

156285  
4000008744

REGENERASI CENTELLA ASIATICA DARI PETIOL



MOHD ZHARIF BIN DAHALAN  
HS2003-2801

DISERTASI YANG DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI  
SEBAHAGIAN DARIPADA SYARAT UNTUK MEMPEROLEHI  
IJAZAH SARJANA MUDA SAINS DENGAN KEPUJIAN

PENGARAH  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PROGRAM BIOTEKNOLOGI  
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

2006

PERPUSTAKAAN UMS



1400008744



UMS  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PUMS99:1

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

REGENERASI CENTELLA ASIATICA DARI PETIK

SAINS

IJAZAH SARJANA MUDA DENGAN KEPUTIAN

MOHD ZHARIF BIN DAHALAN SESI PENGAJIAN: 2003/2006  
(HURUF BESAR)

menbenarkan 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



ATANGAN PENULIS)

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

tap: LOT 468,  
-CRIG ANAK AIR  
✓ DAUN, 73000 TAMPIN,  
BILAN D.K  
-104/06

DR ZALEHA ABD AZIZ

Nama Penyelia

Tarikh: 26/04/06

\*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).

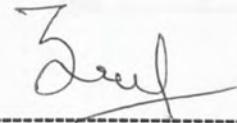


UMS  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

## PENGAKUAN

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

MARCH 2006



MOHD ZHARIF BIN DAHALAN  
HS2003-2801



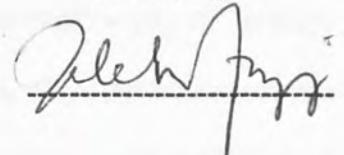
**UMS**  
UNIVERSITI MALAYSIA SARAWAK

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

1. PENYELIA

(DR ZALEHA BTE ABD AZIZ)

Tandatangan



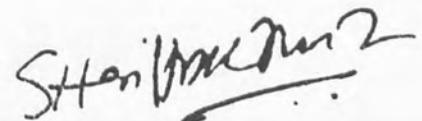
2. PEMERIKSA

(DR JUALANG @ AZLAN GANSAU)



3. DEKAN

(SUPT. K. PROF. MADYA DR. SHARIFF A.K OMANG) -----



## PENGHARGAAN

Bismillahirrahmanirahim.....

Rasa syukur ingin saya panjatkan ke hadrat Allah S.W.T kerana dengan limpah dan kurnia daripada-Nya dapat juga saya menyiapkan disertasi saya ini sebagai memenuhi sebahagian daripada syarat untuk memperolehi ijazah. Saya tidak keseorangan dalam menjalankan kajian ini kerana telah dibantu oleh banyak pihak yang terlibat sama ada secara langsung ataupun tidak, dan kepada mereka, ingin saya ucapkan jutaan terima kasih. Hanya Tuhan sahaja yang dapat membala. Pertama sekali, saya ingin tujukan ucapan ini kepada Dr Zaleha bte Abdul Aziz 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 juga ingin saya ucapkan kepada pelajar-pelajar master kerana turut membantu serba sedikit dalam memberikan maklumat yang diperlukan. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada kakitangan makmal Sekolah Sains dan Teknologi kerana telah banyak membantu saya dalam menyediakan radas dan bahan bagi menjalankan kajian ini.

Terima kasih juga ingin saya ucapkan kepada kedua ibubapa saya yang telah banyak memberikan semangat dan dorongan dan tidak dilupakan semua rakan yang telah banyak memberi kerjasama dan membantu. Diharap apa yang kita usahakan ini akan menjadi titik tolak untuk mencapai kejayaan yang lebih cemerlang pada masa akan datang.

## ABSTRAK

Kajian yang telah dijalankan pada *Centella asiatica* mendapati bahawa tumbuhan herba ini mengandungi kompaun aktif yang boleh digunakan dalam rawatan beberapa penyakit. Menyedari kepentingan *C. asiatica* dalam bidang perubatan, pengkulturan tumbuhan herba tersebut telah dilakukan bagi tujuan transformasi tumbuhan tersebut pada masa akan datang. Kajian yang dijalankan dalam projek ini adalah untuk menentukan jenis kultur media yang sesuai untuk regenerasi pucuk dari petiol *Centella asiatica*. Petiol muda dikultur pada media regenerasi yang berasaskan medium Murashige dan Skoog, 1962 (MS) yang mengandungi samada 2mg/l BAP, 0.1mg/l NAA dan kinetin yang berkepekatan 0,1,2,3 mg/l atau 4mg/l BAP, 0.25mg/l NAA dan kinetin yang berkepekatan 0,1,2,3 mg/l. Setelah eksplan dikultur pada media yang mengandungi kombinasi ketiga-tiga hormon tersebut didapati eksplan paling banyak menghasilkan kalus adalah pada media A4 ( 2mg/l BAP, 0.1mg/l NAA dan 3mg/l kinetin) di mana pada minggu ketiga sebanyak 93.3% eksplan telah menghasilkan kalus. Walaubagaimana pun, kualiti kalus yang paling baik pula adalah kalus pada media A8 ( 4mg/l BAP, 0.25mg/l NAA dan 3mg/l kinetin) di mana kalus nodular telah terbentuk pada minggu kesembilan. Dalam kajian ini juga, pucuk telah berjaya dihasilkan pada media A2 (BAP 2.0mg/l, NAA 0.1mg/l dan kinetin 1.0mg/l) pada minggu ke sepuluh. Secara keseluruhan, objektif kajian tercapai, tetapi kadar penghasilan pucuk oleh eksplan adalah amat rendah.

## ABSTRACT

Research that done on *Centella asiatica* had discovered that this herb contains active compounds that can be to treat many types of diseases. Realizing the importance of *C. asiatica*, the culture of this herb has been done with the purpose of transforming the plant in the future. The main objective of the research was to determine a suitable culture medium for shoot regeneration from *C. asiatica* petiole. Young petiole segment were cultured on regeneration media that was based on Murashige and Skoog (1963) medium containing either 2mg/l BAP, 0.1mg/l NAA and kinetin at the concentration 0,1,2,3 mg/l or 4mg/l BAP, 0.25mg/l NAA and kinetin with the concentrations at 0,1,2,3 mg/l. It was discovered that the explants produced the highest calli on medium A4 ( 2mg/l BAP, 0.1mg/l NAA and 3mg/l kinetin), with 93.3% explants produced calli. Nodula calli was formed on medium A8 ( 4mg/l BAP, 0.25mg/l NAA dan 3mg/l kinetin) on the 9<sup>th</sup> week. A shoot was formed on an explant on medium A2 ( 2mg/l BAP, 0.10mg/l NAA and 1mg/l kinetin) on the 10<sup>th</sup> week. In conclusion the objective of this study was achieved. However the frequency of shoot formation was very low.

## **KANDUNGAN**

	<b>Halaman</b>
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	xi
SENARAI FOTO	xii
SENARAI RAJAH	xiii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	<b>1</b>
<b>BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN</b>	<b>4</b>
2.1 PENGENALAN <i>CENTELLA ASIATICA</i>	4
2.2 KOMPAUN AKTIF DARI PEGAGA	6
2.3 NILAI TERAPI <i>CENTELLA ASIATICA</i>	7
2.4 KULTUR TISU TUMBUHAN	10
2.5 REGENERASI	11
2.5.1 Organogenesis	12
2.5.2 Organogenesis secara langsung	12
2.5.3 Organogenesis secara tidak langsung	13

2.6 PEMBENTUKKAN KALUS	14
2.7 FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI ORGANOGENESIS	15
2.7.1 Faktor hormon	15
2.7.2 Faktor cahaya	17
2.7.2 Faktor suhu	17
<b>BAB 3 KAEDAH DAN BAHAN</b>	<b>19</b>
3.1 KAEDAH PENYEDIAAN LARUTAN STOK	19
3.1.1 Kaedah penyediaan larutan stok makronutrien (10x)	20
3.1.2 Kaedah penyediaan larutan stok mikronutrien (100x)	21
3.1.2 Kaedah penyediaan larutan stok vitamin (100x)	22
3.1.3 Kaedah penyediaan larutan stok FeNaEDTA (10x)	23
3.2 KAEDAH PENYEDIAAN MEDIA SEPARA PEJAL UNTUK PENGKULTURAN	24
3.2.1 Kaedah penyediaan media separa pejal untuk pengkulturan internod	25
3.2.2 Kaedah penyediaan media separa pejal untuk regenerasi petiol	26
3.3 PENSTERILAN INTERNOD	29



3.4 PENYEDIAAN EKSPLAN DARI <i>CENTELLA ASIATICA</i>	31
3.5 PENGKULTURAN EKSPLAN PADA MEDIA YANG DITENTUKAN	32
3.6 KAE DAH PENGIRAAN UNTUK MENDAPATKAN PERATUSAN PENGHASILAN KALUS, PUCUK DAN AKAR DARIPADA EKSPLAN PETIOL.	34
3.7 3.6 PARAMETER YANG DICERAP	35
<b>BAB 4 KEPUTUSAN</b>	
4.1 KESAN MEDIA REGENERASI TERHADAP PETIOL <i>CENTELLA</i> <i>ASIATICA</i>	36
4.2 KESAN MEDIA REGENERASI TERHADAP CIRI-CIRI KALUS	43
4.3 KADAR PENGHASILAN PUCUK/ AKAR DALAM MEDIA REGENERASI	45

**BAB 5 PERBINCANGAN**

5.1 PEMBENTUKAN KALUS	48
5.2 FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI KADAR PERTUMBUHAN KALUS	49
5.3 MEDIA YANG MENGHASILKAN KALUS DENGAN PENCIRIAN YANG TERBAIK	52
5.4 MASALAH-MASALAH YANG DIHADAPI DALAM PROSES REGENERASI <i>CENTELLA ASIATICA</i>	53
<b>BAB 6 KESIMPULAN</b>	55
<b>RUJUKAN</b>	56
<b>LAMPIRAN</b>	59



## **SENARAI JADUAL**

No. Jadual	Muka Surat
1.0 Komponen-komponen larutanstok makronutrien.	21
2.0 Komponen-komponen larutan stok mikronutrien.	22
3.0 Komponen-komponen larutan vitamin	23
4.0 Komponen-komponen sumber ferum	24
5.0 Rekabentuk kombinasi ketiga-tiga jenis hormon BAP, NAA dan kinetin.	28
6.0 Contoh peratus penghasilan kalus, pucuk dan akar daripada eksplan	34



## SENARAI FOTO

No. Foto	Muka Surat
1.0 Anak panah menunjukkan bahagian internod yang akan disteril dan dikultur	29
2.0 Anak panah menunjukkan bahagian petiol yang akan dikultur	32
3.0 Foto menunjukkan respon petiol pada medium A4 (BAP 2.0mg/l, NAA 0.10mg/l dan kinetin 3.0mg/l)	40
4.0 Foto menunjukkan respon petiol pada medium A4 (BAP 4.0mg/l, NAA 0.25mg/l dan kinetin 3.0mg/l)	41
5.0 Foto menunjukkan bentuk kalus yang terhasil pada medium A8 (BAP 4.0mg/l, NAA 0.25mg/l dan kinetin 3.0mg/l)	42
6.0 Foto menunjukkan bentuk kalus yang terhasil pada medium A8 (BAP 4.0mg/l, NAA 0.25mg/l dan kinetin 3.0mg/l) dan medium A7 (BAP 4.0mg/l, NAA 0.25mg/l dan kinetin 2.0mg/l)	44
7.0 Foto menunjukkan pembentukan pucuk dan kalus yang terhasil pada media A2 (BAP 2.0mg/l, NAA 0.10mg/l dan kinetin 1.0mg/l) dan media A4 (BAP 2.0mg/l, NAA 0.10mg/l dan kinetin 3.0mg/l).	47



**SENARAI RAJAH**

No. Rajah	Muka Surat
1.0 Struktur kimia asiatikosid yang terdapat pada <i>Centella asiatica</i>	7
2.0 Graf menunjukkan kadar penghasilan kalus bagi ketiga-tiga replikasi untuk kelapan- lapan minggu	39



## BAB 1

### PENDAHULUAN

*Centella asiatica* adalah terdiri dalam famili Umbelliferae. *Centella. asiatica* juga dikenali sebagai *Gotu Kola*, *Indian Pennywort*, *Mandoakaparni* dan di Malaysia ia dikenali sebagai pegaga. Dalam perubatan tradisional India, *C. asiatica* digunakan oleh masyarakat di India sebagai tonik untuk kecerdasan otak. Ia juga digunakan dalam rawatan penyakit kusta, bronkitis, penyakit kulit, *leucorrhea* dan penyakit *urethritis*. Aktiviti penyembuhan luka yang terdapat pada *C. asiatica* adalah disebabkan oleh terdapatnya kandungan saponin triterpenoid yang ada padanya. Manakala asid *madecassic* yang terkandung pada spesies ini juga berfungsi dalam rawatan tumor.

*Centella asiatica* atau pegaga mempunyai bentuk daun yang ringkas, kecil, nipis, berwarna hijau dan berbentuk hati. Setiap daun adalah berukuran 2 cm hingga 4 cm dalam diameter. Tiga hingga empat daun boleh tumbuh daripada batang. Pegaga juga adalah herba jenis merayap yang kecil, semusim, berbatang halus panjang dan daunnya berbentuk ginjal(Abdul Reezal Abdul Latif, 2005). Pegaga boleh tumbuh dalam keadaan terdedah dari cahaya matahari tetapi kebanyakkan habitat yang



terdapat banyaknya pegaga adalah pada kawasan yang kurang terdedah pada pancaran cahaya matahari dan pada permukaan tanah yang lembap.

Di Malaysia, pegaga tempatan biasanya dijual oleh pengusaha-pengusaha kecil di mana mereka memperolehi pegaga ini daripada pekebun-pekebun yang menanam pegaga atau mereka menanamnya sendiri dan dijual dipasar-pasar malam. Dengan bertambahnya permintaan dan kepentingan pegaga khususnya pada peringkat global, para pengilang telah mula mengambil peluang menghasilkan produk berasaskan pegaga. Masalah kesukaran untuk mendapatkan bahan-bahan mentah yang berkualiti merupakan masalah utama bagi semua para pengeluar. Oleh itu, berdasarkan khasiat-khasiat yang terdapat pada pegaga dan permintaan yang tinggi pada peringkat global, para penyelidik telah mula menjalankan kaedah kultur tisu tumbuhan bagi membangunkan sistem regenerasi pegaga yang akan digunakan dalam transformasi pegaga. Pegaga yang dihasilkan melalui kaedah kultur tisu lebih berkualiti berbanding dengan pegaga yang ditanam oleh para petani kerana proses pengkulturan tersebut dilakukan dalam keadaan yang bebas dari jangkitan mikroorganisma (Babu *et al.*, 1995).

Kelebihan kaedah ini juga ialah pokok pegaga baru boleh dihasilkan daripada mana-mana bahagian yang terdapat pada pokok induk. Contohnya seperti daun, batang, akar, pucuk atau petiol. Dalam kajian ini, petiol dari *C. asiatica* atau pegaga telah diambil bagi menjalankan kaedah regenerasi yang terdiri daripada salah satu cabang dalam kultur tisu. Kaedah ini juga bergantung pada kombinasi hormon yang akan digunakan untuk menghasilkan anak pokok baru dari pokok induk. Dalam kajian ini, objektif utama yang hendak dicapai ialah menilai kesan hormon pertumbuhan

NAA, BAP dan kinetin ke atas regenerasi pucuk *C. asiatica* menggunakan eksplan petiol. Ketiga-tiga kombinasi hormon ini akan digunakan dalam regenerasi *C. asiatica* mengikut kepekatan yang berbeza.



## BAB 2

### ULASAN PERPUSTAKAAN

#### 2.1 Pengenalan *Centella asiatica*

Pokok pegaga atau nama saintifiknya *Centella asiatica* yang berasal dari famili Umbelliferae ialah pokok herba yang tumbuh menjalar yang pada asalnya merupakan rumpai tetapi sekarang telah menjadi sayuran yang berkhasiat. Daunnya yang kecil, berbentuk bulat seperti ginjal dan bergerigi sedikit di bahagian tepinya menutupi permukaan tanah. Beberapa bunga yang berwarna putih membentuk ‘kepala’ yang dinamakan ‘umbel’ (Goh *et al.*, 1995). Pegaga dan penyediaannya telah digunakan dimasa silam terutamanya dalam bidang perubatan ayurvedic, di India. Dalam perubatan tradisional China, daun pegaga digunakan pada zaman dahulu untuk merawat depresi dan memanjangkan usia. Ia juga dikenali sebagai tumbuhan untuk mengekalkan awet muda. Pada masa kini, Pertubuhan Kesihatan Sedunia (WHO) telah mengenalpasti tumbuhan ini sebagai salah satu tumbuhan yang digunakan dalam bidang perubatan yang perlu dipelihara (MARDI, 2000).

Terdapat tiga sub-spesis daun pegaga telah dikenalpasti di Malaysia. Penduduk tempatan mengenalinya sebagai pegaga salad, pegaga biasa atau pegaga ubi dan

pegaga nyonya atau juga dikenali sebagai pegaga kerinting (Abdul Reezal Abdul Latif, 2005). Tumbuhan ini mempunyai kawasan habitat yang luas kerana boleh tumbuh dengan cahaya yang kurang di pinggir hutan kawasan lapang yang mempunyai tanah lembap seperti parit dan kawasan air yang cetek. Ia boleh tumbuh di kawasan tropika dan separa tropika. Pokok pegaga juga boleh tumbuh secara vegetatif dengan menggunakan rhizomes. Pokok herba ini sangat sesuai ditanam di atas tanah gembur yang mempunyai kandungan bahan organik yang tinggi. Dalam penanaman pokok herba yang telah dilakukan oleh para petani, penambahan baja organic dilakukan secara berulang-ulang pada setiap tiga bulan (Babu *et al.*, 1995).

Biasanya, pegaga yang telah disemai akan dituai hasilnya selepas 60 hari ia ditanam. Pokok herba ini biasanya dituai selepas daunnya telah mencapai saiz kira-kira 4 cm luasnya. Masalah yang sering dihadapi oleh para petani semasa penanaman pokok herba ini ialah, ia mudah diserang oleh serangga perosak dan juga serangan bacteria perosak yang menyebabkan pengeluaran pokok herba ini berkurangan dan kualiti pokok herba ini juga terjejas (Babu *et al.*, 1995). Justeru para penyelidik mula membuat penyelidikan bagi memastikan kualiti dan kualiti pokok herba ini terjamin. Mereka telah mula mengkultur pokok herba ini bagi mendapatkan produk yang berkualiti.

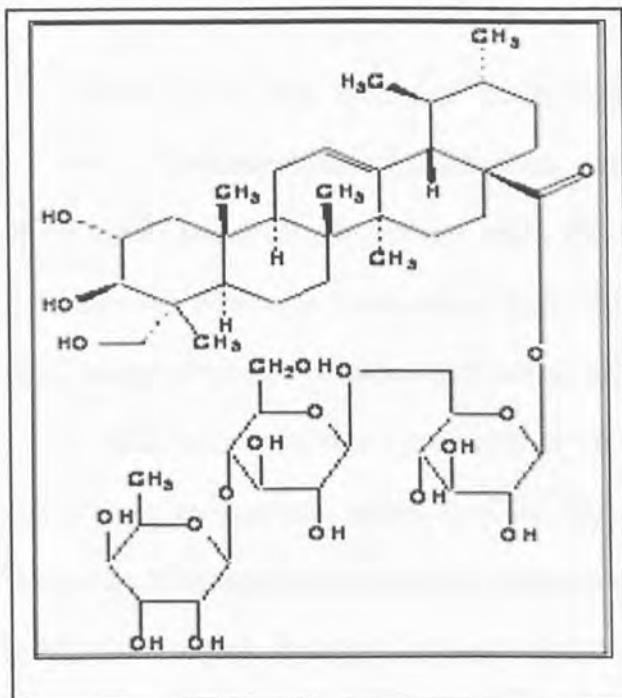


## 2.2 Kompaun Aktif Daripada Pegaga

Para penyelidik telah pun mengkaji kandungan-kandungan yang menjadikan pegaga sebagai tumbuhan herba yang mempunyai potensi untuk diperluaskan. Mereka mendapati beberapa kandungan-kandungan kimia yang berpotensi untuk dikomersialkan. Antaranya asid asiatik, asiatikosid, asid madekassik, madekassosid.

Selain itu terdapat bahan kimia lain yang juga boleh dikomersialkan. Antaranya asid askorbik, asid betulik, asid betulinik, asid brahmic, brahminosida, B-karotin, asid centellic, N-dodecane, asid indocentoic, inositol, asid madasiatic, myoinositol, niacin, riboflavin, Beta sitosterol, tiamin, alkaloid, linolik, polifenol, saponin, gula, tannin dan triterpene (Aziz Fam, 1973).

Triterpenoid yang terkandung dalam pegaga juga adalah kompaun aktif yang berfungsi sebagai penyembuhan luka dan kurangkan tekanan (Luckner, 1992). Triterpenoid merupakan kompleks tidak berwarna, berkristal, mudah cair yang menjadikannya bahan aktif. Triterpene terbahagi kepada empat kumpulan, iaitu triterpene, steroid, saponin dan kardiak glikosida (Goh *et al.*, 1995). Ini menerangkan bahawa pegaga menyediakan berbagai-bagai bahan kimia, tindakbalas metabolism primer dan sekunder yang menghasilkan kompaun metabolit primer dan sekunder. Kompaun metabolit sekunder adalah yang paling menarik disebabkan oleh fungsinya yang berbeza dan aktiviti biologinya (antimikrob, antibiotik). Organisma yang berkelas rendah juga tidak berupaya menghasilkan dan menyimpan kompaun metabolit sekunder dimana ia menunjukkan bahawa pegaga adalah tumbuhan dari kelas pertama.



**Rajah 1:** Gambar ini menunjukkan struktur kimia asiatikosid yang terdapat pada pegaga (MARDI., 2000).

### 2.3 Nilai Terapi *Centella asiatica*

Pegaga merupakan salah satu ulam yang terkenal dikalangan masyarakat Melayu. Ia dipercayai boleh mengembalikan selera makan dan membantu dalam pencernaan. Ketiga-tiga sub-spesis yang dinyatakan dihidang sebagai ulam. Daun dan batang pegaga juga dimakan sebagai ulam dan dicicah bersama sambal belacan. Dalam perubatan tradisional Melayu, pegaga dikenali sebagai tumbuhan yang ‘panas’ dan disyorkan kepada para ibu yang baru melahirkan anak untuk memanaskan badan, mengelutkan rahim dan membaiki perjalanan darah (Abdul Reezal Abdul Latif, 2005).

Selain itu ia juga digunakan untuk merawat penyakit kulit. Jus pegaga diekstrak dari daun dan direbus atau ditumbuk sehingga pekat. Hasil ekstraknya pahit tetapi boleh dicampur dengan gula atau madu. Daun yang telah ditumbuk disapu pada tekak, ulser dan luka untuk membantu penyembuhan (MARDI., 2000). Pucuk pegaga disapu di dahi dan badan untuk menyembuhkan demam. Ia digunakan untuk merawat keloids, lupus, sakit kulit, selulit dan sawan. Di India, daun pegaga digunakan untuk rawatan kulit, memperbaiki sistem saraf dan menguatkan daya ingatan. Daun yang dikeringkan boleh dijadikan sebagai teh manakala daun yang dipetik boleh dibuat jus. Di Malaysia, pegaga dipercayai sebagai tumbuhan yang boleh mengekalkan awet muda. Buat masa ini juga kajian dijalankan oleh sesetengah universiti di luar negara untuk mengkaji keberkesanan ekstrak pegaga dalam membantut pembiakan larva nyamuk (Abdul Reezal Abdul Latif, 2005).

Ujian ke atas tikus menunjukkan bahan ekstrak dari pegaga berupaya mengaruhkan pertumbuhan rambut dan kuku (Kumar dan Gupta, 2002). Ekstrak pegaga merangsang kesan penyembuhan apabila ia disapu pada luka seekor tikus. Bahan ekstrak yang terdapat pada pegaga boleh juga dijadikan sebagai bahan pelali dan ini telah diuji melalui ujian farmakologi yang dijalankan pada seekor tikus. Larutan ekstrak pegaga yang berkepekatan 25mg/kg boleh mengurangkan kesan spontan pada aktiviti saraf dan merencat pentylenetetrazole yang merangsang penyakit sawan pada tikus. Bahan ekstrak ini juga berpotensi merangsang tidur tikus tersebut kerana terdapat pentobarbitone dalam ekstrak pegaga tersebut dan pentobarbitone yang terdapat dalam pegaga boleh dijadikan sebagai ubat pelali (Widgerow *et al.*, 2000). Selain itu, bahan ekstrak mentah yang telah di tapis juga mampu membantut pertumbuhan tumor yang terdapat pada tikus tersebut. Bahan ekstrak yang terdapat

pada pegaga juga mampu menrencat penyakit gastrik yang disebabkan oleh cuaca yang sejuk atau tekanan yang berlebihan dan ini telah diuji pada seekor tikus *Charles-Foster* (Babu *et al.*, 1995).

Ekstrak ethanol dari pegaga juga merangsang aktiviti anti tekanan terhadap tekanan yang berlaku disebabkan oleh pembentukkan ulser gastrik pada tikus (Babu *et al.*, 1995). Bahan ekstrak hidroalkohol dari pegaga juga menunjukkan kesan penenang yang boleh dijadikan bahan pelali bagi menahan kesan sakit (Jaganath dan Ng, 2000). Bahan ekstrak lain yang terdapat dalam pegaga juga mempunyai khasiat masing-masing. Antaranya ekstrak hexane yang memainkan peranan dalam merencat segala aktiviti *Basilius subtilis*, *Escherischia coli*, *Stigmatesrol* dan *stigmatesrol-B-D-glucopyranoside* memainkan peranan sebagai bahan *antifeedant* secara signifikan.

Selain itu, asiatikosid, madekassosid, asid asiatik dan asid madekassik yang juga dikenali sebagai bahan triterpenoid dalam pegaga, berupaya mengurangkan jisim pada granuloma dan bahan triterpenoid ini juga terlibat dalam biosintesis kolagen dan fibronektin dalam kultur fibroblast kulit manusia (Aziz Fam, 1973). Asiatikosid juga berpotensi dalam meningkatkan kesan penyembuhan pada permukaan kulit yang luka. Bahan ini juga berpotensi merawat penyakit kusta (Herbert *et al.*, 1994). Suntikan asiatikosid ke dalam badan tikus, tikus belanda dan arnab menunjukkan penebalan kulit yang cepat dan pertumbuhan bulu yang cepat pada badan haiwan-haiwan yang diuji tadi (Babu *et al.*, 1995). Asiatikosid juga berfungsi dalam penyingkiran toksik dalam badan. Bahan ekstrak pegaga juga berupaya mengurangkan kecederaan akibat oleh kesan radiasi pada kulit (Chen dan Chang, 1999). Ujian telah dilakukan bagi memastikan bahan ekstrak dari pegaga berkesan dalam mengurangkan kesakitan

akibat dari kesan radiasi. Pada sukatan radiasi yang tinggi, tetradrine iaitu bahan ekstrak dari pegaga menunjukkan kesan penyembuhan yang lebih baik berbanding dari bahan ekstrak daripada tumbuhan lain (Chen dan Chang, 1999). Tetradrine sangat berkesan dalam mengurangkan kesakitan akibat radiasi kerana ia terdiri dari bahan-bahan yang aktif dalam anti-pelecuran.

#### **2.4 Kultur Tisu Tumbuhan**

Kultur tisu tumbuhan adalah satu kaedah yang telah diperkenalkan oleh Gotlieb Haberland pada tahun 1902 dimana ia telah memperkenalkan satu kaedah kultur tumbuhan. Dalam kaedah kultur tisu yang diperkenalkan tersebut, bahagian kecil seperti daun, batang, embrio atau akar daripada tumbuhan induk dikultur ke dalam tabung uji di mana keadaan persekitarannya yang bebas dari jangkitan mikroorganisma dengan kehadiran bahan nutrien yang sesuai dalam tabung uji tersebut (Bhojwani dan Razdan, 1983). Daripada kaedah tersebut, struktur baru akan terbentuk seperti kalus, pucuk atau akar bergantung pada apa yang hendak diperolehi dari proses kultur tisu tersebut.

Kultur tisu tumbuhan juga boleh diaplikasikan untuk menggandakan benih melalui proses regenerasi, di mana regenerasi terdiri daripada organogenesis dan embriogenesis. Aplikasi-aplikasi lain yang boleh diaplikasikan dalam kultur tisu seperti penghasilan metabolik sekunder, kejuteraan gentetik dan teknologi protoplas di mana penghasilan pokok yang berbagai jenis hasil dari penggabungan dua atau lebih baka. Kebaikkan kultur tisu tumbuhan adalah ia dapat menghasilkan pertumbuhan



## RUJUKAN

Abdul Reezal Abdul Latif, 2005. *Pegaga, Kajian Bioteknologi buktikan Khasiatnya*. Utusan Malaysia. Kuala Lumpur Biotechnology Sdn. Bhd.

Aziz Fam, M.B., 1973. *Experiment in Plant Tissue Culture*. Ed. Ke-3. Cambridge University Press, Cambridge.d

Babu, T.D., Kuttan G dan Padikkala J, 1995. Centella asiatica. *J Ethnopharmacol*, 48(1): 53-57

Bhojwani, S.S. dan Razdan, M.K., 1983. *Plant Tissue Culture Theory and Practices*. Elsevier, Amsterdam, Oxford.

Chen Y.J., dan Chang A, 1999. The effect of tetrandrine and extracts of *Centella asiatica* on acute radiation dermatitis in rats. *Biology Pharmacy Bulletin*, 22(7):703-706

Das S., Jha, T.B., dan Jha, S., 1996. Organogenesis and regeneration from pigmented Callus in *Camelia Simersis* (L.). *Journal of Plant Science*. 207-212

Endress, R., 1994. *Plant Cell Biotechnology*. Springer Verlag. New York. 18-22

Goh, S.H. , Chuan, C.H., Mok, J.S., dan Soepadimo E., 1995. *Malaysian Medicinal Plants for the treatment of Cardiovascular disease*. Pelanduk Publication. Kuala Lumpur

Herbert D, Paramasivan CN, Prabhakar R dan Swaminathan G, 1994. *In vitro* experiment with *Centella asiatica*. *Indian J Leprosy*, 66(1): 65-68

Jaganath, I.B. dan Ng, L.T., 2000. *Herbs the Green Pharmacology of Malaysia*. Vinpress Sdn. Bhd. In Collabaranion with Mardi, 5-7

Kumar, M.H.V. dan Gupta, Y.K., 2002. Effect of different extract of *Centella asiatica* on Cognition and Markers of Oxidative Stress in Rats. *Journal of Ethnopharmacology* 79,(2): 253-260

Luckner, M., 1992. *Secondary Metabolism In Plants and Animals*. Academic Press. New York, 32-34

Mantell, S.H. Mathews, J.A. dan McKee, R.A., 1985. *Principle of Plant Biotechnology*. An Introduction to Genetic Engineering in Plant. Blackwell Scientist Publisher Oxford. London, Edinburgh. 89-130

MARDI, 2000. *Herba Berpotensi di Malaysia*. Institut Penyelidikan dan Kemajuan Pertanian Malaysia

Murashige, T. dan Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15: 473-497

Niranjan, P.S.K.R. dan Ninra, S.B., 1998. *Plant Cell and Tissue Culture*. Pelanduk Publication. Kuala Lumpur. 207-304

Pierek, R.L.M., 1997. *In vitro Culture of Higher Plants*. Klewar Academic Publisher. London. 200-224

Ross, C.W. dan Salisbury F.B., 1992. *Fisiologi Tumbuhan*. Dewan Bahasa dan Pustaka. Kuala Lumpur. 337-364

Tiwari, K.N., Sharma N.C., Tiwari, V. Dan Singh, B.D., 2000. *Plant Cell and Tissue Organ Culture*. Micropropagation of *C. asiatica* (L.) evaluable medicinal herb. 63(3): 179-185

Trigiano, R.N dan Gray, D.J., 2000. *Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercise*. Edisi ke-2. CRC Press CLC. Boca Raton. FL

Widgerow, A.D., Chait, L.A., Stals R dan Stals, P.J., 2000. New Innovations in Scar Management. *Aesthetic Plast Surgery*, 24(3): 227-234

