



Fakulti Sains dan Teknologi Sumber

**KAJIAN PERBANDINGAN CIRI MORFOLOGI DAN ANATOMI
BAGI SPESIES *AQUILARIA* DI MALAYSIA**

Mohd. Alfian Bin Alias

QK
641
M697
2005

Sarjana Muda Sains dengan Kepujian
(Sains dan Pengurusan Sumber Akuatik)
2005

**KAJIAN PERBANDINGAN CIRI MORFOLOGI DAN ANATOMI BAGI
SPESIES *AQUILARIA* DI MALAYSIA**

P.KHIDMAT MAKLUMAT AKADEMIK
UNIMAS



1000128298

Mohd. Alfian Bin Alias

**Projek ini diserahkan untuk memenuhi sebahagian daripada keperluan untuk
ijazah Sarjana Muda Sains dengan Kepujian
(Sains dan Pengurusan Sumber Tumbuhan)**

**Fakulti Sains dan Teknologi Sumber
UNIVERSITI MALAYSIA SARAWAK
2005**

PENGHARGAAN

Alhamdulillah dan syukur keatas Allah S.W.T diatas terlaksananya kajian ini dimana tanpa restunya kajian ini tidak akan berjaya saya jalankan. Jutaan terima kasih diucapkan kepada kedua ibubapa saya yang memberi sokongan dari segi kewangan dan juga moral. Jutaan terima kasih juga kepada penyelia saya Prof. Madya Dr. Cheksun bt. Tawan, pembantu penyelia Prof. Madya Dr. Isa Ipor dan juga pembantu penyelidik, En. Rizan Abdullah atas bantuan dari segi tenaga dan pengetahuan sepanjang kajian ini di jalankan sama ada semasa menjalankan kerja lapangan, semasa menjalankan eksperimen dan juga adlam usaha menyiapkan kajian ini. Terima kasih juga diucapkan kepada para pensyarah yang telah memberikan tunjuk ajar sepanjang tiga tahun saya belajar di UNIMAS dan juga kepada tenaga kerja bukan akademik unimas diatas bantuan sepanjang saya berurusan dengan pihak anda. Tidak lupa juga kepada teman-teman Mekiong Kalu, Freddy Yeo Kuok San, Malcom Boxie Jilimin, dan teman-teman lain. Terima kasih atas sokongan dan bantuan anda semua. Tanpa bantuan dan dorongan daripada anda semua kajian ini tidak akan dapat saya jalankan. Tidak mampu untuk saya membalas segala budi baik anda semua. Semoga tuhan akan memberkati hidup anda semua.

ISI KANDUNGAN

TAJUK	MUKA SURAT
PENGHARGAAN	ii
ISI KANDUNGAN	iii
SENARAI JADUAL	vi
SENARAI RAJAH	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
BAB 1: PENGENALAN	1
BAB 2: ULASAN PERPUSTAKAAN	5
2.1 Taksonomi Spesies <i>Aquilaria</i> .	5
2.2 Anatomi Spesies <i>Aquilaria</i>	5
2.3 Taburan Spesies <i>Aquilaria</i>	6
2.4 Pembentukan Gaharu.	7
2.5 Sebatian Kimia yang Terkandung dalam Spesies <i>Aquilaria</i> .	8
2.5.1 Kandungan bahan kimia pada <i>Aquilaria malaccensis</i>	9
BAB 3: KAEDAH DAN BAHAN	10
3.1 Kaedah Pemungutan Sampel	10
3.2 Kajian Morfologi	10
3.3 Kajian Anatomi	11
3.3.1 Penyediaan Slaid Mikroskop	11
3.3.2 Pemerhatian Mikroskopik keatas Ciri Anatomi	12
3.3.2.1 Pengiraan Saiz liang	12
3.3.2.2 Taburan Kepadatan Liang	12
3.3.2.3 Pengiraan Ketinggian Ruji	12
3.3.2.4 Taburan Kepadatan Ruji	13
3.4 Penyediaan Slaid Untuk Kajian Stomata Dan Epidermis	13

BAB 4: KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN	15
4.1 Kajian Morfologi	15
4.1.1 Ciri Morfologi <i>Aquilaria beccariana</i> Van Tiegh.	15
4.1.2 Ciri Morfologi <i>Aquilaria microcarpa</i> Baill.	17
4.1.3 Ciri Morfologi <i>Aquilaria malaccensis</i> Lamk.	19
4.1.4 Ciri Morfologi <i>Aquilaria hirta</i> Ridl.	21
4.2 Perbandingan Ciri Morfologi	23
4.2.1 Panjang Daun	23
4.2.2 Lebar Daun	23
4.2.3 Panjang Petiol	24
4.3 Ciri Anatomi Berdasarkan Keratan Batang	25
4.3.1 <i>Aquilaria beccariana</i> Van Tiegh.	25
4.3.2 <i>Aquilaria microcarpa</i> Baill.	27
4.4 Ciri Anatomi Berdasarkan Abaxial Daun	30
4.4.1 <i>Aquilaria beccariana</i> Van Tiegh.	30
4.4.2 <i>Aquilaria microcarpa</i> Baill.	30
4.4.3 <i>Aquilaria hirta</i> Ridl.	31
4.5 Perbandingan Ciri Anatomi Berdasarkan Keratan Batang	31
4.5.1 Saiz Liang Vesel	32
4.5.2 Taburan Kepadatan Liang Vesel	33
4.5.3 Ketinggian Ruji	33
4.5.4 Taburan Kepadatan Ruji	33
4.6 Perbandingan Ciri Anatomi Berdasarkan Abaxial Daun	34
4.6.1 Saiz Stomata	34
4.6.2 Taburan Kepadatan Stomata	34
4.6.3 Saiz Sel Epidermis	35
4.6.4 Taburan Kepadatan Sel Epidermis	35
4.6.5 Indeks Stomata	36

BAB 5: KESIMPULAN	37
RUJUKAN	38
SENARAI LAMPIRAN	
LAMPIRAN I: ANOVA Analisis Perbandingan Panjang Daun	41
LAMPIRAN II: ANOVA Analisis Perbandingan Lebar Daun	43
LAMPIRAN III: ANOVA Analisis Perbandingan Panjang Petiol	45
LAMPIRAN IV: ANOVA Analisis Perbandingan Saiz Liang & Panjang Ruji	47
LAMPIRAN V: ANOVA Analisis Perbandingan Taburan Liang	48
LAMPIRAN VI: ANOVA Analisis Perbandingan Taburan Ruji	49
LAMPIRAN VII: ANOVA Analisis Perbandingan Saiz Stomata	50
LAMPIRAN VIII: ANOVA Analisis Perbandingan Taburan Stomata	51
LAMPIRAN X: ANOVA Analisis Perbandingan Saiz Epidermis	52
LAMPIRAN IX: ANOVA Analisis Perbandingan Taburan Epidermis	53

SENARAI JADUAL

Jadual 1: Import dan eksport bagi <i>Aquilaria malaccensis</i> .	2
Jadual 2: Harga bagi gaharu di India.	3
Jadual 3: Kandungan bahan kimia pada <i>Aquilaria malaccensis</i> .	9
Jadual 4: Taburan kepadatan ruji mengikut Piawaian.	13
Jadual 5: Perbandingan saiz daun dan juga petiol bagi keseluruhan spesies	24
Jadual 6: Perbandingan liang vesel.	33
Jadual 7: Perbandingan ruji.	33
Jadual 8: Perbandingan ciri anatomi berdasarkan abaxial daun.	36
Jadual 9: Indeks stomata.	36

SENARAI RAJAH

Rajah 1: Ilustrasi <i>Aquilaria beccariana</i> Van Tiegh	15
Rajah 2: Ilustrasi <i>Aquilaria microcarpa</i> Bail.	17
Rajah 3: Ilustrasi <i>Aquilaria malaccensis</i> Lamk	19
Rajah 4: Ilustrasi <i>Aquilaria hirta</i> Ridl.	21
Rajah 5: Kulit pokok	22
Rajah 6: Kayu gubal	22
Rajah 7: Gambarajah mikroskop keratan menegak batang <i>A. beccariana</i>	25
Rajah 8: Gambarajah mikroskop keratan melintang batang <i>A. beccariana</i>	26
Rajah 9: Taburan liang vesel <i>Aquilaria beccariana</i>	26
Rajah 10: Taburan ruji <i>Aquilaria beccariana</i>	27
Rajah 11: Gambarajah mikroskop keratan menegak batang <i>A. microcarpa</i>	28
Rajah 12: Gambarajah mikroskop keratan melintang batang <i>A. microcarpa</i>	28
Rajah 13: Taburan liang vesel <i>A. microcarpa</i>	29
Rajah 14: Taburan ruji <i>A. microcarpa</i>	29
Rajah 15: Gambarajah mikroskop slaid bahagian abaxial daun.	31
Rajah 16: Taburan Stomata.	34
Rajah 17: Taburan epidermis.	35

KAJIAN PERBANDINGAN CIRI MORFOLOGI DAN ANATOMI BAGI SPESIES *AQUILARIA* DI MALAYSIA

Mohd. Alfian Bin Alias

Program Sains dan Pengurusan Sumber Tumbuhan
Fakulti Sains dan Teknologi Sumber
Universiti Malaysia Sarawak

ABSTRAK

Suatu kajian perbandingan ciri morfologi dan anatomi telah dijalankan ke atas empat spesies *Aquilaria* yang terdapat di Malaysia iaitu *Aquilaria beccariana* Van Tiegh, *Aquilaria microcarpa* Bail., *Aquilaria malaccensis* Lamk. dan *Aquilaria hirta* Ridl. Kajian morfologi dilakukan berdasarkan spesimen herbarium yang dipinjam daripada Pusat Penyelidikan Hutan Sarawak, Institut Penyelidikan Perhutanan Malaysia (FRIM), dan Pusat Penyelidikan Perhutanan Sandakan, Sabah dan juga sampel yang diambil di Sungai Stom, Bau dan juga hutan di Saratok, Sarawak. Wujud perbezaan dari segi saiz daun dan juga petiol dimana *Aquilaria beccariana* dan *Aquilaria hirta* mempunyai saiz daun yang besar serta petiol yang panjang berbanding dengan spesies lain. Kesemua spesies mempunyai stomata jenis parasitik serta saiz yang hampir serupa iaitu pada julat 18.5 - 40.6 μm . Kesemua spesies mempunyai taburan kepadatan stomata yang berbeza-beza dengan *A. hirta* mempunyai kepadatan stomata yang paling tinggi dan *A. microcarpa* mempunyai kepadatan stomata yang paling rendah. Perbandingan sel epidermis pula menunjukkan kesemua spesies mempunyai sel epidermis isodiametrik dan dari segi saiz pula *A. microcarpa* mempunyai saiz yang lebih besar berbanding dengan *A. beccariana* dan *A. hirta*. Taburan kepadatan epidermis menunjukkan *A. beccariana* dan *A. hirta* mempunyai kepadatan yang agak sama manakala *A. microcarpa* mempunyai taburan epidermis yang paling rendah. Indeks stomatikal bagi ketiga-tiga spesies adalah pada julat 0.20 - 0.23 dengan *A. beccariana* mempunyai indeks stomata tertinggi (0.23), manakala *A. microcarpa* mempunyai indeks terendah (0.20). Keratan kayu gubal *A. beccariana* dan *A. microcarpa* digunakan untuk menentukan saiz dan taburan kepadatan liang vesel dan ruji. Berdasarkan pemerhatian yang dijalankan *A. beccariana* dan *A. microcarpa* mempunyai saiz liang vesel yang lebih kurang sama iaitu pada julat 66.5 - 112.6 μm , manakala taburan kepadatan liang vesel, saiz dan kepadatan ruji adalah berbeza.

Kata kunci: ciri morfologi dan anatomi, *Aquilaria beccariana*, *Aquilaria microcarpa*, *Aquilaria malaccensis*, *Aquilaria hirta*.

ABSTRACT

A comparative study in morphological and anatomical characters of four *Aquilaria* species that could be found in Malaysia that are *Aquilaria beccariana* Van Tiegh., *Aquilaria microcarpa* Bail., *Aquilaria malaccensis* Lamk., and *Aquilaria hirta* Ridl. were carried out. The morphological study was based on herbarium specimen that been loaned from Sarawak Forest Research Center, Forest research Institute of Malaysia (FRIM) and Sandakan Forest Research Center in Sabah, and also sample that been collected from Stom river, Bau and Saratok forest, Sarawak. From the comparison of leaf size and petiole it showed that *A. beccariana* and *A. hirta* have larger leaf size and longer petiole size compare to other species. All the *Aquilaria* species have a parasitic type of stomata and almost same in size in a range of 18.5 - 40.6 μm . *A. hirta* showed the highest density of stomata while *A. microcarpa* was the lowest. The epidermis cell showed that all the *Aquilaria* species have isodiametric epidermis cell. Comparison of epidermis cell size showed that *A. microcarpa* has the larger epidermis cell size compare to *A. beccariana* and *A. hirta*. The densities in epidermis cell showed that *A. microcarpa* has the lower epidermis density compared to *A. beccariana* and *A. hirta*. Stomata index for all three species were in range of 0.20 - 0.23. *A. beccariana* has the highest stomata index (0.23) while *A. microcarpa* has the lowest index (0.20). According to the observation of vessel pores, both species have shows almost the same vessel pores size in a range of 0.04 - 0.06 μm , and both species also have different density of vessel pores. Both species have different size and density of rays.

Key words: morphological and anatomical characters, *Aquilaria beccariana*, *Aquilaria microcarpa*, *Aquilaria malaccensis*, *Aquilaria filaria*, *Aquilaria hirta*.

BAB I PENGENALAN

Aquilaria Lam. merupakan salah satu genus yang dikelaskan dalam famili Thymelaeaceae. Dalam famili Thymelaeaceae terdapat 50 genera dan 500 spesies kesemuanya di seluruh dunia. Bagi genus *Aquilaria* pula terdapat 15 spesies keseluruhannya di seluruh dunia tetapi hanya terdapat 4 sahaja spesies dari genus ini di Malaysia iaitu *A. beccariana* Van Teigh., *A. malaccensis* Lamk., *A. microcarpa* Bail., dan *A. hirta* Ridl. Spesies-spesies ini boleh ditemui di kawasan tanah rendah menurut Corner (1988).

Aquilaria beccariana boleh di jumpai di kawasan hutan primer dan sekunder dan kadangkala boleh dijumpai di kawasan hutan paya gambut. Ianya tumbuh pada kawasan yang berketinggian 800 m dari paras laut (Anon,1997). *Aquilaria microcarpa* mudah dijumpai dari kawasan hutan tanah rendah sehinggalah kawasan hutan yang berketinggian 200 m dari paras laut. Spesies ini boleh mencapai ketinggian sehingga 40 m tinggi dan diameter 80 cm (Ding Hou, 1960). *Aquilaria malaccensis* merupakan spesies yang mudah dijumpai di Borneo dimana ia boleh ditemui di kawasan hutan primer dan sekunder, dan juga kaki bukit yang berketinggian kira-kira 750 m. Ianya merupakan pokok yang bersaiz sederhana dimana boleh mencapai ketinggian 40 m dan diameter 60 cm (Corner, 1988). Taburan spesies ini di Semenanjung Malaysia adalah hampir seluruh semenanjung kecuali Kedah dan Perlis (Jantan, 1990). *Aquilaria hirta* merupakan pokok yang boleh mencapai ketinggian sehingga 15 m sahaja dimana ianya merupakan spesies yang mempunyai ketinggian yang agak rendah dibandingkan dengan spesies *Aquilaria* yang lain. Mempunyai diameter 50 cm dan boleh biasanya boleh dijumpai di kawasan hutan primer (Whitmore, 1972).

Spesies-spesies penghasil gaharu ini dikenali dengan pelbagai nama seperti Engkaras, Tengkaras, dan nama yang biasa digunakan ialah gaharu. Gaharu merupakan satu komoditi hasil hutan bukan kayu yang amat penting dan berharga berdasarkan permintaan keatas komoditi ini amat tinggi (Soehartono, 2001). Jadual 1 dibawah menunjukkan jumlah eksport dan import gaharu daripada *Aquilaria malaccensis* bagi Negara Indonesia, Thailand dan juga semenanjung Malaysia sepanjang tahun 1995

sehinggalah 1997 berdasarkan laporan tahunan CITES (Convention on International Trade on Endangered Species of Wild Flora and Fauna) yang telah dikumpulkan. Daripada jadual dibawah, didapati negara kita mengimport paling banyak gaharu berbanding negara lain menunjukkan penggunaan gaharu di negara kita adalah tinggi.

Negara	Tahun	Import (Kg)	Eksport (Kg)
Indonesia	1995	500	323 577
	1996	214 095	293 593
	1997	0	305 483
Semenanjung Malaysia	1995	116 581	90 478
	1996	157 713	163 107
	1997	90 830	87 230
Thailand	1997	216	244

Jadual 1: Import dan eksport bagi *Aquilaria malaccensis*.

Majoriti daripada hasil gaharu yang terdapat di Malaysia di eksport keluar Negara berbanding digunakan untuk kegunaan sendiri (Yacob, 1999). Gaharu dibahagikan kepada beberapa gred dalam pasaran dimana gaharu yang terbaik adalah yang mempunyai warna yang paling gelap biasanya digunakan untuk campuran kemenyan manakala gred yang lebih rendah digunakan untuk membuat pewangi (Gibson, 1977). Malaysia menghasilkan lapan gred gaharu dimana gred 1 hingga 4 lebih gelap, mengandungi kandungan resin yang tinggi dan boleh tengelam di dalam air manakala gred 4 hingga 8 berwarna coklat ke coklat cerah dan mampu terapung di atas air (Heuveling & Philips, 1999). Jadual 2 dibawah menunjukkan perbezaan harga gaharu di negara India pada tahun 1993, 1994 dan 1998. harga gaharu lebih tinggi pada tahun 1994 berbanding tahun 1993 menunjukkan permintaan yang tinggi keatas gaharu disamping penghasilan yang rendah di India. Manakala harga gaharu menurun pada tahun 1998 setelah *Aquilaria malaccensis* diletakkan didalam Appendix II CITES mengakibatkan harga gaharu menjadi terkawal.

Tahun	Gred	Harga (INR/Kg)	Harga (USD/Kg)
1993	1	30 000	956
	2	20 000	638
	3	7 500	239
	4	100-250	3-8
1994	1	65 000	2 072
	2	15 000	478
	3	7 000	223
	4	350	11
1998	1	50 000	1 213
	2	30 000	728
	3	10 000	243
	4	450	11

Jadual 2: Harga bagi gaharu di India.

* INR = Rupiah India , USD = Dollar Amerika.

Sumber : Gupta, 1999.

Spesies *Aquilaria* banyak dieksploitasi untuk mendapatkan gaharu yang terdapat didalamnya. Penebangan yang tidak terkawal menyebabkan ianya semakin berkurangan di habitat semulajadinya. Dalam beberapa tahun ini pasaran bagi komoditi ini meningkat dengan mendadak mengakibatkan spesies-spesies yang menghasilkan gaharu ini dikelaskan sebagai spesies terancam akibat daripada permintaan keatas gaharu yang amat tinggi. Menyedari keatas kekurangan spesies ini akibat daripada penebangan yang tidak terkawal, saintis di Malaysia terutamanya FRIM telah merangka beberapa program yang bertujuan melindungi spesies-spesies ini dan sekali gus menjalankan penyelidikan berkenaan mekanisma pembentukan damar pada pokok gaharu (Kadir, *et al.* 1997). Disebabkan permintaan keatas gaharu yang terlalu tinggi, dan penebangan yang tidak terkawal mengakibatkan negara penghasil gaharu seperti Indonesia, Malaysia dan India seringkali kekurangan dalam penghasilan gaharu dan spesies ini juga semakin terancam (Chakrabarty & Menon, 1994, Anon, 1994, and Momberg *et al.*, 1997). Setakat ini hanya *A. malaccensis* sahaja yang telah diletakkan di dalam Appendix II CITES (Convention on International Trade on Endangered Species of Wild Flora and Fauna) hasil kesedaran diatas keadaan spesies ini yang semakin terancam (CITES, 1994). Tujuan meletakkan

spesies ini kedalam senarai CITES adalah untuk memastikan perdagangan yang dilakukan keatas spesies ini tidak menjejaskan taburan spesies ini (Ding Hou, 1960). Kajian secara terperinci terutamanya dari segi morfologi dan anatomi kayu bagi spesies *Aquilaria* masih belum didapati di negara kita. Kajian ini penting untuk kita membezakan spesies-spesies *Aquilaria* sebagai penghasil gaharu di Malaysia. Adalah wajar untuk mengenalpasti spesies lain seperti *Aquilaria beccariana*, *Aquilaria microcarpa*, dan *Aquilaria hirta* juga turut ditebang untuk mendapatkan gaharu. Ini adalah untuk memastikan spesies berkenaan akan turut dikawal and dilindungi agar populasinya di habitat semulajadi tidak akan terancam di masa akan datang.

BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN

2.1 Taksonomi Spesies *Aquilaria*

Aquilaria beccariana Van Teigh. boleh di jumpai di kawasan hutan primer dan sekunder dan kadangkala boleh dijumpai di kawasan hutan paya gambut. Ianya tumbuh pada kawasan yang berketinggian 800 m dari paras laut (Anon,1997). *Aquilaria microcarpa* Bail. mudah dijumpai dari kawasan hutan tanah rendah sehinggalah kawasan hutan yang berketinggian 200 m dari paras laut. Spesies ini boleh mencapai ketinggian sehingga 40 m tinggi dan diameter 80 cm (Ding Hou, 1960). *Aquilaria malaccensis* Lamk. merupakan spesies yang mudah dijumpai di Borneo dimana ia boleh ditemui di kawasan hutan primer dan sekunder, dan juga kaki bukit yang berketinggian kira-kira 750 m. Ianya merupakan pokok yang bersaiz sederhana dimana boleh mencapai ketinggian 40 m dan diameter 60 cm (Corner, 1988). Taburan spesies ini di Semenanjung Malaysia adalah hampir seluruh semenanjung kecuali Kedah dan Perlis (Jantan, 1990). *Aquilaria hirta* Ridl. merupakan pokok yang boleh mencapai ketinggian sehingga 15 m sahaja dimana ianya merupakan spesies yang mempunyai ketinggian yang agak rendah dibandingkan dengan spesies *Aquilaria* yang lain. *Aquilaria hirta* mempunyai diameter 50 cm dan biasanya boleh dijumpai di kawasan hutan primer (Whitmore, 1972).

2.2 Anatomi Spesies *Aquilaria*

Terdapat beberapa ciri anatomi yang boleh didapati daripada Spesies *Aquilaria* iaitu seperti pada daun, epidermis bermusiladge (karbohidrat kompleks yang akan memngeras seperti gam apabila kering dan berbentuk agar apabila lembab) dengan stomata anomositik (struktur sel subsidiari tiada perbezaan dengan sel epidermis) atau siklositik. Floem pada tisu vaskular primer terletak pada kedua-dua bahagian zilem, atau terbentuk pada bahagian tengah zilem sahaja. Mempunyai floem dalaman atau tidak. zilem mempunyai sel trakeid yang berserat, dan adanya liang (vesel). (Watson & Dallwitz, 1995).

Kaedah yang digunakan dalam kajian anatomi merupakan kaedah yang sama digunakan dalam kajian (Sari, *et al.*, 1999) yang bertajuk 'Comparison of ploidy level screening methods in watermelon: *Citrullus lanatus* (Thunb.)' dimana salah satu kaedah dalam kajian yang dijalankan dalam kajian itu ialah pengiraan saiz stomata dan jumlah sel epidermis pada slaid. Dalam kajian anatomi ini sampel kayu dan kulit kayu digunakan dimana sampel tadi akan di potong menggunakan alat pemotong keratan nipis iaitu mikrotom pada ukuran 1 cm x 1 cm dan ketebalan 20 μ m. Keratan terbahagi kepada tiga bahagian iaitu bahagian memanjang, rentas dan radial. Kepingan-kepingan tadi kemudiannya dibuat dalam bentuk slaid dan pemerhatian anatomi permukaan daun, salur dan serat pada setiap slaid untuk di perbandingkan diantara keempat-empat spesies.

2.3 Taburan Spesies *Aquilaria*

Taburan *Aquilaria malaccensis* di Semenanjung Malaysia adalah pada hampir keseluruhan di seluruh semenanjung kecuali Kedah dan Perlis (Jantan, 1990). *Aquilaria microcarpa* boleh dijumpai di Semenanjung Malaysia, Sumatera (Sidjungdjung, Palembang dan Lampong), Banka, dan juga kepulauan Borneo (Sabah dan Sarawak). *Aquilaria hirta* pula boleh dijumpai di beberapa negeri di Semenanjung Malaysia seperti Terengganu, Johor dan Pahang. Selain itu, spesies ini juga boleh ditemui di Singapura, dan juga Timur Sumatra. *Aquilaria beccariana* boleh dijumpai di Semenanjung Malaysia (Johor), Kepulauan Borneo (Sabah dan Sarawak), dan juga Sumatera (Palembang). (Ding Hou, 1960).

2.4 Pembentukan Gaharu

Punca terhasilnya gaharu pada spesies *Aquilaria* masih lagi belum diketahui sepenuhnya dan buat masa ini terdapat tiga tanggapan atau hipotesis tentang penghasilan gaharu. Pertama gaharu dipercayai terhasil akibat daripada infeksi atau jangkitan daripada fungi, ianya kerana beberapa fungi seperti *Fusarium oxyporus*, *F. bulbigenium* dan *F. laseritium* telah di temui pada teras kayu pokok ini. Gaharu yang mempunyai bau yang wangi ini mempunyai pelbagai kegunaan seperti pewangi, ubat-ubatan, upacara keagamaan dan sebagainya (Macmillans, 1991, and Soehartono, 2001). Terdapat pelbagai jenis fungi yang dijumpai menyebabkan sukar untuk menentukan spesifikasi jenis fungi yang membawa kepada penghasilan gaharu kerana berdasarkan pemerhatian keatas penginokulatan fungi pada spesies *Aquilaria* mendapati variasi terhadap jenis fungi bagi spesies yang berbeza dengan taburan yang tidak konsisten pada tisu perumah (Rahman & Basak 1980). Jalaluddin (1977) mendapati penghasilan gaharu adalah disebabkan oleh *Cytosphaera mangiferae*, manakala penyelidikan keatas *A. agallocha* oleh Bhattacharya *et al.* (1952) mendapati kehadiran *Epicoccum granulatum* pada tisu perumah tersebut menyimpulkan fungi itu sebagai agen penyebab kepada penghasilan gaharu.

Hipotesis kedua ialah gaharu terhasil daripada luka pada pokok dimana luka pada pokok dianggap sebagai penyebab utama dan jangkitan fungi sebagai kesan daripadanya. Apa yang disimpulkan melalui hipotesis ini ialah fungi tidak dapat menjangkiti pokok sekiranya tidak terdapat bukaan akibat luka (Das 1963, Anon. 1976, Gibson 1977, Rahman & Basak 1980 dan Rahman & Khisa 1984). Berdasarkan siri eksperimen penginokulatan kultur tulen fungi keatas blok kayu *A. agallocha* yang dijalankan oleh Rahman & Basak (1980) mendapati penghasilan gaharu disebabkan oleh terhasilnya bukaan akibat luka tetapi oleh fungi yang tertentu atau spesifik yang membawa kepada satu kesimpulan iaitu jangkitan fungi pada bukaan kulit pokok akibat luka berkemungkinan penyebab kepada penghasilan gaharu. Penyelidikan yang dijalankan oleh Rao & Dayal (1992) keatas floem kayu gaharu mendapati kehadiran hifa fungi berseptat yang biasanya tidak ditemui pada pokok gaharu. Selain itu satu lapisan tisu tertier terbentuk di sekeliling kambium sekunder pada floem merupakan satu pertumbuhan yang tidak normal dan ini membawa kepada tanggapan bahawa penghasilan

tisu tertier itu disebabkan oleh gangguan fizikal seperti luka pada pokok yang membawa kepada terhasilnya gaharu.

Hipotesis ketiga pula menyatakan bahawa gaharu terhasil daripada tindak balas pokok terhadap luka yang terhasil sepertimana yang telah di laporkan oleh Nobuci & Siripatanadilok (1991) iaitu berlaku perkaitan di antara penghasilan gaharu dan perubahan struktur dan fungsi sel parenkima pada kayu gubak selepas terhasilnya luka. Terdapat dua peringkat perubahan yang berlaku keatas sel parenkima iaitu perubahan pada peringkat pertama ialah pengurangan dan hilangnya tempat penyimpanan kanji pada sel parenkima mankala peringkat kedua ialah berlakunya pertambahan jumlah dan saiz salur berdasarkan kehadiran tompok berwarna coklat selepas kehilangan tempat penyimpanan kanji. Semasa peringkat kedua perubahan, Keputusan ini membawa kepada persoalan sama ada perubahan pada sel boleh membawa kepada penghasilan gaharu pada pokok yang sihat masih belum dapat di putuskan.

2.5 Sebatian Kimia yang Terkandung dalam Spesies *Aquilaria*.

Gaharu menghasilkan bau yang amat wangi disebabkan oleh kandungan sesquiterpene iaitu sejenis alkohol. Namun gaharu tidak menghasilkan sebarang bau-bauan pada suhu bilik, dimana ia hanya akan menghasilkan bau harum apabila dibakar. Ini berlaku kerana '2-[2-(4'-metoksipenil) etil] kromon' dan '2-(2-peniletal) kromon' atau 'flindersiakromon' hanya akan menghasilkan '4-metoksibenzaldehid' dan benzaldehid melalui proses pyrolysis pada suhu 150° (Hashimoto *et al.* 1985). Pelbagai penyelidikan keatas kandungan kimia gaharu telah dijalankan namun penyelidikan keatas kandungan kimia pada gaharu buat pertama kalinya dilakukan oleh Kafuku dan Ichikawa pada tahun 1936 (Shimada *et al.* 1982). Kandungan dan jenis kandungan kimia bagi spesies yang berbeza juga berlainan contohnya *Aquilaria malaccensis* mempunyai kandungan kimia yang berbeza dengan spesies *Aquilaria* yang lain dimana terdapat 32 jenis bahan kimia yang berbeza sepertimana yang ditunjukkan di bawah (Ishihara *et al.*, 1993).

Jenis bahan kimia	Kandungan dalam bentuk peratusan %
2-(2-{4 metoksipenil}etil) kromon	27.0
2-(2-peniletil) kromon	15.0
oxoagarospirol	5.0
9,11-cremophiladien-8-on	3.0
5,6-metoksi-2-(2-{4-metoksipenil}etil) kromon	2.5
Guaia-1(10),11-dien-15-al	1.5
Selina-3,11-dien-ol	1.5
Kusunol	1.4
Selina-2,11-dien-14-ol	1.0
Asid guaia-1(10),11-dien-15-oik	1.0
Selina-3,11-dien-9-on	0.8
Jinko-eremol	0.7
Selina-4,11-dien-14-al	0.7
Dihidrokaranon	0.7
Selina-3,11-dien-14-al	0.6
Asid 2-hidroksiguaia-1(10),11-dien-15-oik	0.4
b-agarfuran	0.4
Guaia-1(10),11-dien-15-ol	0.3
Guaia-1(10),11-dien-15,2-olite	0.3
Asid Selina-3,11-dien-14-oik	0.3
Norketoagarfuran	0.2
Agarspirol	0.2
Sinenofuranol	0.2
Asid selina-4,11-dien-14-oik	0.2
Asid 9-hidroksiselina-4,11-dien-14-oik	0.2
Dihidrojinkoh-eremol	0.2
Rotundon	0.1
a-bulnesin	0.1
Karanon	0.1
a-guaiene	0.1
Bulnesin oksida	0.1
Guaia-1(10),11-dien-9-on	0.1
1,5-epoksi-norketoguaiene	0.1

Jadual 3: Kandungan bahan kimia pada *Aquilaria malaccensis* dalam bentuk peratusan berdasarkan Ishihara et al (1993).

BAB 3 KAEDAH DAN BAHAN

3.1 Kaedah Pemungutan Sampel

Sampel daun, bunga, kayu dan buah boleh didapati daripada kawasan hutan sekitar kuching, Bau dan juga Saratok dimana spesies ini boleh dijumpai. Keutamaan diberikan kepada sampel yang segar dan sekiranya tidak terdapat sampel yang segar dan sempurna dari segi buah dan bunga, barulah spesimen herbarium digunakan. Sampel-sampel diawet untuk herbarium spesimen berdasarkan kaedah berikut. Sampel segar diawet dalam alkohol 50% selama 3 hari dan kemudian dikeringkan didalam ketuhar selama 4-7 hari sehingga kering. Sampel yang telah kering dilekatkan pada kertas herbarium yang berukuran 42 x 29.6 cm. Empat salinan spesimen disediakan dan di label yang mana kemudiannya dikaji. Spesimen kemudian disimpan di herbarium UNIMAS sebagai rujukan. Bagi sampel yang tidak diperolehi di hutan tersebut spesimen herbarium boleh di pinjam dari Pusat Penyelidikan Hutan Sarawak, Institut Penyelidikan Perhutanan Malaysia (FRIM), dan Pusat Penyelidikan Perhutanan Sandakan, Sabah, untuk di jalankan kajian perbandingan morfologi.

3.2 Kajian Morfologi

Kajian morfologi merupakan penelitian ciri-ciri morfologi tumbuhan iaitu meliputi penelitian ciri-ciri bahagian batang, daun, buah dan bunga. Penelitian ciri-ciri morfologi dilakukan dibawah mikroskop cahaya dan pengukuran menggunakan mikrometer (μm) dilakukan keatas sampel segar atau spesimen herbarium yang dipinjam daripada pusat penyelidikan hutan Sarawak, Institut Penyelidikan Perhutanan Malaysia (FRIM), dan Pusat Penyelidikan Perhutanan Sandakan, Sabah. Keputusan kajian morfologi vegetatif seperti saiz daun telah di analisis menggunakan 'One-way ANOVA'.

3.3 Kajian Anatomi

Sampel diambil daripada bahagian kayu pokok daripada dua spesies *Aquilaria* iaitu *A. beccariana* dan *A. microcarpa*. Sampel kayu diambil pada ukuran 2 cm x 2 cm pada ketinggian paras dada batang kayu tersebut. Sampel kayu tersebut kemudiannya dibilas dengan menggunakan etanol 30% sebanyak tiga kali dan disimpan didalam larutan etanol 30% sehingga proses pematangan keratan dilakukan untuk mengekalkan kesegaran sampel. Untuk kajian ini hanya bahagian kayu gubal saja yang digunakan iaitu yang paling hampir dengan kulit pokok (Rujuk Rajah 5 dan 6). Keputusan anatomi seperti saiz dan kepadatan ruji serta stomata telah di analisis menggunakan 'One-way ANOVA'.

3.3.1 Penyediaan Slaid Mikroskop

Sampel tadi kemudiannya dipotong dengan menggunakan alat pemotong keratan nipis iaitu 'mikrotom' pada ketebalan 15 hingga 20 μm . Sampel dikerat kepada tiga bahagian iaitu bahagian memanjang, rentas dan radial. Tisu itu kemudiannya dibilas menggunakan air suling sebanyak dua kali sebelum di pindahkan kedalam 50% etanol selama 2 minit. Setelah itu ia dimasukkan kedalam 5% safranin selama 10 minit untuk tujuan pewarnaan. Tisu itu kemudiannya dimasukkan kedalam siri larutan etanol 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% dan 100%. Tisu yang telah dinyah air tadi kemudiannya diletakkan diatas slaid mengikut susunan didahului oleh bahagian melintang, di ikuti oleh bahagian menegak dan radial dalam satu slaid kaca dan dititiskan dengan 'Canada Balsam'. Slaid tadi kemudiannya ditutup dengan penutup kaca dan dikeringkan di atas plat pemanas sehingga kering. Setelah slaid kering ianya bolehlah diperhatikan dibawah mikroskop cahaya.

3.3.2 Pemerhatian Mikroskopik keatas Ciri Anatomi

3.3.2.1 Pengiraan Saiz liang Vesel

Pengiraan saiz liang adalah berdasarkan dimensi diameter liang vesel pada bahagian menegak specimen. Pada bahagian melintang pula pengiraan saiz liang vesel berdasarkan dimensi dinding sel pada bahagian dalam liang. Pengiraan saiz liang vesel ini dijalankan dengan menggunakan mikroskop Nikon COOLPIX 995 dengan kanta objek pada 100x kuasa pembesaran. Sebanyak 30 pengiraan diambil daripada setiap sampel. Kaliberasi pembesaran adalah seperti dibawah.

Skala bagi 100 unit kanta mata mikrometer = 0.24 mm

∴ Skala bagi satu unit kanta mata mikrometer = 0.24/100

= 0.0024 mm

= 0.0024/1000 000 000

= 2.4 μm.

3.3.2.2 Taburan Kepadatan Liang Vesel

Taburan kepadatan liang vessel diukur berdasarkan jumlah liang pada setiap 1 mm² luas. Mikroskop Nikon COOLPIX 995 dengan kanta objek pada kuasa pembesaran 40x digunakan untuk melihat bahagian menegak slaid mikroskop. Imej pada mikroskop kemudiannya digambar menggunakan kamera digital.

3.3.2.3 Pengiraan Ketinggian Ruji

Pengiraan ketinggian ruji dijalankan dengan melakukan pemerhatian keatas bahagian keratin melintang batang pada slaid mikroskop. Ketinggian diukur dari hujung ke hujung ruji dimana hanya ruji yang tersusun dalam susunan dua barisan (biseriate) dan lebih (multiseriate) akan diambil kira. Mikroskop Nikon COOLPIX 995 dengan kanta objek pada 100x kuasa pembesaran digunakan dan sebanyak 30 pengiraan diambil daripada setiap sampel.

3.3.2.4 Taburan Kepadatan Ruji

Pengiraan taburan kepadatan ruji dijalankan dengan mengira taburan ruji pada skala 1 mm. Jenis ruji sama ada sebaris (monoseriate), dua baris (biseriate) atau lebih (multiseriate) di catatkan. Mikroskop Nikon Optiphot-2 dengan kanta objek pada 4x kuasa pembesaran digunakan. Pemerhatian dijalankan keatas bahagian menegak pada slaid mikroskop. Imej pada mikroskop kemudiannya di ambil menggunakan kamera digital. Tiga puluh pengiraan diambil dan penentuan kepadatan ruji adalah seperti dalam jadual 1 dibawah:-

Bil. Ruji	Kepadatan
5 dan kurang	Agak jauh
6 – 9	Sederhana jauh
10 – 13	Agak berdekatan
14 – 20	Berdekatan
21 dan lebih	Amat dekat

Jadual 4: Taburan Kepadatan Ruji Mengikut Piawaian.

Sumber: Panshin & Zeeuw (1980).

3.4 Penyediaan Slaid Mikroskop Untuk Kajian Stomata dan Epidermis

Sampel daun dipotong pada ukuran 100 mm² di bahagian tengah lamina daun dan kemudian dibasuh dengan menggunakan air suling. Potongan daun tadi kemudiannya dimasukkan kedalam bikar 250 ml yang mengandungi 45 – 50 ml 15% asid nitrik dan dipanaskan sehinggakan kedua-dua permukaan abaxial dan adaxial terpisah. Setelah terpisah, kedua-dua tisu berkenaan dicuci secara perlahan-lahan menggunakan air suling dan diberus dengan berus lukisan sehinggalah bersih. Tisu tadi kemudiannya dimasukkan kedalam piring Petri yang mengandungi 5% asid asetik selama 30 minit dan kemudian tisu tadi dipindahkan kedalam piring Petri yang mengandungi sodium hipoklorit (NaOCl) sehingga tisu menjadi putih bersih. Tisu itu kemudiannya dibilas menggunakan air suling sebanyak dua kali sebelum di pindahkan kedalam 50% etanol selama 2 minit. Setelah itu ia dimasukkan kedalam 50% safranin selama 10 minit untuk tujuan pewarnaan. Tisu itu kemudiannya dimasukkan kedalam siri larutan etanol 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% dan 100%. Tisu yang telah dinyah air tadi

kemudiannya diletakkan diatas slaid dan dititiskan dengan 'Canada Balsam'. Slaid tadi kemudiannya ditutup dengan penutup kaca dan dikeringkan diatas plat pemanas sehingga kering. Setelah slaid kering ianya bolehlah diperhatikan dibawah mikroskop cahaya untuk pengenalpastian sel epidermis dan sel stomata serta pengiraan taburan sel-sel berkenaan. Dengan menggunakan data yang di perolehi daripada pemerhatian ke atas sel stomata, indeks stomata (I) di kira dengan berpandukan rumus yang di perkenalkan oleh Salisburg (1927) seperti berikut:

$$\text{Indeks Stomata} = [S/(E+S)]$$

Dimana, S = bilangan sel stomata
 E = bilangan sel epidermis