

ISI KANDUNGAN

TAJUK	MUKASURAT	
PENGHARGAAN	i	
ABSTRAK	ii	
ABSTRACT	iii	
ISI KANDUNGAN	iv-vii	
SENARAI JADUAL	viii-ix	
SENARAI RAJAH	ix-x	
SENARAI PLAT	xi-xii	
SENARAI SINGKATAN KATA	xiii-xiv	
BAB 1	PENGENALAN	1
1.1	Famili Zingiberaceae dan kepentingannya	3
1.2	Genus <i>Curcuma</i> Linnaeus	5
1.3	Kepentingan spesies-spesies genus <i>Curcuma</i>	7
1.4	Pengenalan am spesies-spesies kajian	9
1.5	Kajian antibakteria	14
1.5.1	Sejarah penggunaan tumbuhan sebagai sumber ubatan	14
1.5.2	Kandungan bahan kimia penting	15
1.5.3	Aktiviti biologi spesies-spesies famili Zingiberaceae	17
1.6	Kajian mikropropagasi	19
1.6.1	Kelebihan menggunakan kaedah kultur tisu	19
1.6.2	Kultur <i>in vitro</i> spesies-spesies famili Zingiberaceae	21
1.7	Analisa DNA terhadap kajian pemetaan tumbuhan	26
1.7.1	Teknik-teknik biologi molekul untuk kajian pemetaan DNA tumbuhan	27
1.7.1.1	RFLP	27

TAJUK**MUKASURAT**

1.7.1.2 RAPD	27
1.7.1.3 AFLP	28
1.7.1.4 Mikrosatelit	28
1.7.2 Analisa dan aplikasi RAPD	28
1.7.3 Aplikasi RAPD terhadap spesies-spesies famili Zingiberaceae	32

BAB 2 KAJIAN ANTIBAKTERIA

2.1 Pengenalan	34
2.2 Bahan dan kaedah	40
2.2.1 Sumber sampel kajian	40
2.2.2 Penyediaan sampel ekstrak krud	41
2.2.3 Penyediaan media untuk kultur bakteria	41
2.2.4 Bakteria kajian	43
2.2.5 Inokulum untuk ujian antibakteria	43
2.2.6 Ujian antibakteria semi kuantitatif	44
2.2.6.2 'Paper-disk Diffusion Assay'	44
2.2.7 Ujian aktiviti antibakteria secara kuantitatif	44
2.2.7.1 'Determination of Minimum Inhibitory Concentration'	44
2.2.7.1.1 '2-Fold Broth Dillution Method'	44
2.3 Keputusan	46
2.3.1 Ekstrak tumbuhan	46
2.3.2 Kajian aktiviti antibakteria terhadap ekstrak spesies kajian	46
2.3.3 Ujian kuantitatif aktiviti antibakteria <i>C. inodora</i> aff.	52
2.4 Perbincangan	57
2.4.1 Aktiviti antibakteria spesies-spesies <i>Curcuma</i> ubatan	57

BAB 3 KAJIAN MIKROPROPAGASI

3.1	Pengenalan	66
	3.1.1 Sejarah penggunaan kaedah kultur tisu	69
3.2	Bahan dan kaedah	71
	3.2.1 Penyediaan eksplan	71
	3.2.2 Teknik aseptik	72
	3.2.3 Pensterilan eksplan	73
	3.2.4 Penyediaan media kultur	77
	3.2.5 Kesan hormon ke atas eksplan	78
	3.2.6 Kultur tunas berganda	79
	3.2.7 Penyediaan media pengakaran dan kajian pembentukan akar	79
	3.2.8 Percambahan plantlet secara <i>in vivo</i>	80
	3.2.9 Aklimatisasi dan pemindahan ke rumah hijau	80
3.3	Keputusan	82
	3.3.1 Sumber eksplan	82
	3.3.2 Kaedah pensterilan	83
	3.3.3 Pengkulturan eksplan ke atas media permulaan	85
	3.3.4 Kesan hormon ke atas eksplan	87
	3.3.5 Kultur tunas berganda	90
	3.3.6 Kajian NAA terhadap pembentukan akar	99
	3.3.7 Regenerasi tumbuhan lengkap	100
	3.3.8 Pemindahan plantlet lengkap ke tanah	100
	3.3.9 Aklimatisasi <i>in vivo</i>	100
3.4	Perbincangan	112
	3.4.1 Pemilihan sumber eksplan	112
	3.4.2 Langkah pensterilan	115
	3.4.3 Pengkulturan ke atas media	118
	3.4.4 Aklimatisasi dan penanaman ke rumah hijau	125

BAB 4 ANALISA RAPD

4.1	Pengenalan	129
4.2	Bahan dan kaedah	131
4.2.1	Penyediaan sampel	131
4.2.2	Pengekstrakan DNA	131
4.2.3	Elektroforesis gel	133
4.2.4	Spektrofotometer	133
4.2.5	'Random Amplified Polymorphic DNA' (RAPD)	134
4.2.5.1	Parameter 'Polymerase Chain reaction' (PCR)	134
4.2.5.2	Pengskrinan primer-primer	135
4.2.5.3	Analisa data RAPD	137
4.2.5.4	Kelompok spesies menggunakan 'Ward's Method'	137
4.3	Keputusan	138
4.3.1	Ekstrak dan isolasi DNA	138
4.3.2	'Random Amplified Polymorphic DNA' (RAPD)	139
4.3.2.1	Pengskrinan primer	139
4.3.2.2	Profil RAPD	145
4.3.2.3	Analisa data	145
4.4	Perbincangan	150
4.4.1	Ekstrak DNA	150
4.4.2	RAPD	154
4.4.2.1	Parameter optima PCR	154

BAB 5 PERBINCANGAN AM DAN KESIMPULAN

5.1	Perbincangan am	163
5.2	Kesimpulan	169

RUJUKAN	171
----------------	------------

LAMPIRAN	192
-----------------	------------

SENARAI JADUAL

TAJUK	MUKASURAT
Jadual 1	Taburan dan kegunaan spesies-spesies kajian secara am 8
Jadual 2	Morfologi rizom yang digunakan di dalam kajian secara am dan ukuran berdasarkan yang ditanam di Rimba Ilmu, universiti Malaya dan MARDI Perak 9
Jadual 3	Ringkasan kandungan komposisi kimia genus <i>Curcuma</i> 16
Jadual 4	Sebahagian daripada kajian kultur <i>in vitro</i> spesies-spesies famili Zingiberaceae yang telah berjaya menghasilkan tumbuhan lengkap 22
Jadual 5	Tumbuhan yang digunakan oleh masyarakat Melayu sebagai ubatan tradisional untuk aktiviti antimikrob 37
Jadual 6	Beberapa penyakit yang disebabkan oleh bakteria 40
Jadual 7	Pengenalan am kepada kumpulan bakteria yang digunakan dalam kajian. 42
Jadual 8	Media kultur untuk pertumbuhan bakteria 43
Jadual 9	Ciri-ciri ekstrak krud spesies kajian 46
Jadual 10	Ukuran (mm) diameter perencatan ekstrak spesies-spesies <i>Curcuma</i> terhadap bakteria kajian 47
Jadual 11	Nilai MIC ekstrak <i>C. inodora</i> aff. berbanding kawalan 52
Jadual 12	Genus bakteria yang sering berasosiasi dengan tumbuhan 67
Jadual 13	Faktor-faktor eksplan yang dikaji 71
Jadual 14	Jenis media yang digunakan dalam kajian 78
Jadual 15	Tinggi tunas pucuk yang digunakan sebagai sumber eksplan 82
Jadual 16	Pemerhatian terhadap ciri-ciri eksplan yang dikaji 83
Jadual 17	Purata bilangan pucuk dan akar bagi setiap eksplan di dalam media MSO 85

TAJUK	MUKASURAT
Jadual 18	Kesan hormon terhadap respons kehadiran pucuk berganda 88
Jadual 19	Perbandingan parameter spesies kajian <i>in vivo</i> dan <i>in vitro</i> selepas berusia 12 bulan di rumah hijau 110
Jadual 20	Parameter yang diuji untuk RAPD-PCR 135
Jadual 21	Jujukan primer yang digunakan dalam kajian 136
Jadual 22	Hasil DNA menggunakan 2 protokol ekstraksi berbeza 138
Jadual 23	Ketulenan DNA spesies-spesies kajian. 139
Jadual 24	Nilai peratus persamaan genetik spesies-spesies kajian 146
Jadual 25	Nilai komponen 1 dan 2 pada analisa plot komponen 119

SENARAI RAJAH

TAJUK	MUKASURAT
Rajah 1	Ilustrasi tiub-tiub yang diatur untuk mendapatkan nilai MIC 53
Rajah 2	Peringkat-peringkat pengakaran dan aklimitasi plantlet secara ringkas 81
Rajah 3	Hasil kultur dari 3 kaedah pensterilan yang berbeza 84
Rajah 4	Purata bilangan pucuk, akar, daun dan panjang pucuk spesies kajian yang berusia 6 minggu pada media optima 3.0 mg/l BAP. Bar mewakili sisihan piawai, n = 10. 93
Rajah 5	Purata bilangan pucuk, daun dan akar serta tinggi pucuk pada usia 6 minggu untuk <i>C. aeruginosa</i> pada kepekatan BAP yang berbeza. Bar mewakili sisihan piawai, n = 10. 94

TAJUK	MUKASURAT
Rajah 6	Purata bilangan pucuk, daun, akar dan tinggi pucuk, pada usia 6 minggu untuk <i>C. mangga</i> pada kepekatan BAP yang berbeza. Bar mewakili sisihan piawai, n = 10. 94
Rajah 7	Purata bilangan pucuk, daun, akar dan tinggi pucuk pada usia 6 minggu untuk <i>C. rubescens</i> pada kepekatan BAP yang berbeza. Bar mewakili sisihan piawai, n = 10. 95
Rajah 8	Purata bilangan pucuk, daun, akar dan tinggi pucuk, pada usia 6 minggu untuk <i>C. xanthorrhiza</i> pada kepekatan BAP yang berbeza. Bar mewakili sisihan piawai, n = 10. 95
Rajah 9	Purata bilangan pucuk, daun, akar dan tinggi pucuk pada usia 6 minggu untuk <i>C. zedoaria</i> pada kepekatan BAP yang berbeza. Bar mewakili sisihan piawai, n = 10. 96
Rajah 10	Purata bilangan pucuk, daun, akar dan tinggi pucuk pada usia 6 minggu untuk <i>C. inodora</i> aff. pada kepekatan BAP yang berbeza. Bar mewakili sisihan piawai, n = 10. 96
Rajah 11	Bilangan pucuk dan akar spesies kajian setiap subkultur (1-4). Bar mewakili sisihan piawai, n = 10. 97
Rajah 12	Perbandingan hasil <i>in vitro</i> dan <i>in vivo</i> spesies kajian yang diukur selepas 12 bulan di tanam di rumah hijau 109
Rajah 13	Keputusan profil RAPD menggunakan primer OPA dan OPE 141
Rajah 14	Dendogram spesies-spesies kajian berdasarkan 'Ward's Methods' 147
Rajah 15	Analisa plot komponen yang dihasilkan melalui kaedah 'Ward's Methods' yang menunjukkan pengasingan kepada 3 kumpulan spesies kajian menerusi ekstrak daripada 2 komponen 148

SENARAI PLAT

TAJUK	MUKASURAT
Plat 1	<i>Curcuma aeruginosa</i> 11
Plat 2	<i>Curcuma mangga</i> 11
Plat 3	<i>Curcuma rubescens</i> 12
Plat 4	<i>Curcuma xanthorrhiza</i> 12
Plat 5	<i>Curcuma zedoaria</i> 13
Plat 6	<i>Curcuma inodora</i> aff. 13
Plat 7	Zon perencatan spesies-spesies <i>Curcuma</i> terhadap bakteria <i>M. luteus</i> 48
Plat 8	Zon perencatan spesies-spesies <i>Curcuma</i> terhadap bakteria <i>S. aureus</i> 24213 49
Plat 9	Zon perencatan spesies-spesies <i>Curcuma</i> terhadap bakteria <i>S. aureus</i> 29213 50
Plat 10	Zon perencatan spesies-spesies <i>Curcuma</i> terhadap bakteria <i>E. faecalis</i> 51
Plat 11	Nilai MIC untuk <i>C. inodora</i> aff. terhadap bakteria <i>S. aureus</i> 29213 55
Plat 12	Disk kawalan terhadap bakteria <i>S. aureus</i> 29213 55
Plat 13	Nilai MIC untuk <i>C. inodora</i> aff. terhadap bakteria <i>M. luteus</i> 56
Plat 14	Disk kawalan terhadap bakteria <i>M. luteus</i> 56
Plat 15	Penyediaan eksplan spesies kajian 72
Plat 16	Eksplan pada media asas 78
Plat 17	Kadar perkembangan tumbuhan kultur MSO 86
Plat 18	Bilangan penghasilan pucuk berganda bagi MSO dan media yang dirawat dengan BAP 86

TAJUK	MUKASURAT
Plat 19	Dua jenis tunas berusia 2 minggu yang terhasil dari eksplan tunas pucuk 87
Plat 20	Kesan penggunaan hormon terhadap penghasilan pucuk berganda pada usia 4 minggu 89
Plat 21	Bilangan maksimum pucuk berganda <i>C. mangga</i> yang terhasil menggunakan media optima 92
Plat 22	Kesan penggunaan hormon NAA yang berbeza keatas pertumbuhan akar 99
Plat 23	Pemindahan plantlet ke rumah hijau 102
Plat 24	Kadar tumbesaran <i>C. aeruginosa</i> di rumah hijau 103
Plat 25	Hasil <i>in vitro</i> <i>C. aeruginosa</i> 104
Plat 26	Hasil <i>in vitro</i> <i>C. mangga</i> 105
Plat 27	Rizom <i>C. rubescens</i> yang dihasilkan secara <i>in vitro</i> dan <i>in vivo</i> 106
Plat 28	Hasil <i>in vitro</i> <i>C.xanthorrhiza</i> 107
Plat 29	Tumbuhan lengkap <i>C. inodora</i> aff. yang dihasilkan melalui kaedah <i>in vitro</i> 108
Plat 30	Hasil profil RAPD menggunakan primer OPA dan OPE

SENARAI SINGKATAN KATA

:	= nisbah
%	= peratus
°C	= darjah celcius
β	= beta
μg	= mikrogram
$\mu\text{g}/\text{tiub}$	= mikrogram per tiub
$\mu\text{g}/\mu\text{l}$	= mikrogram per mikroliter
μM	= mikro molar
μl	= mikro liter
b/i	= berat per isipadu
BA	= benzyladenine
BAP	= 6-benzylaminopurine
bp	= pasangan bes
CTAB	= cetyltrimethylammonium bromide
dH_2O	= air suling steril
DNA	= asid deoksiribonukleik
dNTP	= Deoksiribonukleosida trifosfat
EDTA	= asid etilnadiamina tetra-asetik
g	= gram
g/ml	= gram per milliliter
HgCl_2	= merkurik klorida
i/i	= isipadu per isipadu
kg	= kilogram
kg/m^2	= kilogram per meter persegi
m	= meter
mA	= mili ampere
mg	= miligram
mg/l	= miligram per liter

mg/ml	= miligram per mililiter
MgCl ₂	= magnesium klorida
MIC	= Minimum Inhibitory Concentration
ml	= mililiter
mm	= milimeter
mM	= mili molar
MS	= Murashige and Skoog
MSO	= Media MS tanpa hormon
M.W	= berat molekul
NAA	= asid α -naftalenaasetik
NaCl	= natrium klorida
NaOCl	= sodium hipoklorit
ng	= nanogram
O.D	= ketumpatan optic
OPA	= Oligo Polymerase A
OPE	= Oligo Polymerase E
OPX	= Oligo Polymerase X
PCR	= 'Polymerase chain reaction'
pmol	= pikomol
PVP	= polyvinylpyrrolidone
RAPD	= 'Randomly Amplified Polymerase DNA'
rpm	= putaran per minit
sm	= sentimeter
TE	= Tris-EDTA
Tris-HCl	= Tris asid hidroklorik
units/ μ l	= unit per mikroliter
uv	= ultra ungu/ ultra lembayung
V	= volt