

BAB 5

PERBINCANGAN AM DAN KESIMPULAN

BAB 5: PERBINCANGAN AM DAN KESIMPULAN

5.1 Perbincangan am

Kajian mengenai tumbuhan ubatan di Malaysia telah dijalankan sejak 50 tahun yang lalu. Namun begitu, kajian secara intensif hanya dilakukan pada 20 tahun kebelakangan ini dengan menitikberatkan pelbagai aspek kajian. Kajian awal yang dilakukan terhadap tumbuhan ubatan memfokuskan kepada kajian bioprospek sahaja. Menyedari kepentingan kajian terhadap tumbuhan ubatan, para penyelidik dari pelbagai institusi penyelidikan dan institut pengajian tinggi di Malaysia mula menjalankan kajian fitokimia, taksonomi, etnobotani dan bioasai terhadap spesies-spesies tumbuhan ubatan (Chang dan Rasadah, 2004). Selaras dengan kesedaran terhadap kepentingan tumbuhan ubatan dan perlunya pelbagai aspek kajian terkini dijalankan, kajian antibakteria, mikropropagasi dan pencapjarian DNA melalui analisa RAPD telah dilakukan di dalam tesis ini.

Ekstrak krud enam spesies *Curcuma* ubatan iaitu *C. aeruginosa*, *C. mangga*, *C. rubescens*, *C. xanthorrhiza*, *C. zedoaria* dan *C. inodora* aff. telah dikaji untuk melihat kesan aktiviti antibakteria yang dijalankan keatas beberapa bakteria yang patogen terhadap manusia. Di dapati ekstrak-ekstrak tersebut telah berjaya merencatkan pertumbuhan bakteria gram-positif *Staphylococcus aureus* (strain ATCC 24213 dan ATCC 29213), *Micrococcus luteus* dan *Enterococci faecalis* dengan menggunakan kaedah diffusi agar dan tiada aktiviti antibakteria dilihat ke atas pertumbuhan bakteria gram-negatif *Escherishia coli* (strain ATCC 25922 dan ATCC 35213). *C. inodora* aff. menunjukkan spektrum aktiviti antibakteria yang paling luas manakala *C. zedoaria*

BAB 5: PERBINCANGAN AM DAN KESIMPULAN

5.1 Perbincangan am

Kajian mengenai tumbuhan ubatan di Malaysia telah dijalankan sejak 50 tahun yang lalu. Namun begitu, kajian secara intensif hanya dilakukan pada 20 tahun kebelakangan ini dengan menitikberatkan pelbagai aspek kajian. Kajian awal yang dilakukan terhadap tumbuhan ubatan memfokuskan kepada kajian bioprospek sahaja. Menyedari kepentingan kajian terhadap tumbuhan ubatan, para penyelidik dari pelbagai institusi penyelidikan dan institut pengajian tinggi di Malaysia mula menjalankan kajian fitokimia, taksonomi, etnobotani dan bioasai terhadap spesies-spesies tumbuhan ubatan (Chang dan Rasadah, 2004). Selaras dengan kesedaran terhadap kepentingan tumbuhan ubatan dan perlunya pelbagai aspek kajian terkini dijalankan, kajian antibakteria, mikropropagasi dan pencapjarian DNA melalui analisa RAPD telah dilakukan di dalam tesis ini.

Ekstrak krud enam spesies *Curcuma* ubatan iaitu *C. aeruginosa*, *C. mangga*, *C. rubescens*, *C. xanthorrhiza*, *C. zedoaria* dan *C. inodora* aff. telah dikaji untuk melihat kesan aktiviti antibakteria yang dijalankan keatas beberapa bakteria yang patogen terhadap manusia. Di dapati ekstrak-ekstrak tersebut telah berjaya merencatkan pertumbuhan bakteria gram-positif *Staphylococcus aureus* (strain ATCC 24213 dan ATCC 29213), *Micrococcus luteus* dan *Enterococci faecalis* dengan menggunakan kaedah diffusi agar dan tiada aktiviti antibakteria dilihat ke atas pertumbuhan bakteria gram-negatif *Escherishia coli* (strain ATCC 25922 dan ATCC 35213). *C. inodora* aff. menunjukkan spektrum aktiviti antibakteria yang paling luas manakala *C. zedoaria*

menunjukkan spektrum antibakteria yang paling sempit di antara spesies *Curcuma* yang dikaji. Penentuan aktiviti antibakteria secara kuantitatif telah dilakukan menggunakan ekstrak *C. inodora* aff. terhadap *M. luteus* yang memberikan nilai MIC (Minimum inhibitory concentration) 25 µg/ml dan nilainya berganda (50 µg/ml) terhadap *S. aureus* ATCC 29213.

Kajian yang telah dilakukan menyediakan data awal kajian aktiviti antibakteria menggunakan ekstrak krud daripada tumbuhan ubatan dan menunjukkan adanya korelasi dengan kegunaan tradisional spesies kajian seperti *C. xanthorrhiza* sebagai sumber aktiviti antibakteria seperti yang pernah dilaporkan oleh Riswan dan Sangat-Roemantyo (1990).

Tumbuhan ubatan memainkan peranan yang penting dalam sistem perubatan tradisional seperti Ayurveda di India. Hari ini, tumbuhan ubatan masih lagi memainkan peranan yang penting di negara-negara membangun di Asia terutama untuk mencegah dan mengubati penyakit. Kewujudan perubatan moden dengan kehadiran dadah farmaseutikal menyebabkan perubatan tradisional kurang popular. Kos perubatan moden yang kebanyakannya di import dan kesan sampingan sesetengah dadah perubatan telah menyebabkan masyarakat Asia kembali semula kepada perubatan tradisional. Oleh kerana kebanyakan dadah farmaseutikal juga dihasilkan daripada tumbuhan ubatan, keperluan terhadap bahan mentah tumbuhan ubatan telah meningkat. Keperluan ini telah dipenuhi dengan menanam tumbuhan ubatan ini (Chapman dan Chomchalow, 2004). Salah satu cara untuk menghasilkan anak benih secara besar-besaran adalah melalui kaedah mikropropagasi.

Dalam kajian ini, kajian mikropropagasi dijalankan untuk mendapatkan protokol yang sesuai untuk kajian awal kultur tisu spesies *Curcuma* ubatan dan menghasilkan anak cambah yang banyak dalam masa yang terhad. Setelah mengatasi masalah pensterilan dan saiz eksplan yang sesuai, kaedah pensterilan yang terbaik untuk spesies-spesies yang dikaji ialah kaedah tiga (mukasurat 76) manakala saiz eksplan dikekalkan kepada > 0.5 sm bagi semua spesies kajian. Penggunaan eksplan yang bersaiz lebih besar (>0.2 sm) juga boleh mengurangkan kadar kontaminasi (Dekkers, 1989).

Kadar penggandaan pucuk yang diperolehi bagi spesies Zingiberaceae yang dilaporkan oleh penyelidik-penyelidik lain sebelum ini dengan menggunakan pelbagai kombinasi penggalak tumbesaran dan media memberikan hasil yang tidak jauh berbeza dengan kajian yang telah dijalankan di mana bilangan pucuk berganda yang dihasilkan adalah dalam julat 4-7 pucuk per eksplan dengan menggunakan media MSO yang dirawat dengan 3.0 mg/l BAP. Kajian yang dilakukan oleh Sharma dan Singh (1997) dengan penggunaan media MS yang mengandungi 2mg/l kinetin terhadap *Zingiber officinale* memperoleh 7.2 pucuk per eksplan dan kajian yang dilakukan oleh Vincent *et al.* (1992) terhadap *Kaempferia galangal* dengan menggunakan pelbagai kepekatan dan kombinasi hormon auksin dan sitokinin memperoleh penggandaan pucuk dalam julat 2.8-7.2 pucuk per eksplan. Hanya penggunaan mannitol dalam kajian *Zingiber officinale* sahaja didapati memberikan kesan penggandaan pucuk yang jauh lebih tinggi (Dekkers, 1989).

Peratus plantlet hidup selepas proses aklimatisasi bergantung kepada kaedah aklimatisasi yang dijalankan. Iklim di Malaysia yang panas dan lembab menyebabkan

plantlet memerlukan penjagaan yang rapi dari segi penyiraman, pengairan dan keadaan rumah hijau terutama pada minggu pertama *in vivo*. Kualiti eksplan juga merupakan faktor yang penting bagi proses aklimatisasi (Debergh dan Maene, 1981). Keadaan lain yang mampu meningkatkan kejayaan aklimatisasi adalah mungkin dengan penghasilan rizom mini seperti yang pernah dilaporkan oleh Dekkers (1989) terhadap *Costus speciosus* dan penghasilan tuber mini kultur kentang oleh Hussey dan Stacey (1981).

Famili Zingiberaceae terdiri daripada lebih kurang 50 genera dan 1500 spesies di mana sejumlah 1000 spesies terdapat di kawasan tropika Asia (Ibrahim, 1998; Purseglove, 1972). Holttum (1950) mencatatkan sebanyak sembilan spesies daripada genus *Curcuma* telah dijumpai di Semenanjung Malaysia. Holttum (1950) juga merekodkan terdapat perbezaan dari segi saiz, warna dan rasa rizom, morfologi pokok, taburan dan kegunaan spesies-spesies *Curcuma* ini. Secara amnya spesies-spesies *Curcuma* di dalam kajian ini mempunyai hubungan yang rapat terutama di antara *C. aeruginosa*, *C. zedoaria* dan *C. xanthorrhiza*, juga antara *C. mangga* dan *C. rubescens* dari segi morfologi daun pokok secara keseluruhan dan pembiakan vegetatif.

Secara keseluruhannya spesies-spesies *Curcuma* dalam kajian ini lebih senang dibezakan melalui bahagian rizomnya jika tanpa kehadiran bunga. *C. rubescens* mempunyai perbezaan yang sangat nyata dari segi morfologi batang yang berwarna merah hati jika dibandingkan dengan spesies-spesies kajian yang lain. Manakala *C. aeruginosa* pula mempunyai warna keratan rizom matang yang berbeza jika dibandingkan dengan spesies-spesies *Curcuma* lain. Oleh kerana spesies-spesies kajian mempunyai pertalian yang agak rapat dan mempunyai banyak ciri-ciri morfologi yang

hampir sama, maka didalam kajian ini telah dijalankan teknik RAPD untuk menentukan pencapjarian setiap spesies. Hubungan genetik di antara spesies adalah penting berdasarkan kepada teori spesies-spesies yang berkaitan rapat dari segi genetik lazimnya mempunyai aktiviti biologi yang berkaitan.

Di dalam kajian analisa RAPD, profil spesies-spesies kajian telah berjaya diperolehi dengan menggunakan sebanyak 30 primer rawak. Jalur-jalur spesifik yang diperolehi banyak membantu untuk pengcaman setiap spesies kajian. Daripada 30 primer yang digunakan, lima primer menunjukkan adanya jalur monomorfik. Monomorfisme yang diperolehi mengesahkan spesies-spesies yang dikaji mempunyai beberapa ciri yang sepunya di antara mereka.

Dari segi jalur spesifik yang diperolehi daripada analisa RAPD ini, kesemua spesies kajian menunjukkan adanya jalur spesifik kecuali untuk spesies *C. aeruginosa*. Ketiadaan jalur spesifik bagi spesies ini mungkin berkaitan dengan penggunaan primer yang tidak sesuai. Penggunaan primer-primer lain memungkinkan kebarangkalian untuk mendapatkan jalur spesifik untuk spesies ini adalah lebih tinggi. Jalur-jalur spesifik yang diperolehi untuk spesies-spesies lain mungkin dapat digunakan untuk pengcaman spesies yang dikaji. Dettori dan Palombi (2000) juga menggunakan jalur spesifik dalam pengcaman kultivar di mana mereka dapat membezakan kultivar Smith daripada 25 kultivar *Feijoa sellowiana* Berg yang lain apabila mereka memperoleh dua jalur spesifik untuk kultivar tersebut dengan menggunakan OPA-11. Begitu juga dengan kajian oleh Goh *et al.* (1995) yang membezakan *Heliconia psittacorum* dengan kultivar

Heliconia rostrata, di mana mereka memperoleh tiga jalur spesifik untuk *H. rostrata* dengan menggunakan primer 5' – GGTAACGCC – 3'.

Nilai peratus persamaan genetik yang diperolehi dalam jadual 24 (mukasurat 146), dendogram (mukasurat 147) dan analisa plot komponen (mukasurat 148) menunjukkan hubungan jarak genetik yang berbeza-beza di antara spesies kajian. Nilai persamaan genetik yang paling besar ialah di antara *C. zeodaria* dan *C. xanthorhiza* iaitu 66% di mana ini menunjukkan pertalian yang rapat di antara kedua-dua spesies tersebut. Jarak genetik yang paling jauh di antara spesies-spesies kajian ialah di antara *C. aeruginosa* dan *C. inodora* aff., di mana nilai persamaan genetik kedua-dua spesies tersebut ialah 48%. Nilai peratus ini menunjukkan variasi genetik yang paling tinggi di antara spesies-spesies yang dikaji. Daripada keputusan yang diperolehi (mukasurat 146-148), boleh dirumuskan bahawa *C. inodora* sp. merupakan spesies yang paling berbeza di antara spesies kajian.

Daripada kajian yang telah dilakukan boleh dirumuskan bahawa semakin tinggi nilai persamaan genetik, semakin dekat hubungan genetik di antara spesies-spesies kajian. Pernyataan ini bersetujuan dengan kajian yang pernah dilaporkan sebelum ini oleh Kumar *et al.* (1998) ke atas kultivar-kultivar *Heliconia*. Daripada kajian tersebut, didapati nilai persamaan genetik yang rendah diperolehi di antara spesies-spesies *Heliconia* dan *Musa* sp. iaitu 12.3%, *Ravenala madagascariensis* (10.7%), *Canna indica* (7.4%) dan *Alpinia purpurata* (3.4%). Manakala nilai persamaan genetik yang tinggi pula diperolehi di antara *Heliconia* iaitu dalam julat 71.2% hingga 87.9%.

Secara amnya, data yang diperolehi daripada kajian ini boleh digunakan untuk pencapaian spesies-spesies yang dikaji. Kajian yang lebih lanjut diperlukan untuk mendapatkan data yang boleh digunakan untuk tujuan lain contohnya untuk melihat kestabilan genetik bahan kultur tisu seperti variasi somaklon dan pembiakbakaan mutasi.

5.2 Kesimpulan

Pengskrinan aktiviti antibakteria menunjukkan kesemua spesies yang dikaji mempunyai aktiviti keatas bakteria gram positif tetapi tidak menunjukkan aktiviti ke atas bakteria gram negatif. Di antara spesies-spesies yang dikaji, ekstrak krud *C. inodora* aff. merupakan sampel yang memberikan aktiviti yang paling tinggi. Kepekatan ekstrak krud yang boleh memberi kesan bakteriosidal ialah 16 kali ganda lebih rendah berbanding dengan antibiotik penisilin yang digunakan.

Dalam kajian mikropropagasi, sumber eksplan yang sesuai dan protokol pensterilan telah berjaya dihasilkan untuk kesemua spesies kajian. Eksplan tunas pucuk merupakan sumber eksplan yang terbaik untuk memulakan kultur tisu. Media kultur yang sesuai digunakan untuk penggandaan pucuk bagi kesemua spesies kajian ialah media MS dengan penambahan hormon BAP yang berkepekatan rendah. Kepekatan BAP yang terlalu tinggi didapati tidak sesuai untuk penggandaan ataupun regenerasi pucuk bagi kesemua spesies kajian.

Teknik RAPD yang digunakan dalam kajian ini telah membuktikan kesesuaiannya untuk menyokong data pencapaian dan pengcaman spesies-spesies

kajian. Sebagai penanda molekul, jalur-jalur polimorfik yang diperolehi ini berjaya menggambarkan jarak genetik serta persamaan dan variasi genetik spesies-spesies yang dikaji di mana, primer-primer yang digunakan dalam analisa RAPD dapat memberikan maklumat yang berguna untuk mengcamkan dan melihat hubungan di antara spesies kajian yang menyumbang kepada kawalan kualiti produk herba.