

**ANALISA ASID ASIATIK DARIPADA AKAR TRANSGENIK EKSTRAK *Centella asiatica* (L.) Urban (PEGAGA)**

**KANG OON LEE**

**PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

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

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

**2008**



**UMS**  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

## PENGAKUAN

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

MEI 2008



---

KANG OON LEE

HS 2005-2177



## UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

## BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: ANALISA ASID ASIATIK DARIPADA AKARTRANSGENIK EKSTRAK Centella asiatica (L.) Urban (PEBAGA)IJAZAH: IJAZAH SARJANA MUDA SAINS DENGAN KEPUJIANSAYA KANG OON LEE  
(HURUF BESAR)SESI PENGAJIAN: 2005

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

1. Tesis adalah hakmilik 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 institutsi pengajian tinggi.
4. Sila tandakan ( / )

SULIT

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

TERHAD

(Mengandungi maklumat TERHAD yang telah ditentukan oleh organisasi/badan di mana penyelidikan dijalankan)

TIDAK TERHAD

Disahkan Oleh

NURULAIN BINTI ISMAIL

LIBRARIAN

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

Kang

(TANDATANGAN PENULIS)

Nurain

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: 9358 SIMPANG TIGA  
13300 TASEE GELUGOR,  
BUTTERWORTH

Nama Penyelia

Tarikh: 15/5/2008

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.

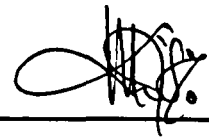
@Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana secara penyelidikan atau disertai bagi pengajian secara kerja kursus dan Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).



**PENGESAHAN**

**Nama:** Kang Oon Lee

**Tajuk :** Analisa Asid Asiatik Daripada Ekstrak Akar Trasgenik *Centella Asiatica* (L.)  
Urban (Pegaga)



**Dr. Noumie Surugau**



**Prof Madya Dr. Marcus Jopony**



**Dr Sazmal Effendi Bin Arshad**



**Dekan,**

**Sekolah Sains dan Teknologi**

**(SUPT/KS Prof. Madya. Dr. Shariff A.K. Omang. ADK)**



## PENGHARGAAN

Terlebih dahulu, saya ingin memanjatkan kesyukuran kepada Tuhan yang maha berkuasa kerana dengan limpah dan kurnianya saya dapat menyiapkan projek ini.

Saya ingin merakamkan setinggi-tinggi penghargaan kepada Dr Nourie Surugau yang telah memberikan sokongan dan bimbingan sepanjang tempoh penyelidikan ini dijalankan. Saya juga ingin merakamkan penghargaan kepada Dr Zaleha Abdul Aziz yang telah membekalkan sampel ekstrak akar transgenik *Centella asiatica*.

Tidak lupa saya ingin menyampaikan rasa terutang budi kepada En Chong Tong Seng yang telah meluangkan masa dan memberikan tunjuk ajar dalam mengendalikan kapilari elektroforesis. Saya percaya tanpa tunjuk ajar daripada En Chong adalah sukar untuk menjalankan penyelidikan ini memandangkan saya tidak mempunyai pengalaman mengendalikan kapilari elektroforesis.

Saya juga ingin kepada mengucapkan terima kasih semua pembantu makmal termasuk Pn Norazima, En Samudi, En Sani, En Rashidi dan En Musbah yang telah memberikan kerjasama sepanjang masa ini.

Akhir sekali, saya ingin mengucapkan terima kasih kepada rakan sekelas terutamanya Nazri dan Hazzar atas dorongan dan bimbingan sepanjang masa ini.



## ABSTRAK

*Centella asiatica* mengandungi triterpenoid, terutamanya asid asiatik yang menunjukkan potensi dalam menyembuhkan pelbagai jenis penyakit. Oleh yang demikian, elisitor seperti ditambah elisitor seperti kitosan, ekstrak yis, ekstrak miselia kulat dan turasan media kultur kulat digunakan untuk mengaruhkan biosintesis asid asiatik. Dalam kajian ini, asid asiatik daripada ekstrak akar transgenik dirawat elisitor dianalisa dengan menggunakan kapilari elektroforesis dalam keadaan seperti berikut: 200mM larutan penimbale borate (pH 8.3) pada suhu 25°C dan voltan 9 kV, tiub kapilari terlakur silika dengan panjang 30 cm (20 cm kepada pengesan) dan diameter dalaman 50µm, sistem penyuntik pada tekanan 0.5 psi/10s, dan alat pengesan UV pada jarak gelombang 230 nm. Keputusan kajian menunjukkan ekstrak yis dan ekstrak miselia kulat berupaya mengaruhkan biosintesis asid asiatik. Sebaliknya, kitosan dan turasan media kultur kulat tidak berupaya mengaruhkan biosintesis asid asiatik. Keputusan kajian mendapati pH, voltan dan surfaktan berupaya mempengaruhi resolusi dan masa migrasi pemisahan. Keputusan kajian membuktikan kaedah pemisahan CE mempunyai keberkesanan yang tinggi berbanding dengan HPLC.



*Analyse of asiatic acid from extracts of transgenic hairy roots of Centella asiatica (L.)  
Urban (Pegaga)*

**ABSTRACT**

*Centella asiatica contain triterpenoid, especially asiatic acid which have potential to treat various diseases. Therefore, elicitor such as chitosan, yeast extract, mycelia extract and fungal culture filtrate use to enhance biosynthesis of asiatic acid. In this study, asiatic acid from extract of transgenic hairy roots of Centella asiatica was analyzed by capillary electrophoresis (CE) under condition: 200mM borate buffer (pH 8.3) at 25°C temperature and 9 kV applied voltage, fused-silica capillary tube with 30 cm long (20 cm to detector) tiub and 50µm inner diameter, injection system at pressure 0.5 psi/10s, and detection system at detection wavelength 230 nm. The data show that yeast extract and mycelia extract able to enhance biosynthesis of asiatic acid. In contrast, chitosan and fungal culture filtrate unable to biosynthesis of asiatic acid. The result found that pH, voltage dan surfactant able to effect resolution and migration time of separation. The result show that CE technique have high efficiency compare to HPLC.*



## KANDUNGAN

**Muka surat**

PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI RAJAH	ix
SENARAI GAMBARAJAH	xi
SENARAI SIMBOL	xii
SENARAI SINGKATAN	xiii
<b>BAB 1 PENGENALAN</b>	
1.1 Pendahuluan	1
1.2 Pemasalahan	2
1.3 Objektif kajian	4
<b>BAB 2 KAJIAN LITERATUR</b>	
2.1 <i>Centella asiatica</i>	5
2.1.1 Kegunaan	7
2.2 Kajian Sainifik <i>Centella asiatica</i>	9
2.3 Kapilari elektroforesis	
2.3.1 Konsep	13
a Aliran Elektroforetik (EPM)	14
b Aliran Elektroosmotik (EOF)	14
c Mekanisme Pemisahan	16
2.3.2 Peralatan	18
2.3.3 Kegunaan	19
2.4 Kelebihan Kapilari elektroforesis	20





<b>BAB 3 BAHAN DAN KAEDAH</b>	
3.1 Penyediaan Larutan Stok	23
3.2 Penyediaan Larutan Penimbal	24
3.3 Penyediaan Larutan Natrium Hidrosida	25
3.4 Penyediaan Larutan Piawai	25
3.5 Penyediaan Sampel	26
3.6 Penyediaan Kapilari	27
3.7 Analisa Sampel	
3.7.1 Menganalisa kandungan asid asiatik	28
3.7.2 Mengkaji kesan pH, voltan dan kepekatan surfaktan	28
3.8 Analisa Data	29
3.9 Pengesahan Kaedah	29
3.10 Perbandingan HPLC dan CE	30
<b>BAB 4 KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN</b>	
4.1 Pengesahan Kaedah	31
4.2 Data analisis	32
4.2.1 Analisis kualitatif	33
4.2.2. Analisis kuantitatif	37
4.3 Kesan pH, voltage dan surfaktan ke atas pemisahan	41
4.3.1 Kesan pH larutan penimbal	41
4.3.2 Kesan voltage	44
4.3.3 Kesan surfaktan	47
4.5 Perbandingan CE dengan HPLC	52
<b>BAB 5 KESIMPULAN</b>	55
<b>RUJUKAN</b>	56
<b>LAMPIRAN</b>	66



## SENARAI RAJAH

### Muka surat

<b>Rajah 2.1:</b> Struktur kimia asiatikosida, madekasosida dan asid asiatik	10
<b>Rajah 2.2:</b> Laluan isoprenoid.	11
<b>Rajah 2.3:</b> Perubahan pH elektrolit mempengaruhi EOF	15
<b>Rajah 2.4:</b> Dwilapisan elektrik	16
<b>Rajah 2.5:</b> Aliran elektroosmotik (EOF) dan aliran elektroforetik (EPM)	17
<b>Rajah 2.6:</b> Pergerakan kations, neutral dan anion	17
<b>Rajah 2.7:</b> Skema kapilari elektroforesis	18
<b>Rajah 2.8:</b> Profil aliran cecair (a) di bawah tekanan hidrostatik dan (b) di bawah tekanan hidrodinamik	21
<b>Rajah 3.1:</b> Skema garisan tentukuran	30
<b>Rajah 4.1:</b> Lengkuk kalibrasi piawai asid asiatik	32
<b>Rajah 4.2:</b> Elektroferogram CE piawai asid asiatik	33
<b>Rajah 4.3:</b> Elektroferogram CE asid asiatik daripada ekstrak akar transgenik <i>Centella asiatica</i> tanpa rawatan elisitor	34
<b>Rajah 4.4:</b> Elektroferogram CE asid asiatik daripada ekstrak akar transgenik <i>Centella asiatica</i> dengan rawatan elisitor	35
<b>Rajah 4.5:</b> Elektroferogram CE asid asiatik daripada ekstrak akar transgenik <i>Centella asiatica</i> dengan rawatan elisitor	36
<b>Rajah 4.6:</b> Kandungan asid asiatik daripada ekstrak akar transgenik <i>Centella asiatica</i> tanpa eleisitor	37
<b>Rajah 4.7:</b> Kandungan asid asiatik daripada ekstrak akar transgenik <i>Centella asiatica</i> dengan rawatan elisitor pada awal inokulasi akar transgenik	38
<b>Rajah 4.8:</b> Kandungan asid asiatik daripada ekstrak akar transgenik <i>Centella asiatica</i> dengan rawatan elisitor pada fasa pegun akar transgenik	39
<b>Rajah 4.9:</b> Elektroferogram CE ekstrak daripada akar transgenik <i>Centella asiatica</i>	43
<b>Rajah 4.10:</b> Elektroferogram CE ekstrak daripada akar transgenik <i>Centella asiatica</i>	45



<b>Rajah 4.11: Elektroferogram CE asiatikosida dan madikasosida</b>	<b>49</b>
<b>Rajah 4.12: Elektroferogram CE ekstrak daripada akar transgenik <i>Centella asiatica</i></b>	<b>51</b>
<b>Rajah 4.13: Kromatogram HPLC asid asiatik</b>	<b>52</b>
<b>Rajah 4.14: Elektroferogram CE asid asiatik</b>	<b>53</b>



**SENARAI GAMBARAJAH****Muka surat**

<b>Foto 2.1:</b> Morfologi <i>Centella asiatica</i>	6
<b>Foto 3.1:</b> Kapilari elektroforesis	27



**SENARAI SIMBOL**

<b>cm</b>	<b>sentimeter</b>
<b>kV</b>	<b>kilo volt</b>
<b>mM</b>	<b>mili molar</b>
<b>mL</b>	<b>milimeter</b>
<b>nm</b>	<b>nanometer</b>
<b><math>\mu\text{m}</math></b>	<b>mikrometer</b>
<b><math>q</math></b>	<b>cas ion</b>
<b><math>r</math></b>	<b>diameter ion</b>
<b>s</b>	<b>saat</b>
<b><math>V_{ep}</math></b>	<b>aliran elektroforetik</b>
<b><math>V_{eo}</math></b>	<b>aliran elektroosmotik</b>
<b>%</b>	<b>peratus</b>
<b><math>^{\circ}\text{C}</math></b>	<b>darjah celsius</b>
<b><math>\epsilon</math></b>	<b>pekali dielektrik</b>
<b><math>\eta</math></b>	<b>kelikatan</b>
<b><math>\zeta</math></b>	<b>keupayaan zeta</b>

**SENARAI SINGKATAN**

<b>CE</b>	<b>Capillary electrophoresis</b>
<b>CZE</b>	<b>Capillary zone electrophoresis</b>
<b>EMP</b>	<b>aliran elektroforetik</b>
<b>EOF</b>	<b>aliran elektroosmotik</b>
<b>GC</b>	<b>Gas Chromatography</b>
<b>HPLC</b>	<b>High performance liquid chromatography</b>
<b>rpm</b>	<b>revolusi per minit</b>
<b>SDS</b>	<b>natrium dodekil sulfat</b>
<b>WHO</b>	<b>Pertubuhan Kesihatan Sedunia</b>



**SENARAI SINGKATAN**

<b>CE</b>	<b>Capillary electrophoresis</b>
<b>CZE</b>	<b>Capillary zone electrophoresis</b>
<b>EMP</b>	<b>aliran elektroforetik</b>
<b>EOF</b>	<b>aliran elektroosmotik</b>
<b>GC</b>	<b>Gas Chromatography</b>
<b>HPLC</b>	<b>High performance liquid chromatography</b>
<b>rpm</b>	<b>revolusi per minit</b>
<b>SDS</b>	<b>natrium dodekil sulfat</b>
<b>WHO</b>	<b>Pertubuhan Kesihatan Sedunia</b>



## **BAB 1**

### **PENGENALAN**

#### **1.1 Pendahuluan**

Tumbuh-tumbuhan memainkan peranan penting dalam kehidupan manusia. Selain menghasilkan pelbagai bentuk bahan asas seperti makanan, tumbuh-tumbuhan juga menawarkan pelbagai jenis hasil semula jadi. Menurut statistik, tumbuh-tumbuhan menghasilkan lebih daripada 100, 000 metabolit sekunder (Zhang *et al.*, 2004).

Metabolit sekunder merupakan sebatian organik yang menunjukkan bioaktiviti dan berupaya memberikan tindakan fisiologi tertentu kepada kesihatan manusia (Bérdy, 2005). Oleh itu, metabolit sekunder seperti alkaloid, flavanoid dan terpenoid mempunyai potensi untuk dikembangkan menjadi komponen dalam ubatan dan model dalam mensintesis produk lain (Mukarlina *et al.*, 2006; Ikram Mohd Said, 1995). Menurut Mariam dan Christopher (1992), metabolit sekunder telah digunakan secara intensif dalam industri farmaseutikal untuk menghasilkan lebih daripada 40% ubatan.





Hal ini secara tidak langsung menarik perhatian ramai penyelidik terutamanya ahli kimia organik untuk menjalankan kajian ke atas tumbuhan herba dalam proses penemuan bioaktif metabolit sekunder. Sejak tahun 1950an, kajian ke atas tumbuhan herba dilaksanakan oleh institusi kerajaan dan institusi pendidikan tinggi seperti Taman Sabah, Muzim Sabah, Institusi Penyelidikan Perhutanan, Institusi Pembangunan Sabah, Universiti Malaya, Universiti Sains Malaysia, Universiti kebangsaan Malaysia, Universiti Putra Malaysia dan Universiti Malaysia Sabah (Maldah, 2000).

Kajian yang berterusan ke atas tumbuhan herba telah menghasilkan penemuan pelbagai jenis bioaktif metabolit sekunder (Ikram Mohd Said, 1995). Menjelang akhir tahun 2002, lebih daripada 22, 000 bioaktif metabolit sekunder telah diterbitkan dalam kajian literatur saintifik (Bérdy, 2004). Sebagai contoh, kajian ke atas *Centella asiatica* telah menghasilkan penemuan sebatian triterpenoid terutamanya asiatikosida, madikasosida dan asid asiatik yang aktif secara farmaseutikal (Tiwari *et al.*, 2000).

## 1.2 Pemasalahan

Analisa metabolit sekunder membawa pelbagai cabaran dalam bidang kimia analisis disebabkan metabolit sekunder mempunyai struktur kimia dan aktiviti biologi yang berbeza daripada satu spesis kepada spesis lain (Goossens *et al.*, 2002). Sehubungan itu, analisa metabolit sekunder memerlukan teknik pemisahan yang berupaya menghasilkan metabolit sekunder yang tulen agar dapat dikembangkan menjadi komponen dalam ubatan dan model untuk mensintesis produk lain.



Sejak kebelakangan ini, kromatografi cecair berprestasi tinggi (HPLC) dan kromatografi gas (GC) telah digunakan untuk menganalisa pelbagai jenis metabolit sekunder (Suntornsuk, 2002). Walaupun mampu menghasilkan keputusan yang jitu, HPLC dan GC mempunyai beberapa kelemahan, antaranya ialah melibatkan langkah pemerbitan sampel yang rumit (Bailon Pérez *et al.*, 2006; He *et al.*, 1999). Hal ini secara tidak langsung akan melibatkan penggunaan sampel analisis yang banyak dan masa analisis yang panjang (Chiu *et al.*, 2004).

Oleh yang demikian, kapilari elektroforosis (CE) diperkenalkan dan digunakan sebagai pelengkap kepada HPLC dan GC dalam menganalisa metabolit sekunder (Wang, 2007). Hal ini merujuk kepada kebolehan CE dalam menangani masalah dalam menganalisa metabolit sekunder (Suntornsuk, 2002). Menurut Warren dan Adams (2000), CE berupaya memisah beratus-ratus sebatian kimia serentak dengan efisensi dan resolusi yang tinggi serta menggunakan sampel dan masa analisis yang sedikit.



### 1.3 Objektif Kajian

Dalam kajian ini, tiga objektif diketengahkan, iaitu:

- a) Menganalisa asid asiatik daripada ekstrak akar transgenik *Centella asiatica* dengan menggunakan CE
- b) Mengkaji kesan elisitor dalam biosintesis asid asiatik daripada akar transgenik *Centella asiatica*
- c) Mengkaji kesan pH, voltage dan surfaktan dalam menganalisa metabolit sekunder daripada ekstrak akar transgenik *Centella asiatica*
- d) Membandingkan keberkesanan CE dan HPLC dalam menganalisa asid asiatik daripada ekstrak akar transgenik *Centella asiatica*



## BAB 2

### KAJIAN LITERATUR

#### 2.1 *Centella asiatica*

*Centella asiatica* merupakan herba tempatan daripada famili Apiaceae (Lampiran A) (Nath dan Buragohain, 2005). Menurut Noraida Arifin (2005), *Centella asiatica* diambil sebagai ulam untuk meningkatkan tahap kesihatan dan menyembuhkan pelbagai jenis penyakit. Hal ini disebabkan nilai nutrisi (Lampiran B) dan ubatan yang tinggi (Ismail Saidin, 2000).

*Centella asiatica* biasanya dikenali sebagai pegaga (Malaysia), pennywort (Inggeris), antanan (Thailand), brahmi (India) dan gotu kola (Sri Lanka) berdasarkan negara penyebaran (Somchit *et al.*, 2004). Menurut Samy (2005), *Centella asiatica* dipercayai berasal dari India, kemudiannya disebarkan ke negara-negara ASEAN.

Di Malaysia, *Centella asiatica* selalunya ditemui tumbuh liar, terutama di kawasan lembap dan terlindung seperti padang rumput, kebun sayur dan sawah padi. Walaubagaimanapun, ia juga ditanam sebagai tanaman sayur. *Centella asiatica* membiak



melalui pecahan anak dengan menerbitkan anak pokok baru pada cabang (Noraida Arifin, 2005).

*Centella asiatica* lazimnya mempunyai ciri morfologi seperti yang ditunjukkan dalam gambarajah 2.1. *Centella asiatica* mempunyai batang berwarna hijau kemerahan yang merayap dan melilit antara satu sama lain. *Centella asiatica* mempunyai daun berwarna hijau tua yang tumbuh secara tunngal daripada petiol. *Centella asiatica* mempunyai bunga berwarna putih atau merah jambu yang muncul dalam jambak kecil dengan 3–4 kuntum kelopak dan tumbuh daripada batang berdekatan dengan permukaan bumi. *Centella asiatica* mempunyai akar rizom yang menjalar lurus ke bawah. Rizomnya berwarna kekuningan dan diselaputi rerambut (Samy *et al.*, 2005; Ismail Saidin, 2000).



**Gambarajah 2.1:** Morfologi *Centella asiatica*

Berdasarkan ciri morfologi, *Centella Asiatica* dikelaskan kepada tiga sub-species, iaitu *Centella asiatica* salad, *Centella asiatica* kerinting atau *Centella asiatica* kerang dan *Centella asiatica* biasa (Noraida Arifin, 2005; Samy *et al.*, 2005; Jaganath dan Ng, 2000).

### 2.1.1 Kegunaan

Walaupun ubat-ubatan moden ditemu, namun penggunaan *Centella asiatica* sebagai perubatan traditional tidak lapuk di telan zaman (Nath dan Buragohain, 2005). Mengikut statistik, permintaan *Centella asiatica* menjejak 12, 700 ton bersamaan RM.1.5 billion setahun (Ahmad, 1993).

*Centella asiatica* diamalkan sejak perubatan Ayurveda di India dan perubatan Shennong di China baik secara segar mahupun dalam bentuk ekstrak (Sharma, 1992; Jaganath dan Ng, 2000; Samy *et al.*, 2005).

Di kalangan masyarakat India, *Centella asiatica* digunakan untuk merawat luka dan menyembuhkan penyakit kulit seperti kusta, kudis dan ulser. Ia turut digunakan untuk mengubati penyakit seperti asma, bronkitis, dropsi, leprosi, uretritis, gastrik, ginjal, untut (Kakkar, 1988). *Centella asiatica* dipercayai dapat menurunkan tekanan darah dan membersihkan darah. Disamping itu, *Centella asiatica* digunakan sebagai penawar racun dan penghalang alergi.

Di kalangan masyarakat Cina, *Centella asiatica* digunakan merawat hepatitis, campak, selsema, muntah, sakit kepala, dan sengal belakang. *Centella asiatica* turut digunakan untuk menurun kepanasan badan (Bala dan Ng, 2000).



Selain daripada penggunaan secara tradisi, *Centella asiatica* juga menghasilkan pelbagai ramuan ubatan untuk digunakan dalam perubatan moden. Kajian saintifik menunjukkan bahawa *Centella asiatica* dapat memudahkan penyembuhan luka (.Maquart *et al.*, 1999). Menurut Maquart *et al.*(1999), asid asiatik membantu menyembuhkan luka dengan menghasilkan prolifesi fibroblast, dan seterusnya merangsangkan penghasilan kolagen dan pengumpulan matriks ekstrasel dalam tisu luka. Sementara asiatikosida membantu menyihatkan kulit dengan meningkatkan kandungan vitamin C, E dan kolagen serta mempercepatkan pembentukan protein dan lipid. Kajian *in vivo* menunjukkan bahawa pengambilan 0.2% larutan asiatikosida membantu meningkatkan kandungan kolagen dan seterusnya mempercepatkan pertumbuhan epitelium di permukaan luka tikus belanda (Shukla *et al.*, 1999).

*Centella asiatica* dipercayai dapat membantu melancarkan pengaliran darah ke otak dengan menguatkan serta mencegah kapilari dan salur darah daripada rekah dan bocor. Kajian menunjukkan asiatikosida dan madikasosida daripada *Centella asiatica* memberi kesan positif terhadap sistem pengaliran darah terutamanya dalam merawat kejang kaki, bengkak kaki dan kebas kaki (Noraida Arifin, 2005).

Selain itu, *Centella asiatica* didapati mampu membantu mengurangkan dan menghilangkan tekanan dan resahan di samping menambahkan kekuatan mental yang disebabkan oleh tekanan (Noraida Arifin, 2005). Oleh itu, ia selalunya disamakan dengan Gingko Biloba.



Pertubuhan Kesihatan Sedunia (WHO) menyatakan *Centella asiatica* berupaya meningkatkan kecerdasan fizikal dan keupayaan mental kanak-kanak (Noraida Arifin, 2005). Kajian *in vivo* menunjukkan bahawa pengambilan ekstrak *Centella asiatica* pada peringkat postnatum memberi kesan terhadap morfologi neuron pada tikus dan seterusnya meningkatkan kekuatan fizikal dan mental (Rao *et al.*, 2005).

Kajian saintifik mendapati *Centella asiatica* berupaya bertindak sebagai antiinflamasi dengan merencatkan sintesis nitrogen oksida dan seterusnya mengurangkan perembesan sintase nitrik oksida. (Guo *et al.* 2004, Jayatilake dan MacLeod, 1987; Ramaswamy *et al.*, 1970). *Centella asiatica* juga berupaya bertindak sebagai anti bakteria dengan melarutkan selaput wax pada bakteria leprosi serta membenarkan sistem imun bertindak memusnahkan bakteria tersebut (Jayatilake dan MacLeod, 1987; Ramaswamy *et al.*, 1970).

## **2.2 Kajian Saintifik *Centella asiatica***

Sejak kebelakang ini, *Centella asiatica* diiktiraf oleh Pertubuhan Kesihatan Sedunia (WHO) sebagai salah satu spesis tumbuhan yang mempunyai potensi untuk menghasilkan sebatian bioaktif untuk tujuan perubatan. Hal ini secara tidak langsung menarik perhatian ramai penyelidik dalam menganalisa teriterpenoid daripada *Centella asiatica*.





## Rujukan

- Abe, I., Rohmer, M., Prestwich, G. D. 1993. Enzymatic cyclization of squalene and oxidosqualene to sterols and triterpenes. *Chemistry Reviews* **93**, 2189–2206.
- Ahmad, R. 1993. Medicinal Plants Used In ISM - Their Procurement, Cultivation, Regeneration and Import/Export Aspects: A Review. In: Govil, J. N., Singh, V. K., Hashmi, S. (Eds) *Medicinal Plants: New Vistas of Research*. Today and Tomorrow printers and publishers, New Delhi, page 221–258.
- Altria, K. D. 1999. Overview of capillary electrophoresis and capillary Electrochromatography. *Journal of Chromatography A* **1**.
- Aziz, Z. A., Davey, M.R., Power, J.B., Anthony, P., Smith, R. M., Lowe, K. C. 2007. Production of asiaticoside and madecassoside in *Centella asiatica* *in vitro* and *in vivo*. *Biologia Plantarum* **51** (1), 34-42.
- Boca, M. B., Pretorius, E., Kgaje, C., Apostolides, Z. 2007. Assessment of MEKC suitability for residue drug monitoring on pharmaceutical manufacturing equipment. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.
- Bailon Pérez, M. I., Cuadros Rodriguez, L., Cruces-Blanco, C. 2007. Analysis of different  $\beta$ -lactams antibiotics in pharmaceutical preparation using micellar electrokinetic capillary chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **43** (2), 746-752.
- Bala, J., Ng, I. T. 2000. *Centella asiatica*. *Herbs in Green. Pharmacy of Malaysia*. MARDI, Selangor.
- Beckman, 1994. *Introduction to Capillary Electrophoresis*. Volume 1. Beckman Instruments Inc., California.
- Bérdy, J. 2005. Bioactive microbial metabolites. *Journal of Antibiotic* **58**(1), 1–26.



- Bias, H. P., Govindaswamy, S., Ravishankar, G. A. 2000. Enhancement of growth and coumarin production in hairy root culture of Witloof Chicory (*Cichorium intybus* L.cv. Lucknow local) under influence of fungal elicitors. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **90**(6), 648-653.
- Bhagwath, S. G., Hjortso, M. A. 2000. Statistical analysis of elicitation strategies for thiarubrine A production in hairy root cultures of *Ambrosia artemisiifolia*. *Journal of Biotechnology* **80**, 159-167.
- Chang, H. T., Yeung, E.,S. 1999. Voltage programming in capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography A* **632**(1-2), 149-155
- Chen, Z., Zhang, J. X., Chen, G. 2008. Simultaneous determination of flavones and phenolic acids in the leaves of *Ricinus communis* Linn. by capillary electrophoresis with amperometric detection. *Journal of Chromatography B* **863**, 101-106.
- Chiu, Y. C., Chou, S. H., Liu, J. T., Lin, C. H. 2004. The bioactivity of 2, 5-Dimethoxy- 4-Ethylthiophenethylamine (2C-T-2) and its detection in rat urine by capillary electrophoresis combined with an on-line sample concentration technique. *Journal of Chromatography B* **881** (2), 127-133.
- Clohs, L., McErlane, K.M. 2003. Comparison between capillary electrophoresis and high-performance liquid chromatography for the stereoselective analysis of carvedilol in serum. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **31**(3), 407-412.
- Dialffer, T., Herb, R., Herrmann. H., Kobold, U. 1990. Capillary Electrophoresis. Basic Considerations for Industrial Applications. *Journal of Chromatography* **30** (11-12), 675-685.



- Frach, K., G. Blaschke, G. 1998. Separation of ergot alkaloids and their epimers and determination in sclerotia by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A* **808**, 247–252.
- Goossens, A., Hakkinen, S.T., Laakso, I., Seppanen-Laakso, T., Biondi, S., Sutter, V. D., Lammertyn, F., Nuutila, A. M., Soderlund, H., Zabeau, M., Inze, D., dan Oksman-Caldentey, K. M. 2002. A Functional Genomics Approach toward the Understanding of Secondary Metabolism in Plant Cell. *Plant Biology* **100**(14), 8595-8600.
- Gu, X. L., Chu, Q. Y., O'Dwyer, M., Zeece, M. 2000. Analysis of resveratrol in wine by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A* **881**(1-2), 471-481.
- Guo, J. S., Cheng, C. L., Koo, M. W. 2004. Inhibitory effects of *Centella asiatica* water extract and asiaticoside on inducible nitric oxide synthase during gastric ulcer healing in rats. *Plantation Medicine* **70** (12), 1150–1154.
- Hayer, M. A., Kheterpal, I., Ewing, A. G. 1993. Effects buffer pH on electroosmotic flow control by an applied radial voltage for capillary zone electrophoresis. *Analytical Chemistry* **65**, 27-31.
- He, T., Quinn, D., Fu, E., Wang, Y. K. 1999. Analysis of diagnostic metabolites by capillary electrophoresis–mass spectrometry. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Application* **727** (1-2), 43-52.
- Heinig, K., Vogt, C., Werner, G. 1996. Separation of ionic and neutral surfactants by capillary electrophoresis and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* **745**, 281-292
- Hsieh, M. M., Chang, H. T. 1998. Dynamic control for the separation of organic acids in capillary Electrophoresis. *Journal of Chromatography A* **793**, 145–152.



- Ikram Mohd Said. 1995. *Sebatian Semulajadi daripada Tumbuhan Potensi, Prospek dan Kenyataan*.
- Inamdar, P. K., Yeole, R. D., Ghogare, A. B., Souza, de. N. J. 1996. Determination of biological active constituents in *Centella asiatica*. *Journal of Chromatography A* **742**, 127-130.
- Ismail Saidin. 2000. *Sayuran Tradisional Ulam dan Penyedap Rasa*. Universiti Kebangsaan Malaysia, Bangi, page 146.
- Jaganath, I. B., Ng, L. T. 2000. *Herbs: The Green Pharmacy of Malaysia*. Malaysian Agricultural Research and Development Institute, Malaysia.
- Jandik, P., Bonn, G. 1993. *Fundamentals of capillary electrophoresis*; VCH.
- Jayatilake, G. S., MacLeod, A. J. 1987. Volatile constituents of *Centella asiatica*. In: M. Martens, G.A. Dalen and H. Russwurm Jr.(Eds) *Flavour science and technology*, Wiley.
- Kakkar, K. K. 1988. Mandukaparni – medicinal uses and therapeutic efficacy. *Indian Drugs* **26**, 92–97.
- Kannamkumarath, S.S. 2004. *Trace elemental speciation using chromatography/capillary electrophoresis coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry for food, pharmaceutical and environmental analysis*. University of Cincinnati. Cincinnati.
- Kennedy, R. T., German, I., E. Thompson, J. F., R. Witowski, S. R. 1996. Fast analytical-scale separations by capillary electrophoresis and liquid chromatography. *Chemical Review* **99** (10), 3081 -3132.



- Kim, O. T., Kim, M. Y., Hong, M. H., Ahn, J. C., Hwang, B. 2004. Stimulation of asiaticoside accumulation in the whole plant cultures of *Centella asiatica* (L.) Urban by elicitors. *Plant Cell Reports* **23**, 339–344.
- Kuhn, R., Hoffstetter-Kuhn, S., 1993. *Capillary Electrophoresis: Principle and Practice*. Springer Laboratory, German, page 243-250.
- Lenny. S. 2006. *Senyawa Terpenoida dan Steroida*. Universita Sumatera Utara, Medan.
- Li, S. F. Y. 1993. *Capillary Electrophoresis Principle, Practice, and Applications*. Elsevier Science Publisher, Amsterdam.
- Lin, M., Wu, N. 1999. Comparison between micellar electrokinetic chromatography and HPLC for the determination of Betamethasone Dipropionate, Clotrimazole and their related substances. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical* **19**(6), 945-954.
- Maeso, M. Castillo, C.D., Cornejo, L., García-Acicollar, M., Alguacil, L.F., Barbas, C. 2006. Capillary electrophoresis for caffeine and pyroglutamate determination in coffees Study of the in vivo effect on learning and locomotor activity in mice. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical* **41**(4), 1095-1100.
- Maldah G. J. 2000. *Penyaringan Fitokimia Dan Farmakologi Ke Atas Tumbuh-tumbuhan Berubat Yang Dijual Di Tamu Sabah*. Universiti Malaysia Sabah, Kota Kinabalu.
- Maquart, F. X., Chastang, F., Simeon, A., Birembaut, P., Gillery, P., Wegrowski, Y. 1999. Triterpenes from *Centella asiatica* stimulate extracellular matrix accumulation in rat experimental wounds. *European Journal of Dermatological* **9**, 289–296.



- Mariam, P., and Christopher, R. 1992. *The Natural Pharmacy*. Dorling Kindesey Ltd., London.
- Meyer, B. X. 2001. How to increase precision in capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A* 907 (1-2), 21-37.
- Mohd Marsin Sanagi, 1998. *Teknik Pemisahan Dalam Analisis Kimia*. Universiti Teknologi Malaysia, Skidai, 227-234.
- Murkalina, Esyanti, R. R., Siregar, A. H. 2006. Pengaruh pemberian elisitor homogenat jamur *pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp terhadap kandungan ajmalisin dalam kultur akar *Catharantus roseus* (L) G. Don. *Jurnal of Matematik and Sains* 11 (2).
- Musa Ahmad. 1993. Pengenalan Statistik dalam Kimia analisis. Dewan Bahasa dan Pustaka, Selangor, page 46-68.
- Namdeo, A. G. 2007. Plant Cell Elicitation for Production of Secondary Metabolites: A Review. *Pharmacognosy Reviews* 1(1), 69-79.
- Nath, S., Buragohain, A. K. 2005. Establishment of callus and cell suspension cultures of *Centella asiatica*. *Biologia Plantarum* 49 (3), 411-413.
- Nemutlu, E., Kir, S. 2003. Method development and validation for the analysis of meloxicam in tablets by CZE. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 31, 393- 400.
- Negro, A., Rabanal, B. 2005. Aromatic Diamidines: Comparison of Electrophoresis and HPLC for Analysis. *Encyclopedia of Chromatography*.
- Noraida Arifin, 2005. *Penyembuhan Semula Jadi Dengan Herba*. PTS Millennia Sdn Bhd, Pahang, page 177-179.



- Rajh, S. J., Kreft, S., Vreera, F. 2003. Comparison of CE and HPLC methods for determining Lovastatin and its oxidation products after exposure to an oxidative atmosphere. *Croatica Chemica Acta* 76 (3), 263–268.
- Ramaswamy, A. S., Periyasamy, S.M., Basu, N. 1970. Pharmacological studies on *Centella asiatica* Linn. (*Brahma manduki*) (n.o. *Umbelliferae*). *Journal of Research and Industrial Medicine* 4, 160–175.
- Rao, S. B., Chetana, M., Uma Devi, P. 2005. *Centella asiatica* treatment during postnatal period enhances learning and memory in mice. *Physiology Behavior* 86 (4), 449-459.
- Rao, S. R., Ravishankar, G. A. 2002. Plant cell cultures: Chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnology Advances* 20, 101-153.
- Robert T. Kennedy, R. T., German, I., Thompson, J. E., Witowski, S. 1999. Fast analytical-scale separations by capillary electrophoresis and liquid chromatography. *Chemical Review* 99 (10), 3081 -3132
- Pitta-Alvarez, S. I., Spollansky, T. C., Giulietti, A. M. 2000. The influence of different biotic and abiotic elicitors on the production and profile of tropane alkaloids in hairy root cultures of *Brugmansia candida*. *Enzyme and Microbial Technology* 26, 252-258.
- Phuong, N. T., Lee, K. A., Jeong, S. J., Fu, C. X., Choi, J. K., Kim, Y. H., Kang, J. S. 2006. Capillary electrophoretic method for the determination of diterpenoid isomers in *Acanthopanax* species. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 40, 56–61.



- Prado, M. S. A., Steppe, M., Tavares, M. F. M., Kedor-Hackmann, E. R. M., Santoro, M. I. R. M. 2005. Comparison of capillary electrophoresis and reversed-phase liquid chromatography methodologies for determination of diazepam in pharmaceutical tablets. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 37(2), 273-279.
- Qi, L. 2003. *I. Flow Injection Capillary Electrophoresis Using On-Line Enzymatic and Dye Interaction Reactions. II. Mini—Solid Phase Extraction of Pharmaceuticals And Phospholipids In Conjunction With Nano-Electrospray Mass Spectrometry*. Miami University.
- Quirino, J. P., Terabe, S. 1998. On-line concentration of neutral analytes for micellar electrokinetic chromatography. 5. Field-enhanced sample injection with reverse migrating micelles. *Analytical Chemistry* 70 (9), 1893 -1901.
- Samy , J., Sugumaran, M., Lee., K. L. W. 2005. *Herbs of Malaysia: An Introduction to the Medicinal, Culinary, aromatic & Cosmetic Use of Herbs*. Federal Publication Sdn. Bhd., Selangor.
- Savitha, B. C., Thimmaraju, R., Bhagyalakshmi, N., Ravishankar, G. A. 2005. Different biotic and abiotic elicitors influence betalain production in hairy root cultures of Beta vulgaris in shake-flask and bioreactor. *Process Biochemistry* 41, 50-60.
- Sharma, P.V., 1992. *Dravyaguna vignana*. 13th Edition. Chaukhamba Vishwa Bharati Academy. 3-5.
- Shukla, A., Rasik, A.M., Dhawan, B.N. 1999. Asiaticoside-induced elevation of antioxidant levels in healing wounds. *Phototherapy Research* 13 (1), 50-54.
- Skocir, E., Prosek, M. 1995. *Capillary Electrophoresis: Fundamentals and Methods*. 1<sup>st</sup> Edition. Kemijski institut, Ljubljana.





- Somchit, M. N., Sulaiman, M. R., Zuraini, A., Samsuddin, L., Somchit, N., Israf, D.A., Moin, S. 2004. Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of *Centella asiatica*. *Indian Journal of Pharmacology* **36**, 377-380.
- Suntornsuk, L. 2002. Capillary electrophoresis of phytochemical substances. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **27**, 679–698.
- Surman, C.M. 2002. *The Use of Capillary Electrophoresis in Proteomics*. Combinatorial Chemistry and Characterization Technologies Lab, Niskayuna
- Tiwari, K. N., Sharma, N. C., Tiwari, V., Singh, B. D. 2000. Micropropagation of *Centella asiatica* (L.), a Valuable Medicinal Herb. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **63**, 179–185.
- Vuorensola, K. 2002. Capillary Electrophoresis and Capillary Electrophoresis-Mass Spectrometry in Catecholamine Studies. University of Helsinki.
- Wang, Z. Z., Yang, J.O., Baeyens, W. R. G. 2008. Recent developments of enantioseparation techniques for adrenergic drugs using liquid chromatography and capillary electrophoresis: A review *Journal of Chromatography B* **862**(1-2), 1-14
- Warren, C.R., Adams, M.A. 2000. Capillary electrophoresis for determine of major amino acid and sugar in foliage: application to nitrogen nutrition of sclerophyllous species. *Journal of Experimental Botany* **51**(347), 1147-1157.
- Weinberger, R. 1993. *Practical Capillary Electrophoresis*. Academic Press, Inc. United State.
- Yan, X. 1996. Tutorial: Capillary Electrophoresis. *The Chemical Educator* **1** (2), 1-14.



- Zhang, W., Franco, C., Curtin, C., and Conn, S. 2004, To Stretch the Boundary of Secondary Metabolite Production in Plant Cell-Based Bioprocessing: Anthocyanin as a Case Study. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* **5**, 264–271.
- Zhang, Y., Chen, J., Ma, X. M., Shi, Y. P. 2007. Simultaneous determination of flavonoids in *Ixeridium gracile* by micellar electrokinetic chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical*.
- Zheng, C. J., Qin, L. P. 2007. Chemical components of *Centella asiatica* and their bioactivities. *Journal of Chinese Integrative Medicine* **5** (3), 348-355.

