ISI KANDUNGAN

TAJUK	MUKASURAT
JUDUL	i
PENGHARGAAN	ii
ABSTRACT	iii
ABSTRAK	iv
ISI KANDUNGAN	v
SENARAI JADUAL	ix
SENARAI PLAT	xii
SENARAI RAJAH	xvi
SENARAI LAMPIRAN	xviii
SENARAI SINGKATAN KATA	xx

BAB 1 PENGENALAN

1.1	Pengenalan am famili Zingiberaceae	1
1.2	Huraian ringkas spesies-spesies kajian	6
	1.2.1 *Z. officinale* var. *officinale* Rosc (halia)	6
	1.2.2 *Z. officinale* var. *rubrum* Theilade (halia bara)	9
	1.2.3 *Z. officinale* var. *rubrum* Theilade (halia padi)	11
	1.2.4 *Z. zerumbet* Smith	12
	1.2.5 *Z. ottensii* Valeton	14
	1.2.6 *Z. montanum* (Koenig) Theilade	15
	1.2.7 *K. galanga* Linn	17
1.3	Kepentingan komersil halia biasa (*Z. officinale* var. *officinale*)	18
1.4	Penganalisaan jalur DNA melalui kaedah RAPD	23
1.5	Kandungan bahan-bahan kimia keluarga halia	30
1.6	Tumbuhan dan ciri-ciri antimikrobial	32
1.7	Kajian kultur tisu dan kepentingannya	39

ISI KANDUNGAN

TAJUK		MUKASURAT
1.8	Kajian mikropropagasi ke atas famili Zingiberaceae	44
1.9	Strategi kajian	49
1.10	Objektif kajian	49
1.11	Hipotesis kajian	50
1.12	Spesies-spesies kajian	51
BAB 2	**ANALISA DNA SPESIES-SPESIES KAJIAN MELALUI RAPD**	
2.1	Pengenalan	56
2.2	Bahan dan kaedah	59
	2.2.1 Pengekstrakan DNA	59
	2.2.2 Analisa penanda RAPD	61
	2.2.3 Analisa kelompok	64
2.3	Keputusan	66
	2.3.1 Pengekstrakan DNA	66
	2.3.2 Analisa penanda RAPD	68
	2.3.3 Hubungan genetik melalui analisa kelompok	90
2.4	Perbincangan	97
BAB 3	**AKTIVITI ANTIBAKTERIA**	
3.1	Pengenalan	107
3.2	Bahan dan kaedah	109
	3.2.1 Sumber sampel kajian	109
	3.2.2 Penyediaan sampel ekstrak krud	109
	3.2.3 Bakteria ujian dan penyediaan media	110
	3.2.4 Penyediaan 'assay' bakteria	112
	3.2.5 Ujian semi-kuantitatif aktiviti antibakteria	112

ISI KANDUNGAN

TAJUK **MUKASURAT**

3.3 Keputusan 116
3.3.1 Penentuan berat sampel ekstrak 116
3.3.2 Penentuan diameter zon perencatan bakteria 119
3.4 Perbincangan 123

BAB 4 PENYEDIAAN PROTOKOL KAJIAN MIKROPROPAGASI

4.1 Pengenalan 128
4.2 Bahan dan Kaedah 131
4.2.1 Sumber eksplan 131
4.2.2 Teknik pensterilan 132
4.3 Keputusan 133
4.3.1 Sumber eksplan 133
4.3.2 Teknik pensterilan 137
4.4 Perbincangan 142

BAB 5 KAJIAN MIKROPROPAGASI KE ATAS SEMUA SPESIES KAJIAN

5.1 Pengenalan 151
5.2 Bahan dan kaedah 154
5.2.1 Sumber eksplan dan teknik pensterilan 154
5.2.2 Penyediaan media 155
5.2.3 Pengkulturan eksplan ke atas media 156
5.2.4 Penentuan julat kepekatan hormon BAP untuk penggandaan pucuk 157

ISI KANDUNGAN

TAJUK		MUKASURAT
5.2.5	Pengkulturan ke atas media optima	158
5.2.6	Penyediaan media untuk pengakaran	158
5.2.7	Aklimatisasi plantlet bagi penghasilan rizom di lapangan	159
5.3	Keputusan	161
5.3.1	Penentuan eksplan yang sesuai	161
5.3.2	Pengkulturan eksplan ke atas media permulaan	169
5.3.3	Penentuan media penggandaan pucuk pada kepekatan BAP yang berlainan	171
5.3.4	Penggandaan pucuk dan akar pada media optima	190
5.3.5	Perbandingan hasil antara spesies *in vitro* dan kawalan di lapangan	192
5.4	Perbincangan	205
BAB 6	**PERBINCANGAN KESELURUHAN KAJIAN**	220
KESIMPULAN		233
RUJUKAN		235
LAMPIRAN		253

Senarai Jadual **Mukasurat**

1.1 Keluasan tanaman halia (*Z. officinale* var. *officinale*) dan pengeluaran halia seluruh dunia. [FAO database (Food and Agriculture Organization of the United Nation)] 21

1.2 Kelebihan dan kekurangan teknik penanda molekul yang digunakan pada masa kini 25

2.1 Kit A 20 primer (kit 10-mer primer –Operon Technologies Inc.) yang berjujukan rawak dan mempunyai kandungan G+C antara 60% hingga 70% 63

2.2 Purata bacaan ketulenan dan kepekatan DNA yang diperolehi daripada biofotometer 67

2.3-2.18 Profil DNA dihasilkan daripada primer OPA-01, OPA-02, OPA-03, OPA-04, OPA-05, OPA-06, OPA-07, OPA-08, OPA-09,OPA-10, OPA-11, OPA-13, OPA-15, OPA-16, OPA-18 dan OPA-20 yang diskor mengikut ada (1) dan tiada (0) jalur DNA untuk pengcaman spesies-spesies kajian 70-85

2.19 Saiz fragmen jalur-jalur DNA yang dihasilkan dengan menggunakan primer-primer OPA-01, OPA-02, OPA-03, OPA-04, OPA-05, OPA-06, OPA-07, OPA-08, OPA-09, OPA-10, OPA-11, OPA-13, OPA-15, OPA-16, OPA-18 dan OPA-20 86

Senarai Jadual **Mukasurat**

5.1	Ketinggian tunas pucuk spesies-spesies kajian mengikut umur	165
5.2	Bilangan pucuk dan akar serta panjang maksimum pucuk dan akar yang dikulturkan di dalam media optima bagi setiap spesies kajian	191
5.3	Purata bilangan pucuk dan akar yang dihasilkan pada tiga subkultur di dalam media optima bagi tiap-tiap spesies kajian	191
5.4	Peratusan plantlet yang hidup setelah diaklimatisasikan selama sebulan di rumah hijau	195
5.5 (a-f)	Penilaian dan perbandingan beberapa parameter yang ditentukan bagi spesies-spesies daripada kultur *in vitro* dan kawalan selepas 8 bulan ditanam di lapangan	196

Senarai Plat **Mukasurat**

1.1 (a) : *Z. officinale* var. *officinale* (halia)
(b) : Rizom *Z. officinale* var. *officinale* 52

1.2 (a) : *Z. officinale* var. *rubrum* (halia bara)
(b) : Rizom *Z. officinale* var. *rubrum* 52

1.3 (a) : *Z. officinale* var. *rubrum* Theilade (halia padi)
(b) : Rizom *Z. officinale* var. *rubrum* Theilade 53

1.4 (a) : *Z. zerumbet*
(b) : Rizom *Z. zerumbet* 53

1.5 (a) : *Z. ottensii*
(b): Rizom *Z. ottensii* 54

1.6 (a) : *Z. montanum*
(b) : Rizom *Z. montanum* 54

1.7 (a) : *K. galanga*
(b) : Rizom *K. galanga* 55

2.1 -2.16 Jalur-jalur DNA yang dihasilkan dengan menggunakan primer OPA-01, OPA-02, OPA-03, OPA-04, OPA-05, OPA-06, OPA-07, OPA-08, OPA-09,OPA-10, OPA-11, OPA-13, OPA-15, OPA-16, OPA-18 dan OPA-20 menerusi pengasingan melalui elektroforesis 1.5% gel agaros 70-85

Senarai Plat **Mukasurat**

3.1 Zon perencatan spesies *Z. officinale* var. *officinale* (halia) ke atas
a) *S. aureus* (ATCC29213) dan
b) *S. aureus* (ATCC24213) 119

3.2 Zon perencatan spesies *Z.officinale* var. *rubrum* (halia bara) ke atas
a) *S. aureus* (ATCC29213) dan
b) *S. aureus* (ATCC24213) 119

3.3 Zon perencatan spesies *Z. officinale* var. *rubrum* (halia padi) ke atas
a) *S. aureus* (ATCC29213) dan
b) *S. aureus* (ATCC24213) 120

3.4 Zon perencatan spesies *Z. zerumbet* ke atas
a) *S. aureus* (ATCC29213) dan
b) *S. aureus* (ATCC24213) 120

3.5 Zon perencatan spesies *Z. ottensii* ke atas
a) *S. aureus* (ATCC29213) dan
b) *S. aureus* (ATCC24213) 121

3.6 Zon perencatan spesies *Z. montanum* ke atas
a) *S. aureus* (ATCC29213) dan
b) *S. aureus* (ATCC24213) 121

3.7 Zon perencatan spesies *K. galanga* ke atas
a) *S. aureus* (ATCC29213) dan
b) *S. aureus* (ATCC24213) 122

Senarai Plat **Mukasurat**

4.1 Tunas pucuk *Z. officinale* var. *officinale* (halia) yang dipilih sebagai eksplan pada awal eksperimen 135

4.2 Jangkitan bakteria (bulatan) pada bahagian eksplan tunas pucuk dalam media kultur 140

4.3 Bakteria yang telah dipencilkan dan dilihat di bawah pembesaran 100X yang berbentuk kokus 140

4.4 Jangkitan kulat (bulatan) pada bahagian eksplan pucuk dalam media kultur 141

4.5 Kulat yang dipencilkan dan dilihat di bawah pembesaran 200X yang menunjukkan struktur hifa (H), sporangiofor (Sf), sporangium (Sm) dan spora (S) 141

5.1 Ketinggian tunas pucuk *Z. officinale* var. *rubrum* Theilade (halia padi) yang dicatat 166

5.2 Penghasilan pucuk-pucuk terminal dan pucuk aksilari pada permulaan kultur di dalam media MSO 168

5.3 Penghasilan pucuk tunggal dan akar yang halus pada media kawalan (MSO) 176

5.4 Penghasilan pucuk-pucuk berganda di dalam media berkepekatan BAP yang rendah (0.5 – 3.0 mg/l) (*K. galanga*) 177

Senarai Plat **Mukasurat**

5.5 Penghasilan pucuk berganda pada media optima (2-3 minggu di dalam media) 178

5.6 Penghasilan pucuk berganda pada media optima (4-6 minggu di dalam media 179

5.7 Penghasilan akar di dalam media pengakaran sebelum plantlet diaklimatisasikan di lapangan 180

5.8 Kesan kepekatan hormon BAP yang berlainan (K0-K7) ke atas pertumbuhan eksplan bagi *Z. officinale* var. *rubrum* (halia padi) 181

5.9 Kesan-kesan hormon BAP yang tinggi ke atas pertumbuhan eksplan di dalam media kultur 182

5.10 Spesies-spesies daripada *in vitro* yang berumur 1 bulan selepas aklimatisasi 198

5.11 Spesies-spesies daripada *in vitro* yang berumur 2 bulan selepas aklimatisasi yang menunjukkan pengeluaran 'tiller'(pucuk) yang baru 199

5.12 Perbandingan spesies daripada *in vitro* dan kawalan (*in vivo*) 200

5.13 Spesies-spesies daripada *in vitro* yang baru dituai untuk pengiraan parameter-parameter berkaitan 201

5.14 Perbandingan hasil rizom spesies daripada *in vitro* dan kawalan 202

Senarai Rajah **Mukasurat**

2.1 Dendrogram spesies-spesies kajian berdasarkan analisa binari jalur-jalur DNA. Terdapat tiga kumpulan yang berasingan (I,II dan III), berdasarkan daripada jarak 'Single Linkage' dan 'Squared Euclidean' 94

2.2 Analisa Prinsipal Komponen (PCA) menunjukkan kedudukan hubungan spesies-spesies kajian pada pengekstrakan prinsipal komponen pertama dan kedua berdasarkan data binari jalur-jalur DNA yang dihasilkan 95

5.1 Bilangan pucuk terminal dan aksilari yang dihasilkan pada permulaan kultur mengikut umur dan saiz eksplan bagi setiap spesies kajian pada akhir lapan minggu kultur 167

5.2 Purata bilangan pucuk (BP) dan akar (BA) serta nisbah bilangan akar:pucuk yang dihasilkan pada akhir 8 minggu kultur dalam media permulaan (MSO) 171

5.3 Kesan hormon BAP (kod media) ke atas penghasilan pucuk dan akar spesies *Z. officinale* var. *officinale* (halia) pada subkultur S1 hingga S4 183

5.4 Kesan hormon BAP (kod media) ke atas penghasilan pucuk dan akar spesies *Z. officinale* var. *rubrum* (halia bara) pada subkultur S1 hingga S4 184

Senarai Rajah **Mukasurat**

5.5 Kesan hormon BAP (kod media) ke atas penghasilan pucuk dan akar spesies *Z. officinale* var. *rubrum* (halia padi) pada subkultur S1 hingga S4 185

5.6 Kesan hormon BAP (kod media) ke atas penghasilan pucuk dan akar spesies *Z. zerumbet* pada subkultur S1 hingga S4 186

5.7 Kesan hormon BAP (kod media) ke atas penghasilan pucuk dan akar spesies *Z. ottensii* pada subkultur S1 hingga S4 187

5.8 Kesan hormon BAP (kod media) ke atas penghasilan pucuk dan akar spesies *Z. montanum* pada subkultur S1 hingga S4 188

5.9 Kesan hormon BAP (kod media) ke atas penghasilan pucuk dan akar spesies *K. galanga* pada subkultur S1 hingga S4 189

Senarai Lampiran **Mukasurat**

1	Bahan dan reagen-reagen yang digunakan dalam pengekstrakan DNA	253
2	Bahan-bahan yang digunakan dalam RAPD-PCR	254
3	Penyediaan bahan-bahan untuk pengekstrakan DNA	255
4	Elektroforesis gel agaros	257
5	Penyediaan bahan-bahan untuk elektroforesis	258
6	Pengukuran DNA	259
7	Kaedah penyediaan mini gel agaros	260
8	Penyediaan 'master mix' untuk kajian RAPD	261
9	Elektroforesis sampel DNA di dalam gel agaros	262
10	Komposisi media Murashige & Skoog (MS) (1962)	263
11	Teknik-teknik pensterilan eksplan yang digunakan dalam kajian kultur tisu	264
12	Gambarajah sumber-sumber eksplan yang digunakan pada awal eksperimen	267

13 Bilangan pucuk terminal dan pucuk aksilari yang dihasilkan pada permulaan kultur mengikut umur dan saiz eksplan bagi tiap-tiap spesies kajian 268

14 Purata bilangan pucuk dan akar setiap eksplan serta nisbah bilangan akar:pucuk yang dihasilkan setelah 8 minggu di dalam media permulaan (MSO). 269

15 Purata bilangan pucuk yang dihasilkan mengikut umur dan saiz eksplan yang digunakan 270

Senarai singkatan kata

:	= nisbah
%	= peratus
°C	= darjah celcius
β	= beta
µg	= mikrogram
µg/tiub	= mikrogram per tiub
µg/µl	= mikrogram per mikroliter
µM	= mikromolar
µl	= mikroliter
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 etilinadiamina tetra-asetik
g	= gram
g/ml	= gram per mililiter
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

Senarai singkatan kata

$MgCl_2$	= magnesium klorida
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 optik
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/μl	= unit per mikroliter
uv	= ultra ungu/ ultra lembayung
V	= volt
var.	= varieti