

Abstrak

Carica papaya L. adalah dari famili *Caricaceae* yang mempunyai empat genera asal. Tumbuhan ini mempunyai nilai ekonomi yang penting sebagai buah yang mempunyai kepelbagaian fungsi seperti pencuci mulut dan ulaman, dan buah ini juga sangat tinggi permintaannya untuk perdagangan farmakonomi terutamanya penghasilan kompaun tumbuhan sebagai sumber ubatan. Spesis ini adalah tumbuhan berbuah yang sangat popular di negara tropika dan sub-tropika seperti Malaysia, Thailand, Indonesia dan Filipina. Tumbuhan ini juga merupakan salah satu jenis tumbuhan berbuah yang banyak ditanam di Malaysia terutamanya di Johor, Perak dan Selangor. Tumbuhan betik varieti Eksotika telah diperkenalkan kepada peladang di Malaysia sekitar lewat 80an dan seterusnya menjadikan tumbuhan ini banyak ditanam di negara ini.

Oleh yang demikian, inovasi untuk mendapatkan material yang baik dan mencukupi perlu diadakan bagi memenuhi permintaan yang tinggi untuk sumber bahan tanaman yang baik dan juga sebagai sumber bahan pembangunan penyelidikan kultur sel dan pengasingan kompaun aktif biologi *Carica papaya* L. kelak. Penyelidik kultur tisu tumbuhan betik telah melaporkan tentang regenerasi tumbuhan ini dari embrio somatik dan telahpun juga dipastikan penghasilan tumbuhan betik melalui embryogenesis somatik dari embrio zigot pra-matang telah memberikan tindakbalas yang baik. Selain itu, untuk menjayakan penyelidikan ekstrak kompaun dari sampel tumbuhan *in vivo* dan *in vitro*, maka regenerasi tumbuhan betik dari sel kultur perlulah efisien. Seterusnya, sebelum dapat mengasingkan kompaun terpilih dari tumbuhan betik, maka objektif penyelidikan ini dijalankan adalah untuk membangunkan dan mengenalpasti sistem regenerasi *Carica papaya* L. varieti Eksotika dari kultur ampaiian yang efisien. Ini adalah penting bagi membekalkan sumber bahan kajian yang mencukupi. Dalam

hal ini juga, sel ampaiian dibangunkan adalah untuk menghasilkan bahan kimia kompleks yang mempunyai nilai farmaseutikal, dan juga penghasilan bahan kimia oleh sel tumbuhan boleh dihasilkan melalui kultur ampaiian, maka objektif kajian ini adalah untuk mendapatkan keadaan kultur sel yang tepat yang membolehkan kultur sel itu tadi menghasilkan bahan kimia bernilai secara optimum.

Eksplan embrio zigotik pra-matang diambil dari *Carica papaya* L. varieti Eksotika diletakkan di atas media induksi yang ditambah dengan 250 mg/L karbenisillin menghasilkan kalus pada kadar $93.3 \pm 11.8\%$ selepas 14 hari dikultur. Seterusnya, dengan menggunakan kaedah *staining* berganda, nuklei sel embriogenik telah menghasilkan warna merah yang terang. Sel embriogenik telah dipilih dan digunakan untuk kultur sel ampaiian. Pengenalpastian lanjut telah ditunjukkan melalui struktur histologi sel embriogenik. Sekumpulan sel meristem yang kecil dalam mikrokali parenkimatik putih telah dikenalpasti dan seterusnya menunjukkan perkembangan embrio. Tambahan lagi, media yang terbaik untuk induksi embrio somatik adalah media asas MS yang mengandungi 10 mg/L 2,4-D dan ditambah dengan 250 mg/L karbenisillin yang memberikan 80.4 % pertumbuhan kalus dan seterusnya membentuk embrio somatik. Seterusnya lagi, proses penggandaan sel dalam kultur ampaiian adalah dibantu dengan media penggandaan cecair yang optimum yang mengandungi 250 mg/L karbenisillin. Bentuk perkembangan sel ini telah diperhatikan, dimana fasa lag telah diperhatikan berlaku pada hari yang ke 10 hingga hari yang ke 19, dan diikuti oleh pertumbuhan sel pada fasa eksponen yang berlaku pada hari yang ke 20 hingga hari yang ke 30. Pemeriksaan kebolehidupan sel telah dilakukan dengan menggunakan larutan fluoresen diasetat telah menunjukkan bahawa hanya sel yang mempunyai sitoplasma yang padat sahaja yang akan menunjukkan tindakbalas fluoresen dibawah cahaya lampu ultraungu. Sel ini adalah kecil, bulat dan mempunyai nukleus yang jelas. Seterusnya, media pertumbuhan yang

mengandung 0.2 mg/L BAP dan NAA telah dikenalpasti sangat optimum untuk memberikan nilai 100 % kadar germinasi embrio somatik. Germinasi embrio somatik yang sekata telah diperolehi dari kultur ampaiian dimana hipokotil pada awalnya akan berkembang dan diikuti oleh penggandaan pucuk yang banyak dan cepat. Pucuk yang matang tadi seterusnya ditumbuhkan akar dalam media regenerasi yang mengandungi 1 mg/L GA₃, 0.5 mg/L IBA dan 0.37 mg/L riboflavin. Akhirnya, semasa proses aklimatisasi, apabila pasangan pertama daun tumbuhan yang berbentuk *tri-lobed* matang telah terbentuk, maka tumbuhan tadi akan dipindahkan ke tapak semaian untuk selama satu ke dua bulan sebelum dipindahkan ke ladang.

Memandangkan prosedur ekstrak yang mudah, maka kebanyakan kompaun yang diasingkan melalui aktiviti biologi adalah alkaloid. Molekul nitrogen yang terdapat dalam sel tumbuhan secara amnya menjadikan kompaun bersifat bes dan seterusnya menjadikan alkaloid wujud dalam bentuk garam dalam tumbuhan. Oleh yang demikian, alkaloid seringkali diekstrak dengan menggunakan sistem campuran air dan/atau asid dan kemudiannya menghasilkan bahan kristal apabila dirawat dengan unsur bes.

Alkaloid karpain telah diekstrak dari pelbagai bahagian *Carica papaya* L. varieti Eksotika yang diperolehi dari ladang seperti bahagian daun, petiol dan kulit buah, dan juga dari sumber *in vitro* seperti daun, petiol, sel ampaiian dan medium kultur ampaiian dengan hanya satu artifak impuriti telah dikenalpasti iaitu dehidrokarpaine II. Ekstrak cecair superkritikal telah dikenalpasti sebagai prosedur yang sangat baik untuk mendapatkan hasil kompaun karpain yang lebih tinggi dan bersih berbanding dengan kaedah ekstrak asid/bes yang konvensional. Nisbah penggunaan etanol/air/asid asetik adalah 94.5:5:0.5 (i/i/i) telah dipastikan sebagai sistem pelarut yang lebih baik untuk ekstrak karpain memandangkan hanya satu

pseudocarpaine iaitu dehidrocarpaine II sahaja yang terhasil bersama ekstrak karpain, walaubagaimanapun dengan aplikasi cecair tunggal karbon dioksida dalam prosedur ekstrak cecair superkritikal, ini telah melengkapkan objektif penyelidikan ini untuk mengasingkan kompaun karpain dengan lebih tinggi dan bersih. Selain itu, prosedur pengemparan yang juga digunakan dalam kaedah penyelidikan ini juga dikenalpasti menyumbang kepada penghasilan ekstrak karpain yang lebih tinggi dan bersih.