

MIKROPROPAGASI DAN PENGHASILAN BIJI  
BENIH TIRUAN ANUBIA SP.

Oleh

NALLAMMAI SINGARAM

**Didedikasikan kepada  
Ibubapa dan suami  
yang dikasihi**

## PENGHARGAAN

Saya ingin mengambil kesempatan ini untuk mengucapkan ribuan terima kasih kepada penyelia saya, Prof. Christopher Teo Kheng Hoe yang telah banyak membantu, mendorong, menyokong dan memberi galakan sepanjang masa saya menjalankan projek ini.

Ingin juga saya mengucapkan ribuan terima kasih ke atas kerjasama dan bantuan yang diberikan oleh kakitangan dan pelajar-pelajar lain di makmal Prof. Chris Teo serta juga semua kakitangan Pusat Pengajian Sains Kajihayat dalam menjayakan projek ini.

Tidak juga dilupakan kawan-kawan saya iaitu Juanita, Liew Tiek Kooi, Punita, Ambi dan Manjeet yang telah memberi banyak bantuan terutamanya dalam menjalankan projek dan juga menulis tesis ini.

Akhir sekali, ingin saya mengucapkan terima kasih kepada keluarga saya terutamanya suami saya yang telah sentiasa bersama memberi sokongan dan bantuan.

NALLAMMAI SINGARAM

## ABSTRAK

Pucuk apeks (0.5 - 1.0 cm) *Anubia nana* dikulturkan di dalam media 1/2MS dengan pelbagai kombinasi NAA dan BA untuk menentukan media propagasi. Media 1/2MS dengan 3 mg/l BA didapati menghasilkan bilangan pucuk per eksplan yang maksimum. Apabila media MS penuh dengan separuh MS (1/2MS) dibandingkan didapati bilangan pucuk yang dihasilkan pada media 1/2MS adalah dua kali ganda tetapi saiz pucuknya adalah kecil. Pucuk yang dikulturkan di dalam media pepejal juga menghasilkan lebih pucuk berbanding dengan media cecair. Penghasilan pucuk berbilang oleh spesies *Anubia* yang lain seperti *Anubia congensis* dan *Anubia lanceolata* ditentukan. Didapati spesies *Anubia* yang lain juga dapat dipropagasikan dengan media yang sama. Penghasilan akar pada pucuk yang dikultur tisu dapat dilakukan dengan mudah pada media 1/2MS tanpa hormon NAA ataupun BA.

Pucuk-pucuk yang dihasilkan secara kultur tisu ini kemudiannya dienkapsulasikan dengan menggunakan alginat yang menghasilkan bebola iaitu biji benih tiruan. Bebola yang dihasilkan ini dapat disimpan pada suhu 23°C selama 2 bulan dan peratus percambahan tidak kurang dari 90%. Peratus natrium alginat bagi tujuan enkapsulasi yang diuji menunjukkan 2.5% natrium alginat adalah terbaik, ia menghasilkan bebola yang regenerasi dalam masa seminggu. Kekerasan bebola pula ditentukan oleh jangkamasa tindakbalas antara 2.5% natrium alginat dan 75 mM kalsium klorida. Jangkamasa tindakbalas yang paling sesuai adalah 30 minit berbanding dengan 10 dan 60 minit yang masing-masing menghasilkan bebola yang terlalu lembut ataupun terlalu keras. Kajian juga dijalankan untuk menentukan media percambahan bebola yang paling sesuai. Media 1/2MS pepejal didapati paling baik diantara media 1/2MS pepejal, media 1/2MS

cecair, air suling dan air paip. Semua pucuk yang dienkapsulasikan menghasilkan pucuk yang normal pada media pepejal 1/2MS.

Kaedah diatas merupakan satu kedah yang mudah dan sistem propagasi yang baik bagi tumbuhan yang penting serta susah dipropagasikan seperti *Anubia* sp.

# MICROPROPAGATION AND ARTIFICIAL SEED PRODUCTION OF *ANUBIA* sp.

## ABSTRACT

Shoot tips (0.5 - 1.0 cm) of *Anubia nana* were cultured in 1/2MS media containing different combinations of NAA dan BA to produce multiple shoots. *Anubia nana* in 1/2MS medium containing 4 mg/L BA without NAA produced the maximum number of shoots per explant. Shoots produced per explant in 1/2MS was twice more than in MS but the shoots were smaller in size. Shoot tips cultered in solid medium produced more multiple shoots than in liquid medium. Multiple shoot production of other *Anubia* species such as *Anubia congensis* and *Anubia lanceolata* was also successfully done on 1/2MS + 3.0 mg/L BA. This showed that different species of *Anubia* can also be propagated using this medium. Rooting of *Anubia nana* was easy in 1/2MS medium without NAA or BA.

Shoot tips of *Anubia nana* obtained from the tissue culture method above were encapsulated in alginate to produce individual beads. These beads with the explant could be stored at 23°C for two months with a minimum of 90% viability. Amongst the sodium alginate tested. Sodium alginate at 2.5% was found to give the best results, regenerating shoots and roots within a week. The reaction time between sodium alginate and calcium of 30 minutes produced beads with the best texture compared to 10 and 60 minutes. Encapsulated shoot tips regenerated complete plantlets of normal size on 1/2MS solid medium.

## SENARAI JADUAL

- Jadual 1:** Tindakbalas eksplan *Amubia nana* yang dikulturkan di dalam media pepejal 1/2MS yang mengandungi pelbagai kepekatan NAA dan BA. Pemerhatian dicatat pada minggu ke sepuluh. 48
- Jadual 2:** Kesan subkultur yang berulang ke atas penghasilan pucuk berbilang dan anak pokok jelmaan di dalam media pepejal 1/2MS + 3.0 mg/L BA dan 1/2MS. 61
- Jadual 3:** Perbandingan perkembangan kultur pucuk *Amubia nana* yang dicantas dan yang tidak dicantas di dalam media 1/2 MS tanpa hormon selepas 8 minggu dalam penghasilan anak pokok jelmaan. 65
- Jadual 4:** Peratus penghasilan pucuk dan akar oleh biji benih tiruan yang disediakan pada kepekatan natrium alginat 2.0%, 2.5%, 3.0%, 3.5% dan 4.0% selepas 25 hari. Pucuk *Amubia nana* diguna sebagai eksplan 73

**Jadual 5:** Kadar penghasilan pucuk berbilang oleh biji benih tiruan yang disediakan pada 2.5% natrium alginat yang direndamkan selama 30 minit dalam kalsium klorida. Pucuk *Anubia nana* yang dienkapsulasikan dikulturkan di dalam media 1/2MS + 3.0 mg/L BA selama 8 minggu. **80**

**Jadual 6:** Kadar percambahan biji benih tiruan di dalam media yang berlainan secara *in vitro*. Media yang digunakan adalah media 1/2 MS pepejal, 1/2 MS cecair, air steril dan air paip. Biji benih dikulturkan selama 8 minggu di dalam kelalang 50 ml dan di simpan di bilik kultur. **82**

**Jadual 7:** Masa penyimpanan bagi biji benih tiruan yang disediakan dalam 2.5% natrium alginat dan disimpan pada suhu 4°C dan 23°C. **84**



## SENARAI RAJAH

- Rajah 1:** Penghasilan pucuk berbilang *Amubia nana* yang dikulturkan di dalam media pepejal 1/2MS + BA ( 0 - 10 mg/L) selama 10 minggu. 50
- Rajah 2:** Penghasilan pucuk berbilang *Amubia nana* di dalam media pepejal 1/2 MS dengan kepekatan BA 0.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, dan 4.5 mg/L selepas 10 minggu. 54
- Rajah 3:** Penghasilan pucuk berbilang *Amubia nana* di dalam media pepejal berbanding dengan media cecair . Media 1/2 MS + 3.0, 3.5 dan 4.0 mg/L BA digunakan. Dikulturkan selama 10 minggu dengan media cecair , digoncangkan pada penggerak orbit pada kelajuan 140 putaran / minit. 56
- Rajah 4:** Penghasilan pucuk berbilang *Amubia nana* di dalam media pepejal 1/2MS + 3 mg/L BA berbanding dengan MS penuh + 3 mg/L BA selama 10 minggu. 58

**Rajah 5 :** Kesan jangkamasa subkultur ke atas penghasilan pucuk berbilang *Anubia nana* di dalam media pepejal 1/2 MS + 3 ppm BA . Disubkultur setiap 2 dan 5 minggu selama 10 minggu. 59

**Rajah 6:** Kadar penghasilan pucuk berbilang *Anubia nana* di dalam media pepejal 1/2MS + 3.0 mg/L BA yang dikulturkan selama 10 minggu. 62

**Rajah 7:** Kadar tumbesaran pucuk berbilang *Anubia nana* di dalam media pepejal 1/2MS + 3.0 mg/L BA yang dikulturkan selama 10 minggu. 68

**Rajah 8:** Perbandingan pucuk berbilang pada tiga jenis *Anubia* sp. dalam media pepejal 1/2 MS + 3.0, 3.5 dan 4.0 mg/L BA selepas 12 minggu. 69

**Rajah 9:** Kadar penghasilan pucuk berbilang eksplan *Anubia nana*, *Anubia lanceolata* dan *Anubia congensis* di dalam media 1/2 MS + 3.0 mg/L BA selama 12 minggu. 74

**Rajah 10:** Kadar penghasilan pucuk oleh biji benih tiruan yang disediakan pada kepekatan natrium alginat 2%, 2.5%, 3.0%, 3.5% dan 4.0% dalam masa 25 hari. Pucuk *Anubia nana* diguna sebagai eksplan. 74

**Rajah 11:** Kadar penghasilan akar oleh biji benih tiruan yang disediakan pada kepekatan natrium alginat 2%, 2.5%, 3.0%, 3.5% dan 4.0% dalam masa 25 hari. Pucuk *Anubia nana* diguna sebagai eksplan. 74

**Rajah 12:** Kadar penghasilan pucuk oleh biji benih tiruan yang disediakan pada kepekatan natrium alginat 2.5% dan direndamankan selama 30 minit dan 60 minit dalam kalsium klorida dalam masa 25 hari. Pucuk *Anubia nana* diguna sebagai eksplan. 77

**Rajah 13:** Kadar penghasilan akar oleh biji benih tiruan yang disediakan pada kepekatan natrium alginat 2.5% dan direndamankan selama 30 minit dan 60 minit dalam kalsium klorida dalam masa 25 hari. Pucuk *Anubia nana* diguna sebagai eksplan. 78

## SENARAI GAMBARFOTO

- Gambarfoto 1:** Pucuk berbilang *Anubia nana* yang dihasilkan di dalam media 1/2MS + 3.0 mg/L BA selepas 4 minggu 51
- Gambarfoto 2:** Pucuk berbilang *Anubia nana* yang dihasilkan di dalam media 1/2MS + 3.0 mg/L BA selepas 6 minggu 51
- Gambarfoto 3:** Pucuk berbilang *Anubia nana* yang dihasilkan di dalam media 1/2MS + 3.0 mg/L BA selepas 8 minggu 52
- Gambarfoto 4:** Pucuk berbilang *Anubia nana* yang dihasilkan di dalam media 1/2MS + 3.0 mg/L BA selepas 3 bulan. 52
- Gambarfoto 5:** Pucuk berbilang *Anubia nana* yang dihasilkan di dalam media 1/2MS + 4.0 mg/L BA selepas 8 minggu 53
- Gambarfoto 6:** Pucuk berbilang *Anubia nana* yang dikulturkan di dalam media cecair 1/2MS + 3.0 mg/L BA, selepas 10 minggu 57
- Gambarfoto 7:** Pucuk berbilang *Anubia nana* yang telah disubkulturkan ke media 1/2MS + 3.0 mg/L BA, setiap 5 minggu selama 10 minggu. 60
- Gambarfoto 8** Gambar di atas menunjukkan perkembangan pada pangkal eksplan *Anubia nana*
- a) pangkal eksplan yang membengkak
  - b) perkembangan pucuk pada pangkal eksplan
  - c) tunas aksilari pada bahagian pangkal daun 64
- Gambarfoto 9:** Penghasilan pucuk *Anubia nana* di dalam media 1/2MS tanpa hormon 66

- Gambarfoto 10:** Pucuk berbilang *Anubia congensis* yang dihasilkan di dalam media 1/2MS + 3.0 mg/L, 3.5 mg/L dan 4.0 mg/L BA selepas 12 minggu 70
- Gambarfoto 11:** Pucuk berbilang *Anubia lanceolata* yang dihasilkan di dalam media 1/2MS + 3.0 mg/L, 3.5 mg/L dan 4.0 mg/L BA selepas 12 minggu 70
- Gambarfoto 12:** Biji benih tiruan *Anubia nana* yang disediakan dengan menggunakan natrium alginat 2.5% dan 75 mM kalsium klorida 72
- Gambarfoto 13:** Bebola natrium alginat 2.5% yang tidak mengandungi sebarang eksplan di dalamnya. 72
- Gambarfoto 14:** Biji benih tiruan *Anubia nana* yang dikulturkan di dalam media 1/2MS tanpa hormon, selepas 1 minggu. 76
- Gambarfoto 15:** Biji benih tiruan *Anubia nana* yang dikulturkan di dalam media 1/2MS tanpa hormon, selepas 4 minggu. 76
- Gambarfoto 16:** Biji benih tiruan *Anubia nana* yang dikulturkan dalam media 1/2MS + 3.0 mg/L bagi penghasilan pucuk berbilang, selepas 8 minggu 79
- Gambarfoto 17:** Biji benih tiruan *Anubia nana* yang dikulturkan di dalam media cecair 1/2MS tanpa hormon, selepas 4 minggu. 83
- Gambarfoto 18:** Biji benih tiruan *Anubia nana* yang dikulturkan di dalam media 1/2MS tanpa hormon, selepas 8 minggu. 83

## SENARAI LAMBANG, KEPENDEKAN ATAU TATANAMA

MS	Medium Murashige dan Skoog
1/2MS	Medium Murashige dan Skoog dengan separuh kepekatan garam
NAA	asid naftalenasetik
BA	benziladenin

DEDIKASI	i
PENGHARGAAN	ii
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	v
SENARAI JADUAL	vi
SENARAI RAJAH	viii
SENARAI GAMBARFOTO	xi
SENARAI LAMBANG. KEPENDEKAN DAN TATANAMA	xiii
KANDUNGAN	xiv
1.0 PENGENALAN	1
2.0 TINJAUAN BAHAN BACAAN	3
2.1 Tumbuhan Akuatik	3
2.2 Ciri-ciri botani tumbuhan akuatik	8
2.3 Famili Araceae	12
2.3.1 Pengkelasan	12
2.3.2 Ciri-ciri	14
2.3.3 Genus <i>Anubia</i>	16
2.3.3.1 <i>Anubia congensis</i> N.E. Brown	17
2.3.3.2 <i>Anubia lanceolata</i> Schott	18
2.3.3.3 <i>Anubia nana</i> Engler	19
2.4 Kultur Tisu	19
2.4.1 Kultur tisu tumbuhan akuatik	19

2.4.2	Kultur tisu tumbuhan bukan akuatik	20
2.5	Eksplan	23
2.5.1	Jenis	23
2.5.2	Propagasi	23
2.6	Biji-benih tiruan	24
2.6.1	Definasi	24
2.6.2	Kaedah penyediaan	25
2.6.2.1	Biji-benih yang didesikasikan	26
2.6.3	Kebaikan	29
2.6.4	Enkapsulasi pucuk dan somatik embrio	30
3.0	<b>BAHAN DAN KAEDAH EKSPERIMEN</b>	33
3.1	Kaedah am kultur	33
3.1.1	Bahan eksperimen	33
3.1.2	Penyediaan media	33
3.1.3	Kaedah pensterilan tisu	34
3.1.4	Penyediaan kultur stok	35
3.1.5	Penyediaan pucuk bagi kajian seterusnya	35
3.1.6	Pengkulturan tisu	36
3.2	Pembiakan <i>in vitro</i> <i>Anubia nana</i>	36
3.2.1	Kesan hormon ke atas penghasilan pucuk berbilang	36
3.2.1.1	Kesan NAA	36
3.2.1.2	Kesan BA	37



3.2.2	Kesan media cecair dan media pepejal ke atas penghasilan pucuk berbilang	37
3.2.3	Kesan media 1/2MS dan MS penuh ke atas penghasilan pucuk berbilang	38
3.2.4	Kesan masa pemindahan eksplan ke media baru ke atas penghasilan pucuk berbilang	39
3.2.5	Kesan pengkulturan berulang dalam penghasilan pucuk berbilang	39
3.3	Kadar tumbesaran dan penghasilan pucuk berbilang	40
3.4	Pengakaran anak benih jelmaan	41
3.5	Perbandingan penghasilan pucuk berbilang pada spesies <i>Anubia congensis</i> dan <i>Anubia lanceolata</i>	41
3.6	Biji benih tiruan	42
3.6.1	Kaedah Am penghasilan biji benih tiruan	42
	3.6.1.1 Bahan eksperimen	42
	3.6.1.2 Penyediaan larutan kalsium alginat	42
	3.6.1.3 Penyediaan larutan kalsium klorida	43
	3.6.1.4 Penyediaan pucuk <i>in vitro</i>	43
	3.6.1.5 Penyediaan biji benih tiruan	43
3.6.2	Percambahan	44

3.6.2.1	Kesan kepekatan natrium alginat	44
3.6.2.2	Kesan masa tindakan kompleks	44
3.6.3	Penghasilan pucuk berbilang daripada biji benih tiruan	45
3.6.4	Penghasilan anak pokok jelmaan daripada biji benih tiruan	45
3.6.5	Kesan masa dan suhu penyimpanan biji benih tiruan	46
4.0	<b>KEPUTUSAN</b>	
4.1	Pemencilan Eksplan	46
4.2	Pembiakan <i>in - vitro Anubia nana</i>	46
4.2.1	Kesan hormon ke atas penghasilan pucuk berbilang	46
4.2.1.1	Kesan NAA dan BA	46
4.2.1.2	Kesan BA	49
4.2.2	Kesan penghasilan pucuk berbilang dalam media cecair lawan media pepejal	55
4.2.3	Kesan penghasilan pucuk berbilang pada 1/2MS berbanding dengan MS penuh	58
4.2.4	Kesan masa subkultur dalam penghasilan pucuk berbilang	59

4.2.5	Kesan pengkulturan berulang dalam penghasilan pucuk berbilang	61
4.2.6	Tumbesaran dan perkembangan eksplan	62
4.2.7	Penghasilan akar dalam pembentukan anak pokok jelmaan	65
4.3	Perbandingan penghasilan pucuk berbilang pada spesies <i>Anubia nana</i> , <i>Anubia congensis</i> dan <i>Anubia lanceolata</i> .	67
4.4	Penghasilan biji benih tiruan	71
4.4.1	Kesan kepekatan natrium alginat	71
4.4.2	Kesan masa tindakan kompleks diantara natrium alginat dan kalsium klorida	75
4.4.3	Penghasilan pucuk berbilang daripada biji benih tiruan	78
4.4.4	Penghasilan anak pokok jelmaan daripada biji benih tiruan	81
4.4.5	Masa penyimpanan dan suhu pengkekalan biji benih tiruan	84
5.0	PERBINCANGAN	85
5.1	Pembiakan <i>in vitro</i> <i>Anubia nana</i>	85
5.2	Penghasilan bij benih tiruan	90

**6.0 KESIMPULAN 95**

**7.0 RUJUKAN 97**

**LAMPIRAN-LAMPIRAN**

## 1.0 PENGENALAN

Tumbuhan akuatik terdiri daripada tumbuhan tenggelam, separa tenggelam, terapung dan juga tumbuhan tebing (Rataj & Horeman, 1977). Saiz tumbuhan akuatik berbeza dari beberapa sentimeter hingga beberapa meter. *Amubia* adalah salah satu genus tumbuhan akuatik daripada famili *Araceae* (Cook, 1974). *Amubia* spesies adalah tumbuhan redup yang terdapat di zon tropika seperti Afrika, Guinea dan Cameroon (Rataj & Horeman, 1977). Tujuan kultivasi *Amubia* adalah sebagai tumbuhan perhiasan di dalam akuarium. Ia juga merupakan makanan, tempat perlindungan dan tempat pembiakan untuk ikan. Kini, permintaan bagi tumbuhan akuatik semakin meningkat, terutamanya di Amerika Syarikat dan negara-negara Eropah. Ini kerana tumbuhan akuatik diperlukan untuk menyediakan satu keadaan semulajadi di dalam akuarium bagi ikan (Rataj & Horeman, 1977).

Cara pembiakan utama tumbuhan *Amubia* adalah melalui penghasilan tunas dari rizom secara vegetatif. Pembiakan secara generatif adalah satu proses yang jarang berlaku pada kebanyakan spesies tumbuhan akuatik. Tumbuhan *Amubia* boleh menghasilkan bunga tetapi ini jarang berlaku, lebih-lebih lagi penghasilan biji benih boleh dikatakan hampir tidak dapat ditemui. Ini merupakan sebab utama tumbuhan ini tidak menduduki atau menakluki kawasan lain di dunia dengan meluasnya. Tambahan lagi penghasilan rizom yang matang untuk menghasilkan tunas mengambil masa beberapa tahun. *Amubia* sp. adalah tumbuhan akuatik yang cantik dengan itu ia amat sesuai digunakan sebagai tumbuhan perhiasan tangki kecil ataupun diguna di bahagian hadapan tangki besar. Maka permintaan terhadap tumbuhan *Amubia* adalah tinggi.

Tetapi propagasi melalui kaedah semulajadi adalah lambat iaitu penghasilan pucuk daripada rizom dan biji benih yang sukar tidak boleh memenuhi permintaan. Maka kaedah kultur tisu ialah satu cara pembiakan klon yang berpotensi untuk mengatasi masalah diatas. Oleh yang demikian kajian yang dilakukan bertujuan :

1. Merumuskan medium kultur yang sesuai untuk pembiakan *in vitro* tumbuhan *Anubia nana*.
2. Mengkaji kesan media terpilih daripada eksperimen *Anubia nana* ke atas spesies-spesies tumbuhan *Anubia* yang lain seperti *Anubia lanceolata* dan *Anubia congensis*
3. Mendapatkan satu kaedah yang sesuai bagi penghasilan anak pokok jelmaan berakar.
4. Menghuraikan proses tumbesaran dan perkembangan *in vitro* dari peringkat eksplan hingga ke pembentukan anak pokok *Anubia* dan
5. Menghasilkan biji benih tiruan dengan menggunakan pucuk apeks sebagai eksplan dan kalsium Alginat sebagai selaput benih.

Melalui kajian ini diharapkan bahawa satu kaedah kultur tisu yang lengkap dapat diperolehi bagi propagasi tumbuhan *Anubia* sp. serta teknik ini dapat digunakan untuk penghasilan anak benih buatan secara besar-besaran dengan menggunakan klon terpilih.

## 2.0 TINJAUAN BAHAN BACAAN

### 2.1 Tumbuhan Akuatik

Tumbuh-tumbuhan boleh hidup secara semulajadi pada julat kelembapan yang jauh berbeza. Contohnya tumbuhan dari famili *Cactaceae* dan *Mesembryanthemaceae* yang didapati di Afrika Selatan hidup dalam keadaan yang amat kering. Manakala terdapat pula tumbuhan yang menghabiskan seluruh kitar hidup di dalam air, iaitu dari biji-benih hingga menghasilkan biji-benih. Terdapat banyak tumbuhan vaskular yang hidup diantara dua keadaan yang jauh berbeza ini (Riemer, 1984) dan diantaranya ialah tumbuhan akuatik..

Tumbuhan tidak boleh dikelaskan sebagai “tumbuhan akuatik” dengan diskrit menurut ciri keperluan air. Oleh itu kategori “tumbuhan akuatik” tidak boleh didefinisikan dengan sewenang-wenangnya (Riemer, 1984). Beberapa species *Dracena* yang merupakan tumbuhan terestrial boleh tumbuh di dalam keadaan tenggelam sepenuhnya, seperti di dalam akuarium. Tetapi ini tidak bererti tumbuhan *Dracena* itu adalah tumbuhan akuatik. Manakala terdapat juga tumbuhan yang sememangnya tumbuhan akuatik tetapi boleh hidup dalam keadaan kering akibat perubahan keadaan persekitaran. Ini pula tidak bererti tumbuhan itu bukan tumbuhan akuatik. Contohnya, sesetengah spesies kini telah pun mengadaptasikan diri di luar keadaan akuatik seperti *Elodea* dan *Vallisneria* (Rataj & Horeman, 1977).

Maka, satu definisi yang spesifik tidak boleh diberikan kepada tumbuhan akuatik. Secara umum, tumbuhan akuatik adalah tumbuhan yang didapati boleh tumbuh secara semulajadi di dalam keadaan air tenang pada atau melebihi paras permukaan tanah. Tumbuhan itu mungkin terapung di atas air, separa tenggelam ataupun tenggelam sepenuhnya. Tumbuhan yang tumbuh berdekatan dengan air, yang ada perhubungan yang nyata dengan air juga dikenali sebagai tumbuhan akuatik. Tumbuhan yang habitat asalnya bukan seperti yang dinyatakan di atas tetapi boleh hidup dalam keadaan berair tidak boleh diklasifikasikan sebagai tumbuhan akuatik (Riemer, 1984).

Tumbuhan akuatik boleh dikelaskan kepada empat kumpulan. Pengelasan ini bukan mengikut filogenetik tetapi mengikut perhubungan fizikalnya dengan air (Riemer, 1984; Rataj & Horeman, 1977; Arber, 1972).

a) Tumbuhan terapung tidak terlekat

Tumbuhan terapung adalah tumbuhan yang sebahagian besarnya terdapat di atas permukaan air. Akar tumbuhan ini tidak terlekat pada sebarang substrat, tetapi terendam di dalam air. Bunga dihasilkan di atas air dan pendebungaan dilakukan oleh udara (Rataj & Horeman, 1977). Contohnya tumbuhan *Lemna*, *Limnobium*, keladi bunting dan lektus air. Beberapa tumbuhan daripada kumpulan ini merupakan punca pelbagai masalah seperti saliran dan terusan yang tersumbat (National Academy of Sciences, 1976).



b) Tumbuhan terapung terlekat

Tumbuhan daripada kumpulan ini biasanya mempunyai daun yang terapung tetapi akar yang mencengkam pada substrat yang tertentu. Ia mempunyai akar yang telah berkembang dengan baik dan batang yang lembut untuk mengatasi masalah tekanan air. Daun tumbuhannya terdiri daripada daun yang terapung dan juga daun yang tenggelam. Daun biasanya dihubungkan dengan akar oleh petiol dan ada yang mempunyai batang. Tumbuhan "pondweeds", *Myriophyllum* dan *Heteranthera* termasuk dalam kumpulan ini (Edwards, 1980).

c) Tumbuhan tenggelam

Tumbuhan di dalam kumpulan ini menghabiskan seluruh kitar hidupnya di dalam air. Tumbuhan ini biasanya tidak mempunyai bahagian vegetatif di luar air tetapi adakalanya penghasilan bunga mungkin berlaku di luar air. Tumbuhan ini berada di dalam air dengan melekatkan diri pada sebarang substrat. Contoh tumbuhan adalah 'wild celery', 'coontail' dan *Elodea*. Contoh tumbuhan akuarium pula adalah *Vallisneria*, *Barclaya* dan *Ottelia* (Rataj & Horeman, 1977).

d) Tumbuhan munculan

Tumbuhan munculan adalah tumbuhan yang hanya mempunyai bahagian akar dan pangkal yang tumbuh di dalam air cetek manakala bahagian daun dan batang didapati di luar air. Contoh tumbuhan ini adalah *Typha* dan *Phragmites* (Edwards, 1980).

Secara semulajadi, tumbuhan akuatik dan tumbuhan amphibious boleh didapati pada pelbagai sumber air yang bertakung mahupun mengalir. Ia boleh didapati di tebing sungai, saluran, kunci air, tasik, kolam, paya bakau, rawang, terusan dan longkang besar. Ada juga yang tumbuh sebagai rumpai di kawasan sawah padi (Rataj & Horeman, 1977).

Kebanyakan tumbuhan akuatik berasal dari kawasan tropika atau subtropika, dengan sebilangannya dari kawasan yang lebih panas di zon temperat. Tumbuhan akuatik yang kecil seperti *Anubia*, *Langarosiphon*, *Baldellia* dan *Ranalisma* didapati di Afrika. Spesies *Echinodores* pula boleh didapati di kawasan Amerika Selatan. Ia merupakan spesies yang menarik perhatian ramai ahli akuatik. Di sungai Amazon pula terdapat beberapa spesies yang merupakan tumbuhan musim atau tahunan seperti *Victoria*, lili-air besar, lektus air, *Pistia* dan *Azolla*. Di Malaysia pula spesies *Cryptocornyne* didapati dengan banyaknya di kawasan perairan yang cetek (Mashhor Mansor & Masnadi, 1993).

Tumbuhan akuatik adalah satu kumpulan yang agak besar dan ia terdiri daripada tumbuhan yang berguna dan juga tumbuhan perosak. Ada tumbuhan akuatik yang mempunyai nilai hasil tanaman yang berpotensi tinggi. Contohnya *Cyrtosperma chamissonis* (*C. edule*), *Sagittaria* sp. dan *Rorippa nasturtium-aquaticum* (*Nasturtium officinale*) (Edward, 1980). Tumbuhan akuatik juga digunakan sebagai makanan haiwan (*Aponogeton*, *Lemna* sp. dan *Alternanthera philoxoides*), makanan manusia (*Colocasia esculenta*, *Sium sisarum*, *Ipomoea aquatica* dan *Oriza sativa*), baja (*Pistia stratiotes*, *Hydrilla verticillata* dan *Eichhornia crassipes*), penghasil tenaga (keladi

bunting bersama bahan buangan haiwan dan manusia) dan dalam rawatan sistem buangan (National Academic of Sciences, 1976; Edwards, 1980).

Tujuan utama untuk memperbanyakkan tumbuhan akuatik adalah kerana ia menarik dan juga untuk kebaikan organisma-organisma yang hidup di persekitaran air (Riemer, 1984). Hidupan liar seperti munduk air, burung tiong dan badak juga menggunakan tumbuhan akuatik sebagai makanan, tempat perlindungan dan tempat bersarang (Martin *et. al.*, 1961).

Selain itu spesies tumbuhan akuatik yang tertentu juga diperbanyakkan kerana nilai estetik dan ornamentalnya. Kebanyakan tumbuhan terapung dan munculan mempunyai bunga dan dedaun yang menarik, berguna dalam mencantikkan kolam, tasik di taman-taman, padang golf, sekeliling rumah dan tempat-tempat lain. Tumbuhan akuatik juga digunakan di dalam bangunan seperti pasaraya, restoran dan tempat-tempat awam bagi tujuan perhiasan. Contohnya tumbuhan lili air, 'pickerelweed' dan *Sagittaria* sp. (Riemer, 1984). Sebenarnya, keladi bunting telah dibawa masuk ke New Orleans pada tahun 1884 sebagai tumbuhan ornamental (Edwards, 1987). Tetapi kini ia merupakan tumbuhan perosak yang paling teruk di dunia.

Tumbuhan akuatik jika disiram dengan baik, boleh juga dijadikan sebagai tumbuhan pasu di dalam bilik tetamu (Rataj & Horeman, 1977). Contohnya tumbuhan *Cryptocoryne* yang daunnya hijau berkilat dengan jambak bunga yang cerah.

Selain digunakan bagi tujuan perhiasan tumbuhan akuatik juga memainkan peranan penting dari segi biologi. Tumbuhan akuatik mengandungi klorofil

maka ia boleh melakukan proses fotosintesis. Melalui proses ini karbon dioksida daripada air diserap dan oksigen digantikan kembali ke persekitarannya. Oksigen ini akan digunakan oleh organisma-organisma yang lain bagi proses respirasi (Riemer, 1984). Pertukaran gas ini membolehkan air menjadi bersih dan sesuai bagi kehidupan ikan terutamanya di dalam akuarium (Hervey & Hems, 1973).

Selain daripada tumbuhan akuatik berperanan sebagai makanan ikan secara langsung ataupun secara tidak langsung, ia juga penting sebagai tempat perlindungan dan pembiakan ikan (Elsolodi, 1972; McInerny & Gerard, 1966). Ia juga menyediakan satu keadaan yang hampir menyerupai semulajadi untuk ikan dan organisma air yang lain. Kehidupan ikan berkait rapat dengan tumbuhan, maka tumbuhan akuatik adalah penting (Rataj & Horeman, 1977) dalam akuarium ataupun kolam.

## **2.2 Ciri-ciri botani tumbuhan akuatik**

Tumbuhan akuatik mempunyai struktur morfologi dan anatomi yang berlainan mengikut kedudukannya dalam air. Daun tumbuhan akuatik boleh dibahagikan kepada dua kumpulan berbeza daripada daun-daun tumbuhan terestrial. Daun terapung adalah daun dengan bahagian dorsalnya menyentuh air dan bahagian ventrikalnya bersentuhan dengan udara. Daun yang terapung ini mempunyai lamina yang liat dengan permukaan yang kalis air. Ia biasanya kuat, bertekstur seperti kulit, boleh bergerak bebas serta bilangan stomata yang banyak dibahagian permukaan ventrikalnya. Tangkai daunnya pula panjang dan lembut agar lamina daun dapat bergerak bebas terhadap

pergerakan arus air dan tidak tenggelam di dalam air. Ini semua merupakan ciri-ciri umum bagi kebanyakan tumbuhan dengan daun terapung (Stodola, 1967) . Contoh tumbuhan dengan daun terapung ialah lili air dan *Potamogeton natas*.

Kumpulan daun yang kedua adalah tumbuhan yang telah mengadaptasikan diri sepenuhnya kepada keadaan berair. Bahagian daun tidak mempunyai sebarang perhubungan secara langsung dengan udara dan tenggelam sepenuhnya. Daun-daun kumpulan ini mempunyai banyak perbezaan diantara satu sama lain. Daun tenggelam boleh dikumpulkan dalam dua sub-kumpulan. Sub-kumpulan pertama adalah yang berdaun nipis, berlamina lengkap, biasanya berbentuk riben dan adakalanya lebar. Sub-kumpulan kedua pula adalah kumpulan yang lai daunnya dibahagikan kepada sub-bahagian secara penestrisasi atau secara belahan. Kumpulan kedua akan memberi nisbah luas permukaan terhadap isipadu daun yang tinggi. Ini bertujuan untuk membolehkan tumbuhan mendapat udara yang mencukupi daripada air. Ini merupakan satu adaptasi oleh lamina tumbuhan akuatik yang nyata berbanding dengan tumbuhan terestrial terhadap persekitaran akuatik. Daun yang bercabang juga boleh mengatasi tentangan daripada arus dengan lebih baik (Cook, 1974).

Sistem vaskular tumbuhan akuatik pula biasanya tidak berlignin atau kurang berlignin. Selain itu kutikal yang nipis pada organ tenggelam, daun yang nipis dan ketersediaan kloroplas pada epidermis daun merupakan adaptasi tumbuhan akuatik (Sculthorpe, 1971). Batang tumbuhan akuatik pula mungkin pendek dan tebal, memanjang atau bercabang. Ia juga mungkin menyerupai rizom herba yang padat ataupun berupa ubi (tuber). Pangkal batang ini mungkin tumbuh pada permukaan tanah

ataupun tertanam dan dicengkam oleh akar-akar adventitus yang menggantikan akar primer (Sculthorpe, 1971).

Tumbuhan akuatik bukan sahaja mendapat makanan melalui akar, tetapi nutrien juga boleh diserap melalui bahagian tumbuhan yang lain terutamanya melalui bahagian epidermis pada daun. Contohnya *Ceratophyllum* dan *Utricularia* yang tidak membentuk akar langsung, manakala *Elodea* dan *Najas* hanya membentuk akar yang pendek sahaja (Rataj & Horeman, 1977). Ini memudahkan penyerapan dan penyingkiran nutrien daripada tumbuhan.

Bunga tumbuhan akuatik pula boleh diklasifikasikan sebagai bunga lengkap atau bunga biseksual. Bunga biseksual adalah bunga yang paling biasa didapati pada tumbuhan akuatik. Jika bukan biseksual tumbuhan ini mungkin tumbuhan monoecious seperti *Sagittaria* atau dioecious seperti *Vallisneria* dan *Elodea*. Terdapat juga tumbuhan jenis transitional contohnya *Acorus*. Tumbuhan akuatik ada yang tidak boleh melakukan pengkacukkan sendiri ataupun boleh seperti *Aponogeton*, *Sagittaria* dan beberapa *Echinodorus*. (Rataj & Horeman, 1977).

Penghasilan biji-benih sebagai hasil pembiakan seksual tumbuhan berbunga adalah satu proses generatif yang bertentangan dengan proses vegetatif. pembiakan seksual merupakan satu proses yang lambat dan rumit. Dengan itu kaedah ini jarang digunakan dalam propagasi tumbuhan akuatik kecuali tumbuhan di dalam tiga kelas yang berikut, yang hanya mengandungi beberapa spesies tumbuhan sahaja (Rataj & Horeman, 1977). Iaitu:

1. tumbuhan yang tidak boleh dibiakkan secara vegetatif (*Aponogeton*) dan spesies bermusim (tahunan) yang mati selepas berbunga (*Ottelia*, dll.).
2. tumbuhan yang kaedah pembiakkan vegetatif mengambil masa yang lebih lama berbanding dengan kaedah pembiakkan dengan penghasilan biji-benih. Contohnya kebanyakan spesies *Echinodorus*.
3. tumbuhan yang tidak atau jarang berbunga di dalam akuarium dan tidak membiak langsung secara vegetatif.

Kaedah pembiakkan vegetatif adalah cara pembiakkan yang utama bagi tumbuhan akuatik. Terdapat tumbuhan akuatik yang dipropagasikan melalui pembiakkan rizom (*Cryptocoryne*) dan ada pula melalui akar (*Vallisneria*, *Sagittaria*). Bagi *Echinodorus*, tumbuhan baru terhasil daripada batang pada aksil bunga. Manakala *Ludiugia*, *Elodea*, *Ammania*, *Alternanthera* dan *Hygrophila* menghasilkan anak-anak baru daripada bahagian terpotong pada aksil tumbuhan utama. Kebolehan ini begitu cekap pada sesetengah tumbuhan, di mana bahagian daun boleh menghasilkan akar dan seterusnya menjadi anak pokok baru. *Bacopa amplexicualis*, *Hygrophila polysperma* adalah contoh kumpulan ini. Bahagian-bahagian rizom yang mengandungi pucuk dorman diasingkan secara individu dan ditanam. Ini pula dinamakan sebagai kaedah pembiakan rizom. Ini merupakan cara utama bagi tumbuhan berakar menjalar seperti spesies *Amubias*, *Lagenandra* dan *Acorus*. Bagi tumbuhan tanpa akar menjalar atau rizom, seperti *Echinodorus*, tumbuhan barunya terbentuk di bahagian tepi di sekeliling akar atau ubi (Rataj & Horeman, 1977).

Dua cara pembiakan yang dinyatakan diatas iaitu vegetatif dan generatif. Pembiakan vegetatif didapati lebih baik daripada generatif disebabkan oleh masa pertumbuhan dan pematangannya yang cepat.

## 2.3 Famili Araceae

### 2.3.1 Pengkelasan

Famili Araceae dan Lemnaceae terdapat di dalam Order **Spathiflorae** (Lawrence, 1969) yang terutamanya terdiri daripada tumbuhan herba dan pemanjat serta berbunga kecil.

Kebanyakan tumbuhan dari famili Araceae ialah tumbuhan terrestrial (Lawrence, 1969) dan sebilangan kecil lagi adalah tumbuhan akuatik. Famili ini terbahagi kepada 105 genera dengan 1400-1500 spesies yang kebanyakannya disebarkan di tropika, subtropika dan kawasan temperat. Orang utama yang mengelaskan kumpulan Araceae secara sistematik adalah Engler (1930). Engler telah membahagikan kumpulan Araceae kepada 8 subfamili (Potoideae, Monsteroideae, Calloideae, Lasioideae, Philodendroideae, Calocasioideae, Aroideae dan Pistioideae) dan 28 tribus. Hutchinson (1934) pula telah mengelaskan Araceae kepada 18 tribus dan 113 genera dengan memberi kekunci kepadanya. Pendapat umum adalah bahawa *Anthurium* (ca. 500 sp.), *Philodendron* (ca. 200 sp.), *Homalomena* (80 sp.) dan



*Arisaema* (ca. 60 sp.) merupakan kumpulan genera yang terbesar dalam bidang tumbuhan akuatik.

Engler (1930) mendapati bahawa famili Araceae adalah hasil kacukan diantara Palmae dengan Cyclanthaceae. Wettstein (1935) pula mendapati Araceae lebih maju dari orkid dan kemungkinan ia adalah hasil kacukan daripada stok Helobiae - Liliiflorae. Pada tahun 1950 Fernald pula telah membahagikan kumpulan ini yang terutamanya terdiri daripada tumbuhan tropika kepada *Arisaema*, *Peltandra*, *Calla*, *Symplocarpus*, *Orontium* dan *Acorus*. Manakala Fassett (1969), pula berpendapat bahawa tumbuhan ini tumbuh di kawasan berpayau dan telah maju ke kawasan cetek. Beliau membahagikannya kepada *Peltandra*, *Calla*, *Acorus* dan *Orontium*.

Gleason dan Cronquist (1963) membahagikan famili Araceae kepada 7 genera iaitu *Pinaellie*, *Arisaema*, *Peltandra*, *Symplocarpus*, *Calla*, *Acorus* dan *Orontium*. Akhirnya pada tahun 1974 Cook telah membahagikan kumpulan Araceae ini kepada 115 genera dan 16 daripadanya terdiri daripada kumpulan tumbuhan akuatik. *Ambias* merupakan salah satu genera daripada kumpulan itu. Cara pengelasan ini dianggap lebih baik dan lengkap.

Kebanyakan ahli sains keliru dengan klasifikasi tumbuhan dari segi taksonomi. Genera seperti *Anubia*, *Aponogeton*, *Cryptocoryne*, *Echinodoreus* dan *Lagenandra* yang diimport ke Eropah sebagai tumbuhan akuatik didapati lambat kadar tumbesarnya dan susah untuk dipropagasikan. Akibat tumbuhan tenggelam dan tumbuhan separa tenggelam mempunyai dua keadaan fizikal serta ada tumbuhan yang hampir menyerupai sama antara satu sama lain tetapi bila berbunga baru ia dapat

dibezakan. Dengan itu tumbuhan ini kerap ditinggalkan tanpa diidentifikasi atau salah diidentifikasi sehingga masa ia berbunga, dimana penghasilan bunga pula ialah suatu keadaan yang jarang berlaku pada kebanyakan spesies (Sculthorpe, 1967).

Di Amerika Syarikat, famili Araceae ini kurang penting dan kebanyakan spesies hanya dikultivasikan sebagai tumbuhan hiasan akuarium sahaja. Manakala negara tropika pula mendapati tumbuhan Araceae seperti *Colocasia* (taro) merupakan sumber makanan berkanji dan buah *Monstera* dinikmati kerana rasanya enak. Spesies-spesies daripada lebih kurang 35 genera pula dikultivasikan sebagai tumbuhan hiasan misalnya *Pistia* dan *Orantium* bagi hiasan kolam dan akuarium.

### 2.3.2 Ciri-ciri

Tumbuhan Araceae terdiri dari saiz yang berbeza, dari tumbuhan herba ke tumbuhan semak dan pokok. Daunnya pelbagai bentuk, dari yang ringkas ke kompleks, yang dibezakan kepada petiol dan lai daun. Daun ini mungkin tumbuh terus daripada rizom ataupun dari batang pokok. Bunga-bunga tumbuhan Araceae adalah kecil dan pelbagai warna. Bunga-bunga ini tersusun dalam bentuk spadiks yang dikelilingi dengan brakta (daun pelindung) (Rataj & Horeman, 1977; Jacobsen, 1979). Seludangnya mungkin menyerupai daun (*Acorus*) dan berwarna-warni (*Spatiphyllum*) atau berkembang menyerupai tiub yang mengandungi bunga di dalamnya seperti *Cryptocoryne* (Jacobsen, 1979). Bunganya mungkin biseksual (*Acorus*), kecil dan uniseksual (*Amubias*) atau sangat kecil dan uniseksual (*Cryptocoryne*).

Biji-benih dari tumbuhan Araceae hanya boleh disimpan bagi jangka masa yang pendek sahaja (Rataj & Horeman, 1977). Maka kebanyakan tumbuhan hanya merangkumi kawasan yang kecil dan sesetengahnya menghasilkan tumbuhan baru daripada akar melintang yang menjalar (Jacobsen, 1979) atau melalui pembahagian rizom (Rataj & Horeman, 1977).

Famili Araceae adalah tumbuhan akuarium yang sesuai dan dikultivasikan dengan banyak seperti spesies *Cryptocoryne* dalam medium yang kaya dengan substratum dan air yang tidak berasid (Jacobsen, 1979). Kebanyakan tumbuhan Araceae dikultivasikan sebagai tumbuhan rumah hijau atau tumbuhan di dalam rumah. Famili Araceae mengandungi spesies tumbuhan yang menghasilkan minyak etherial, bahan pahit atau bahan kranogenik (Jacobsen, 1979).

Secara amnya boleh dikatakan bahawa kebanyakan tumbuhan Araceae ialah tumbuhan yang sukakan keadaan yang lembap, berpayau atau tumbuh sebagai tumbuhan akuatik (Rataj & Horeman, 1977).

Kebanyakan tumbuhan Araceae adalah dari golongan tropika atau subtropika; hanya beberapa yang memasuki zon temperat (Jacobsen, 1979; Rataj & Horeman, 1977). Habitat kebanyakan tumbuhan ini dihadkan kepada kawasan dunia lama dan bukannya di dunia baru. Adakalanya terdapat beberapa genera yang menduduki kedua-dua kawasan ini contohnya *Pistia* dan *Arisaema*. Genera Araceae didapati dengan banyaknya di kawasan yang lebih panas seperti Malaya dan bahagian tropika Afrika berbanding dengan kawasan tropika dan subtropika Amerika. Kebanyakan

tumbuhan dunia baru tumbuh sebagai tumbuhan hutan di tapak Andes (Rataj & Horeman, 1977).

### 2.3.3 Genus *Anubia*

Terdapat banyak persoalan tentang nomenkultur genus *Anubia* maka kajian yang berkesan diperlukan bagi pengelasan yang terperinci. Contohnya spesies *Anubia* yang boleh mencapai ketinggian 1 meter dinamakan sebagai *Anubia lanceolata* atau *Anubia congensis* yang kemungkinan besar tergolong dalam kumpulan *A. heterphyllae* (Rataj & Horeman, 1977). Kebanyakan spesies *Anubia* sering diklasifikasikan dengan nama yang salah.

Tumbuhan daripada genera ini biasanya didapati tumbuh di dalam sungai atau kawasan berhampirannya (Jacobsen, 1979). Tumbuhan *Anubia* diantara 1-3 tahun adalah sesuai untuk akuarium; tumbuhan yang matang adalah terlalu besar untuk akuarium di dalam rumah.

*Anubia*, didapati di bahagian tropika Afrika Barat dengan 12 spesies yang tumbuh sepanjang tebing redup (Rataj & Horeman, 1977). Pada musim hujan dan banjir, ia akan hidup dalam keadaan ditenggelami air bagi beberapa bulan. Pembentukan rizom adalah cepat dan ia hanya memerlukan lapisan tanah dasar setebal 10-15 cm .

Daun *Anubia* berbentuk lanceolata, lebar, membujur atau memanjang dengan hujung yang membulat atau menajam, dan petiol yang kadang-kala pendek serta

mempunyai upih di bawah. Permukaan atas daun biasanya licin dan berwarna hijau. Bahagian permukaan bawah daun pula adalah lebih muda, kuning-kehijauan dengan urat yang nyata. Daunnya adalah kuat dan tegang (Rataj & Horeman, 1997). Bunganya adalah uniseks, jantan dan betina yang tular. Sari salut tidak wujud pada buah yang tertutup dalam seludang dan subglobul (Cook, 1974).

Tumbuhan ini mempunyai bunga jantan yang berwarna putih dengan 5-6 stamen dan terletak diatas bunga betina yang berwarna hijau. Seludangnya berwarna hijau-putih yang berubah mengikut spesies (Jacobsen, 1979). Tumbuhan ini jarang berbunga. Identifikasi yang betul adalah susah tanpa pengecaman organ bunga. Penghasilan biji-benih semulajadi juga jarang didapati.

Tumbuhan *Anubia* adalah tumbuhan perhiasan yang cantik. Ia dipropagasikan dengan cara pemotongan rizom. Rizom yang matang diasingkan daripada tumbuhan induk atau dipotong sepanjang tunas-tunas yang dorman dan ditinggalkan tanpa sebarang gangguan ataupun seluruh rizom itu ditinggalkan dalam air dan hanya diasingkan selepas pertumbuhan pucuk. Walaupun penghasilan rizom berlaku tetapi, kematangan rizom untuk menghasilkan mata tunas mengambil masa yang lama. Biasanya ia mengambil masa beberapa tahun sebelum menghasilkan rizom yang cukup besar dan matang serta hanya beberapa tumbuhan dapat dihasilkan daripada rizom ini. Maka *Anubia* adalah satu spesies yang susah diperolehi (Rataj & Horeman, 1977).

#### **2.3.3.1 *Anubia congensis* N.E. Brown**

*Anubia congensis* ialah spesies yang berasal dari Congo dan Guinea. Ia lebih menyerupai *A. lanceolata* tetapi lebih tinggi. Tumbuhan ini suka keadaan air yang

berasid sedikit, cahaya yang lembut and suhu diantara 20 hingga 30°C, dengan suhu optimum 25°C (Hervey & Hems, 1973). Di persekitaran semulajadinya ia mencapai ketinggian lebih kurang 60 cm tetapi di dalam akuarium ia hanya mencapai setengah daripada ketinggian itu (Hervey & Hems, 1973). Daunnya yang boleh mencapai saiz 25-30 cm adalah lebar, berbentuk telur, belulang dengan hujung yang tumpul serta bahagian atas 2/3 cm lebih lebar. Urat-urat pada daun biasanya nyata (Rataj & Horeman, 1977). Seludang bunga hanya membuka pada hujungnya sahaja (Jacobsen, 1979). *A. congensis* adalah tumbuhan yang menarik tetapi sedikit diketahui dalam bidang akuatik (Rataj & Horeman, 1977). Kaedah propagasi adalah melalui pembahagian rizom (tuber) (Hervey & Hems, 1973).

#### 2.2.3.2 *Anubia lanceolata* Schott

*Anubia lanceolata* berasal dari Nigeria, Cameroons and Gabon. Ia juga dikenali ssebagai "Water Aspidistra" (Hervey & Hems, 1973). Ini adalah spesies bersaiz sederhana di antara spesies yang dikultivasikan. Ia merupakan satu spesies yang sesuai sebagai tumbuhan pada bahagian tengah akuarium (McInerny & Gerard, 1966). Daunnya diantara 20-30 cm panjang dan mempunyai petiol yang biasanya lebih pendek dan gemuk daripada daun yang berbentuk lanceolata (maksimum 50 mm lebar, 15-20 cm panjang) (Hervey & Hems, 1973; Rataj & Horeman, 1977; McInerny & Gerard, 1966). Ia adalah tumbuhan dengan daun yang tebal, hijau berkilat dengan urat gelap; daun mengecil bersama-sama di kedua-dua belah dan diakhiri dengan hujung yang tajam (Rataj & Horeman, 1977; McInerny & Gerard, 1966). Propagasi dilakukan dengan pembahagian ubi (tuber) yang berizom (Hervey & Hems, 1973). *A. lanceolata* merupakan tumbuhan dengan tumbesaran yang perlahan (McInerny & Gerard, 1966).

### 2.3.3.3 *Anubia nana* Engler

*Anubia nana* dari Cameroons adalah tumbuhan yang paling kecil dalam genera *Anubia*, berukuran diantara 5 - 10 cm tinggi. Bila ia didapati sebagai tumbuhan rawang ia berukuran lebih tinggi daripada 10 cm dan berbunga dengan lebih cepat (Jacobsen, 1979). Daunnya berbentuk sempit dan berbentuk eliptika ke membujur, 60 mm panjang dan 20-30 mm lebar (Rataj & Horeman, 1977). Rizomnya yang melintang mungkin panjang dan bercabang. Ia didapati hidup di dalam sungai dengan membentuk satu siratan dan tertanam diantara batu-batan (Jacobsen, 1979). Spesies-spesies *Anubia* memerlukan keadaan persekitaran yang redup. Inilah spesies *Anubia* yang paling sesuai untuk akuarium yang kecil dan sebagai tumbuhan perantaraan bagi penanaman dibahagian hadapan akuarium. Suhu yang paling sesuai adalah 22 hingga 26°C (Jacobsen, 1979)

## 2.4 Kultur tisu

### 2.4.1 Kultur tisu tumbuhan akuatik

Kajian telah menunjukkan bahawa beberapa jenis tumbuhan akuatik boleh dipropagasikan daripada pucuk apeks secara *in vitro* (Harder, 1968; Kane *et. al.*, 1988b; Uma & Mohan Ram, 1972) ataupun melalui penghasilan pucuk adventitious (Kane *et. al.*, 1988a; Kane & Albert, 1989; Rao & Mohan Ram, 1981).

*Cryptocoryne wallisii* tumbuhan akuatik yang cantik daunnya telah dikulturkan dengan jayanya (Staritski, 1977). Selain itu, *Cryptocoryne lucens* pula

berjaya dikulturkan dengan menggunakan garam Linsmaier dan Skoog (1965), vitamin (LS) dengan 2.0 mg/l BA dan 0.5 mg/l NAA bersama 0.8% (w/v) agar pada pH 5.7 (Kane *et. al.*, 1990). Kultur disimpan pada  $25 \pm 1$  °C dengan 16 jam fotoperiod ( $40 \mu\text{mols}^{-1}\text{m}^{-2}$ ).

Pengkulturan *Anubia barteri* telah dilakukan dengan jayanya (Huang *et. al.*, 1994). Huang telah menghasilkan 5 kali ganda pucuk *Anubia* setiap bulan. Eksplan dikulturkan di dalam media Murashige dan Skoog (1962) dengan 3% gula, 0.8% agar dan 10 mg/l thiamine HCl, 10 mg/l pyrodoxine HCl, 5 mg/l asid Nicotinic, 2 mg/l glycine, 100 mg/l mio-inositol, 0.3 mg/l BA, 0.01 mg/l thiadiazuron dan 0.1 mg/l NAA.

Selain dari itu, ada juga dilaporkan beberapa tumbuhan akuatik yang telah dikulturkan secara *in vitro* dengan jayanya. Contohnya adalah *Myriophyllum aquaticum* (Kane *et. al.*, 1988a), *Nelumbo pentapetala* (Kane *et. al.*, 1988b), *Myriophyllum heterophyllum* (Kane & Albert, 1989) dan *Limnophila indica* (Rao & Mohan Ram, 1982). Terdapat juga pelbagai tumbuhan dari famili Liliaceae, Iridaceae dan Amaryllidaceae yang telah dimicropropagasikan (Krikorian & Kann, 1986).

#### **2.4.2 Kultur tisu tumbuhan bukan akuatik**

Kajian-kajian dengan meluasnya telah dijalankan ke atas pelbagai tumbuhan dalam penghasilan pucuk berbilang secara *in vitro*. Pada tahun 1988 telah didapati bahawa Eropah barat telah menghasilkan sejumlah 212.5 juta tumbuhan secara



*in vitro* setahun. Tumbuhan ini terdiri daripada tumbuhan hiasan pasu, pokok buah-buahan, tumbuhan bulbous dan cormous. Tumbuhan seperti *Ficus*, *Syngonium*, ubi kentang, strawberi, *Spathiphyllum* dan *Gerbera* dipropagasikan dengan banyaknya melalui kaedah *in vitro* (Zimmerman, 1991).

Kebanyakan kajian telah menunjukkan bahawa sitokinin diperlukan dalam penghasilan pucuk berbilang. Sitokinin digunakan dalam penghasilan pucuk berbilang dengan membebaskan pucuk aksilari daripada tindasan kedominanan apeks (Bhojwani & Razdan, 1983). Sitokinin yang telah digunakan adalah dalam julat 0.5 - 30 mg/l. Secara umumnya sebanyak 1-2 mg/l adalah didapati mencukupi bagi kebanyakan spesies tumbuhan (Bhojwani & Radzan, 1983). Walaupun penggunaan auksin boleh menggalakkan penghasilan pucuk berbilang tetapi dalam kebanyakan kes penggunaan sitokinin sahaja didapati mencukupi bagi penghasilan pucuk berbilang yang optimum (Bhojwani & Radzan, 1983).

*Vriesea 'Poelmanii'* menghasilkan pucuk berbilang bila ia dikulturkan di dalam media yang mengandungi 0.08 mg/l BA. Manggis pula didapati menghasilkan bilangan pucuk optimum pada 4.0 mg/l BAP (Ying Jin *et. al.*, 1994).

Terdapat juga kes-kes yang memerlukan sedikit NAA untuk mendapatkan penghasilan pucuk berbilang yang maksimum. Kultur meristem pisang 'Musa AAA' pula telah dikulturkan dengan jayanya dalam medium MS dengan 1.0 mg/l BA dan 0.5 mg/L NAA dan didapati ia boleh menghasilkan 15 - 20 pucuk per eksplan 30 hari (Vessey & Rivera, 1981). *Catharanthu roseus* menghasilkan pucuk berbilang

yang optima bila ia dikulturkan di dalam medium MS dengan 7.0 mg/l BA dan 0.1 mg/L NAA (Ying Jin *et. al.*, 1994).

Terdapat juga bahan lain atau keadaan tertentu yang merangsang dalam penghasilan pucuk berbilang. Meristem apeks buah kurma pula dikulturkan pada medium MS dengan 1 mg/l kinetin , 1 mg/l auksin dan 200 mg/l ekstrak malt (Hussien, 1978). Manakala 'African violet' pula menghasilkan kalus pada medium MS dengan 2 mg/l NAA dan 0.2 mg/l BA dan seterusnya menghasilkan pucuk dan akar dengan kehadiran cahaya. Ia juga boleh menghasilkan pucuk tanpa kalus pada medium MS dengan 1 mg/l BAP dan 1 mg/l NAA (Vazquez & Short, 1978).

Selain itu terdapat juga kes dimana 2-ip dan BA boleh meningkatkan penghasilan pucuk berbilang *Cyripedium candidum* (De Pauw *et. al.*, 1995). Poliferasi pucuk pada hibrid "willow" dan "white clove" telah berjaya dengan BAP tetapi gagal dengan penggunaan 2-ip (Bhojwani & Razdan, 1983). *Beta vulgaris* L. pula telah dikulturkan pada medium Gamborg dengan 8.0 mg/l BAP dan 8.0 mg/l NAA tetapi disubkulturkan ke medium Gamborg dengan 0.5 mg/l BAP dan 0.01 mg/l GA bagi meningkatkan penghasilan pucuk ke 20 - 25 pucuk per eksplan (Atanassov, 1979).

## 2.5 Eksplan

### 2.5.1 Jenis

Jenis eksplan yang diguna ditentukan oleh tujuan kajian projek kultur tisu serta bergantung kepada jenis tumbuhan. Jika tujuan kajian adalah bagi penghasilan dan propagasi klon maka pucuk apeks atau pucuk sisi/aksilari digunakan sebagai eksplan. Bagi penghasilan kalus pula kepingan kotiledon, hipokotiel, stem, daun atau embrio digunakan. Sel-sel meristem kadang-kadang terdapat pada massa kalus yang dirujuk sebagai bahagian meristemoid. Ini boleh menghasilkan akar adventitius, pucuk dan embrio somatik (Bhojwani & Razdan, 1983).

Eksplan didapati daripada pelbagai sumber seperti batang dan hujung rizom hingga nod, internod, daun, hujung akar, embrio dan biji. Sumber eksplan yang tertentu mungkin sukar dikulturkan secara *in vitro* kerana kehadiran mikro-organisma yang banyak pada eksplan contoh penggunaan tuber sebagai eksplan (Atanasov, 1979).

### 2.5.2 Propagasi

Pembiakan seksual menghasilkan biji-benih yang bukan 'true-to-type' kerana kebanyakan tumbuhan perhiasan dan buah-buahan adalah heterozigos. Pembiakan aseksual pula, membolehkan tumbuhan mengandungi ciri-ciri genetik yang sama seperti tumbuhan induk. Maka ini membenarkan ciri-ciri unik kultivar itu terus ditonjolkan (Bhojwani & Radzan, 1983). Kaedah propagasi ini telah dibahagikan

kepada tiga peringkat oleh Murashige (1974) iaitu peringkat pertama penghasilan kultur aseptik, peringkat kedua propagasi dan peringkat ketiga penyediaan pucuk untuk ditanam di tanah (Bodjwani & Radzan, 1983)

## 2.6 Biji-benih tiruan

Tumbuhan menghasilkan biji-benih untuk memastikan kewujudan progeninya yang berterusan serta untuk menduduki tempat-tempat baru. Biasanya biji-benih dihasilkan melalui proses fertilisasi. Kini, biji-benih boleh dihasilkan secara buatan iaitu bukan secara semulajadi (Pratap, 1992).

### 2.6.1 Takrifan

Definisi am biji-benih tiruan adalah penkapsulan embrio somatik di dalam selaput polimer sintetik yang boleh dibiodegrasikan. Selaput ini bertindak sebagai selaput tiruan sesuatu biji-benih. Selaput ini juga perlu untuk melindungi embrio somatik, dari kecederaan mekanik semasa penyelenggaraan dan membenarkan percambahan dan juga regenerasi embrio kepada anak benih tanpa penggunaan sebarang bahan asing untuk percambahan (Pratap, 1992; Redenbaugh *et. al.*, 1984; 1986; Murashige, 1978; Steward *et. al.*, 1958).

Yamada (1963) kemudiannya telah meluaskan skop "biji benih tiruan" dengan memberi satu definisi baru. Mengikutnya, " biji-benih tiruan terdiri daripada