

**KOMPONEN KIMIA DAUN POKOK BAKAU YANG DIMAKAN OLEH MONYET
BELANDA (*NASALIS LARVATUS*) DI SABAH**

KUHAN RAJ A/L MARIYAN PERIYA NAYAGAM

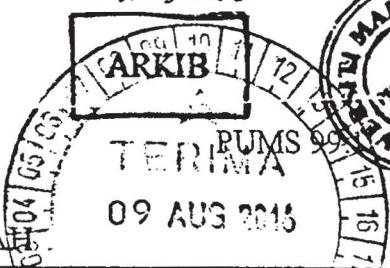
**TESISINI DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI SYARAT MEMPEROLEHI IJAZAH
SARJANA/DOKTOR FALSAFAH**

**PERPUSTAKAAN
“UNIVERSITI MALAYSIA SABAH”**

**PROGRAM BIOLOGI PEMULIHARAAN
FAKULTI SAINS DAN SUMBER ALAM
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

2015

263063



UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS

PERPUSTAKAAN
UMSJUDUL: Komponen Kimia Daun Pokok Bakau Yang Dimakan Oleh
Majot Belanda (Nasalis Larvatus) di SabahIJAZAH: Sarjana Muda Sains Pengajian Kepujian Dalam Bidagi
PenuliharaanSAYA: KUHAN RAJ AL MARYAM PERIYA NAYAGAM SESI PENGAJIAN: 2014/2015
(HURUF BESAR)

Mengaku membenarkan tesis *(LPSM/Sarjana/Doktor Falsafah) ini disimpan di Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dengan syarat-syarat kegunaan seperti berikut:-

1. Tesis adalah hak milik Universiti Malaysia Sabah.
2. Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dibenarkan membuat salinan untuk tujuan pengajian sahaja.
3. Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institusi pengajian tinggi.
4. Sila tandakan (/)

 SULIT

(Mengandungi maklumat yang berdarjah keselamatan atau kepentingan Malaysia seperti yang termaktub di AKTA RAHSIA RASMI 1972)

 TERHAD

(Mengandungi maklumat TERHAD yang telah dikentukan oleh organisasi/badan di mana Penyelidikan dijalankan)

 TIDAK TERHAD

(TANDATANGAN PENULIS)

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

Disahkan MURULAIN BINTI ISMAIL

LIBRARIAN

Murulain
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH
(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat tetap: 3-2-4, Setia
Kebun Nyaris, 10460,
Georgetown, P.P.Nang

NAMA PENYELIA

Tarikh: 19/6/2015

Tarikh: _____

Catatan :- * Potong yang tidak berkenaan.

* Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampirkan surat daripada pihak berkuasa/organisasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT dan TERHAD.

* Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana Secara penyelidikan atau disertai bagi pengajian secara kerja kursus dan Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM)

PERPUSTAKAAN UMS



* 1000368773 *



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGAKUAN

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



KUHAN RAJ A/L MARIYAN PERIYA NAYAGAM

(BS12110256)

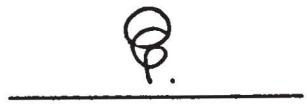
14 MEI 2015

PENGESAHAN

Tandatangan

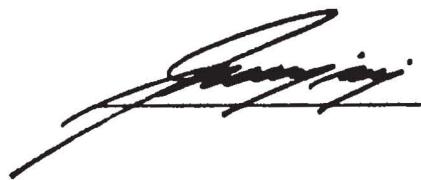
1. PENYELIA 1

(DR. TAKASHI KAMADA)



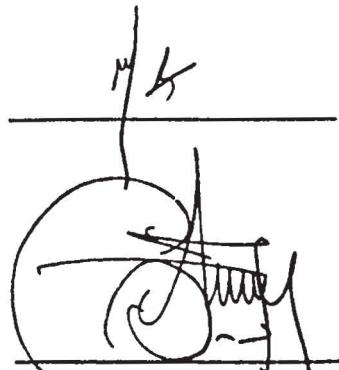
2. PENYELIA 2

(PROF. DR. CHARLES S. VAIRAPPAN)



3. PEMERIKSA

(DR. NAZIRAH MUSTAFFA)



4. DEKAN

(PROFESSOR DR BABA MUSTAFA)

PENGHARGAAN

Pertama sekali, saya bersyukur kepada Tuhan dengan izin dan restunya, saya telah berjaya menyiapkan Projek Tahun Akhir ini dengan sempurna.

Dalam kesempatan ini saya juga ingin mengucapkan setinggi-tinggi penghargaan kepada Prof. Dr. Charles S. Vairappan, pengarah bagi Institut Biologi dan Tropika Pemuliharaan dan Dr. Takashi Kamada, pensyarah di Institut Biologi dan Tropika Pemuliharaan selaku penyelia Projek Tahun akhir saya di atas segala tunjuk ajar, bimbingan dan bantuan sepanjang tempoh projek ini dijalankan. Saya juga ingin berterima kasih kepada Dr. Ikki Matsuda, penyelidik bagi monyet belanda yang sering tolong saya dalam memberikan informasi tentang monyet belanda.

Saya juga ingin mengucapkan jutaan terima kasih kepada individu yang telah membantu saya di dalam menyiapkan projek akhir ini kepada Krishneth Palaniveloo, Tulasiramanan Ramachandram, Thilaga, Nur Hazami Safie, Steve, Phank Chin Soon, Noah Charles, Marcus di atas segala kerjasama dan tunjuk ajar sepanjang projek akhir ini dijalankan.

Jutaan terima kasih yang diucapkan kepada kedua-dua ibu bapa iaitu K.V. Nirmala Devi dan Mariyan Periya Nayagam a/l Muniandy serta ahli keuarga saya iaitu Thulasi, Luma Devi, dan Palaniveloo yang telah banyak memberikan sokongan moral serta dorongan kepada saya dalam usaha menyiapkan projek tahun akhir ini.

Akhir sekali, saya ucapkan jutaan terima kasih kepada semua rakan-rakan seperjuangan yang turut membantu saya secara langsung dan tidak langsung sehingga tamatnya pengajian ini.



ABSTRAK

Nasalis larvatus atau lebih dikenali sebagai monyet belanda menghabiskan lebih masa di dalam hutan bakau. Pokok bakau menjadi ekosistem yang mempunyai pelbagai penggunaan. Kajian ini dijalankan untuk mengetahui komponen kimia dalam daun pokok bakau yang dimakan oleh monyet belanda. Spesis *Excocaria indica* mempunyai pati minyak kasar dan pati protein yang lebih berbanding dengan spesis pokok bakau yang lain. Spesis tersebut juga mempunyai kuantiti fenol yang banyak. Kuantiti fenol yang banyak boleh mempunyai sifat antioksidan. Sifat antioksidan ini boleh jadikan juga sebagai bahan untuk pencegah kanser atau kenali sebagai anti-kanser. Selain itu, bahan sebatian sekunder seperti *Palmitic acid methyl ester* (63.85%), *Stearic acid methyl ester* (94.14%), *Tetracontane* (144.97%), *Tetratriacontane* (131.45%) dan *Hexatricacontane* (83.34%) boleh didapati dalam daun pokok bakau. Komponen tersebut boleh digunakan dalam kehidupan manusia untuk meningkatkan taraf kesihatan manusia. Daun pokok bakau muda mempunyai tahap kelembapan yang berlebihan berbanding dengan daun pokok bakau matang. Tambahan pula, daun pokok bakau matang mempunyai bahan organik yang berlebihan berbanding dengan daun pokok bakau muda.

KANDUNGAN

Muka Surat

PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	viii
SENARAI RAJAH	x
SENARAI SIMBOL	xii

BAB 1 PENGENALAN

1.1 Pengenalan kepada kajian	1
1.1.1 <i>Nasalis larvatus</i> (Monyet Belanda)	2
1.1.2 Pokok bakau	3
1.2 Justifikasi dan tujuan kajian	4
1.3 Objektif kajian	4

BAB 2 ULASAN LITERATUR

2.1 Monyet Dunia Lama (Old World Monkey)	5
2.2 Habitat Monyet Belanda	6
2.3 Aktiviti Harian Monyet Belanda	6
2.4 Hutan Paya Bakau	7
2.5 Metabolit Sekunder	8

BAB 3 METODOLOGI

3.1	Kawasan Kajian	10
3.2	Proses Persampelan	10
3.3	Analisis Proksimat	11
3.3.1	Ketentuan Kelembapan	11
3.2.2	Abu	12
3.3.3	Pati minyak kasar	12
3.3.4	Pati protein kasar	13
3.4	Fenolik	14

BAB 4 KEPUTUSAN

4.1	Ketentuan Kelembapan dan Abu	15
4.2	Pati minyak kasar	17
4.3	Pemprofilan Kima bagi Pati Minyak Kasar	21
4.4	Pati Protein Kasar	29
4.5	Analisis Fenolik	30

BAB 5 PERBINCANGAN

5.1	Analisis bagi Ketentuan Kelembapan dan Abu	33
5.2	Analisis bagi Pati minyak kasar	34
5.3	Analisis bagi Pemprofilan Kima bagi Pati Minyak Kasar	35
5.4	Analisis bagi Pati Protein Kasar	36
5.5	Analisis bagi Fenolik	37

BAB 6 KESIMPULAN

39

RUJUKAN

43

LAMPIRAN

SENARAI JADUAL

No. Jadual	Muka Surat
4.1 Data analisis bagi tahap kelembapan dan abu bagi sampel-sampel daun pokok bakau matang dan muda.	16
4.2 Jumlah berat pati minyak kasar bagi sampel-sampel daun pokok bakau matang dan muda.	18
4.3 Data analisa spektra GCMS bagi setiap puncak yang terhasil mempunyai masa tahanan, kepekatan, kawasan serta ketinggian (jisim spektrum) yang berbeza bagi sampel-sampel daun pokok bakau matang dan muda.	22
4.4 Data analisis mengikut kaedah Kjedahl untuk mendapatkan jumlah protein yang terkandung dalam daun pokok bakau muda dan matang	30
4.5 Data analisis kandungan fenolik dalam daun pokok bakau matang dan muda	32

SENARAI RAJAH

No. Rajah	Muka Surat
4.1 Carta bar menunjukkan tahap kelembapan bagi sampel-sampel daun pokok bakau matang dan muda.	17
4.2 Carta bar menunjukkan tahap kelembapan bagi sampel-sampel daun pokok bakau matang dan muda.	18
4.3 Carta bar menunjukkan jumlah pati minyak kasar yang terdapat dalam daun sampel pokok bakau matang dan muda	19
4.4 Carta pai menunjukkan jumlah pati minyak kasar yang terdapat dalam daun sampel pokok bakau muda	20
4.5 Carta pai menunjukkan jumlah pati minyak kasar yang terdapat dalam daun sampel pokok bakau matang	21
4.6 Carta bar menunjukkan jumlah protein yang terkandung dalam daun pokok bakau matang dan muda	31
4.7 Carta garisan menunjukkan kandungan fenolik yang terdapat dalam daun pokok bakau matang dan muda.	33
5.1 Struktur kimia bagi <i>Tetracontane</i> yang terdapat dalam daun pokok bakau matang spesis, <i>Excocaria agallocha</i> .	28
5.2 Struktur kimia bagi <i>Tetratriacontane</i> yang terdapat dalam daun pokok bakau matang spesis, <i>Nypa fruticans</i> .	28
5.3 Struktur kimia bagi <i>Stearic acid methyl ester</i> yang terdapat dalam daun pokok bakau matang spesis, <i>Excocaria agallocha</i> .	29
5.4 Struktur kimia bagi <i>Hexatricontane</i> yang terdapat dalam daun pokok bakau matang spesis, <i>Nypa fruticans</i> .	29
5.5 Struktur kimia bagi <i>Palmitic acid methyl ester</i> yang terdapat dalam daun pokok bakau matang spesis, <i>Excocaria agallocha</i> .	29

SENARAI SIMBOL

v	isipadu
%	peratusan
°C	suhu
cm	centimeter
g	gram
kg	kilogram
L	litre
mg	milligram
ml	milliliter
nm	nanometer
µl	microliter
µg	microgram
GCMS	Gas Kromatografi Spektrometri Jisim
W	unit untuk berat
HCl	Asid hidroklorik
NaOH	Natrium hidroksida

BAB 1

PENGENALAN

1.1 Pengenalan kepada kajian

Monyet Belanda (*Nasalis larvatus*) yang dikategorikan dalam subfamili *Colobinae*, yang merangkumi 3 sub-genus dan mempunyai 44 spesis, telah didokumentasikan kehadirannya di rantau Asia dan Afrika (Groves, 2001; Flashing, 2007; Kirkpatrick, 2007). *Nasalis larvatus* menghabiskan lebih masa di dalam hutan bakau (Boonratana, 1993). Pokok bakau ditakrifkan sebagai gabungan pokok toleran garam dan pokok renek yang tumbuh di kawasan pasang surut yang terdapat di pantai tropika dan subtropika. Spesies pokok ini berkembang secara pesat di tempat-tempat di mana air tawar bercampur dengan air masin dan sedimen di mana terdiri daripada deposit terkumpul lumpur. Tanah lembap bakau biasanya dikelaskan kepada enam jenis berdasarkan faktor geofizik, geomorfologi dan biologi (Boonratana, 1993). Pertamanya, lima jenis tanah lembap bakau dapat dilihat di kawasan pantai yang dikuasai oleh endapan terrigenous (sedimen laut cetek yang terdiri daripada bahan yang diterbitkan daripada permukaan tanah) manakala yang terakhir dapat dilihat di pulau laut, terumbu karang dan benting karbonat. Persekutuan bakau adalah sangat dinamik dan keras dan spesies bakau dengan pelbagai disesuaikan untuk menghadapi keadaan alam sekitar.

1.1.1 *Nasalis larvatus* (Monyet Belanda)

Monyet belanda adalah endemik di Pulau Borneo yang boleh dijumpai di kawasan pokok bakau, paya gambut dan hutan tepian sungai. Monyet belanda menunjukkan sifat dimorfisme seksual; iaitu, saiz tubuh jantan dewasa, yang mempunyai hidung yang panjang dan tergantung. Ciri tersebut merupakan ciri yang terbesar di antara spesis *Columbinae* dan berat badan monyet belanda mencapai sekitar 20-24 kg. Manakala, betina dewasa mempunyai hidung yang lebih pendek daripada jantan dan berat badan monyet belanda adalah dalam lingkungan 9 - 10 kg (Bismark, 190). Selain itu, monyet belanda mahir berenang di sungai dan berjalan di atas pokok bakau yang lembut kerana monyet belanda mempunyai kaki belakang yang berselaput di jari kaki (Sha, 2006). Kajian telah menunjukkan bahawa monyet belanda jelas terdiri dalam 2 kumpulan; (1) seekor jantan dewasa, beberapa betina dan anak-anak monyet belanda dan (2) kumpulan jantan yang terdiri daripada jantan muda (Benett dan Sebastian, 1988; Yeager, 1989 dan 1995; Murai, 2004a, 2004b, 2006 dan 2007).

Bilangan anggaran monyet tersebut di Borneo adalah dalam lingkungan 6000 individu di Sabah, 100 individu di Sarawak, 300 individu di Brunei dan 5000 individu di Kalimantan. Monyet belanda tinggal di sekitar pantai Sabah dan tidur di sepanjang sungai. Persekutaran monyet belanda berubah dengan peningkatan dalam ladang kelapa sawit dan penurunan dalam hutan.

Monyet belanda biasanya menghabiskan 76.4% daripada sehari untuk berehat. Baki masa yang lain, monyet belanda akan makan, tidur dan bergerak. monyet belanda didapati menggunakan kepelbagai diet yang sangat tinggi, dengan makan daun muda, benih buah-buahan, dan bunga serta kaliks. Memiliki perut yang berbilang komponen membolehkan monyet belanda untuk mencerna selulosa daripada daun dan toksin di dalamnya. Kajian juga telah mendapati bahawa monyet belanda sentiasa makan daun muda dan buah-buahan yang boleh dicari (Murai, 2007).

1.1.2 Pokok bakau

Hutan paya bakau adalah ekosistem yang mempunyai pelbagai penggunaan. Ia dianggap sebagai satu bentuk penghadaman terbaik "bioshield" pantai kerana ia memainkan peranan yang penting dalam mengurangkan kesan ribut siklon, taufan dan tsunami kepada kehidupan manusia dan harta (Selvam, 2005).

Pokok bakau juga mengelakkan atau mengurangkan hakisan tanah. Pokok bakau meningkatkan produktiviti perikanan di perairan pantai bersebelahan dengan bertindak sebagai tapak pembiakan untuk ikan komersial penting, udang dan ketam dan membekalkan nutrien organik dan bukan organik. Ekosistem ini juga kaya dengan biodiversiti dan bertindak sebagai habitat untuk hidupan liar.

Tumbuh-tumbuhan bakau biasanya dibahagikan kepada dua kumpulan, lait, i) spesies bakau benar atau eksklusif dan ii) spesies bakau yang sekutu. Spesies bakau benar berkembang hanya dalam persekitaran bakau dan tidak melanjutkan ke dalam komuniti tumbuhan daratan dan morfologi, fisiologi dan sifat pembiakan disesuaikan dengan masin, keadaan berair dan anaerobik. Sebanyak 69 spesies dalam 27 genera, yang dimiliki oleh 20 famili dianggap sebagai spesies bakau benar (Selvam *et al*, 2004.). Antara tumbuh-tumbuhan yang tumbuh di persekitaran daratan dan halophytes tulen (tumbuh-tumbuhan yang tumbuh hanya di persekitaran masin) juga terdapat di dalam atau di kawasan pinggir tanah lembap bakau. Spesies ini dianggap sebagai bakau yang sekutu (Selvam, 2004).

1.2 Justifikasi dan tujuan kajian

Kajian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui metabolit sekunder yang unik yang boleh didapati di dalam daun bakau. Di samping itu juga, kajian ini ingin memenuhi keperluan semasa tentang kesedaran alam semulajadi terhadap *Nasalis larvatus* (Monyet Belanda). Selain itu, kajian tersebut membolehkan mengetahui kimia baru dan sebatian bioaktif.

1.3 Objektif kajian

Objektif kajian ini terdiri daripada tiga objektif utama:

- i) Untuk menilai komposisi pati protein, lipid, abu, serat dan tahap kelembapan daun paya bakau.
- ii) Untuk mengenalpasti komponen kimia yang meningkatkan bahan kimia dalam daun bakau yang dimakan oleh monyet.
- iii) Untuk menilai kehadiran metabolit sekunder dalam daun bakau yang boleh memberi kesan kepada tingkah laku monyet.

BAB 2

KAJIAN LITERATUR

2.1 Monyet Dunia Lama (Old World Monkey)

Monyet belanda (*Nasalis larvatus*) diklasifikasikan dalam famili Cercopithecidae atau "Old World Monkey". Monyet belanda merupakan organisme dalam subfamili Colobines mewakili monyet yang makan daun. Colobines merupakan monyet yang bersaiz medium, mempunyai ekor yang panjang dan kebanyakannya adalah herbivor. Monyet tersebut makan daun, bunga dan buahan. Mereka mempunyai usus yang kompleks untuk penghadaman bakteria dan enzim (Bennett *et al.*, 1993).

2.2 Habitat Monyet Belanda

Kemandirian monyet belanda bergantung kepada hutan bakau bagi makanan dan perlindungan. Manakala, kajian baru-baru ini menunjukkan bahawa monyet belanda ini menggunakan sungai dan habitat paya lain sebagai tempat perlindungannya (Bennett dan Reynolds, 1993). Di Sabah, monyet belanda boleh dijumpai di tiga jenis hutan utama iaitu hutan sungai, hutan bakau dan hutan paya (paya gambut dan paya air tawar). Secara keseluruhan, paya bakau, paya air tawau dan hutan dipterokarpa yang belum diganggu hanya boleh didapati kira-kira 9.8% daripada jumlah keluasan tanah di Sabah (Bernard, 1997).

2.3 Aktiviti Harian Monyet Belanda

Monyet belanda adalah primat yang aktivitinya selalu berhubungkait dengan laluan air. Monyet spesis ini tidur sepanjang tepi sungai dan perjalanan darat untuk mencari makanan sepanjang hari (Payne *et al.*, 1985). Pada waktu malam, monyet akan kembali ke tempatnya iaitu di pokok paya bakau. Monyet belanda menghabiskan sebahagian besar masanya dengan tidur di atas pokok pada waktu malam, biasanya berluma pada pukul 5.30 petang dan bangun pada pukul 6.30 pagi (Agoramoorthy *et al.*, 2004). Aktiviti monyet belanda menunjukkan majoriti masa dihabiskan dengan berehat (77%) dan lebihan masa adalah mencari makanan (23%) (Alikodra *et al.*, 1994). Monyet belanda akan aktif mencari makanan dalam masa yang singkat sebelum mereka tidur iaitu pada pukul 3-5 petang.

2.4 Hutan Paya Bakau

Bakau adalah hutan yang tumbuh di antara tahap air surut dan pasang. Tempat paya bakau dibanjiri dengan air masin setiap kali apabila air pasang naik balik ke tepi laut. Paya bakau mempunyai banyak pokok rangkaian besar, akar jangkang di atas lumpur. Kemusnahaan hutan bakau bukan sahaja mengakibatkan hidupan liar malah sangat bernilai kepada manusia juga. Pokok bakau mempunyai nilai-nilai farmaseutikal dan medikasi tradisional (Bennett dan Reynolds, 1993).

Menurut Bismark (1987a,b), proporsi daun mencapai 92% dari seluruh pakan. Tingginya tingkat konsumsi terhadap daun disebabkan keragaman jenis pohon yang rendah dan produksi buah yang tidak selalu ada (Soerianegara *et al.* 1994). Walaupun termasuk folivora, monyet belanda bukan folivora sejati. Monyet spesis ini mengkonsumsi hampir seluruh bahagian tumbuhan yang mencakup akar, kulit batang, daun, buah, dan bunga (Schultz, 2000).

Alikodra dan Mustari (1994) menyatakan bahawa 12 spesies dan Soerianegara (1994) melaporkan 4 spesis tumbuhan paya bakau menjadi sumber makanan monyet belanda. Salter *et al.* (1985) menyatakan bahawa 3 dari 90 spesies tumbuhan di hutan bakau adalah *Bouea* sp., *Buchanania* sp., dan *Bruguiera gymnorhiza*. Soendjoto *et al.* (2001), melaporkan bahawa sumber makanan monyet belanda di hutan paya bakau adalah *Melaleuca cajuputi*, *Acrostichum aureum*, dan *Stenochlaena palustris*.

2.5 Metabolit Sekunder

Salah satu ciri umum tumbuh-tumbuhan adalah kebolehannya untuk menghasilkan pelbagai jenis metabolit sekunder atau sebatian bioaktif (Zainal *et al.*, 2004). Sebagai langkah pengenalpastian kandungan metabolit sekunder dan ciri-ciri kimia yang dimiliki setiap tumbuh-tumbuhan, kajian perlu dijalankan terhadap kandungan ekstrak tulen.

Penghasilan metabolit sekunder ini sangat diperlukan serta digunakan secara meluas dalam bidang farmaseutikal, bahan tambahan dalam makanan, nutraceutical dan lain-lain (Zhong *et al.*, 2011). Selain itu, kumpulan ini juga melibatkan kandungan antibiotik di mana hasil semulajadi yang boleh merencatkan pertumbuhan mikrob serta penghasilan pelbagai mikrob sepanjang proses pertumbuhan dan proses spora (Vinale *et al.*, 2008). Terdapat banyak ciri-ciri metabolit sekunder pada tumbuh-tumbuhan yang mempunyai bentuk yang sama namun berbeza dari segi potensi biologi berdasarkan sebatian bioaktif yang terhasil (Zhong *et al.*, 2011).

Selain itu, ubat-ubatan juga diperbuat daripada sumber asli tumbuh-tumbuhan melebihi 30% dalam pasaran farmaseutikal pada zaman ini. Ia juga termasuklah 60% adalah dadah bagi tujuan antikanker manakala 75% ubat-ubatan adalah untuk mencegah penyakit berjangkit. Berdasarkan pertumbuhan kesihatan dunia, terdapat 11 daripada 25 jenis ubat-ubatan di dunia berasaskan tumbuh-tumbuhan (Bourgard *et al.*, 2001).

Kajian terbaru telah menunjukkan di negara barat telah mengaplikasikan ilmu ini, terutama sekali dalam bidang kimia seperti dalam bidang farmaseutikal iaitu 25% molekul yang terdapat dalam bahan-bahan farmaseutikal yang digunakan adalah daripada tumbuh-tumbuhan.

Antara bahan yang terlibat adalah seperti aspirin (acetylsalicylate) daripada 'salicylate' iaitu molekul yang diasingkan dalam kuantiti yang besar daripada pelbagai tumbuh-tumbuhan seperti *Spiraea ulmaria* dan *Betula lenta* (Bourgard *et al.*, 2001).

Metabolit sekunder merupakan sebatian yang selalunya dikategorikan melalui perjalanan biosintetik yang mengandungi molekul-molekul yang besar iaitu 'phenolic', 'terpenes' dan 'steroids'. Contoh seperti 'phenolics', molekul ini termasuk dalam "lignin synthesis", mudah ditemui pada tumbuhan yang tinggi. Oleh kerana itu, bahan-bahan metabolit sekunder ini yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan sememangnya kaya dengan potensi biologi yang digunakan dalam bidang perubatan tradisional sejak zaman berzaman lagi.

Walaupun bahan-bahan aktif dalam tumbuh-tumbuhan diperoleh berdasarkan ciri-ciri metabolit sekunder yang terdapat padanya, namun ia boleh ditemui secara rawak melalui proses yang agak komplek. Selain itu, pengasingan dan pengenalpastian metabolit sekunder memerlukan sejumlah besar bahan-bahan, sumber kewangan serta peralatan. Manakala, cerakinan biologi perlu dijalankan untuk mengenal pasti pecahan yang mengandungi sebatin aktif (Rogerio, 2010).

Beberapa kaedah kajian makmal dijalankan untuk mengenalpasti ciri-ciri kimia serta potensi biologi terhadapnya ((Bourgard *et al.*, 2001). Salah satu kaedah yang dijalankan ialah kaedah Kromatografi Lapisan Nipis (TLC) yang digunakan untuk menentukan ciri-ciri komponen pada hasil ekstrakkan tumbuhan dan penyediaan bahan biokimia dengan menggunakan hanya sedikit kuantiti sampel (Ramaan, 1996). Kaedah ini merupakan kaedah sangat mudah, cepat, sensitif serta melibatkan kos yang murah (Pothier *et al.* , 2001).

Seterusnya, terlibat juga kaedah iaitu Analisis Kromatografi Cecair Potensi Tinggi (HPLC). Kaedah ini bertujuan untuk mengasing dan mengenalpasti bahan pelarut organik dan bahan bukan organik di dalam sampel terutama sekali bahan untuk kajian biologi, farmaseutikal, makanan, industri dan banyak lagi (Rahmaan, 1996).

BAB 3

METODOLOGI

3.1 Kawasan Kajian

Kajian ini melibatkan penggunaan 14 jenis sampel daun bakau yang dikumpulkan dari Hutan Abai, Sabah. Daun yang dikumpulkan adalah daripada tumbuhan muda dan matang. Sampel-sampel daun pokok bakau telah disimpan sebagai rujukan dalam herbarium BORNEENSIS, Institut Biologi Tropika dan Pemuliharaan, Universiti Malaysia Sabah.

3.2 Proses Persampelan

Daun-daun pokok bakau disimpan di dalam penyejuk beku kering untuk menghilangkan kelembapan yang terkandung dalam daun-daun pokok bakau. Sebelum menimbang

daun-daun pokok bakau, daun-daun tersebut telah dikeringkan dalam ketuhar buat selama 3 hingga 4 jam supaya tahap kelembapan daun tersebut akan berada dalam tahap yang rendah. Sebanyak 1g atau 0.5g diambil bagi setiap sampel daun pokok bakau untuk digunakan sepanjang kajian ini.

3.3 Analisis Proksimat

Analisis ini terbahagi kepada 4 komponen iaitu air, abu, pati lipid, dan pati protein.

3.3.1 Ketentuan Kelembapan

Tahap kelembapan daun ditentukan melalui kehilangan berat daun yang berlaku apabila sampel daun dikeringkan sampai mencapai berat yang tetap dan tidak berubah. Sebanyak 1g sampel daun pokok bakau ditimbang sebelum dikeringkan. Kemudian, sampel tersebut dikeringkan dalam ketuhar selama sehari dalam suhu 45°C- 55°C. Selepas daun dikeringkan, sampel itu disejukkan di dalam desiccator dan daun tersebut ditimbang semula. Proses pengeringan akan terus dilakukan sehingga mencapai berat sampel yang tetap dan tidak berubah.

Tahap kelembapan daun-daun pokok bakau boleh diperoleh dengan menggunakan formula :

% Kelembapan

$$= \frac{\text{berat sampel sebelum dikeringkan} - \text{berat tetap sampel selepas dikeringkan}}{\text{Berat sampel sebelum dikeringkan}} \times 100$$

3.3.2 Abu

Abu merupakan sisa bukan organik yang diperolehi dengan membakar daun-daun pokok bakau. Sebelum memulakan analisis ini, mangkuk pijar yang kosong telah ditimbang. Sebanyak 1g sampel dimasukkan ke dalam mangkuk pijar dan ditimbang. Kemudian, mangkuk pijar yang mangandungi sampel tersebut dipanaskan dalam relau selama 6 jam dalam suhu 550°C sehingga abu yang berputih-kelabu diperolehi. Selepas itu, mangkuk pijar tersebut diletakkan ke dalam desikator selama sejam dan ditimbang semula. Peratusan abu boleh diperolehi dengan menggunakan formula:

% Abu

$$= \frac{(\text{berat abu} + \text{berat mangkuk pijar}) - (\text{berat mangkuk pijar})}{\text{Berat sampel}} \times 100$$

3.3.3 Pati minyak kasar

Pengekstrakan soxhlet digunakan untuk mengekstrak kandungan lipid daripada sampel daun-daun kering pokok paya bakau. Sampel daun kering bakau sebanyak 1g disaluti dengan kain kasa. Sampel tersebut akan diekstrak dengan menggunakan radas Soxhlet tradisional selama 4-5 jam dengan petroleum eter. Selepas 4-5 jam, bahan ekstrak yang terhasil daripada proses pengekstrakan itu akan disejatkan dengan alat "rotatory evaporator" pada suhu 34°C dan disimpan dalam vial.

3.3.4 Pati protein kasar

Analisis protein kasar telah dilakukan dengan menganalisis kandungan nitrogen. Protein ditentutkan melalui analisis nitrogen dengan menggunakan kaedah Kjedahl. Sampel sebanyak 0.5g daun kering ditimbang dan dipindahkan ke dalam kelalang pencernaan Kjeldahl. Sebanyak 150ml air suling ditambah ke dalam kelalang pencernaan Kjeldahl dan digoncang untuk mencampurkan kandungan tersebut secara sebat. Kira-kira 100ml HCl dan beberapa titisan metil biru dan metil merah telah dicampurkan ke dalam "erlenmeyer flask" yang kemudiannya akan disambungkan kepada kelalang pencernaan Kjeldahl dan dipanaskan dalam suhu 100°C . Selepas campuran tersebut mendidih, 23ml 30% NaOH ditambahkan ke dalam kelalang pencernaan Kjeldahl. Proses pemanasan selesai jika tidak ada aliran dari kelalang pencernaan. Peratusan pati minyak sampel boleh dikira dengan menggunakan formula:

$$\% \text{ Pati minyak} = 6.25 \times \% \text{ N}$$

$$\% \text{ N}$$

$$= \frac{14008 \times ((V_1 \times N_1) - (V_2 \times N_2))}{W} \times 100$$

V₁= Isipadu HCl (ml)

V₂= Isipadu NaOH (ml)

N₁= Normaliti HCl

N₂= Normaliti NaOH

W= Berat sampel kering(g)

RUJUKAN

- Aeda M., C.E. Lamien, M. Romito, J. Millogo, and O.G. Nacouma, 2005 "Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkisa Fasan honey, as well as their radical scavenging activity", *Food Chemistry*, vol.1, no.4: 571-577.
- Agoramoorthy, G., 2003. Saving proboscis monkeys – endangered and need our help to survive! *Hemispheres* 3:8–12.
- Agoramoorthy, G., Alagappasamy, C. and Hsu, M.J., 2004. Can proboscis monkeys be successfully maintained in captivity? A case of swings and roundabouts. *Zoo Biology* 23: 533-544.
- Alikodra, H.S. and A.H. Mustari. 1994. Study on Ecology and Conservation of Proboscis Monkey (*Nasalis larvatus Wurmb*) at Mahakam River Delta, East Kalimantan:Behaviour and Habitat Function. *Annual Report of Pusrehut* 5: 28-38.
- AOAC, 2003. Official methods of analysis of the association of official's analytical chemists, Arlington, Virginia.
- B. Jasna, D. Urska, J. Mojca, and G. Terezija, 2007. "Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey", *Food Chemistry*, vol.105, no.10: 822-828.

B. S. Oyeleke, N. E. B. Dauda, T. Jimoh, and O. S. Musa, 2010. " Nutritional analysis and antibacterial effect of honey on bacterial wound pathogens", *Journal of applied Sciences*, vol. 11, no.6 :1561-1565.

Bennett, E.L. 1986. Proboscis Monkeys in Sarawak: Their ecology, status, conservation and management. World Wildlife Fund (WWF) Malaysia, Kuala Lumpur, and New York Zoological Society, New York.

Bennett, E.L., Caldecott, J., Kavanagh, M. and Sebastian, A., 1987. Conservation status of primates in Sarawak. *Primate Conservation: The Newsletter and Journal of the IUCN/SSC Primate Specialist Group* 8: 184-186.

Bennett, E.L. and Reynolds, C.J., 1993. The value of a mangrove area in Sarawak. *Biodiversity and Conservation* 2: 359-375.

Bennett, E. L. and Gombek, F., 1993. Proboscis Monkeys of Borneo, Natural History Publications Borneo, Kota Kinabalu.

Bennett, E. & A.C. Sebastian. 1988. Social organization and ecology of Proboscis Monkey (*Nasalis larvatus*) in Mixed Coastal Forest in Sarawak. *International Journal of Primatology* 9: 233-255.

Bernard, H. 1997. A study on the distribution and abundance of proboscis monkey (*Nasalis larvatus*) in the Klias Peninsula, Sabah, North Borneo. *Journal of*

Bernard, H. 2007. The ecology and behaviour of the Proboscis Monkey (*Nasalis larvatus*) in the Klias Peninsula. Unpublished Research Proposal.

Bernard, H. & Zulhazman Hamzah. 2005. Distribution and abundance of proboscis monkey (*Nasalis larvatus*) in Klias Peninsula: What happen after a decade? In Kugan, F. & Chey, V.K. (eds.) Conservation and management of peat swamp forests and other wetlands in Sabah: Issues and challenges. Proceeding of the 9th SITE Seminar on Tropical Ecosystem Research, Sabah.

Bernard, H. & Zulhazman Hamzah. 2006. Population size and distribution of the Proboscis Monkey (*Nasalis larvatus*) in the Klias Peninsula, Sabah, Malaysia. *Malayan Nature Journal* 59: 153-163.

Bismark, M. 1980. Populasi dan Tingkahlaku Bekantan (*Nasalis larvatus*) di Suaka Margasatwa Tanjung Puting, Kalimantan Tengah. Bogor: Laporan Lembaga Penelitian Hutan No. 357.

Bismark, M. 1986. Studi habitat dan tingkahlaku bekantan (*Nasalis larvatus*) di Taman Nasional Kutai. *Buletin Penelitian Hutan* 474: 67-79.

Bismark, M. 1987a. Sosio ekologi bekantan (*Nasalis larvatus*) di Taman Nasional Kutai, Kalimantan Timur. *Rimba Indonesia* 21: 24-35.

Bismark, M. 1987b. Strategi dan tingkah-laku makan bekantan (*Nasalis larvatus*) di hutan bakau, Taman Nasional Kutai, Kalimantan Timur. *Buletin Penelitian Hutan* 492: 1-10.

Boonratana, R. 1993. The Ecology and Behaviour of the Proboscis Monkey (*Nasalis larvatus*) in the Lower Kinabatangan, Sabah. PhD Thesis, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University, Thailand.

Boonratana, R. 2002. Social organisation of proboscis monkeys (*Nasalis larvatus*) in the Lower Kinabatangan, Sabah, Malaysia. *Malayan Nature Journal* 56: 57–75.

Choudhury, J.K. 1993. Mangrove conservation and management in Maldives: Report to the Government of the Republic of Maldives. FAO, Rome.

Eudey, A. and members of the Primate Specialist Group, 2000b. *Nasalis larvatus*. In IUCN (2006) 2006 IUCN Red List of Threatened Species. Available from: <http://www.iucnredlist.org>. Accessed 19 November 2006.

G. Setiyo, D. Raden, Aliwafa, N. Miranti, D. Akhmad, F. Hamzah. 2011. The analysis and characterization of *Xylocarpus moluccensis* mangrove fruit seeds.

J. Sha. 2011. The Proboscis Monkey Talk presented by Dr Ikki Matsuda On Monday 21 st January 2011.

- Jeffrey, S. M. 1982. Threats to the proboscis monkeys. *Oryx* 16: 337–339.
- Kawabe, M. and T. Mano. 1972. Ecology and behaviour of the wild proboscis monkey, *Nasalis larvatus* (Wurmb) in Sabah, Malaysia. *Primates* 13: 213–228.
- Kern JA, 1964. Observations on the habits of the proboscis monkey, *Nasalis larvatus* (Wermb), made in the Brunei Bay area, Borneo. *Zoological* 49:183-192.
- Macdonald, D. W. 1982. Notes on the size and composition of groups of proboscis monkey, *Nasalis larvatus*. *Folia Primatol.* 37: 95–98.
- Manansang, J., K. Traylor-Holzer, D. Reed and K. Leus (eds.). 2005. Indonesian Proboscis Monkey Population and Habitat Viability Assessment: Final Report. IUCN/ SSC Conservation Breeding Specialist Group, Apple Valley, MN.
- Matsuda, I. 2008. Feeding and Ranging Behaviors of Proboscis Monkey *Nasalis larvatus* in Sabah, Malaysia. PhD thesis, Graduate School of Environmental Earth Science, Hokkaido University, Japan.
- Meijaard, E. and Nijman, V., 2000a. Distribution and conservation of the proboscis monkey (*Nasalis larvatus*) in Kalimantan, Indonesia. *Biological Conservation* 92: 15-24.
- Meijaard, E. and Nijman, V., 2000b. The local extinction of the proboscis monkey

Nasalis larvatus in Pulau Kaget Nature Reserve, Indonesia. *Oryx* 34: 66-70.

Murai T, 2004a. Social structure and mating behavior of proboscis monkey *Nasalis larvatus* (Primates; Colobinae). PhD Thesis. Graduate School of Environmental Earth Science, Hokkaido University.

Murai T, 2004b. Social behaviors of all-male proboscis monkeys when joined by Females. *Ecological Research* 19:451-454.

Murai T, 2006. Mating behaviors of the proboscis monkey (*Nasalis larvatus*). *Am J Primatol* 68:832-837.

Murai T, Mohamed M, Bernard H, Mahedi PA, Saburi R, Higashi S, 2007. Female transfer between one-male groups of proboscis monkey (*Nasalis larvatus*). *Primates* 48:117-121.

Osman. Asli, D. Bruce, and S. Kadriye, 2010. "Total phenolic acid and total flavonoid content of Turkish pine honeydew honey", *Journal of Apiproduct and Apimedical Science*, vol.2, 4: 65-71.

Onuma M, 2002. Daily ranging patterns of the proboscis monkey, *Nasalis larvatus*, in

coastal areas of Sarawak, Malaysia. *Mammal study* 27:141-144.

Payne, J., C.M. Francis & K. Phillips. 1985. A field guide to the mammals of Borneo. WWF Malaysia and the Sabah Society, Kuala Lumpur.

R. Boonratana, 1999. Ranging Behavior of Proboscis Monkeys (*Nasalis larvatus*) in the Lower Kinabatangan. *International Journal of Primatology*.

Rajanathan, R. and E. L. Bennett. 1990. Notes on the social behaviour of wild proboscis monkey (*Nasalis larvatus*). *Malayan Nature Journal* 44: 35–44.

Rajanathan, R. 1991. Differential Habitat Use by Primates in Samunsam Wildlife Sanctuary, Sarawak, and Its Application to Conservation Management. MSc Thesis, University of Florida., Gainesville.

Rajanathan, R. 1995. A mammal and bird survey in the Lower Segama Region, Sabah, with emphasis on the proboscis monkey. Report, Sabah Wildlife Department and World Wildlife Fund, Malaysia.

Salter, R.E. and MacKenzie, N.A., 1985 Conservation status of the proboscis monkey in Sarawak. *Biological Conservation* 33: 119-132.

Salter, R.E., MacKenzie, N.A., Nightingale, N., Aken, K.M. and Chai, P.K.P. ,1985. Habitat use, ranging behaviour, and food habits of the proboscis monkey

Nasalis larvatus (van Wurmb), in Sarawak. *Primates* 26: 436-451.

Schultz, C. H. and J. Beck. 1999. A record of proboscis monkey (*Nasalis larvatus*) (Mammalia, Primates, Cercopithecidae) from Kinabalu Park, Sabah, Malaysia. *Sabah Park Nat. Journal* 2: 23-26.

Schultz AH, 1942. Growth and development of the proboscis monkey. *Bull Mus Comp Zool (Harvard)* 89:279-314.

Soendjoto, M.A. 2003. Adaptasi Bekantan (*Nasalis larvatus*) terhadap Hutan Karet: Studi Kasus di Kabupaten Tabalong, Kalimantan Selatan. [Usulan Penelitian]. Bogor: Program Pascasarjana IPB.

Soendjoto, M.A. 2004a. A new record on habitat of the proboscis monkey (*Nasalis larvatus*) and its problems in South Kalimantan, Indonesia. *Tigerpaper* 31: 17-18.

Soendjoto, M.A. 2004b. Adaptasi bekantan terhadap habitat dan permasalahannya. *Warta IWF* 8: 4-5.

Soendjoto, M.A. 2005. Adaptasi Bekantan (*Nasalis larvatus* Wurmb) terhadap Hutan Karet: Studi Kasus di Kabupaten Tabalong, Kalimantan Selatan. [Disertasi]. Bogor: Program Pascasarjana IPB.

Soendjoto, M.A., H.S. Alikodra, M. Bismark, and H. Setijanto. 2003. Persebaran dan status habitat bekantan (*Nasalis larvatus*) di Kabupaten Tabalong, Kalimantan Selatan. *Media Konservasi* 8: 45-51.

Soendjoto, M.A., H.S. Alikodra, M. Bismark, and H. Setijanto. 2005. Vegetasi tepi-baruh pada habitat bekantan (*Nasalis larvatus*) di hutan karet Kabupaten Tabalong, Kalimantan Selatan. *Biodiversitas* 6: 40-44.

Soendjoto, M.A., M. Akhdiyat, Haitami, and I. Kusumajaya. 2001. Bekantan di hutan galam: Quo vadis? *Warta Konservasi Lahan Basah* 10: 18-19.

Soerianegara, I., D. Sastradipradja, H.S. Alikodra, and M. Bismark. 1994. Studi Habitat, Sumber Pakan, dan Perilaku Bekantan (*Nasalis larvatus*) sebagai Parameter Ekologi dalam Mengkaji Sistem Pengelolaan Habitat Hutan Mangrove di Taman Nasional Kutai. Bogor: Laporan Akhir Pusat Penelitian Lingkungan Hidup, IPB.

Saunders, R.M., 1986. Rice bran composition and potential food uses. *Food Rev. Int.* 1: 465– 495.

Selvam, V., K.K.Ravichandran, V.M.Karunagaran, K.G.Mani and G.Evanjalin Jessie Beula. 2004. Joint Mangrove Management in Tamil Nadu: Processes, Experiences and Prospects: Part 1 to 4. M.S.Swaminathan Research Foundation, Chennai, India.

Sha JCM, 2006. Distribution, abundance and conservation of proboscis monkey (*Nasalis larvatus*) in Sabah, Malaysia. Master Thesis. Institute for Tropical Biology and Conservation, Universiti Malaysia Sabah.

Sha, J.C.M., H. Bernard & S. Nathan. 2008. Status and conservation of Proboscis Monkeys (*Nasalis larvatus*) in Sabah, East Malaysia. *Primate Conservation* 23: 107- 120.

Taniguchi, K., Takashima, S. and Suko, O. 1998. The silvicultural manual for mangroves. The Development of Sustainable Mangrove Management Project, Ministry of Forestry and Estate Crops, Indonesia and Japan International Cooperation Agency, Bali, Indonesia: 62.

Vingleton S., R. Orthofer, and R.M. Lamuela-Raventos, 1999 "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteau reagent", *Methods in Enzymology*, vol.21, no.84: 152-178.

Wetlands International Indonesia Programme. www.wetlands.or.id/mangrove. (accessed on july 29th 2011).

Yeager, C.P., 1989 Feeding ecology of the proboscis monkey (*Nasalis larvatus*). *International Journal of Primatology* 20: 95-106.

Yeager, C.P., 1990 Proboscis monkey (*Nasalis larvatus*) social organization: group

structure. *American Journal of Primatology* 20: 96-106.

Yeager, C.P., 1991 Proboscis monkey (*Nasalis larvatus*) social organization: intergroup patterns of association. *American Journal of Primatology* 23: 73-86.

Yeager, C. P., 1991b. Possible antipredator behaviour associated with river crossings by proboscis monkeys (*Nasalis larvatus*). *Am. J. Primatol.* 24: 61-66.

Yeager, C.P., 1992. Proboscis monkey (*Nasalis larvatus*) social organization: nature and possible functions of intergroup patterns of association. *American Journal of Primatology* 26: 133-137.

Yeager, C. P. 1995. Does Intraspecific variation in social systems explain reported differences in the social structure of the proboscis monkey (*Nasalis larvatus*) *Primates* 36: 575-582.

Yeager, C. P. and G. Frederiksson. 1998. Fire impacts on primates and other wildlife in Kalimantan, Indonesia, during 1997/1998. Report, WWF Indonesia Jakarta.

Yeager, C. P. and S. C. Silver. 1999. Translocation and rehabilitation as primate conservation tools: are they worth the cost? In: The Non-human Primates, P. Dolhinow and A. Fuentes (eds.):164-169. Mayfield, Mountain View, CA.