Kester, D. E. dan Davies, F. T., 1990. *Plant Propagation: Principle and Practice*, Ed. Ke-5. Prentice Hall, New Jersey.
- Hew, C. S., Yam, T. W. dan Arditti, J., 2002. *Biology of Vanda Miss Joaquim*. Singapore University Press, Singapore.
- Hopkins, W. G. dan Hüner, N. P. A. 2004. *Plant Physiology*. Ed. Ke-3, John Wiley & Sons, London.
- Ichihashi, S., 1992. Micropropagation of *Phalaenopsis gigantea* through the culture of lateral buds from young flower stalks. *Lindleyana*. **7**: 208-215.
- Ingels, J. E., 2001. *Ornamental Horticulture: Science, Operation and Management*. Ed. Ke-3, Delmar, New York.
- Intuwang, O. dan Sagawa, Y., 1975. Clonal propagation of *Dendrobium* and other noble types. Dlm: *Orchid Soc. Bull.* **44**: 319-322.
- Ishii, Y., Takamura, T., Goi, M. dan Tanaka, M., 1998. Callus induction and somatic embryogenesis of *Phalaenopsis*. *Plant Cell Reports*. **17**: 446-450.
- Jusop, S., 1981. *Asas Sains Tanah*. Dewan Bahasa dan Pustaka, Kuala Lumpur.

- Kamal, M. dan Shariff, M., 2002. *Hortikultur Hiasan dan Lanskap*. Ed. ke-5, Dewan Bahasa dan Pustaka, Kuala Lumpur.
- Ken, T dan Masahiro, M., 2001. Induction of embryogenic callus and cell suspension culture from shoot tips excised from flower stalk buds of *Phalaenopsis* (Orchidaceae). *In vitro Cell. Dev. Biology-Plant.* **37**: 457-461.
- Klein, B. dan Bopp, M., 1971. Effect of activated charcoal in agar on the cultures of flower plants. *Nature* **203**, 474.
- Laksamana, P., Low, C. S. dan Goh, C. J., 1995. *Plant Cell Rep.* **14**: 510-514.
- Lam, T. W., Ernst, R., Arditti, J., dan Ichihashi, S., 1991. The effect of complex additives and 6-( $\gamma$ ,  $\gamma$ -Dimethylallylamino)-purine on the proliferation of *Phalaenopsis* protocorms. *Landleyana* **6** (1), 24-26.
- Lamb, A., 1978. The wild orchid species of Sabah. *Proceedings of the Symposium on Orchidology*, 8 September 1978, 56-59.
- Lamb, A., dan Chan, C.L., 1989. The *orchids in Kinabalu*. *Sabah Society*, Kota Kinabalu, Malaysia.
- Lami, R., 1927. Influence d'une Peptone Sur La Germination De Quelques Vandées. *Compt. Rend. Acad. Sci. Paris* **184**: 1579-1581.
- Lim-Ho, C. L., 1981. Experimental finding of the tissue culture of orchid hybrids at the Singapore Botanic Garden. *Garden Buletin Singapore* **34** (1), 148-151.
- Math, V. H. dan Rao, P. S., 1980. *In vitro* multiplication of *Vanda* hybrids through tissue culture techniques. *Plant Science Lett.* **17**: 383-387.

- Mattson, J. S. dan Mark, H. B., 1971. *Activated Carbon*. Carbon **10**: 117-118
- Michell, R.B., 1989. Growing hardy orchids seed at kew. *Plantsman* **11**, 152-169
- Morel, G., 1960. Producing virus-free cumbidiums. Am. Orchid Soc. Bul. **29**:495-497
- Murashige, T. dan Skoog, F., 1962. A devised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* **36**: 223-226.
- Murthy, H. N. dan Pyati, A. N., 2000. Micropropagation of *Aerides maculosam* Lindl. In *vitro Cell Dev. Biology. Plant.* **36**: 223-226.
- Nuraini, 1987. Penanaman orkid monopodial secara komersial. Dlm: *Teknologi Pelbagai Tanaman* **3**. MARDI, Kuala Lumpur.
- Park, Y.S., S. Kakuta, A., Kano, dan M. Okabe. 1996. *Efficient propagation of protocorm-like bodies of Phalaenopsis in liquid medium*. Plant Cell Tissue Organ Culture **45**:79-85.
- Plumb, D.C. 1999. *Veterinary Drug Handbook*. Ed. Ke-3, Ames: Iowa State.
- Prasad, S. dan Kumar, U., 2003. *Commercial Floriculture*. Agrobios, India.
- Pritchard, H. W., 1989. *Modern in Orchid Conservation: The Role of Physiology, Ecology and Management*. Cambridge University Press, New York.
- Quoirin, M., dan Silva, M. C., Martin, K. G. dan de Olivera, D. E., 2002. Multiplication of juvenile black wattle by microcutting. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* **66**: 199-205.

- Rao, A. N. dan Advadhani, P. N., 1964. Some aspect of vitro culture of *Vanda* seeds. *Proceedings of the 4<sup>th</sup> World Orchid Conference* 1964, Singapura, 194-202.
- Razdan, M. K., 1993. *An Introduction of Plant Tissue Culture*. Intercept Limited, England.
- Sagawa, Y., 1990. Biotechnology in orchids. In : Kimura, T., Ichihashi, S. dan Nagata, S. (eds). *Proc. Nagoya Int. Orchid Show '90*. The Organization Committee of NIOS, Kariya, 46-48.
- Scully, R., 1966. Stem propagation of *Phalaenopsis*. *Am. Orchid Soc. Bull.*, **35**: 40-42.
- Singh, F. dan Prakash, D., 1985. *Gartenbauwissen Schrift*. **50**: 236-238.
- Stewart, J., 1989. Orchid propagation by tissue culture techniques-past, present and future. Dlm: Pritchard, H. W. (pynt), *Modern Methods in Orchid Conservation: The Role of Physiology, Ecology and Management*. Press Syndicate of the University of Cambridge, New York.
- Tanaka, M. dan Sakanishi, Y., 1977. Clonal propagation of *Phalaenopsis* by leaf tissue cultures. *Am. Orchidoc. Bull.* **46**: 733-737.
- Tanaka, M. dan Sakanishi, Y., 1980. Clonal propagation of *Phal.* Through tissue culture. Dlm: Kashemsanta MRS (ed) *Proc. 9<sup>th</sup> World Orchids Conf* 1980, Bangkok, 215-221.
- Teo, K. H., 1990. Selecting and improving the *Phalaenopsis* for commercial growing. Dlm: Dr. Helen Nair, et al. (pnyt), *Orchids and Ornamental Plants in Asean*. Universiti Sains Malaysia, Pulau Pinang.
- Tsukamoto, Y., Kano, K. dan Katsuura, T., 1963. Instant media for orchid seed germination. Dlm: *Orchid Soc. Bull.* **18**: 738-739.

- Tulecke, W., Weinstein, I. H., Rutner, A. dan laurencat, H. J., 1961. The biochemical composition of coconut water as related to its use in plant tissue culture. *Contr. Boyce. Thomson Inst.* **21**: 115-128.
- Weatherhead, M. A., Burdon, L. dan Henshaw, G. G., 1978. Some effects of activated charcoal as an additive to plant tissue culture media. *Z. Pflanzenphysiol.* **89**, 19-26.
- Wildfred, G. J., 1966. Formation of protocorm like bodies on excised *Cymbidium* shoot tips. *Am. Orchid soc. Bull.* **35**: 823-827.