



UNIVERSITI PUTRA MALAYSIA

**PENGHASILAN SEBATIAN BIOAKTIF, AZADIRACHTIN
MENTAH DARIPADA KULTUR KALUS DAN SEL AMPAIAN
AZADIRACHTA INDICA., A .JUSS (MAMBU)**

SANIMAH SIMOH

FSAS 1997 10

**PENGHASILAN SEBATIAN BIOAKTIF, AZADIRACHTIN
MENTAH DARIPADA KULTUR KALUS DAN SEL AMPAIAN
AZADIRACHTA INDICA., A .JUSS (MAMBU)**

**OLEH
SANIMAH SIMOH**

**Tesis yang diserahkan sebagai memenuhi keperluan untuk
memperolehi Ijazah Master Sains di Fakulti Sains dan Pengajian
Alam Sekitar, Universiti Putra Malaysia**

Mei 1997



TERISTIMEWA UNTUK:

EMAK , AYAH, SAC.....

& HARIS

PENGHARGAAN

DENGAN NAMA ALLAH YANG MAHA PENGASIH LAGI MAHA PENYAYANG

Sekalung penghargaan dan ucapan terima kasih ini ditujukan khas untuk pengerusi Jawatankuasa Penyeliaan, Dr. Radzali Muse dan juga Prof. Madya Dr. Mohd. Arif Syed serta Dr. Johari Ramli selaku ahli jawatankuasa, di atas segala dorongan, bimbingan dan nasihat sepanjang pelaksanaan projek ini.

Ucapan terimakasih ini juga dirakamkan untuk En. Samsudin Hj. Wahab dan En. Ibrahim Yunos serta pelajar-pelajar ijazah lanjutan dan pembantu penyelidik di makmal 230, yang telah memberikan kerjasama yang sewajarnya, serta tidak ketinggalan kepada semua kakitangan Jabatan Biokimia dan Mikrobiologi, Fakulti Sains & Alam Sekitar, UPM, samada yang terlibat secara langsung atau tidak di dalam menjayakan projek ini.

Akhir kata, ucapan terima kasih yang tidak terhingga kepada semua pegawai Pusat Bioteknologi, MARDI, Serdang yang sentiasa memberikan semangat dan keyakinan, terutamanya kepada Dr. Hj. Senawi B. Hj. Mohd Tamin, yang sentiasa memberikan kerjasama di saat memerlukan, sehingga projek ini terlaksana dengan jayanya.

JADUAL KANDUNGAN

Muka surat

PENGHARGAAN.....	iii
SENARAI JADUAL.....	viii
SENARAI RAJAH.....	ix
SENARAI PLAT.....	xii
SENARAI ABREVIASI.....	xiv
ABSTRAK.....	xv
ABSTRACT.....	xviii

BAB

I	PENGENALAN.....	1
	Objektif kajian.....	5
II	SOROTAN LITERATUR	7
	Pokok mambu dan kegunaannya	7
	Kegunaan tradisional.....	7
	Farmaseutikal	8
	Pertanian dan kawalan serangga perosak.....	10
	Penternakan	12
	Racun makhluk perosak daripada <i>A.indica</i> :	
	potensi dan faktor penghadnya	13
	Azadirachtin dan lain-lain terbitan daripada mambu	20
	Azadirachtin	20
	Salannin	24
	Nimbin dan Nimbidin	25
	Melantriol	25
	Kesan dan pengaruh <i>A.indica</i> ke atas	
	organisma sasaran	27
	Kesan dan pengaruh ke atas serangga	
	perosak sasaran	27
	Kesan antifungal	31
	Kesan antibakteria.....	33
	Kesan antivirus	34
	Kultur tisu <i>Azadirachta indica</i>	35



III	BAHAN DAN KAEDAH	40
	Kultur tisu dan sel <i>Azadirachta indica</i>	40
	Bahan eksplan	40
	Penyediaan media kultur.....	40
	Pensterilan permukaan eksplan	42
	Pembentukan kultur	43
	Permulaan kultur kalus	43
	Pembentukan kultur sel ampaian	43
	Penyelenggaraan kultur tisu	44
	Analisis pertumbuhan kalus dan sel ampaian	44
	Analisis parameter pertumbuhan kalus dan sel ampaian	45
	Penentuan berat basah dan berat kering	45
	Penentuan jumlah protein larut	46
	Penentuan viabiliti sel	47
	Teknik analitikal.....	48
	Pengekstrakan material tumbuhan	48
	Pemilihan material tumbuhan	48
	Penyediaan ekstrak kasar daun <i>A.indica</i>	49
	Penyediaan ekstrak kasar kalus dan sel ampaian.....	50
	Penentuan kandungan azadirachtin mentah dengan menggunakan kromatografi lapisan nipis(TLC)	50
	Bioasai larvasidal.....	51
	Penyediaan media diet artifisial serangga.....	51
	Pemeliharaan serangga <i>T.castaneum</i>	51
	Ujian larvasidal	52
	Bioasai sitotoksiti	53
	Pensterilan permukaan biji benih <i>Brassica chinensis</i>	53
	Ujian sitotoksiti	53
	Ujian penghindar serangga.....	54
IV	KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN.....	55
	Permulaan kultur kalus daun muda <i>Azadirachta indica</i>	55
	Permulaan kultur sel ampaian <i>Azadirachta indica</i>	62
	Pertumbuhan kalus dan sel ampaian <i>Azadirachta indica</i>	63
	Viabiliti kalus dan sel ampaian <i>Azadirachta indica</i>	69
	Kandungan protein larut di dalam kalus dan sel ampaian <i>Azadirachta indica</i>	73
	Penghasilan azadirachtin mentah daripada kultur kalus dan sel ampaian <i>Azadirachta indica</i>	77
	Perkaitan antara penghasilan azadirachtin mentah dan parameter pertumbuhan.....	85

Bioasai sitotoksisiti.....	89
Kesan pengaruh ekstrak kasar etanol (Fraksi F001) daripada tisu daun <i>A.indica</i> , kalus dan sel ampaiannya terhadap percambahan bijibenih <i>B.chinensis</i>	89
Kesan pengaruh ekstrak kasar klorofom (Fraksi F003) daripada tisu daun <i>A.indica</i> , kalus dan sel ampaiannya terhadap percambahan bijibenih <i>B.chinensis</i>	93
Kesan pengaruh ekstrak kasar metanol (Fraksi F005) daripada tisu daun <i>A.indica</i> , kalus dan sel ampaiannya terhadap percambahan bijibenih <i>B.chinensis</i>	95
Kesan pengaruh ekstrak kasar heksan (Fraksi F006) daripada tisu daun <i>A.indica</i> , kalus dan sel ampaiannya terhadap percambahan bijibenih <i>B.chinensis</i>	97
Kesan sitotoksisiti di dalam fraksi organik daripada ekstrak kasar tisu daun <i>A.indica</i> , kalus dan sel ampaiannya.....	99
Bioasai larvasidal.....	106
Kesan pengaruh ekstrak etanol (Fraksi F001) daripada tisu daun <i>A.indica</i> , kalus dan sel ampaiannya terhadap pertumbuhan berat basah larva <i>T.castaneum</i>	106
Kesan pengaruh ekstrak klorofom (Fraksi F003) daripada tisu daun <i>A.indica</i> , kalus dan sel ampaiannya terhadap pertumbuhan berat basah larva <i>T.castaneum</i>	109
Kesan pengaruh ekstrak metanol (Fraksi F005) daripada tisu daun <i>A.indica</i> , kalus dan sel ampaiannya terhadap pertumbuhan berat basah larva <i>T.castaneum</i>	112
Kesan pengaruh ekstrak heksan (Fraksi F006) daripada tisu daun <i>A.indica</i> , kalus dan sel ampaiannya terhadap pertumbuhan berat basah larva <i>T.castaneum</i>	114
Kesan larvasidal fraksi organik daripada tisu daun <i>A.indica</i> , kalus dan sel ampaiannya terhadap pertumbuhan berat basah larva <i>T.castaneum</i>	116
Ujian penghindar serangga.....	127

V	RINGKASAN DAN KESIMPULAN.....	131
	RUJUKAN.....	137
	LAMPIRAN	
	1	155
	2	156
	3	157
	4	158
	BIOGRAFI.....	159



SENARAI JADUAL

Jadual	muka surat
1. Peratus penghasilan kalus daripada eksplan daun muda <i>A.indica</i> yang telah dieramkan pada suhu $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$, di dalam keadaan gelap dan terang selepas 4 minggu pengkulturan.....	58
2. Pertumbuhan kalus yang terbentuk pada eksplan daun muda <i>A.indica</i> yang telah dieramkan pada suhu $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ di dalam keadaan gelap dan terang selepas 4 minggu pengkulturan.....	60



SENARAI RAJAH

Rajah	muka surat
1. Struktur azadirachtin.....	21
2. Struktur salannin.....	21
3. Struktur nimbin.....	21
4. Struktur nimbidin.....	26
5. Struktur melantriol.....	26
6. Pertumbuhan kalus <i>A.indica</i> selepas pengkulturan pada keadaan terang pada suhu $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$	65
7. Pertumbuhan kalus <i>A.indica</i> selepas pengkulturan pada keadaan gelap pada suhu $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$	66
8. Pertumbuhan sel ampaian <i>A.indica</i> selepas pengkulturan pada keadaan terang pada suhu $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$	68
9. Peratus viabiliti sel kalus <i>A.indica</i> selepas pengkulturan pada keadaan terang serta gelap pada suhu $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$	70
10. Peratus viabiliti sel ampaian <i>A.indica</i> selepas pengkulturan pada keadaan terang pada suhu $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$	72
11. Kandungan protein terlarut di dalam ekstrak kalus <i>A.indica</i> selepas pengkulturan pada keadaan terang pada suhu $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$	74
12. Kandungan protein terlarut di dalam ekstrak sel ampaian <i>A.indica</i> selepas pengkulturan pada keadaan terang pada suhu $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$	75
13. Penghasilan azadirachtin mentah daripada kalus <i>A.indica</i> selepas pengkulturan di dalam keadaan terang dan gelap pada suhu $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$	78

14.	Penghasilan azadirachtin mentah daripada sel ampaiian <i>A.indica</i> selepas pengkulturan di dalam keadaan terang dan gelap pada suhu $27 \pm 2^\circ\text{C}$	80
15.	Kesan pengaruh ekstrak etanol (fraksi F001) daripada (a) tisu daun, (b) kalus dan (c) sel ampaiian <i>A.indica</i> terhadap percambahan bijibenh <i>B.chinensis</i> pada suhu $27 \pm 2^\circ\text{C}$ di dalam keadaan gelap dan selepas 3 hari pengeraman.....	92
16.	Kesan pengaruh ekstrak klorofom (fraksi F003) daripada (a) tisu daun, (b) kalus dan (c) sel ampaiian <i>A.indica</i> terhadap percambahan bijibenh <i>B.chinensis</i> pada suhu $27 \pm 2^\circ\text{C}$ di dalam keadaan gelap dan selepas 3 hari pengeraman.....	94
17.	Kesan pengaruh ekstrak metanol (fraksi F005) daripada (a) tisu daun, (b) kalus dan (c) sel ampaiian <i>A.indica</i> terhadap percambahan bijibenh <i>B.chinensis</i> pada suhu $27 \pm 2^\circ\text{C}$ di dalam keadaan gelap dan selepas 3 hari pengeraman.....	96
18.	Kesan pengaruh ekstrak heksan (fraksi F006) daripada (a) tisu daun, (b) kalus dan (c) sel ampaiian <i>A.indica</i> terhadap percambahan bijibenh <i>B.chinensis</i> pada suhu $27 \pm 2^\circ\text{C}$ di dalam keadaan gelap dan selepas 3 hari pengeraman.....	98
19.	Kesan pengaruh ekstrak etanol (fraksi F001) daripada (a) tisu daun, (b) kalus dan (c) sel ampaiian <i>A.indica</i> terhadap pertumbuhan larva <i>T.castaneum</i>	108
20.	Kesan pengaruh ekstrak klorofom (fraksi F003) daripada (a) tisu daun, (b) kalus dan (c) sel ampaiian <i>A.indica</i> terhadap pertumbuhan larva <i>T.castaneum</i>	110
21.	Kesan pengaruh ekstrak metanol (fraksi F005) daripada (a) tisu daun, (b) kalus dan (c) sel ampaiian <i>A.indica</i> terhadap pertumbuhan larva <i>T.castaneum</i>	113
22.	Kesan pengaruh ekstrak heksan (fraksi F006) daripada (a) tisu daun, (b) kalus dan (c) sel ampaiian <i>A.indica</i> terhadap pertumbuhan larva <i>T.castaneum</i>	115



23. Bilangan serangga <i>T.castaneum</i> yang tinggal di dalam medium diet artifisial serangga pada suhu $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ selepas 24 jam pendedahan terhadap serbuk daun <i>A.indica</i>	128
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----



SENARAI PLAT

Plat	muka surat
1. Daun muda <i>Azadirachta indica</i> yang digunakan untuk pengaruh kalus.....	41
2. Pertumbuhan awal kalus <i>A.indica</i> yang telah dieramkan di dalam keadaan terang pada suhu $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ selepas 4 minggu pengkulturan.....	56
3. Pertumbuhan awal kalus <i>A.indica</i> yang telah dieramkan di dalam keadaan gelap pada suhu $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ selepas 4 minggu pengkulturan.....	56
4. Pembentukan kalus <i>A.indica</i> yang optima pertumbuhannya , berwarna jernih kekuningan dan lebih peroi yang telah dieramkan di dalam keadaan gelap, selepas beberapa kali pengsubkulturan dilakukan pada suhu $27\pm 2^{\circ}\text{C}$	59
5. Pertumbuhan kalus <i>A.indica</i> yang mengalami proses pencoklatan yang telah dieramkan di dalam keadaan terang, selepas beberapa kali pengsubkulturan pada suhu $27\pm 2^{\circ}\text{C}$	59
6. Pembentukan awal sel ampaian <i>A.indica</i> selepas seminggu pengkulturan dilakukan dan pengeraman pada suhu $27\pm 2^{\circ}\text{C}$	64
7. Pertumbuhan sel ampaian <i>A.indica</i> selepas 2 minggu pengkulturan dilakukan dan pengeraman pada suhu $27\pm 2^{\circ}\text{C}$	64
8. Bijibenih <i>B.chinensis</i> yang telah digunakan di dalam ujian sitotoksisiti terhadap fraksi organik daripada tisu daun <i>A.indica</i> , kalus dan sel ampaiannya.....	90
9. Bijibenih <i>B.chinensis</i> yang menunjukkan percambahan hipokotil dan radikalnya selepas diberikan rawatan dengan kepekatan tertentu ekstrak daripada fraksi organik tisu daun <i>A.indica</i> , kalus dan sel ampaiannya selepas 3 hari pengeraman pada suhu $27\pm 2^{\circ}\text{C}$	90

10.	Larva <i>T.castaneum</i> yang digunakan di dalam ujian larvasidal terhadap fraksi organik daripada tisu daun <i>A.indica</i> (mambu), kalus dan sel ampaiannya.....	107
11.	Serangga <i>T.castaneum</i> dewasa yang digunakan di dalam ujian penghindar serangga terhadap tisu daun <i>A.indica</i> (mambu), kalus dan sel ampaiannya.....	107



SENARAI ABREVIASI

BAP	- benzylaminopurin
NAA	- naphthalene acetic acid
2,4-D	- 2, 4 - dichlorophenoxyacetic acid
mm	- milimeter
mg/L	- miligram/Liter
g/L	- gram/Liter
ml	- mililiter
cm	- centimeter
MS	- Murashige & Skoog
v/v	- volume/volume
μm	- mikrometer
TTC	- 2,3, 5 - tryphenyl tetrazolium chloride
TLC	- Thin Layer Chromatography
μg	- mikrogram
g	- gram
MDA	- Media Diet Artifisial
nm	- nanometer
ppm	- part per million
BSA	- Bovine Serum Albumin

Abstrak tesis yang di kemukakan kepada Senat Universiti Putra Malaysia sebagai memenuhi syarat untuk mendapat ijazah Master Sains.

PENGHASILAN SEBATIAN BIOAKTIF, AZADIRACHTIN MENTAH DARIPADA KULTUR KALUS DAN SEL AMPAIAN *AZADIRACHTA INDICA* A.JUSS (MAMBU)

oleh

Sanimah Simoh

Pengerusi : Dr. Radzali Muse, PhD.

Fakulti : Sains dan Pengajian Alam Sekitar.

Kalus dan sel ampaiian tumbuhan mambu (*Azadirachta indica* A.JUSS) telah berjaya di perolehi daripada eksplan daun mudanya setelah dikulturkan di dalam suatu medium asas Murashige & Skoog (MS) yang mengandungi 1.86mg/L NAA dan 0.2mg/L BAP. Profil pertumbuhan kalus dan sel ampaiian serta analisis ke atas kandungan azadirachtin mentahnya turut di lakukan. Azadirachtin mentah yang telah berjaya di hasilkan daripada kalus dan sel ampaiian *A.indica* di dapati meningkat secara maksimum semasa sel berada pada akhir fasa logarisma atau bermulanya fasa pegun di mana pertumbuhan atau pembahagian sel mula menurun atau berhenti. Ini menunjukkan bahawa penghasilan azadirachtin mentah ini tidak mempunyai perkaitan rapat dengan pertumbuhan kultur sel tersebut ('non-growth associated'). Penghasilan azadirachtin mentah di dapati lebih tinggi

bagi kultur kalus dan sel ampaiannya yang telah dieramkan di dalam keadaan terang iaitu peningkatan maksimum masing-masing sebanyak 72% dan 59%, berbanding dengan peningkatan maksimum bagi penghasilan azadirachtin yang dikulturkan di dalam keadaan gelap iaitu 58% dan 34% .

Bioasai sitotoksiti telah menunjukkan bahawa fraksi organik etanol (F001), klorofom (F003) dan metanol (F005) yang di perolehi daripada tisu daun *A.indica*, kalus dan sel ampaiannya berupaya menunjukkan kesan sitotoksiti kepada pertumbuhan bijibenih *Brassica chinensis*. Fraksi etanol (F001) daripada tisu daun *A.indica* berupaya menunjukkan aktiviti perencatan yang paling ketara berbanding dengan fraksi lain samada daripada tisu daun, kalus atau sel ampaiannya, iaitu rawatan pada kepekatan 250ppm ekstrak berupaya merencat pemanjangan hipokotil sebanyak 73% berbanding dengan kawalan.

Bioasai larvasidal ke atas larva serangga *Tribolium castaneum* telah menunjukkan bahawa fraksi-fraksi organik etanol (F001), klorofom (F003), dan metanol (F005)) yang di perolehi daripada tisu daun *A.indica*, kalus dan sel ampaiannya berupaya menyebabkan perencatan terhadap pertumbuhan larva tersebut, walaupun tiada sebarang mortaliti larva di perhatikan sepanjang bioasai ini di jalankan. Keadaan ini berkemungkinan di sebabkan oleh sebatian bioaktif yang bertanggungjawab memberikan kesan perencatan ini, berupaya mengaruhkan pelbagai kesan perencatan ('multiple effect') yang menyebabkan berlakunya gangguan kepada

pertumbuhan larva *T.castaneum* tersebut. Fraksi metanol daripada tisu daun *A.indica* telah menunjukkan aktiviti perencatan yang paling ketara berbanding dengan fraksi lain samada daripada tisu daun, kalus atau sel ampaiannya terutamanya rawatan pada kepekatan 125ppm ekstrak, di mana telah menyebabkan perencatan sebanyak 50% berbanding dengan kawalan.

Ujian penghindar serangga telah menunjukkan bahawa hanya serbuk daun *A.indica* sahaja yang berupaya menunjukkan pengaruh sebagai suatu agen penghindar serangga terutamanya terhadap serangga *Tribolium castaneum* ini, sementara serbuk kalus dan sel ampaiannya tidak langsung menunjukkan sebarang pengaruh. Pendedahan 4% serbuk daun *A.indica* kepada serangga *T.castaneum* berupaya menyebabkan 40% daripada serangga ini menghindari atau menjauhi serbuk daun tersebut.

**Abstract of thesis submitted to the Senate of Universiti Putra Malaysia
in fulfillment of the requirement for the degree of Master of Science.**

**THE PRODUCTION OF BIOACTIVE COMPOUND, CRUDE
AZADIRACHTIN FROM CALLUS AND CELL-SUSPENSION CULTURES
OF *AZADIRACHTA INDICA*, A.JUSS (NEEM).**

by

Sanimah Simoh

Chairman : Dr. Radzali Muse, Ph.D.

Faculty : Science and Environmental Studies

Callus and cell suspension cultures from neem (*Azadirachta indica* A.JUSS) were obtained from young leaf explants by using a basal Murashige & Skoog (MS) medium containing 1.86mg/L NAA and 0.2mg/L BAP. The growth profiles of the callus and cell suspension cultures were studied and analysis on the production of crude azadirachtin was done. The maximum production of crude azadirachtin was obtained during the end of the logarithm phase or early stationary phase. This result indicated that the accumulation of crude azadirachtin was non-growth associated. The higher accumulation of crude azadirachtin was detected from the cultures incubated in the light condition i.e. maximum accumulation of 72% and 59% for callus and cell suspension cultures respectively compared to the cultures incubated in the dark condition ie. 58% and 34%.



Cytotoxicity bioassay revealed that the organic fraction of ethanol (F001), chloroform (F003) and methanol (F005) obtained from leaf tissues, callus and cell suspension of *A.indica* showed cytotoxicity effects on the growth of *Brassica chinensis* seed. Ethanol fraction (F001) from leaf tissues of *A.indica* showed higher inhibition activity compared to the other fraction from leaf tissues, callus or cell suspension cultures. Treatment with 250ppm extract of leaf tissues, caused inhibition of hypocotyl elongation about 73% compared to the control.

Larvasidal bioassay of the larvae of *Tribolium castaneum* revealed that the organic fraction of ethanol (F001), chloroform (F003) and methanol (F005) obtained from the leaf tissues, callus and cell suspension of *A.indica* were capable of inhibiting the growth of the larvae, although the mortality was not observed throughout the experiment. This result suggested that the bioactive compounds that might be responsible for the inhibition were capable of inducing the multiple effect, resulting in interference in the growth of the larvae. Methanol fraction from leaf tissues of *A.indica* showed higher inhibition activity compared to the other fraction from leaf tissues, callus and cell suspension of *A.indica*. Treatment with 125ppm extract of leaf tissues, resulted in 50% inhibition of the growth compared to the control.

Insect repellency studies showed that only the leaf powder of *A.indica* was effective as insect repellency agent against the adult of *Tribolium castaneum*, whereas the powder of the callus and cell suspension cultures



were not capable of showing any effect. Exposure of 4% of the neem leaf powder to the adult of *T.castaneum* resulted in 40% of the insect repelled from the leaf powder.

BAB I

PENGENALAN

Pokok mambu, (*Azadirachta indica* A.JUSS,) yang mana dikenali dahulu sebagai *Melia indica* Brandis, *Antalea azadirachta*, Indian lilac atau Margosa yang tergolong di dalam famili Meliaceae adalah tumbuhan yang berasal dari wilayah India. Perkataan 'azadirachta' terbit daripada 'azad dirakh' yang bermaksud 'pokok bebas' bagi penduduk di Iran, Pakistan dan India (Ahmed & Grainge, 1986), sementara di Ghana, pokok ini juga dikenali sebagai 'king' yang merupakan gelaran kepada Gabenor.

Pokok ini pada awalnya diperkenalkan di beberapa bahagian Afrika Selatan, Kepulauan Carribean dan Puerto Rico serta Haiti sebagai pokok hiasan dan sumber bahan api. Sekarang pokok ini tumbuh dengan banyak di negara-negara Asean termasuk Malaysia, Indonesia dan Thailand. Pokok ini juga tumbuh dengan baik di Australia, Fiji dan Papua New Guinea. Pokok mambu telah banyak ditanam di sepanjang jalan raya di kebanyakan negeri di Malaysia sebagai pokok hiasan dan pokok perlindungan, tetapi bagi masyarakat India, ianya banyak ditanam di perkarangan rumah dan juga kuil untuk tujuan perubatan dan upacara keagamaan (Loke et al., 1990).

Pokok mambu ini yang dapat tumbuh dan membesar dengan baik telah di ketahui umum mempunyai potensi yang tinggi kepada manusia, ternakan dan tumbuhan lain. Pelbagai terbitan daripada pokok mambu telah digunakan secara meluas dalam industri farmaseutikal, alat-alat penjagaan badan, perabot, makanan ternakan, proses nitrifikasi tanah untuk tanaman pertanian dan kawalan serangga perosak di beberapa negara (Koul et al., 1990). Di India, kebanyakan bahagian daripada pokok mambu telah digunakan untuk tujuan perubatan tradisional seperti untuk antimalaria, antiseptik dan antimikrobial, juga sebagai suatu agen pemulih terhadap beberapa penyakit kulit.

Sejak beberapa tahun yang lalu, kajian oleh penyelidik-penyelidik terdahulu mendapati bahawa komponen bioaktif yang terdapat pada daun, buah, batang dan juga bijibenih pokok mambu ini berupaya mengawal lebih daripada 125 spesis serangga perosak, anai-anai dan juga nematod. Kajian ini meliputi 25 spesis Coleoptera ('beetles'), 25 spesis Lepidoptera ('moth') dan 9 spesis Orthoptera ('locust') (Hepburn, 1989), juga beberapa spesis bakteria dan virus. Berbagai produk daripada mambu ini boleh bertindak ke atas pelbagai jenis serangga dengan pelbagai cara antaranya dengan memusnahkan perkembangan telur, larva dan juga pupa, menghalang proses penukaran kulit pada larva ('moulting') atau nimfa, sebagai agen penghindar serangga pada larva dan juga serangga dewasa serta merencat perkembangan kitin.

Komponen bioaktif atau komponen pahit yang telah dijumpai di dalam mambu telah dikenalpasti sebagai limonoid, satu kumpulan tetranorterpenoid dan bahan yang paling aktif sekali ialah azadirachtin yang pertama kalinya di kenalpasti oleh Butterworth & Morgan (1968). Azadirachtin paling banyak di dapati daripada bahagian kernel bijibenih pokok mambu ini.

Pengkaji pengkaji mendapati azadirachtin boleh bertindak ke atas serangga dengan memusnahkan peringkat pembesaran dan metamorfosis pada peringkat larva iaitu dengan menjejaskan proses 'ecdysis' dalam serangga atau dengan mengganggu sistem neuron - endokrin yang mengawal proses perembesan hormon untuk proses penukaran kulit ('moulting') dan hormon juvenil (Kubo & Klocke, 1982). Azadirachtin telah terbukti berkesan sebagai 'feeding deterrent', agen penghindar serangga, bahan toksik, sterilan dan pemusnah tumbesaran serangga pada kadar dos yang sangat rendah iaitu serendah 0.1ppm (Jacobson, 1989). Ini adalah berasaskan hasil kajian yang telah dilakukan terhadap pelbagai spesis serangga perosak pada ladang-ladang pertanian dan rumah kediaman seperti 'Mexican bean beetles' 'Colorado potato beetles', locus, belalang, 'tobacco budworm' dan beberapa spesis lipas (National Research Council, 1992).

Kajian berkenaan dengan pokok yang bernilai ini telah bermula pada tahun 1920an lagi oleh sekumpulan saintis dari India tetapi hanya diberi

perhatian yang serius pada tahun 1959 apabila sekumpulan entomologis dari German yang diketuai oleh Henry Schmutterer memulakan kajian tentang sebatian kimia pokok mambu ini. Sejak daripada itu, sejumlah besar penyelidik di seluruh dunia telah memulakan pengkajian tentang pelbagai aspek pokok ini dan produknya.

Produk berasaskan mambu ini boleh dieksploitasi lebih jauh lagi untuk memenuhi keperluan semasa yang semakin meningkat untuk tujuan perindustrian dan kawalan serangga perosak, memandangkan ia terhasil secara semulajadi dan tidak menjejaskan persekitaran. Penghasilan produk berasaskan mambu ini dalam skala yang besar atau kegunaannya dalam pengurusan serangga perosak bersepadu ('Integrated Pest Management', (IPM)) memberi faedah untuk memperbaiki hasil tanaman dan meningkatkan keuntungan kepada petani. Selain itu ianya juga dapat mengekalkan biodiversiti, terutamanya di negara sedang membangun di mana pokok mambu sudah tersedia ada dan senang diperolehi. Dalam hal ini, penggunaan teknologi kultur tisu tumbuhan dan alternatif bioteknologi yang lain memungkinkan perkara di atas dicapai (National Research Council, 1992).

Dalam tahun-tahun kebelakangan ini, beberapa kumpulan saintis telah mula menumpukan perhatian untuk merealisasikan teknik *in vitro* kepada pokok serbaguna ini. Beberapa kajian yang menggalakkan adalah seperti kajian berkenaan dengan perkembangan akar dan pucuk yang