

# **PENENTUAN KUANTITI BENZIL GLUKOSINOLAT YANG TERDAPAT PADA DAUN, BUNGA DAN BUAH BETIK MUDA (*Carica papaya L.*)**

**JELLICIA RANDAI ANAK GANI**

**PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

**DISERTASIINI DIKEMUKAKAN UNTUK  
MEMENUHI SEBAHAGIAN DARIPADA SYARAT  
MEMPEROLEHI IJAZAH SARJANA MUDA SAINS  
DENGAN KEPUJIAN**

**PROGRAM KIMIA INDUSTRI  
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

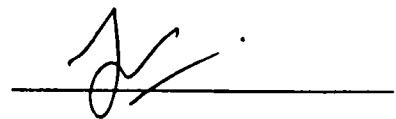
**2013**



**UMS**  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

## **PENGAKUAN**

Saya akui karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang setiap satunya telah dijelaskan sumbernya.



JELLICIA RANDAI ANAK GANI

(BS09110304)

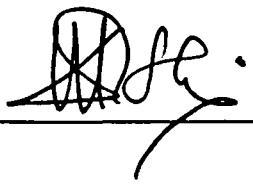
16 MEI 2013



**DIPERAKUKAN OLEH**

**PENYELIA**

(Prof Madya Dr. Noumie Surugau)



## **PENGHARGAAN**

Pertama sekali, saya ingin mengucapkan jutaan terima kasih kepada penyelia Projek Tahun akhir saya, Dr. Noumie Surugau diatas peluang, tunjuk ajar serta sokongan yang telah diberikan oleh beliau sepanjang pengajian saya serta semasa penyediaan dan menyiapkan disertasi ini. Proses menyiapkan disertasi ini tidak mungkin saya dapat buat tanpa panduan beliau.

Juga jutaan terima kasih saya kepada Cik Annie Johanna di atas tunjuk ajar beliau serta panduan beliau di dalam menyiapkan projek ini dan mengajar saya mengendalikan mesin di makmal. Tidak lupa juga kepada pembantu makmal yang juga banyak membantu di dalam menyediakan bahan, alat radas dan lain-lain kepada saya dan rakan-rakan yang lain.

Antara lain juga saya ingin berterima kasih kepada keluarga saya diatas sokongan moral serta dorongan yang telah diberikan sepanjang masa bagi meneruskan perjuangan di dalam pelajaran terutamanya di dalam menyiapkan projek akhir ini. Akhir sekali saya ingin berterima kasih kepada rakan-rakan saya yang banyak berkongsi maklumat, mengajar serta memberi sokongan sama ada secara langsung atau tidak langsung di dalam kajian ini.

Sekian, terima kasih.

## **ABSTRAK**

Berdasarkan kajian-kajian lepas, kuantiti benzil glukosinolat pada sampel ditentukan melalui hasil degradasi atau hidrolisis sebatian ini oleh enzim mirosinas yang membentuk isotiosianat, nitril dan tiosianat. Dua objektif kajian ini adalah menentukan kuantiti benzil glukosinolat pada daun betik, bunga betik dan buah betik muda dan mengenalpasti kaedah yang sesuai untuk menentukan kehadiran benzil glukosinolat di dalam sampel. Sampel betik yang diperolehi dihancurkan dengan cecair nitrogen kemudian dikeringkan secara sejuk-beku dan disimpan dengan suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ . Sampel disediakan menggunakan dua kaedah. Kaedah pertama turut terbahagi kepada dua cara, 100 mg sampel betik dipanaskan bersama 1 mL 70% metanol pada suhu  $70^{\circ}\text{C}$  selama 30 minit. Replikat sampel yang mempunyai larutan yang sama direndam semalam sebelum dipanaskan. Selepas disejukkan dan cebisan sampel yang bersaiz besar di dalam larutan dihancurkan sehingga hampir tiada kelihatan. Larutan tersebut kemudiannya ditapis menggunakan membran penapis bersaiz  $0.45\ \mu\text{m}$  dan dianalisa menggunakan HPLC. Kaedah kedua pula 300 mg sampel dipanaskan bersama 50 mL 70% metanol pada suhu  $70^{\circ}\text{C}$  selama 30 minit. Larutan tersebut turut disejukkan dan cebisan sampel yang bersaiz besar dihancurkan sehingga hampir tiada kelihatan dan kemudian diemparkan selama 15 minit. Hasil emparan ditapis (membran penapis bersaiz  $0.45\ \mu\text{m}$ ) dipekatkan menggunakan penyejat putaran sehingga isipadu sekitar 1 mL. Hasil kajian menunjukkan kandungan benzil glukosinolat di dalam daun, bunga dan buah betik muda menggunakan kaedah 1 dan terus dipanaskan adalah 3.92 mg/g, 1.42 mg/g dan 2.19 mg/g. Manakala kaedah 1 tetapi direndam semalam pula adalah 8.94 mg/g, 13.38 mg/g dan 0.86 mg/g. Kepekatan benzil glukosinolat menggunakan kaedah 2 pula berdasarkan susunun sampel yang sama adalah 2.45 mg/g, 1.17 mg/g dan 0.49 mg/g. Bagi kaedah pula, kaedah 1 mempunyai keputusan yang lebih praktikal berbanding penggunaan kaedah 2 dimana ralat lebih senang berlaku dimana banyak langkah diperlukan.

## **ABSTRACT**

### **TITLE: QUANTITATION OF BENZIL GLUCOSINOLATE IN PAPAYA LEAVES, FLOWER AND UNRIPE FRUIT**

Based on previous studies, the amount of benzyl glucosinolate in the sample is determined from result of degradation or enzymatic hydrolysis of this glucosinolate in the form isothiocyanate, nitrile and thiocyanate. Two objectives of this study are to determine the quantity of benzyl glucosinolate in papaya leaves, papaya flowers and unripe papaya fruit and to identify appropriate methods to determine the presence of benzyl glucosinolate in the sample. The papaya samples were crushed in liquid nitrogen then freeze-dried and stored in -20 °C. The samples were prepared using two methods. The first method was divided into two ways of handling, 100 mg of papaya samples heated with 1 mL of 70% methanol at a temperature of 70 ° C for 30 minutes. Meanwhile, replicate samples with the same solvent soaked overnight before being heated. After cooling and large pieces of sample in solution crushed up until almost not visible to the eyes. The solution was then filtered using a 0.45 µm membrane filter size and analyzed using HPLC. Second method is 300 mg sample was heated with 50 mL of 70% methanol at a temperature of 70 °C for 30 minutes. The solution was cooled and large pieces of crushed sample being centrifuged for 15 minutes. The supernatant was filtered (0.45 µm membrane filter size) and concentrated using rotary evaporator until the volume of approximately 1 mL. Results showed that benzyl glucosinolate in the leaves, flowers and unripe papaya fruit using method 1 and heated is 3.92 mg /g, 1.42 mg/g and 2.19 mg/g. Meanwhile, using method 1 but soaked overnight is 8.94 mg/g, 13.38 mg/g and 0.86 mg/g. Concentration of benzyl glucosinolate using method 2 are based on the same sample arrangement was 2.45 mg/g, 1.17 mg/g and 0.49 mg/g. For method, method 1 has a more practical results than the use of method 2 where the error occurs more readily where measures are needed.

## KANDUNGAN

	Muka surat
<b>PENGAKUAN</b>	ii
<b>PENGESAHAN</b>	iii
<b>PENGHARGAAN</b>	iv
<b>ABSTRAK</b>	v
<b>ABSTRACT</b>	vi
<b>SENARAI KANDUNGAN</b>	vii
<b>SENARAI JADUAL</b>	ix
<b>SENARAI RAJAH</b>	x
<b>SENARAI FOTO</b>	xi
<b>SENARAI SIMBOL</b>	xii
<b>BAB 1 PENGENALAN</b>	<b>1</b>
1.1 Pendahuluan	1
1.2 Objektif Kajian	4
1.3 Skop Kajian	4
1.4 Kepentingan Kajian	5
<b>BAB 2 KAJIAN LITERATUR</b>	<b>6</b>
2.1 Betik	6
2.1.1 Taksonomi betik	6
2.1.2 Morfologi betik	7
2.2 Glukosinolat	8
2.2.1 Penemuan awal glukosinolat	8
2.2.2 Kepentingan glukosinolat	10
2.2.3 Jenis-jenis glukosinolat	11
2.3 Benzil Glukosinolat	14
2.3.1 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Proses Pendegradasian Benzil Glukosinolat kepada Benzil Isotiosianat	14
2.4 Mirosinas	15
2.4.1 Tindakbalas hidrolisis dengan kehadiran enzim Mirosinas	15

2.4.2 Proses penyahaktifan enzim mirosinas	17
<b>2.5 Kaedah Perlaksanaan Kajian dan Instrumentasi</b>	<b>18</b>
2.5.1 Kaedah Perlaksanaan Kajian	18
2.5.2 Instrumentasi	18
<b>BAB 3 BAHAN DAN RADAS</b>	<b>21</b>
3.1 Persampelan dan Penyediaan Sampel	21
3.2 Peralatan dan Radas	21
3.3 Bahan Kimia	22
3.4 Penyediaan Larutan Piawai Benzil Glukosinolat dan Sinigrin	23
3.5 Penyediaan Larutan Fasa Bergerak	23
3.6 Analisis Kandungan Benzil Glukosinolat di dalam sampel	23
3.6.1 Kaedah 1	23
3.6.2 Kaedah 2	24
3.6.3 Kaedah Operasi HPLC	25
<b>BAB 4 KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN</b>	<b>27</b>
4.1 Persampelan dan penyediaan sampel	27
4.2 Analisis HPLC Larutan Piawai Benzil Glukosinolat dan Sinigrin	28
4.3 Pengkuantitian Benzil Glukosinolat di dalam Sampel	32
4.3.1 Kaedah 1	32
4.3.2 Kaedah 2	38
4.4 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kepekatan Benzil Glukosinolat di dalam Sampel	40
<b>BAB 5 KESIMPULAN DAN CADANGAN</b>	<b>44</b>
<b>RUJUKAN</b>	<b>45</b>
<b>LAMPIRAN</b>	<b>50</b>

## **SENARAI JADUAL**

<b>No. Jadual</b>	<b>Muka surat</b>
2.1 Taksonomi pokok betik	6
2.2 Struktur R bagi jenis glukosinolat yang sering diuji di makmal	12
3.1 Senarai alat radas yang digunakan	22
3.2 Senarai sampel dan bahan kimia yang digunakan	22
3.3 Masa pengeluaran kecerunan ( <i>elution gradient</i> ) larutan fasa bergerak bagi analisis menggunakan HPLC	25
4.1 Masa penahanan, ketinggian puncak dan luas puncak bagi larutan piawai benzil glukosinolat 800 ppm	28
4.2 Masa penahanan, ketinggian puncak dan luas puncak serta purata bagi semua bagi larutan piawai sinigrin 12 mM dan larutan piawai benzil glukosinolat 800 ppm.	31
4.3 Masa penahanan, ketinggian puncak dan luas puncak bagi semua analisa campuran larutan piawai sinigrin 12 mM dan benzyl glukosinolat yang terdapat pada sampel menggunakan Kaedah 1.	36
4.4 Masa penahanan, ketinggian puncak dan luas puncak bagi semua analisa larutan piawai sinigrin 12 mM dan benzil glukosinolat yang terdapat di dalam sampel bagi sampel pada Kaedah 2.	39
4.5 Kandungan benzil glukosinolat di dalam sampel daun, bunga dan buah betik muda berdasarkan kaedah yang digunakan.	40

## **SENARAI RAJAH**

<b>No. Rajah</b>	<b>Muka surat</b>
2.1 Struktur asas glukosinolat	9
2.2 Struktur kimia penuh benzil glukosinolat	14
2.3 Struktur umum glukosinolat dan hasil degradasi proses penghidrolisisan	16
3.1 Ringkasan pembahagian kaedah 1 kepada dua cara penyediaan sampel untuk dianalisa	24
4.1 Sampel (a) daun betik (b) bunga betik dan (c) buah muda betik yang telah dikeringkan serta dijadikan dalam bentuk serbuk.	27
4.2 Kromatografi HPLC larutan piawai benzil glukosinolat.	28
4.3 Kromatografi HPLC larutan piawai benzil glukosinolat (800 ppm) bersama larutan piawai 12 mM Sinigrin	30
4.4 Kromatografi HPLC sampel daun betik (a) Terus dipanaskan (b) Direndam semalam (24 jam)	33
4.5 Kromatografi HPLC sampel bunga betik (a)Terus dipanaskan (b)Direndam semalam (24 jam)	34
4.6 Kromatografi HPLC sampel buah betik muda (a) Terus dipanaskan (b)Direndam semalam (24 jam)	35
4.7 Kandungan benzil glukosinolat bagi setiap 1 gram sampel bagi kaedah 1.	37
4.8 Kromatografi (HPLC) bagi sampel (a) daun betik (b) bunga betik dan (c) buah betik muda yang dianalisa menggunakan kaedah 2.	38
4.9 Kandungan benzil glukosinolat bagi setiap 1 gram sampel bagi kaedah 2.	39

## **SENARAI FOTO**

<b>No. Foto</b>	<b>Muka surat</b>
<b>2.1</b> Pokok betik	6
<b>2.2</b> Contoh gambar buah betik muda spesis Eksotika carica papaya	7
<b>2.3</b> Instrumen HPLC yang terdpat pada makmal Kimia Hasilan Semulajadi SST	20

## **SENARAI SIMBOL**

$^{\circ}\text{C}$	suhu, darjah Celcius
BITC	Benzil isotiosianat
BGL	Benzil glukosinolat
HPLC	Kromatografi cecair prestasi tinggi
mL	milli Liter
mM	milli Molar
$\mu\text{M}$	mikro molar
mg	milli gram
%	peratus
ppm	bahagian per juta ( <i>parts per million</i> )

## **BAB 1**

### **PENGENALAN**

#### **1.1 Pendahuluan**

Pengambilan buah-buahan dan sayur-sayuran di dalam diet pemakanan seharian merupakan amalan yang baik dan diberi galakan oleh pakar kesihatan bagi mengamalkan tabiat sedemikian. Buah-buahan dan sayur-sayuran merupakan sumber nutrisi yang diperlukan oleh badan kerana mengandungi vitamin, serat, nutrien serta sebatian kimia yang mampu menambahkan kandungan nutrisi yang diperlukan oleh badan. Selain itu, ia juga menyumbang di dalam mengurangkan risiko penyakit kronik (Kriesel *et al.*, 2011). Salah satu contoh kumpulan sebatian kimia yang terkandung di dalam buah-buahan dan sayur-sayuran adalah seperti kumpulan glukosinolat dan ia mampu membentuk sebatian pencegah kanser di akhir proses penghidrolisasi kumpulan tersebut oleh air dengan kehadiran mangkin enzim mirosinas. Sebatian kumpulan ini juga terdapat di dalam buah-buahan tempatan dan salah satu buah-buahan tempatan yang mengandungi kumpulan sebatian ini adalah buah betik. Betik dipilih sebagai bahan kajian kerana betik merupakan buah-buahan tempatan yang turut mempunyai benzil glukosinolat yang ingin dikaji kuantitinya selain dari mudah untuk diperolehi sampel betik tersebut.

Betik atau nama saintifiknya *Carica papaya L.* merupakan buah-buahan tanpa musim atau jangka pendek yang mudah didapati di pasaran tempatan dengan harga yang berpatutan. Betik juga dikenali sebagai *papaw* atau *paw paw* ini adalah dari famili *Caricaceae* mempunyai kandungan vitamin C (Wong, 2005) yang sangat tinggi berbanding buah-buahan yang lain seperti limau selain dari menjadi sumber vitamin A, B1 dan B2 kepada si pemakannya selain dari mengandungi jumlah pelbagai nutrisi yang tinggi serta baik untuk kesihatan (Krishna *et al.*, 2008; You-Li *et al.*, 2012).

Buah betik tempatan yang masak pada kebiasaannya buah betik tersebut akan berwarna kuning kehijauan manakala yang masih muda lebih berwarna hijau berbanding kuning. Terdapat dua jenis betik di seluruh dunia iaitu salah satu daripadanya mempunyai isi berwarna sedikit merah kejinggaan yang dikenali dengan pelbagai nama seperti *Maradol*, *Sunrise* atau *Caribbean Red papaya* dan pada kebiasaannya mudah diperolehi di kawasan negara Amerika Utara. Manakala satu lagi jenis betik mempunyai isi yang berwarna kekuningan pula lebih dikenali sebagai *Sun Up* atau *Rainbow* (Medina *et al.*, 2003).

Buah betik yang masak seringkali dijadikan sebagai sumber makanan dan minuman seperti jus betik, jem betik, agar-agar dan sebagainya. Buah betik yang masih muda pula amat jarang digunakan kerana kandungan getah yang tinggi pada buah tersebut menyebabkan ia tidak sesuai untuk dimakan. Selain itu, daun dan bunga betik boleh dimasak seperti sayur-sayuran daun yang lain malah pucuk muda daun betik seringkali dijadikan ulam-ulaman di kawasan tempatan (Hazmi, 2011). Daun betik dan buah betik sememangnya mempunyai pelbagai kegunaan terutamanya di dalam bidang perubatan tradisional. Daun betik seringkali dijadikan minuman teh yang dikatakan mempunyai agen memusnahkan ketumbuhan atau pencegah kanser di dalamnya.

Selain dari buah betik muda, daun betik juga mengandungi kandungan getah yang agak tinggi dimana ia mengandungi enzim papain (Tang, 1973; Krishna *et al.*, 2008). Enzim papain merupakan enzim yang penting bagi proses pencernaan protein di dalam makanan oleh badan dan di dalam industri perubatan. Oleh itu, pengambilan buah betik di dalam makanan amatlah digalakkan kerana betik juga mengandungi kandungan serat yang tinggi dan sesuai bagi seseorang yang mempunyai masalah pencernaan (Hazmi, 2011). Selain dari enzim papain, setiap bahagian betik juga dikatakan mengandungi Isotiosianat iaitu sebatian kimia yang mempunyai kepentingan juga di dalam bidang perubatan terutamanya berkaitan penyakit kanser jika dikaji secara menyeluruh (You-Li *et al.*, 2012). Isotiosianat yang terbentuk adalah hasil dari penghidrolisasi glukosinolat oleh enzim mirosinas dengan kehadiran air di dalam vakoul tumbuhan. Namun begitu, kehadiran isotiosianat akan berkurangan di dalam betik disebabkan beberapa faktor sebagai contoh di bahagian daun betik sekiranya daun betik itu dihancurkan kerana penghidrolisasi glukosinolat

oleh enzim tersebut akan menghasilkan sebatian lain seperti nitril sebagai produk akhirnya (Song *et al.*, 2005).

Glukosinolat merupakan kumpulan sebatian yang mengandungi sulfur dan juga merupakan metabolit sekunder yang wujud di dalam tumbuh-tumbuhan yang dikategorikan di dalam famili *crucifers* (Tian *et al.*, 2005). Benzil glukosinolat juga dikenali sebagai glukotropaeolin merupakan salah satu daripada lebih dari 120 jenis yang tersenarai di dalam kumpulan glukosinolat. Benzil glukosinolat wujud di semua tisu daun betik kecuali tisu pada daun betik yang terlalu matang (You-Li *et al.*, 2012) atau yang telah dihancurkan secara fizikal dengan dicincang (Song *et al.*, 2005). Benzil glukosinolat yang dihidrolisis oleh enzim mirosinas yang bertindak sebagai pemangkin turut membentuk beberapa jenis sebatian yang lain seperti epitionitril, tiosianat dan nitril selain dari isotiosianat (Vaughn & Berhow, 2005). Benzil isotiosianat merupakan salah satu produk akhir penghidrolisasi benzil glukosinolat di dalam vakoul tumbuhan dan ia boleh membantu di dalam pencegahan penyakit kanser (Rosetto *et al.*, 2013).

Mirosinas pula merupakan sejenis enzim yang terlibat di dalam sistem pertahanan tumbuhan dari serangan haiwan herbivor dan enzim ini adalah satu-satunya enzim yang setakat ini yang mampu memecahkan rangkaian-tio yang ada pada glukosa. Kepentingan mirosinas secara biologikalnya lebih tertumpu kepada kegunaannya sebagai mangkin di dalam penghidrolisasi kumpulan sebatian glukosinolat (Mohn *et al.*, 2007).

Di dalam sel miosin tumbuhan, kehadiran air menyebabkan enzim mirosinas cenderung untuk menyingkirkan glukosa yang ada pada glukosinolat dan molekul akhir yang tinggal pada glukosinolat tersebut yang akan membentuk produk akhir tindak balas tersebut. Produk akhir tindak balas ini iaitu isotiosianat yang akan membentuk sebatian yang digunakan untuk mempertahankan tumbuhan tersebut dari haiwan selain dari yang mampu membantu di dalam pencegahan penyakit kanser.

## **1.2 Objektif Kajian**

Objektif utama kajian ini adalah seperti berikut:

- Menentukan kuantiti benzil glukosinolat di dalam beberapa bahagian betik iaitu daun betik, bunga betik dan buah betik muda.
- Mengenalpasti kaedah yang sesuai bagi mengenalpasti kehadiran dan kandungan benzil glukosinolat pada sampel betik.

## **1.3 Skop Kajian**

Kajian ini lebih menekankan penentuan jumlah benzil glukosinolat di dalam daun betik kerana bahagian ini terutamanya daun betik muda (*pulp*) mengandungi lebih banyak jumlah benzil glukosinolat berbanding di bahagian lain pada betik (You-Li *et al.*, 2012). Bahagian yang mengandungi kuantiti benzil glukosinolat yang tinggi mempunyai kemungkinan yang besar untuk menghasilkan benzil isotiosianat juga dalam kuantiti yang tinggi.

Selain itu, kajian ini juga menekankan penentuan kuantiti benzil glukosinolat bagi mengenalpasti sama ada benzil glukosinolat akan membentuk benzil isotiosinat sepenuhnya atau membentuk sebatian kimia yang lain pada hasil proses penghidrolisasi. Di dalam kajian ini, kaedah perlaksanaan eksperimen adalah berdasarkan beberapa kajian lain yang juga menentukan kuantiti benzil glukosinolat di dalam daun betik dan beberapa jenis sayur-sayuran yang lain tetapi diubahsuai sedikit bagi disesuaikan dengan keadaan morfologi sampel betik bagi kajian ini dan kemudahan bahan kimia, alat radas serta instrumen yang terdapat pada makmal.

Proses penghidrolisasi benzil glukosinolat pada daun betik tersebut akan dihalang dengan penambahan larutan 70% metanol (gred HPLC) ke atas sampel betik sama ada pada daun, buah dan bunga yang dihancurkan. Sampel disediakan menggunakan dua kaedah iaitu sama ada dengan menggunakan 1 mL sahaja 70% metanol (Kaedah 1) tanpa pemekatan atau 50 mL 70% metanol (Kaedah 2) yang kemudiannya dipekatkan menggunakan penyejat putaran. Kaedah 1 yang menggunakan 1 mL 70% metanol tersebut turut terbahagi kepada dua bahagian,

dimana replikat sampel akan direndam semalam bagi mengenalpasti keberkesanan 70% metanol menghalang proses penghidrolisisan benzil glukosinolat.

Antara lain, larutan piawai sinigrin berkepekatan 12.0 mM digunakan sebagai larutan piawai dalaman (*internal standard*) bagi mengenalpasti kepekatan benzil glukosinolat pada setiap sampel. Hasil kedua-dua kaedah ini kemudiannya dianalisa menggunakan HPLC bagi menentukan kuantiti benzil glukosinolat pada kesemua sampel.

#### **1.4 Kepentingan Kajian**

Kajian ini penting bagi menyumbang di dalam bidang perubatan dengan mengumpulkan maklumat serta bukti melalui kajian terhadap betik bahawa ia mempunyai benzil glukosinolat yang mampu membentuk benzil isotiosianat sebagai produk akhir hasil tindakbalas yang mampu menghalang dan mencegah pembentukan kanser berterusan di dalam badan penghidap kanser.

Selain itu, kajian ini juga mampu memperlihatkan bahawa tumbuhan tempatan seperti betik juga boleh dijadikan sebagai ubat tradisional berdasarkan kajian makmal yang dilakukan. Hasil kajian ini boleh dijadikan sumber awal bagi kajian ke atas betik terutamanya di dalam penentuan kuatiti glukosinolat yang terkandung dalam sampel.

Kajian ke atas betik amatlah terhad walaupun ada bukti menyatakan bahawa kumpulan ini mengandungi kumpulan glukosinolat. Berdasarkan beberapa ulasan, kebanyakan kajian telah menggunakan sayur-sayuran seperti sawi, brokoli, kobis, selada air malah tumbuhan seperti *wasabi* (*Wasabia Japonica Matsum*) (Sultanna *et al.*, 2003) sebagai bahan kajian untuk ditentukan jumlah kumpulan glukosinolat di dalamnya. Kebanyakan sayur-sayuran ini sukar untuk diperolehi hasilnya yang segar bagi membantu di dalam menghalang penghidrolisisan kumpulan glukosinolat oleh air melainkan menanamnya sendiri atau mempunyai sumber yang menjadikan sayur-sayuran ini sebagai sumber pendapatan.

## BAB 2

### KAJIAN LITERATUR

#### 2.1 Betik

##### 2.1.1 Taksonomi Betik

Jadual 2.1 berikut menunjukkan taksonomi pokok betik iaitu pengelasan pokok betik berdasarkan order, famili, genus dan spesis bagi betik.

**Jadual 2.1** Taksonomi pokok betik(Krishna *et al.*, 2008; Clarke, 2010).

Betik	
Nama Saintifik	<i>Carica papaya L.</i>
Order	<i>Brassicales</i>
Famili	<i>Caricaceae</i>
Genus	<i>Carica Linn.</i>
Spesis	<i>Carica Papaya</i>
Nama Komersial	Betik, <i>Paw paw</i> , <i>Papaw</i> , <i>Papaye</i> (daun), <i>Papayer</i> (pokok), <i>Mamao</i> , <i>Tree melon</i> .



**Foto 2.1** Pokok Betik.

## **2.1.2 Morfologi Betik (*Carica papaya L.*)**

Berdasarkan beberapa artikel dan ulasan berkenaan dengan betik, betik dikatakan berasal dari kawasan selatan Mexico dan Costa Rica iaitu kawasan Amerika Utara dan kemudiannya diperkenalkan kawasan perladangan di Australia, Hawaii, Filipina, Sri Lanka dan hampir keseluruhan negara yang beriklim tropika dan sub-tropika (Augstburger et al., 2001; Medina et al., 2003).

Pokok betik merupakan tumbuhan berkayu lembut yang boleh hidup selama 5 hingga 10 tahun dan pada kebiasaannya mempunyai satu sahaja batang yang boleh bertambah sekiranya dicantas mahupun dipangkas. Pokok betik juga boleh membesar dari 3 hingga 10 m tinggi dan mempunyai daun berbentuk mahkota besar. Daun betik berwarna hijau tua dan kadangkala kuning kehijauan pada bahagian atas daun. Manakala bahagian belakang daun betik berwarna hijau muda kekuningan yang panjangnya boleh menccah sehingga 25 hingga 100 cm dan 0.5 hingga 1.5 cm tebal (Augstburger et al., 2001).



**Foto 2.2** Contoh gambar buah betik muda spesis Eksotika Carica papaya.

Buah betik yang masak boleh diambil 5 atau 6 bulan selepas pokok betik tersebut berbunga. Buah betik pada kebiasaannya bersaiz 7 sehingga 30 cm panjang

dan mempunyai berat sekitar 250 hingga 3000 g. Buah betik yang masak mempunyai permukaan yang licin dan kulit yang berwarna kuning kejinggaan. Bahagian isi betik berbeza berdasarkan bagaimana pengusaha betik tersebut menjaganya, isi betik boleh mencapai 1.5 hingga 4.5 cm ketebalannya dan berwarna kuning pucat atau merah. Biji betik yang matang pula berwarna hitam kekelabuan bulat dan mempunyai diameter sekitar 5 mm (Augstburger *et al.*, 2001).

Kajian ke atas buah betik serta daun betik sama ada kuantiti kumpulan glukosinolat atau kuantiti hasil hidrolisis mempunyai sumber ulasan yang amat terhad. Yang terbaru merupakan ulasan oleh You-Li *et al.* (2012) yang mengulas tentang penentuan kandungan benzil glukosinolat di dalam daun betik yang matang serta daun betik muda (*pulp*). Menurut ulasan ini juga, kandungan benzil glukosinolat di dalam daun betik yang matang adalah kurang dan hampir tiada berbanding pada daun betik muda. Ini kerana apabila daun betik mulai matang, benzil glukosinolat pada buah betik akan dipindahkan ke dalam biji betik berbanding dengan daun betik muda yang masih belum menghasilkan buah pada pokoknya.

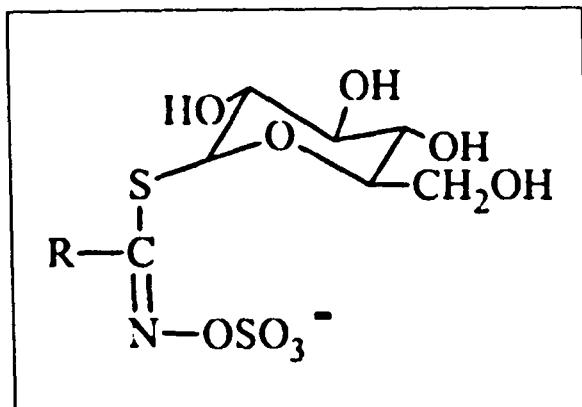
## 2.2 Glukosinolat

### 2.2.1 Penemuan Awal Glukosinolat

Menurut ulasan Fahey *et al.* (2001), glukosinolat mula ditemui sekitar kurun ke-17 di dalam satu kajian dalam usaha memahami dan mengesan bahan kimia yang menghasilkan rasa tajam atau pedas pada biji sawi. Penemuan tersebut bukan sahaja menemukan kumpulan glukosinolat ini, akan tetapi turut ditemui bersama adalah enzim mirosinas yang terlibat di dalam penghidrolisasi kumpulan glukosinolat ini.

Pada mulanya kumpulan glukosinolat hanyalah dikenali sebagai sinigrin (2-propenil) dan sinalbin (4-hidroksibenzil glukosinolat) dan ia diperolehi sekitar tahun 1830 daripada biji sawi yang berwarna hitam (*Brassica nigra*) dan putih (*Sinapsis alba*). Struktur pertama kumpulan ini dikeluarkan oleh Gadamer (1897) walaupun tidak tepat, mencadangkan bahawa rantai sisi bersambung dengan atom nitrogen dan bukan pada atom karbon pada struktur kumpulan glukosinolat tersebut. Teori

struktur kumpulan ini kemudian diperbetulkan kembali oleh Ettiger and Lundeen (1956) dengan membuktikan kelemahan pada struktur yang dikeluarkan oleh Gadamer tersebut dan mencadangkan struktur yang tepat selain dari mencadangkan juga cara pertama untuk mensintesis glukosinolat pada tahun berikutnya.



**Rajah 2.1** Struktur asas glukosinolat (Tian *et al.*, 2005).

Glukosinolat merupakan metabolit sekunder yang mengandungi sulfur berdasarkan nama saintifiknya  $\beta$ -thioglukosida-N-hidroksisulfat (Vaughn & Berhow, Tian *et al.*, 2005; Mohn *et al.*, 2007; Ahmad *et al.*, 2010). Ia dikategorikan berdasarkan kehadiran kumpulan isotiosianat yang mengandungi sulfat pada pertengahan struktur yang bersambung pada tio-glukosa dan selebihnya pada kumpulan-R yang akan menentukan struktur penuh sesuatu glukosinolat itu. Bahagian glukosa dan karbon tengah bagi isotiosianat itu kemudiannya akan berubah selepas proses penghidrolisisan (Clarke, 2010).

Glukosinolat boleh ditemui di dalam sel tumbuhan semua bagi famili *Crucifer* termasuk tanaman bagi famili *Brassica* seperti sawi, brokoli, kobis, selada air dan banyak lagi. Menurut ulasan Vaughn & Berhow (2005) mengatakan tumbuhan dari famili yang sama tetapi order yang berlainan juga seperti *Capparaceae* turut mengandungi glukosinolat. Kehadiran sel micosin yang mengandungi enzim penghidrolisisan, micosinas akan terbebas apabila tumbuhan dirosakkan oleh haiwan herbivor sebagai contoh, dan menyebabkan perubahan atau proses penghidrolisisan glukosinolat kepada isotiosianat (minyak sawi) sebagai salah satu sistem pertahanan tumbuhan (Clarke, 2010).

Menurut Fahey *et al.* (2001) juga, genera tumbuhan serta spesis tumbuhan yang mengandungi paling banyak glukosinolat adalah *Brassicaceae*, *Capparaceae* dan *Caricaceae*. Walaupun ketiga-tiga genera ini mengandungi paling banyak glukosinolat, tidak semua jenis glukosinolat terdapat pada tumbuhan genera ini. Metil glukosinolat sebagai contoh, tidak terkandung pada genera *Brassicaceae* tetapi terdapat pada genera *Capparaceae*. Selain itu dari tiga genera ini, glukosinolat juga boleh ditemui di dalam tumbuhan famili lain seperti *Limnanthaceae*, *Moringaceae*, *Resedaceae* dan sebagainya.

## 2.2.2 Kepentingan Glukosinolat

Menurut ulasan Clarke (2010), pelbagai aspek kajian telah dijalankan ke atas glukosinolat, ini termasuklah peranan glukosinolat di dalam diet, peranan dan kesan glukosinolat di dalam spesis *Brassica*, biologi dan biokimia glukosinolat, peranan glukosinolat di dalam hubungan diantara tumbuhan dan serangga, perlindungan secara biologi dan juga kepentingan glukosinolat terhadap kesihatan manusia.

Kehadiran glukosinolat bukan sahaja penting berdasarkan kehadirannya yang mampu untuk mengelak dari serangan haiwan lain keatasnya sahaja. Ia penting kerana produk yang terhasil daripada penghidrolisisan glukosinolat oleh air yang bermangkinkan enzim mirosinas.

Kajian terhadap pelbagai jenis penyakit telah menunjukkan bahawa diet yang kaya dengan buah-buahan dan sayur-sayuran dari kumpulan *Crusifers* sebagai contoh mampu mengurangkan risiko menghidap penyakit kanser (Tian *et al.*, 2005). Selain dari kumpulan *Crusifers*, penurunan risiko penyakit kanser di negara Barat juga dikaitkan dengan pengambilan sayur-sayuran *Brassica* seperti brokoli, kobis, bunga kobis serta tauge di mana hasil penghidrolisisan glukosinolat iaitu isotisianat diserap oleh badan semasa penghadaman (Song *et al.*, 2005).

Menurut Tian *et al.* (2005) juga, produk hasil tindakbalas diantara glukosinolat dan air bermangkinkan enzim mirosinas merupakan penyumbang primer oleh tumbuh-tumbuhan tersebut di dalam menangani penyakit kanser dengan menggunakan pelbagai mekanisma. Selain itu, ia bertindak sebagai anti-oksida

dengan memecahkan radikal dan mengurangkan tekanan oksida yang bertanggungjawab dalam mencetuskan penyakit (Rosetto *et al.*, 2013).

Menurut Ahmad *et al.* (2010), kajian makmal menunjukkan isotiosianat mampu mengurangkan kemampuan karsinogen bagi pelbagai jenis karsinogen haiwan termasuk polisiklik aromatic hidrokarbon dan bahan nitro di mana kedua-dua bahan ini adalah karsinogen semulajadi yang wujud di dalam makanan.

### **2.2.3 Jenis-jenis Glukosinolat**

Pelbagai jenis glukosinolat dikelaskan kepada beberapa kumpulan berdasarkan persamaan pada struktur asas glukosinolat tersebut. Diantara kelas-kelas glukosinolat yang sering digunakan di dalam kajian adalah seperti alifatik,  $\omega$ -metiltioalkil, aromatik, dan heterosiklikglukosinolat boleh ditemui di dalam sayur-sayuran *Brassica* (Fahey *et. al.*, 2001).

Menurut Clarke (2010), sehingga tahun 2001 hanya 120 jenis glukosinolat yang berbeza telah dikenalpasti dan dikaji. Akan tetapi, jumlah ini belum dipastikan penambahannya kerana terdapat beberapa lagi glukosinolat yang jarang kali digunakan di dalam kajian. Antara lain, pada tahun 2004 kaji selidik telah dijalankan ke atas biji bagi pelbagai jenis tumbuhan dan hasil kajian terdapat 66 jenis glukosinolat tidak rosak dan 4 jenis glukosinolat tersebut tidak terdapat dalam senarai 120 jenis glukosinolat yang digunakan. Terdapat juga jurnal yang menyatakan peningkatan jumlah glukosinolat sehingga 133 jenis pada tahun 2007, senarai yang dinyatakan belum digunakan kerana tidak diiktiraf sepenuhnya oleh para pengkaji kumpulan glukosinolat. Sehingga kini, senarai jenis glukosinolat menghampiri 200 jenis walaupun setiap jenis glukosinolat yang ditambah tersebut belum dikenalpasti sepenuhnya.

Diantara lebih 120 jenis glukosinolat tersebut, hanya terdapat beberapa jenis glukosinolat sahaja yang seringkali menjadi tumpuan kajian di dalam pembentukan produk hidrolisis glukosinolat yang bermangkinkan enzim mirosinas. Pada jadual berikut merupakan 10 jenis glukosinolat yang sering diuji di makmal kehadirannya berdasarkan laporan oleh Tian *et al.* (2005) dan diantara 10 jenis tersebut, terdapat

7 jenis glukosinolat yang sering terdapat pada sayur-sayuran iaitu glukoiberin, glukoraphanin, glukoalyssin, sinigrin, glukonapin, progoitrin dan gluconasturtin (Song *et al.*, 2005)

**Jadual 2.2 Struktur R bagi jenis glukosinolat yang sering diuji di makmal (Tian *et al.*, 2005).**

Struktur R	Nama Kimia	Nama Khusus
$\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_2-$	2-propenil glukosinolat	Sinigrin
$\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-\text{CH}-(\text{CH}_2)_2-$	But-3-nil glukosinolat	Glukonapin
$\text{H}_2\text{C}=\text{CII}-\text{CII}-\text{CII}_2-$ $\text{OH}$	2-hidroksibut-3-nil glukosinolat	Progoitrin
$\text{H}_3\text{C}-\text{S}-(\text{CH}_2)_4-$	4-metiltiobutil glukosinolat	Glukoerucin
$\text{H}_3\text{C}-\text{SO}-(\text{CH}_2)_3-$	3-metilsulfinilpropil glukosinolat	Glukoiberin
$\text{H}_3\text{C}-\text{SO}-(\text{CH}_2)_4-$	4-metilsulfinilbutil glukosinolat	Glukoraphanin
$\text{H}_3\text{C}-\text{SO}-(\text{CH}_2)_5-$	5-metilsulfinipentil glukosinolat	Glukoalyssin
	Benzil glukosinolat	Glukotropaeolin
	Indol-3-ilmetil glukosinolat	Glukobrassicin
	1-metoksiindol-3-ilmetil glukosinolat	Neoglukobrassin
	4-metoksiglukobrassicin	

## RUJUKAN

- Agerbirk, N. & Olsen, C. E. 2012. Glucosinolate structures in evolution. *Journal of Phytochemistry*, **77**:16-45.
- Ahmad, F. A. R., Bagatta, M., De Nicola, G. N., Iori, R. & Ionnides, C. 2010. Intact glucosinolates modulate hepatic cytochrome P450 and Phase II conjugation activities and may contribute directly to the chemopreventive activity of cruciferous vegetables. *Journal of Toxicology*, **277**:74-85.
- Augstburger, F., Berger, J., Censkowsky, U., Heid, P., Milz, J. & Streit, C. 2001. *Organic Farming in the Tropics and Subtropics, Exemplary Description of 20 Crops: Papaya*. Naturland E. V., Germany.
- Choi, M. M. F., Shuang, S., Lai, H. Y., Cheng, S. C., Cheung, B. K. B. & Lee, A. W. M. 2004. Gas chromatography-mass spectrometric determination of total isothiocyanate in Chinese medicinal herbs. *Journal of Analitica Chimica Acta*, **516**:155-163.
- Clarke, D. B. 2010. Glucosinolates, Structures and Analysis in Food. *Journal of The Royal Society of Chemistry for Analytical Methods*, **2**:310-325
- Department of Health and Ageing Office of the Gene Technology of Australia. 2008. *The Biology of Carica papaya L. (papaya, papaw, paw paw)*. Office of the Gene Technology Regulator, Version 2, 2008.
- D'Antuono, L. F., Elementi, S. & Neri, R. 2008. Glucosinolates in diplotaxis and eruca leaves: diversity taxonomic relations and applied aspects. *Journal of Phytochemistry*, **69**:187-199.

•

Ettlinger, M.G. & Lundein, A. J. 1956. The structures of sinigrin and sinalbin: the enzymatic rearrangement. *Journal of the American Chemical Society*, **78**:4172-4173.

Fahay, J. W., Zalcman, A. T. & Talalay P. 2001. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Journal of Phytochemistry*, **56**:5-51.

Gadamer, J. 1897. *Über das sinigrin*. Berichte Deutschen Chemischen Gesselschaft, **30**: 2322-2327.

Gayathri, N. 2012. *The effects of additive and food processing conditions on benzyl glucosinolate hydrolysis products in Carica Papaya*. Tesis Sarjana Sains. Universiti Malaysia Sabah.

Hazmi, H. 2011. *Khasiat buah betik*. Laman web rasmi Jabatan Pertanian Negeri Kedah Darul Aman.

[http://pertanian.kedah.gov.my/index.php?option=com\\_content&view=article&id=123&Itemid=166](http://pertanian.kedah.gov.my/index.php?option=com_content&view=article&id=123&Itemid=166)

Higdon, J. 2006. *Cruciferous vegetables and cancer risk*. Linus Pauling Institute of Oregon state. <http://lpi.oregonstate.edu/ss06/vegetables.html>

Kermanshai, R., McCarry, B. E., Rosenfeld, J., Summers, P. S., Weretilnyk, E. A. & Sorger, G. J. 2001. Benzyl isothiocyanate is the chief or sole anthelmintic in papaya seed extract. *Journal of Phytochemistry*, **57**:427-435.

Kriesel, W. 2004. Welcome address by the director. Reports of a Joint FAO/WHO Workshop about Fruits and vegetables for Health, Kobe, Japan. 1 – 3 September 2004.

Krishna, K. L., Paridhavi, M. & Patel, J. A. 2008. *Review on nutrional, medicinal and pharmalogical properties of Papaya (Carica papaya Linn.).*

Kromidas, S. 2008. *More Practical Problem Solving in HPLC.* First Edition. John Wiley & Sons, Germany.

Lee, H. C. 2005. *Develop a sample preparation procedure for HPLC analysis of glucosinolates in traditional Chinese medicines.* Bachelor In Science Thesis. Hong Kong Baptist University.

Medina, J. D. L., Gutiérrez, G. V. & Garcia, H. S. 2003. *Paw paw post-harvest Operations.* InstitutoTecnológico de Veracruz.

Mohn, T., Cutting, B., Ernst, B. & Hamburger, M. 2007. Extraction and analysis of intact glucosinolates- A validated pressurized liquid extraction/ liquid chromatography-mass spectrometry protocol for *Isatistinctoria*, and qualitative analysis of other cruciferous plants. *Journal of Chromatography A*, **1166**:142-151.

Oerlemans, K., Barret, D. M., Suades, C. B., Verkerk, R. & Dekker, M. 2006. Thermal degradation of glucosinolates in red cabbage. *Journal of Food Chemistry*, **95**:19-29.

Qayyum, M. T. 2012. *Analisis produk degradasi glukosinolat pada isi Carica Papaya di bawah pengaruh tertentu.* Disertasi Sarjana Muda Sains. Universiti Malaysia Sabah.

Rollin, P. & Tatibouët, A. 2011. Glucosinolate: the synthetic approach. *Journal of Comptes Rendus Chimie*, **14**:194-210.

Rosa, E. A. S. 1997. Glucosinolates from flower buds of portugese brassica crops. *Journal of Phytochemistry*, **44**: 1415-1419.

Rosa, E. A. S. & Heaney,<sup>1</sup> R. K. 1993. The effect of cooking and processing on the glucosinolate content: Studies on four varieties of portuguese cabbage and hybrid white cabbage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **62(3)**: 259-265.

Rosetto, M. R. M., Shiga, T. M., Vianello, F. & Lima, G. P. P. 2013. Analysis of total glucosinolates and chromatographically purified benzylglucosinolates in organic and conventional vegetables. *Journal of LWT-Food Science and Technology*, **50**:247-252.

Shen, L., Su, G., Wang, X., Du, Q. & Wang, K. 2010. Endogeneous and Exogenous enzymolysis of vegetable-sourced Glucosinolates and influencing factors. *Journal of Food Chemistry*, **49**:987-994.

Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J. & Couch, S. R. 2004. *Fundamentals of Analytical Chemistry*. Eighth Edition.Thomson Learning Inc. Canada.

Song, L., Morrison, J. J., Botting, N. P. & Thornalley, P. J. 2005. Analysis of glucosinolates, isothiocyanates, and amine degradation products in vegetable extracts and blood plasma by LC-MS/MS. *Journal of Analytical Biochemistry*, **347**:234-243.

Sultana, T., McNeil, D. L., Porter, N. G. & Savage, G. P. 2003. Investigation of Isothiocyanate yield from flowering and non-flowering tissues of wasabi grown in a flooded system. *Journal of Food Compositoin and Analysis*, **16**:637-646.

Syazwan, A. R. 2012. *Analisis ke atas hasil Pendekrasian Glukasinolat Di Dalam daun betik Carica dipengaruhi faktor-faktor berbeza*. Disertasi Sarjana Muda Sains. Universiti Malaysia Sabah.

Tang, C. 1973. Localization of benzyl glucosinolate and thioglucosidase in carica papaya fruit. *Journal of Phytochemistry*, **12**:769-773.

Tian, Q., Rosselot, R. A. & Schwartz, S. J. 2005. Quantitative determination of intact glucosinolates in broccoli, broccoli sprouts, Brussel sprouts, and couliflower by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *Journal of Analytical Biochemistry*, **343**: 93-99.

Vaughn, S. F. & Berhow, M. A. 2005. Glucosinolates hydrolysis products from various plant sources: pH effects, isolation & purification. *Journal of Industrial Crops & Products*, **21**:193-202.

Wong, Y. C. 2005. *Pembangunan produk kepingan betik campuran labu*. Disertasi Sarjana Muda Sains. Universiti Malaysia Sabah.

You-Li, Z., Wang, Y., Tao Shen, W. & Peng Zhou. 2012. Content determination of benzyl glucosinolate and anti-cancer activity of its hydrolysis product in Carica papaya L. *Asian Pasific Journal of Tropical Medicine*, 231-233.