

KESAN HORMON TERHADAP PENGARUHAN JASAD SEPERTI
PROTOKOM (JSP) DARI EKSPLAN SEGMENT
DAUN PADA *Vanda helvola*

ASLINDA BINTI HJ KAMAL

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH
DISERTASIINI DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI
SEBAHAGIAN DARIPADA SYARAT MEMPEROLEHI IJAZAH
SARJANA MUDA SAINS DENGAN KEPUJIAN

PROGRAM BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

April 2007



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG MENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: Kesan Hormon Terhadap Perparuhan Jasad

seperti protokol (JSP) Dari Ektoplan sejmen Daun
padang randa kelapa

Ijazah: Sarjana muda : Sains Dengan kelayajian

SESI PENGAJIAN: 2004/2007

Saya Astinda Binti Hj Kamal

(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 sahaja.
3. Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institusi pengajian tinggi.
4. *Sila tandakan (/)

SULIT

TERHAD

TIDAK TERHAD

PERPUSTAKAAN

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

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

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

Disahkan oleh

[Signature]

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

[Signature] Dr Juvalong
Arlan Gansau

Nama Penyelia

(TANDATANGAN PENULIS)

Alamat Tetap: No 297 felda
Chomonoj, 28310

[Signature]
Triang, Pakang

Tarikh: 20/4/2007

Tarikh: 20/4/07

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).



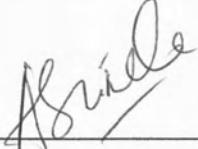
UMS

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGAKUAN

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

20 April 2007



ASLINDA BINTI HJ KAMAL
HS2004-1823

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

DIPERAKUKAN OLEH

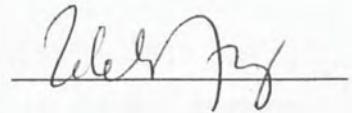
Tandatangan

1. PENYELIA

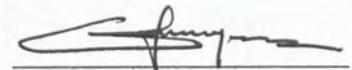
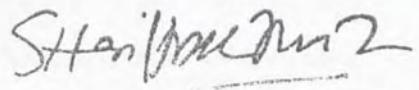
DSP. (K) DR JUALANG AZLAN GANSAU


2. PEMERIKSA 1

DR ZALEHA A. AZIZ


3. PEMERIKSA 2

DR IVY WONG NYET KUI


4. DEKAN
**PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**
SUPT. (K) PROF. MADYA DR. SHARIFF
A KADIR S OMANG


UMS
 UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGHARGAAN

"Dengan Nama Allah Yang Maha Pengasih Lagi Maha Penyayang"

Rasa syukur saya panjatkan ke hadrat Ilahi kerana dengan limpah dan kurnia daripada-Nya dapat saya menyiapkan kajian ini. Namun, saya tidak keseorangan dalam menjalankan kajian ini, dan kepada mereka yang terlibat ingin saya ucapkan jutaan terima kasih. Hanya Tuhan sahaja yang dapat membalas jasa baik mereka.

Pertama sekali, saya ingin mengucapkan ribuan terima kasih kepada Dr Jualang Azlan Gansau selaku penyelia bagi kajian yang saya lakukan ini. Nasihat, dorongan serta tunjuk ajar yang diberikan oleh beliau amatlah saya hargai dan akan dikenang selamanya.

Seterusnya ucapan terima kasih yang tidak terhingga ingin saya ucapkan kepada Cik Devina kerana banyak membantu dalam memberikan maklumat dan tunjuk ajar yang diperlukan. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada En Cyril, Cik Tini dan kakitangan makmal Sekolah Sains dan Teknologi kerana telah banyak membantu saya dalam menyediakan radas dan bahan bagi menjalankan kajian ini.

Jutaan terima kasih juga kepada bonda, Hjh Habsah Harun dan keluarga tercinta yang telah banyak memberikan semangat, dorongan dan sumbangan sepanjang proses menyiapkan kajian ini. Tidak dilupakan Nursyamimi, Razleen Raihan dan semua rakan Bioteknologi sesi 2004/2007 yang telah banyak memberi kerjasama dan bantuan. Diharap kajian ini akan menjadi titik tolak untuk mencapai kejayaan yang lebih cemerlang pada masa akan datang.

ABSTRAK

Kajian ini dilakukan bagi mengkaji kesan hormon sitokinin dan auksin, cahaya dan jenis eksplan terhadap pengaruhan JSP ke atas eksplan *Vanda helvola*. Eksplan pangkal daun, tip daun dan tip akar *Vanda helvola* dikultur di dalam media Mitra *et al.* (1976) yang dirawat dengan hormon (BAP dan kinetin) dan auksin (NAA dan 2,4-D) pada kepekatan 0.5mg/l, 1.0mg/l, 2.0mg/l dan 4.0mg/l secara tunggal dan kombinasi. Eksplan dikultur di atas media rawatan dengan pH 5.2 ± 0.1 , pada suhu $25 \pm 2^\circ\text{C}$, di dalam keadaan 24 jam gelap dan cerah. Eksplan daun dan akar diperoleh daripada anak pokok yang berusia antara 5 hingga 6 bulan yang dikultur daripada biji benih di dalam media VW dan 15% (v/v) jus tomato. Pada kepekatan 1.0mg/l BAP didapati peratusan pengaruhan JSP adalah tinggi iaitu 71.8% dengan julat bilangan JSP terbentuk setiap eksplan ialah 0-7 apabila dikultur dalam keadaan cerah. Manakala, pada kepekatan 4.0mg/l BAP menunjukkan peratusan yang tinggi iaitu 56.5% berbanding kepekatan yang lain apabila eksplan di kultur dalam keadaan cerah dengan julat bilangan JSP yang terbentuk pada setiap eksplan antara 0-13. Media rawatan 0.5mg/l NAA pula menunjukkan pengaruan JSP yang tertinggi iaitu 5% dengan julat bilangan JSP yang terbentuk setiap eksplan ialah 0-3. Purata peratusan pertumbuhan JSP yang maksimum telah dicapai dalam media rawatan kombinasi antara 0.5mg/l NAA dan 4.0mg/l BAP dalam keadaan gelap iaitu 90% dengan julat bilangan JSP yang terbentuk sebanyak 0-17. Manakala, dalam keadaan cerah peratusan menurun kepada 60%. Hasil keputusan menunjukkan peratus pembentukan JSP dalam keadaan gelap lebih baik berbanding dalam keadaan cerah. Eksplan mula membentuk JSP pada minggu ke 4 pengkulturan dalam media rawatan tunggal manakala, eksplan yang dikultur di dalam media rawatan kombinasi menunjukkan kesan pengaruan JSP pada minggu ke 3. Eksplan pangkal daun lebih sesuai bertindak balas bagi mengaruh JSP berbanding tip daun manakala, tip akar tidak menunjukkan sebarang tindak balas.

ABSTRACT

The objective of this study was to observe the effect of cytokinin and auxin hormones, light and type of explants on induction of PLBs on *Vanda helvola* explants. Leaf bases, leaf tips and root tips of *Vanda helvola* were cultured on Mitra *et al.* (1976) media which were treated with hormones cytokinins (BAP and kinetin) and auxins (NAA and 2,4-D) at the concentrations of 0.5mg/l, 1.0mg/l, 2.0mg/l and 4.0mg/l by alone or in combination. Explants were cultured on media treatment with pH 5.2±0.1 and incubated at 25±2°C at 24 hour light and dark. Leaf and root explants were taken from 5-6 months axenic seedlings which were cultured on VW media and 15% (v/v) tomato juice. At the concentration of 1.0mg/l BAP, the percentage of explants producing PLBs was highest which was 71.8% and the number of PLBs formed per explant range from 0-7 when incubate in light condition. While, in dark condition, BAP with the concentration of 4.0mg/l showed the highest percentage which was 56.6% and the number of PLBs formed per explant range was from 0-13. The treatment with 0.5mg/l NAA showed the highest percentage of PLBs induction 5% and the number of PLBs formed per explant range between 0-3. The combination of 0.5mg/l NAA and 4.0mg/l BAP showed higher result to induce PLBs with the percentage of 90% and the number of PLBs formed per explant range was 0-17 when culture it at dark condition. But, if incubate under light condition the percentage decrease to 60%. Results showed that explants responded better when cultured in dark condition. The explants started to form PLBs after 4 weeks of culture in single hormone and 3 week when using combination hormones. The leaf base responded much better than leaf tips on induction of PLBs in *Vanda helvola* while root tips did not show any changes.

KANDUNGAN

Muka surat

PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	ix
SENARAI FOTO	xi
SENARAI SIMBOL	xii
SEBARAI SINGKATAN	xiii

BAB 1	PENDAHULUAN	1
BAB 2	ULASAN PERPUSTAKAAN	4
2.1	<i>Vanda</i>	4
2.2	<i>Vanda helvola</i>	6
2.3	Mikropropagasi	8
2.4	Penyediaan Eksplan Steril	10
2.5	Penggandaan Pucuk	10
2.6	Pertumbuhan Akar	11
2.7	Pemindahan Anak Pokok ke Tanah	11
2.8	Mikropropagasi Melalui Segmen Daun	12
2.9	Mikropropagasi Melalui Segmen Akar	13
2.10	Jenis Pengaruhan	13
	2.10.1 Protokom dan Jasad Seperti Protokom (PLB)	14
	2.10.2 Kalus	15
2.11	Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan JSP	15
	2.11.1 Auksin	16
	2.11.2 Sitokinin	17



BAB 3	BAHAN DAN KAEADAH	18
3.1	Penyediaan Larutan Stok	18
3.1.1	Penyediaan Larutan Stok Makro	18
3.1.2	Penyediaan Larutan Stok Mikro, FeNaEDTA dan Vitamin	19
3.2	Penyediaan Stok Hormon	22
3.2.1	Penyediaan Larutan Stok Hormon 6-Benzylaminopurine dan Kinetin	22
3.2.2	Penyediaan Larutan Stok Hormon Asid α -Naphthalene Asetik dan Asid 2,4- Dichlorophenoacetik	23
3.3	Penyediaan Media Kultur	23
3.4	Penyediaan Rawatan	25
3.5	Bahan dan Alat Pensteril	29
3.6	Pemilihan Eksplan	29
3.7	Kaedah Mengkultur	30
3.8	Pencerapan Data	32
3.8.1	Cara Pengiraan	33
BAB 4	KEPUTUSAN	35
4.1	Kesan BAP dan Kinetin Terhadap Pengaruan PLB	35
4.2	Kesan NAA dan 2,4-D Terhadap Pengaruan PLB	48
4.3	Kesan Kombinasi BAP dan NAA Terhadap Pengaruh JSP	58
BAB 5	PERBINCANGAN	68
5.1	Kesan Hormon	68
5.2	Kesan Eksplan	74
5.3	Masalah-Masalah Yang Dihadapi Semasa Kajian Dilakukan	76
BAB 6	KESIMPULAN	78
RUJUKAN		81



SENARAI JADUAL

No. Jadual		Muka Surat
3.1	Komposisi stok larutan media Mitra <i>et al.</i> , (1976).	21
3.2	Kandungan media Mitra <i>et al.</i> , (1976).	25
3.3	Senarai hormon dan kepekatananya.	26
3.4	Senarai kombinasi hormon dan kepekatan yang digunakan.	27
3.5	Sambungan senarai kombinasi hormon dan kepekatan yang digunakan.	28
4.1	Kesan hormon BAP dan Kinetin terhadap pengaruan JSP pada pangkal daun <i>Vanda helvola</i> di atas media agar (Mitra <i>et al.</i> , 1976) , pH 5.2-5.3, pada suhu $25\pm2^{\circ}\text{C}$, di dalam keadaan 24 jam cerah.	37
4.2	Kesan hormon BAP dan Kinetin terhadap pengaruan JSP pada tip daun <i>Vanda helvola</i> di atas media agar (Mitra <i>et al.</i> , 1976) , pH 5.2-5.3, pada suhu $25\pm2^{\circ}\text{C}$, di dalam keadaan 24 jam cerah.	38
4.3	Kesan hormon BAP dan Kinetin terhadap pengaruan JSP pada tip akar <i>Vanda helvola</i> di atas media agar (Mitra <i>et al.</i> , 1976) , pH 5.2-5.3, pada suhu $25\pm2^{\circ}\text{C}$, di dalam keadaan 24 jam cerah.	39
4.4	Kesan hormon BAP dan Kinetin terhadap pengaruan JSP pada pangkal daun <i>Vanda helvola</i> di atas media agar (Mitra <i>et al.</i> , 1976) , pH 5.2-5.3, pada suhu $25\pm2^{\circ}\text{C}$, di dalam keadaan gelap.	40
4.5	Kesan hormon BAP dan Kinetin terhadap pengaruan JSP pada tip daun <i>Vanda helvola</i> di atas media agar (Mitra <i>et al.</i> , 1976) , pH 5.2-5.3, pada suhu $25\pm2^{\circ}\text{C}$, di dalam keadaan gelap.	41
4.6	Kesan hormon BAP dan Kinetin terhadap pengaruan JSP pada tip akar <i>Vanda helvola</i> di atas media agar (Mitra <i>et al.</i> , 1976) , pH 5.2-5.3, pada suhu $25\pm2^{\circ}\text{C}$, di dalam keadaan gelap.	42
4.7	Kesan hormon NAA dan 2,4-D terhadap pengaruan JSP pada pangkal daun <i>Vanda helvola</i> di atas media agar (Mitra <i>et al.</i> , 1976) , pH 5.2-5.3, pada suhu $25\pm2^{\circ}\text{C}$, di dalam keadaan 24 jam cerah.	49
4.8	Kesan hormon NAA dan 2,4-D terhadap pengaruan JSP pada tip daun <i>Vanda helvola</i> di atas media agar (Mitra <i>et al.</i> , 1976) , pH 5.2-5.3, pada suhu $25\pm2^{\circ}\text{C}$, di dalam keadaan 24 jam cerah.	50



4.9	Kesan hormon NAA dan 2,4-D terhadap pengaruan JSP pada tip akar <i>Vanda helvola</i> di atas media agar (Mitra <i>et al.</i> , 1976) , pH 5.2-5.3, pada suhu $25\pm2^{\circ}\text{C}$, di dalam keadaan 24 jam cerah.	51
4.10	Kesan hormon NAA dan 2,4-D terhadap pengaruan JSP pada pangkal daun <i>Vanda helvola</i> di atas media agar (Mitra <i>et al.</i> , 1976) , pH 5.2-5.3, pada suhu $25\pm2^{\circ}\text{C}$, di dalam keadaan gelap.	52
4.11	Kesan hormon NAA dan 2,4-D terhadap pengaruan JSP pada tip daun <i>Vanda helvola</i> di atas media agar (Mitra <i>et al.</i> , 1976) , pH 5.2-5.3, pada suhu $25\pm2^{\circ}\text{C}$, di dalam keadaan gelap.	53
4.12	Kesan hormon NAA dan 2,4-D terhadap pengaruan JSP pada tip akar <i>Vanda helvola</i> di atas media agar (Mitra <i>et al.</i> , 1976) , pH 5.2-5.3, pada suhu $25\pm2^{\circ}\text{C}$, di dalam keadaan gelap.	54
4.13	Kesan hormon BAP dan NAA terhadap pengaruan JSP pada daun <i>Vanda helvola</i> di atas media agar (Mitra <i>et al.</i> , 1976) , pH 5.2-5.3, pada suhu $25\pm2^{\circ}\text{C}$, di dalam keadaan cerah.	59
4.14	Kesan hormon BAP dan NAA terhadap pengaruan JSP pada daun <i>Vanda helvola</i> di atas media agar (Mitra <i>et al.</i> , 1976) , pH 5.2-5.3, pada suhu $25\pm2^{\circ}\text{C}$, di dalam keadaan gelap.	60



SENARAI FOTO

No. Foto		Muka Surat
2.1	Pokok <i>Vanda helvola</i>	7
2.2	Bunga <i>Vanda helvola</i>	8
3.1	Eksplan tip daun	31
3.2	Eksplan pangkal daun	31
3.3	Eksplan akar	31
4.1	JSP yang terhasil daripada kultur pangkal daun <i>Vanda helvola</i> di dalam media rawatan hormon BAP dan Kn, pada minggu ke 7	45
4.2	JSP yang terhasil daripada kultur tip daun <i>Vanda helvola</i> di dalam media rawatan hormon BAP dan Kn, pada minggu ke 7	46
4.3	Kultur tip akar <i>Vanda helvola</i> di dalam media rawatan hormon BAP dan Kn, pada minggu ke 7	47
4.4	JSP yang terhasil daripada kultur pangkal daun dan tip daun <i>Vanda helvola</i> di dalam media rawatan hormon NAA dan 2,4-D, pada minggu ke 7	56
4.5	Kultur tip akar <i>Vanda helvola</i> di dalam media rawatan hormon NAA dan 2,4-D, pada minggu ke 7	57
4.6	JSP yang terhasil daripada kultur pangkal <i>Vanda helvola</i> di dalam media rawatan kombinasi yang dikultur dalam keadaan cerah, pada minggu ke 7	63
4.7	JSP yang terhasil daripada kultur pangkal <i>Vanda helvola</i> di dalam media rawatan kombinasi, yang dikultur dalam keadaan gelap pada minggu ke 7	64
4.8	Perkembangan pangkal daun dalam media rawatan kombinasi dari hari pertama dikultur sehingga membentuk pucuk apabila dikultur dalam keadaan cerah.	66
4.9	Perkembangan pangkal daun dalam media rawatan kombinasi dari hari pertama dikultur sehingga membentuk pucuk apabila dikultur dalam keadaan cerah.	67



SENARAI SIMBOL

%	peratus
μM	mikro Molar
$^{\circ}\text{C}$	darjah Celcius
*	JSP membentuk pucuk



SENARAI SINGKATAN

ml	mililiter
L	Liter
g	gram
N	Noma
v/v	Isipadu perisipadu
cm	sentimeter
mg/l	miligram perliter
JSP	Jasad Seperti Protokom



BAB 1

PENDAHULUAN

Nama orkid berasal daripada Opxis Greek iaitu *Orchis* yang bermaksud *testicle* dan diakui oleh Theophratus (*Father of Botany*) yang merujuk kepada kesamaan antara organ pembiakan orkid jantan dengan organ pembiakan lelaki (Cingel, 1995). Orkid merupakan tumbuhan monokotiledon, epifit dan membesar dengan agak lambat. Ia tersebar meluas di semua kawasan seluruh dunia kecuali kawasan gurun. Famili Orchidaceae dianggap sebagai famili terbesar di antara semua jenis tumbuhan berbunga, dengan anggaran antara 15 000 hingga 30 000 spesies (Wood *et al.*, 1993). Di Malaysia sahaja terdapat kira-kira 100 genus yang mengandungi lebih daripada 800 spesies orkid liar. Tanaman orkid paling banyak terdapat di kawasan tropika, dan Malaysia pernah digelar sebagai ‘syurga bunga orkid’ kerana iklim dan persekitarannya yang sesuai untuk pertumbuhan orkid (MARDI, 1987).

Orkid merupakan tanaman berbunga yang popular di kalangan masyarakat dunia. Ini kerana ia cantik dan tahan disimpan berbanding dengan kebanyakan jenis bunga-bunga yang lain (MARDI, 1987). Ia sering dijadikan sebagai tanaman hiasan di taman rekreasi, pejabat dan di sekitar kawasan rumah. Orkid terkenal dengan kepelbagaiannya, berupaya mengeluarkan haruman, mempunyai pelbagai kombinasi warna pada



Vanda helvola merupakan spesies orkid yang tidak popular dan hanya dikenali dikalangan orang Asia sahaja. Maka, tidak banyak kajian dilakukan ke atasnya. Ini kerana *Vanda helvola* banyak tersebar di Asia, terutamanya di Semenanjung Malaysia, Sumatra, Java dan Borneo. Di Borneo ia boleh ditemui di kawasan gunung Kinabalu dan sekitar Tambunan (Chan *et al.*, 1994). Justeru, kajian ini dilakukan bagi memperkenalkan *Vanda helvola* kepada masyarakat dunia sebelum ia pupus ditelan zaman.

Objektif kajian ini adalah untuk mengkaji kesan hormon auksin (NAA dan 2,4-D) dan sitokinin (kinetin dan BAP) secara tunggal dan kombinasi, cahaya dan jenis eksplan terhadap pengaruhan JSP dari eksplan daun *Vanda helvola*.



BAB 2

ULASAN PERPUSTAKAAN

2.1 *Vanda*

Vanda berasal daripada bahasa Sanskrit yang merujuk kepada *Vanda roxburghii* yang terdapat di India. Sekarang, ia lebih dikenali sebagai *Vanda tessellata* (Chan *et al.*, 1994). *Vanda* telah menjadi nama genera kepada lebih kurang 50 spesies orkid yang terdapat di seluruh dunia. Kebanyakan pokok *Vanda* tersebar secara semula jadi di kawasan Asia iaitu daripada Himalaya dan China Selatan melalui kawasan Sri Lanka dan semua negara Asia Selatan (Wood *et al.*, 1993).

Vanda merupakan kumpulan orkid yang popular dan telah melalui proses penghibridan secara meluas sama ada di antara spesies yang sama atau dengan genera yang lain bagi menghasilkan anak pokok hibrid yang cantik dan menarik. Contoh penghibridan di antara genera yang berbeza iaitu di antara *Vanda coerulea* dan *Euanthe sanderiana* yang menghasilkan hibrid Violet-biru atau *Vanda rothschidiana*. Ia diberi nama genus *Vanda* kerana hibrid mewarisi sifat fizikal pokok *Vanda* induk iaitu mempunyai bentuk yang leper dan bersaiz besar. Penghibridan *Vanda* mula diperkenalkan oleh Nellie Morley, Josephine Van Brero dan Deva dalam menghibrid *Vanda* yang berwarna merah pudar (Stewart, 1988).



Vanda merupakan sejenis orkid monopodial. Orkid monopodial adalah tumbuhan yang hanya mempunyai satu hujung pucuk bagi setiap satu pokoknya. Ia membesar dan menghala ke atas daripada hujung pangkal daun hingga ke pucuk. Bunganya pula akan keluar pada hujung pucuk pokok (Stewart, 1988). Tumbuhan ini hanya mempunyai satu batang sahaja. Batangnya pula menghasilkan daun yang tersusun rapi di sisi kanan dan kiri secara berselang seli. Bahagian pangkal batang akan membentuk akar-akar yang tebal dan tegap untuk sokongan (Chan *et al.*, 1994).

Orkid genus *Vanda* boleh dikelaskan kepada dua kumpulan berdasarkan jenis daun yang dimiliki. Dua kumpulan tersebut adalah *Vanda* berdaun lebar dan *Vanda* daun berbentuk silinder. *Vanda* berdaun lebar mempunyai daun terbuka manakala, *Vanda* yang daunnya berbentuk silinder mempunyai daun berbentuk seperti pensel. Pokok *Vanda* berdaun lebar mempunyai daun yang tersusun rapi, melengkung ke bawah dan daunnya mengelilingi batang pokok. *Vanda* berdaun silinder pula mempunyai ruas batang yang panjang, daun yang bergulung dan hujungnya tirus seperti pensel. *Vanda* berdaun lebar mempunyai jambak bunga yang tegak dan besar. Manakala, bunga *Vanda* berdaun silinder adalah besar (Sin *et al.*, 2002).

Vanda boleh membesar dengan baik di dalam pasu yang besar atau pasu gantung yang dibekalkan dengan baja kulit kayu. Ia juga memerlukan cahaya yang cukup, kelembapan yang tinggi dan kuantiti haba yang banyak untuk membesar dengan cepat dan seterusnya berbunga (Stewart, 1988).



2.2 *Vanda helvola*

Vanda helvola merupakan salah satu spesies orkid yang terdapat di Malaysia. Nama saintifiknya diperoleh daripada bahasa Latin iaitu *helvus* yang bermaksud merah pudar atau kelabu-kemerahan pudar dan merah comot. Ia merujuk kepada kombinasi warna bunga pokok *Vanda helvola* (Chan et al., 1994). *Vanda helvola* tergolong di dalam kumpulan *Vanda* berdaun silinder kerana ciri-ciri daunnya lebih kepada bentuk seperti pensel.

Berikut merupakan penamaan bagi *Vanda helvola*:

Famili	: Orchidaceae
Subfamili	: Orchidoideae
Tribe	: Vandeae
Genera	: <i>Vanda</i>
Spesies	: <i>helvola</i> (Wood dan Beaman, 1993)

Vanda helvola merupakan tumbuhan yang menumpang pada tumbuhan lain untuk mendapatkan sokongan atau epifit tetapi, ia tidak mengambil sumber nutrien daripada tumbuhan tersebut kerana ia bukan tumbuhan parasit. *Vanda helvola* mempunyai akar yang tebal, tegap dan sistem akar yang kukuh. Batangnya boleh memanjang sehingga 100cm. Daun *Vanda helvola* disusun rapat di sisi kanan dan kiri batang secara berselang seli (Chan et al., 1994). Daunnya melengkung ke dalam dan teguh mengikat pada batang pokok. Sistem akar yang kuat dan kukuh penting untuk dijadikan sebagai pemegang pada pokok sokongan. Ini bagi memastikan pokok tidak jatuh dari pokok sokongannya.



Foto 2.1 menunjukkan pokok *Vanda helvola* yang terdapat di Taman Pertanian Lagud Sebrang Tenom, Sabah.



Foto 2.1 Pokok *Vanda helvola* di Taman Pertanian Lagud Sebrang Tenom, Sabah.

Foto 2.2 menunjukkan bunga *Vanda helvola* dari pandangan dekat. Bunganya bersaiz antara 4-5 cm dan terbuka luas. Bunga *Vanda helvola* kelihatan gemuk, mempunyai permukaan yang kalis seperti lilin, harum dan boleh bertahan sehingga satu minggu. Ianya mempunyai gabungan pelbagai warna; sepal berwarna kuning kecoklatan, bahagian bawah bibir bunga berwarna keunguan dan hujung sepal berwarna krim (Chan *et al.*, 1994).



Foto 2.2 Bunga *Vanda helvola*

Vanda helvola mudah diperoleh di kawasan hutan yang berbukit-bukau, hutan bersungai, dan hutan bergunung-ganang. Secara umumnya, *Vanda helvola* hidup di tanah campuran pasir dan batu, berbatu dan batu berlumpur. Habitat semula jadi *Vanda helvola* adalah berpaut pada pokok yang besar. Ianya akan dijumpai terjuntai dan akarnya akan memegang kuat pada batang pokok (Chan *et al.*, 1994).

2.3 Mikropropagasi

Mikropropagasi merupakan kaedah penghasilan tumbuhan baru yang sama dengan induk secara langsung daripada eksplan yang diambil daripada pokok induk (Veeresham, 2004). Penggunaan kaedah mikropropagasi boleh diaplikasikan di dalam pelbagai sektor. Antaranya di dalam sektor perhutanan iaitu di bawah program pemuliharaan hutan. Kaedah ini terbukti kebaikannya apabila banyak kajian telah dilakukan dalam mencari cara terbaik bagi membanyakkan tumbuhan secara mikropropagasi seperti *Vanda coerulea* atau *Vanda* biru (Seeni dan Latha, 2000). Ia merupakan tumbuhan yang

dilindungi kerana telah mengalami kepupusan. Kaedah ini dilakukan secara *in vitro* dan melibatkan penggunaan bahagian vegetatif tumbuhan seperti daun, akar, pucuk, batang, dan nod batang sebagai eksplan.

Morel (1965) menggunakan kaedah mikropropagasi pertama kali terhadap orkid (Veeresham, 2004). Kini, ia telah menjadi perkara biasa dalam mengaplikasikan kaedah ini kepada pelbagai jenis tumbuhan seperti pokok *Fragaria* (Landi, 2005) dan pokok *Avena sativa* (Gless *et al.*, 1997). Selain untuk melindungi tumbuhan dari kepupusan, mikropropagasi turut diaplikasikan dalam pelbagai jenis industri seperti industri makanan dan minuman.

Terdapat beberapa faktor yang menyebabkan kaedah mikropropagasi sering diaplikasikan dalam kajian antaranya, ia sangat berguna kepada tumbuhan yang mempunyai kitar hidup yang panjang seperti orkid dan pokok jati. Selain itu, tumbuhan tersebut juga menghasilkan biji benih yang sedikit dan menyebabkan penghasilan progeni baru berkurangan. Secara umumnya, mikropropagasi mengambil masa yang singkat, ruang yang kecil dan berupaya menghasilkan anak pokok yang banyak (Veeresham, 2004). Ia juga dapat mengekalkan kualiti genetik yang dimiliki oleh pokok induk seperti ciri-ciri tahan serangga perosak serta jangkitan penyakit. Ini kerana hanya induk yang berkualiti dan terbaik sahaja dipilih sebagai sumber eksplan (Veeresham, 2004).

2.4 Penyediaan Eksplan Steril

Antara perkara yang perlu dilakukan sebelum mikropropagasi ialah pemilihan induk eksplan. Pemilihan induk eksplan yang berkualiti dan sihat merupakan faktor penting dalam menghasilkan anak pokok yang bermutu tinggi (Veeresham, 2004). Namun, pemilihan ini perlulah bersesuaian dengan objektif kajian yang ingin dilakukan. Kemudian, eksplan yang dipilih perlu disterilkan sebelum dikultur ke dalam media kultur. Kaedah steril yang selalu dilakukan adalah pensterilan permukaan eksplan. Biasanya ia dicuci menggunakan peluntur dan etanol. Selain itu, ia juga dirawat menggunakan antibiotik dan anti-fungal bagi mematikan segala mikroorganisma yang boleh mengakibatkan jangkitan kulat dan virus. Seterusnya, pemilihan media kultur yang sesuai juga penting bagi memastikan media mengandungi nutrien, vitamin dan hormon yang diperlukan oleh eksplan. Eksplan dipindahkan ke media kultur dan disimpan di bawah keamatan cahaya dan suhu yang bersesuaian.

2.5 Penggandaan Pucuk

Setelah beberapa minggu dikultur, eksplan akan menunjukkan perubahan bergantung kepada kekuatan sesuatu eksplan bertindak balas dengan rawatan hormon yang dibekalkan dalam media. Pertumbuhan pucuk juga berlaku disebabkan oleh rangsangan daripada hormon yang dibekalkan di dalam media rawatan (Veeresham, 2004). Sebelum membentuk pucuk, eksplan akan membengkak membentuk kalus atau jasad seperti protokom (JSP). Kemudian, JSP akan terus membentuk pucuk manakala, kalus akan membentuk JSP dan seterusnya kalus akan menghasilkan pucuk. Hormon memainkan

peranan yang penting pada peringkat ini kerana kepekatan yang tidak sesuai boleh mengakibatkan eksplan mati atau pertumbuhan terbantut.

2.6 Pertumbuhan Akar

Seterusnya, eksplan yang mempunyai pucuk akan dipindahkan ke media rawatan baru yang boleh merangsang pembentukan akar pada eksplan (Veeresham, 2004). Akar yang terhasil akan terus memanjang apabila hormon auksin dibekalkan pada media rawatan. Ini kerana kehadiran hormon auksin akan merangsang pertumbuhan dan pemanjangan akar (Salisbury dan Ross, 1992).

2.7 Pemindahan Anak Pokok ke Tanah

Akhirnya, setelah pucuk dan akar terhasil pada eksplan, ia akan dipanggil *planlet* lengkap. *Planlet* akan matang membentuk anak pokok yang sempurna. Kemudian, ia akan dipindahkan ke tanah yang mengandungi 100% humus. Ia perlu dilakukan secara berperingkat bagi memastikan anak pokok dapat menyesuaikan diri dengan habitat barunya (Veeresham, 2004). Setelah beberapa hari, anak pokok akan dipindahkan ke atas tanah biasa di dalam rumah hijau. Ia akan dibiarkan hidup secara normal seperti pokok-pokok lain. Namun, penjagaan rapi perlu diberikan agar ia dapat terus membesar dengan sihat.

RUJUKAN

- Banks, D.P., 1999. *Tropical Orchids of Malaysia and Singapore*. Periplus Editions (HK) Ltd., Singapore.
- Bhojwani, S.S. dan Razdan, M.K., 1983. *Plant Tissue Culture: Theory and Practice*. Development in Crop Science, Jilid 5. Elsevier Science Publisher B.V., Amsterdam.
- Biochemie, D., 2001. *Biochemicals Plant Cell and Tissue Culture*.
- 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 a Selection of Species*. The Sabah Society, Kota Kinabalu.
- Chen, T.Y., Chen, J.T. dan Chang, W.C., 2002. Plant regeneration through direct shoot bud formation from leaf cultures of *Paphiopedilum* orchids. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (2004), 11-15.
- Cingel, N.A.V.D., 1995. *An Atlas of Orchid Pollination: European Orchids*. A.A. Balkema/Rotterdam, Netherlands.
- Coleman, J.O.D., Evans, D. dan Kearns, A., 2003. *The Basic Plant Cell Culture*. BIOS Scientific Publishers. New York.
- Decruste, S.W., Gangaprasad, A., Seenii, S. dan Menon, V.S., 2002. Micropropagation and ecorestoration of *Vanda spathulata*, an exquisite orchid. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (2003), 199-202.

- Gless, C., Lorz, H. dan Jahne-Gartner, A., 1997. Establishment of a highly efficient regeneration system leaf base segments of oat (*Avena sativa* L.). *Plant Cell Rep* (1998) **17**, 441-445.
- Landi, L. dan Mezzetti, B., 2005. TDZ, auxin and genotype effects on leaf organogenesis in *Fragaria*. *Plant Cell Rep* (2006) **25**, 281-288.
- Malabadi, R.B., Mulgund, G.S. dan Nataraja, K., 2002. Efficient regeneration of *Vanda coerulea*, an endangered orchid using thidiazuron. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (2004), 289-293.
- Mitra, G.C., Prasad, R.N. dan Roychowdhury, A., 1976. *Inorganic Salts and Differentiation of Protocorms in Seed Callus of Orchid and Correlative Changes in Its Free Aminoacid Content*. Indian J. Exp. Biol. (14), 350-351.
- Nasiruddin, K.M., Begum, R. dan Yasmin, S., 2003. Protocorm like bodies and plantlet regeneration from *Dendrobium formosum* leaf callus. *Asian Journal of Plant Sciences* **2** (13), 955-957.
- Park, S.Y., Murthy, H.N. dan Paek, K.Y., 2001. Miss multiplication of protocorm like bodies using bioreactor system and subsequent plant regeneration in *Phalaenopsis*. *Plant Tissue Culture And Organ Culture* (63), 67-72.
- Puchooa, D., 2004. Comparison of different culture media of the *In Vitro* culture of *Dendrobium* (Orchidaceae). *International Journal of Agriculture and Biology*.
- Salisbury, F.B. dan Ross, C.W., 1992. *Plant Phisiology*, Jilid 4. Wadsworth Publishing Company Belmont, California.

- Seeni, S. dan Latha, P.G., 2000. *In vitro* Multiplication and ecorehabilitation of the endangered Blue *Vanda* (*Vanda coerulea*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (2000), 1-8.
- Sin, H.C., Wing, Y.T., Arditti, J. dan Krikorian, A.D., 2002. *Biology of Vanda* MISS JOAQUIM. Singapore University Press, Singapore.
- Sinha, P. dan Roy, S.K., 2004. Regeneration of an indigenous orchid, *Vanda teres* (Roxb.) Lindl. through *In Vitro* culture. *Plant Tissue Cult* **14** (1), 55-61.
- Stewart, J., 1988. *Kew Gardening Guide: Orchids*. Royal Botanic Gardens Kew, England.
- Veeresham, C., 2004. *Medicinal Plant Biotechnology*. CBS Publisher & Distributors, New Delhi.
- Vij, S.P. dan Sharma, V., 1996. Regenerative competence of *Vanda cristata* perianth segments: A study *in vitro*. *Journal of Orchid Soc. India* 10(1-2), 25-29.
- Vij, S.P. dan Pathak, P., 1990. *Micropropagation of Orchids Through Leaf Segments*. *Journal of Orchid Soc. India* 4(1,2), 69-88.
- Wood, J.J., Beaman, R.S. dan Beaman, J.H., 1993. *The Plant of Mount Kinabalu 2: Orchids*. Royal Botanic Gardens Kew, England.