

**PENGEKSTRAKAN ANTOSIANIN DAN ENZIM
FENILALANINE AMMONIA LIASE (PAL)
DARI SPESIS ORKID WANGI**

ANNUAR JAIN

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

**PROGRAM BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

2008



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

**PENGEKSTRAKAN ANTOSIANIN DAN ENZIM FENILALANINE
AMMONIA LIASE (PAL) DARI SPESIES ORKID WANGI**

ANNUAR JAIN

**PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

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

**PROGRAM BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

2008



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: PENGEKSTRAKALAN ANTOSIANIN DAN ENZIM FENILALANINEAMMONIA LIASE (PAL) DARI SPESIES ORKID WANGIIJAZAH: SARJANA MUDA SAINS DENGAN KEPUJIANSAYA ANNUAR BIN JAINSESI PENGAJIAN: 05 / 08

(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 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 (/)

PERPUSTAKAWAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

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



(TANDATANGAN PENULIS)



(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: PDS MINI WDAH
PERMAI, PETI SURAT 95,
88450 KOTA KINABALU.

Nama Penyelia

Tarikh: 15/05/08

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).



PENGAKUAN

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

4 April 2008



ANNUAR BIN JAIN
HS2005-3452



DIPERAKUKAN OLEH

Tandatangan


1. PENYELIA

(Dr. Jualang Azlan Gansau)



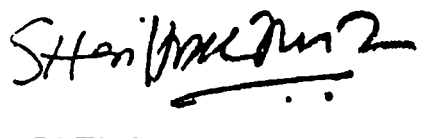
2. PEMERIKSA

(Dr. Wong Nyet Kui)



4. DEKAN

(SUPT/Prof. Madya Dr. Shariff A. Kadir S. Omang)





PENGHARGAAN

Assalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh. Terlebih dahulu saya ingin mengucapkan rasa syukur yang tidak terhingga ke hadrat Ilahi kerana dianugerahkan kekuatan fizikal dan mental untuk saya menyiapkan tesis ini.

Seterusnya saya ingin mengucapkan berbilang-banyak terima kasih kepada pihak Universiti Malaysia Sabah terutama Dr Jualang @ Azlan Abdullah Gansau selaku penasihat saya dalam menjalankan projek ini kerana telah memberi banyak tunjuk ajar sehingga saya mampu menyiapkan tesis ini tanpa sebarang halangan.

Di samping itu, saya juga ingin mengucapkan terima kasih kepada kakak Devina kerana sering memberikan sokongan yang padu dalam usaha saya menyiapkan tesis ini. Ucapan terima kasih ini juga saya tujukan kepada Encik Musbah Bin Abuh selaku pembantu makmal biokimia kerana telah memberikan kerjasama yang kukuh semasa saya menjalankan kerja-kerja makmal. Tidak lupa juga kepada Encik Chong Tong Seng kerana turut membantu saya dalam menyiapkan tesis ini.

Akhir sekali, saya ingin berterima kasih kepada semua rakan-rakan saya yang lain kerana sudi membantu ketika saya mengalami masalah dalam melakukan kerja-kerja makmal.

Sekian, terima kasih


.....

ANNUAR BIN JAIN
HS2005-3452



ABSTRAK

Kajian dijalankan untuk mengkaji tahap kewangian bunga dan kandungan antosianin serta enzim PAL pada bahagian bunga dan daun pada spesies orkid wangi di Sabah. Sebanyak tujuh spesies bunga orkid telah digunakan dalam kajian iaitu *Arundina graminifolia*, *Coelogyne dayanum*, *Coelogyne pandurata*, *Cymbidium rectum*, *Dimorphorchis lowii*, *Dimorphorchis rosii* dan *Vanilla kinabaluensis*. Bunga orkid diuji tahap kewangiannya secara kualitatif pada selang masa tertentu sepanjang waktu siang. Kepekatan antosianin pula ditentukan dengan mengambil bacaan serapan cahaya pada 505nm dengan menggunakan spektrofotometer. Kandungan protein telah ditentukan dengan menggunakan kaedah Bradford, sebelum kadar spesifik aktiviti PAL ditentukan pada serapan 320 nm. HPLC series 200 digunakan bagi mengesan kehadiran jenis antosianin yang terdapat pada orkid pada serapan 360nm menggunakan kolumn Symmetry® Column C18 (5.0µm, 4.6mm × 150mm Column). Hasil kajian mendapati bahawa tahap kewangian bunga orkid adalah berbeza pada masa-masa yang tertentu. Tahap kewangian pada orkid adalah tinggi pada waktu tengahari. Dalam kajian ini juga didapati bahawa kandungan serta kepekatan antosianin adalah tinggi pada bahagian bunga dan rendah pada bahagian daun. Bunga *Arundina graminifolia* mempunyai kepekatan antosianin paling tinggi iaitu 11.34 dan 11.92 ppt pada bunga 1 dan 2. Manakala kepekatan enzim PAL pula adalah tinggi pada bahagian daun dan rendah pada bahagian bunga. *Coelogyne pandurata* mempunyai kepekatan PAL paling tinggi iaitu 1.210 mg/ml. Selain itu, kadar spesifik enzim PAL juga adalah tinggi pada bahagian daun berbanding pada bahagian bunga. *Coelogyne dayanum* mempunyai kadar spesifik aktiviti PAL paling tinggi iaitu 2.6×10^{-2} U/mg. Kehadiran antosianin seperti cianidin, malvidin, petunidin, pelargonidin, delphinidin dan peonidin dapat dikesan hadir pada spesies orkid yang dikaji.



EXTRACTION OF ANTHOCYANIN AND PAL ENZYME FROM FRAGRANCE ORCHIDS

ABSTRACT

Studies were carried out to investigate the fragrance level, anthocyanins content and PAL enzyme activity from flowers and leaves of scented orchids in Sabah. There were seven species that have been used in this research that are *Arundina graminifolia*, *Coelogyne dayanum*, *Coelogyne pandurata*, *Cymbidium rectum*, *Dimorphorchis lowii*, *Dimorphorchis rosii* and *Vanilla kinabaluensis*. Fragrance level was tested using qualitative technique at certain time during day-time. The concentration of anthocyanins was determined at absorbance 505nm by using spectrophotometer. Meanwhile, the protein amount was determined by using Bradford method, before specific activity of PAL enzymes was determined at absorbance 320nm. HPLC series 200 was used to determine the present of anthocyanins in orchids by using Symmetry® Column C18 (5.0µm, 4.6mm × 150mm Column) at absorbance 360nm. Results shows that fragrance level of orchids is different in certain time and the highest level was observed the mid-day. It is also observed that the concentration of anthocyanins is higher in flowers as compared to leaves. *Arundina graminifolia* has the highest anthocyanins concentration which is 11.34 and 11.92 ppt at flower 1 dan 2. Furthermore, PAL concentration is higher in leaves than flowers. *Coelogyne pandurata* has the highest PAL concentration which is 1.210 mg/ml, but the highest specific activity of PAL was observed in *Coelogyne dayanum* (2.6×10^{-2} U/mg). Anthocyanins such as cianidin, malvidin, petunidin, pelargonidin and peonidin were also detected in the tested species.



KANDUNGAN

Muka Surat

PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	ix
SENARAI RAJAH	x
SENARAI FOTO	xi
SENARAI SIMBOL	xii
SENARAI SINGKATAN	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN	4
2.1 Sampel	4
2.1.1 <i>Cymbidium rectum</i>	6
2.1.2 <i>Dimorphorchis rossii fowlie</i>	8
2.1.3 <i>Dimorphorchis lowii</i>	10
2.1.4 <i>Coelogyne pandurata</i>	12
2.1.5 <i>Vanilla kinabaluensis Carr</i>	14
2.1.6 <i>Arundina graminifolia</i>	16
2.1.7 <i>Coelogyne dayanum</i>	19
2.2 Antosianin	21
2.2.1 Struktur kimia antosianin	23
2.2.2 Biosintesis antosianin	24
2.2.3 Kepentingan antosianin	28
2.2.4 Faktor – faktor yang mempengaruhi biosintesis antosianin	30



2.3	Flavanoid	34
2.4	Enzim Fenilalanina Ammonia Liase (PAL)	35
2.4.1	Kepentingan Enzim Fenilalanina Ammonia Liase (PAL)	39
2.4.2	Faktor –faktor yang mempengaruhi enzim Fenilalanina Ammonia Liase	40
2.5	Penglibatan Enzim PAL Dalam Laluan Asid Shikimat	43
BAB 3	BAHAN DAN KAEDAH	45
3.1	Persampelan	45
3.2	Pengekstrakan Antosianin	48
3.3	Pengekstrakan Enzim Fenilalanina Ammonia Liase (PAL)	49
3.4	Penentuan Kepekatan Antosianin	50
3.5	Penentuan Kepekatan Enzim Fenilalanina Ammonia Liase (PAL)	50
3.6	Penentuan Kadar Aktiviti Spesifik Bagi Ezmin Fenilalanina Ammonia Liase (PAL)	52
3.7	Penentuan Kehadiran Antosianin Melalui HPLC	53
BAB 4	KEPUTUSAN	55
4.1	Tahap Kewangian Bunga	55
4.2	Kepekatan Antosianin	56
4.3	Kepekatan Enzim Fenilalanine Ammonia Liase (PAL)	58
4.4	Kadar Spesifik Enzim PAL	61
4.5	Penentuan Kehadiran Antosianin Melalui HPLC	63
BAB 5	PERBINCANGAN	74
BAB 6	KESIMPULAN	86
	RUJUKAN	89
	LAMPIRAN	93



SENARAI JADUAL

No. Jadual		Muka Surat
3.1	Skor tahap kewangian bunga orkid pada masa – masa tertentu	47
3.2	Cara penyediaan BSA dan sampel	51
4.1	Kepekatan antosianin dalam bunga orkid	57
4.2	Kepekatan antosianin dalam daun orkid	58
4.3	Amaun bagi BSA piawai pada serapan cahaya 595nm	59
4.4	Kepekatan enzim PAL pada bunga orkid	60
4.5	kepekatan enzim PAL pada daun orkid	61
4.6	Kadar spesifik aktiviti PAL bagi bunga orkid	62
4.7	Kadar spesifik aktiviti PAL bagi daun orkid	62
4.8	Kehadiran antosianin dalam bunga orkid	72
4.9	Kehadiran antosianin dalam daun orkid	73



SENARAI RAJAH

No. Rajah		Muka Surat
2.1	Struktur kimia antosianin	24
2.2	Penghasilan antosianin dalam laluan asid shikimate	26
2.3	Penghasilan antosianin dalam laluan fenilpropanoid	27
2.4	Struktur asas flavanoid	34
3.1	Teknik persampelan bunga	46
4.1	Tahap kewangian orkid pada masa-masa tertentu	56
4.2	Graf lekuk piawai BSA	60
4.3	Kehadiran antosianin dalam bunga orkid spesies <i>Arundina graminifolia</i>	64
4.4	Kehadiran antosianin dalam bunga orkid spesies <i>Coelogyne pandurata</i>	65
4.5	Kehadiran antosianin dalam bunga orkid spesies <i>Coelogyne dayanum</i>	66
4.6	Kehadiran antosianin dalam bunga orkid spesies <i>Coelogyne dayanum</i>	62
4.7	Kehadiran antosianin dalam daun orkid spesies <i>Arundina graminifolia</i>	68
4.8	Kehadiran antosianin dalam daun orkid spesies <i>Coelogyne dayanum</i>	68
4.9	Kehadiran antosianin dalam daun orkid spesies <i>Cymbidium rectum</i>	69
4.10	Kehadiran antosianin dalam daun orkid spesies <i>Vanilla kinabaluensis</i>	69
4.11	Kehadiran antosianin dalam daun orkid spesies <i>Dimorphorcis lowii</i>	70
4.12	Kehadiran antosianin dalam daun orkid spesies <i>Dimorphorcis rosii</i>	70
4.13	Kehadiran antosianin dalam daun orkid spesies <i>Coelogyne pandurata</i>	71



SENARAI SIMBOL

cm	Sentimeter
mm	Milimeter
m	Meter
M	Molar
mM	Milimolar
ml	Mililiter
g	Gram
nm	Nanometer
rpm	Putaran dalam masa seminit
psi	Pascal
mg/ml	Unit kepekatan
U/mg	Unit kadar spesifik enzim
μl	Mikroliter
μg	Mikrogram
μg/ml	Unit kepekatan
v/v	Isipadu per isipadu
%	Peratus
°C	Darjah celcius
Cr	Masa kadar pertukaran daripada substrat kepada produk
min	Minit
<i>t</i> R	<i>Retention time</i> , masa untuk sesuatu bahan yang dikesan hasil daripada proses pemisahan melalui HPLC
ppt	<i>Part per thousand</i>



SENARAI SINGKATAN

PAL	Fenilalanine Ammonia Liase
AR	<i>Arundina graminifolia</i>
CP	<i>Coelogyne pandurata</i>
CD	<i>Coelogyne dayanum</i>
CR	<i>Cymbidium rectum</i>
VK	<i>Vanilla kinabaluensis</i>
DL	<i>Dimorphorchis lowii</i>
DR	<i>Dimorphorchis rosii</i>
HPLC	High Performance Liquid Chromatography



SENARAI FOTO

No. Foto		Muka Surat
2.1	<i>Cymbidium rectum</i>	7
2.2	<i>Dimorphorchis rossii</i>	9
2.3	<i>Dimorphorchis lowii</i>	11
2.4a	<i>Coelogyne pandurata</i>	13
2.4b	Bunga <i>Coelogyne pandurata</i>	13
2.4c	Struktur bebawang <i>Coelogyne pandurata</i>	14
2.5	<i>Vanilla kinabaluensis</i>	16
2.6a	<i>Arundina graminifolia</i>	18
2.6b	Bunga <i>Arundina graminifolia</i>	18
2.7a	<i>Coelogyne dayanum</i>	20
2.7b	Bunga <i>Coelogyne dayanum</i>	20
2.7c	Struktur bebawang <i>Coelogyne dayanum</i>	21
4.1	Reagen Bradford setelah dimasukkan enzim PAL	59

BAB 1

PENDAHULUAN

Orkid merupakan sejenis tumbuhan yang tergolong dalam keluarga *Orchidaceae*. Lazimnya, orkid tumbuh subur di kawasan tanah tinggi yang mempunyai pesekitaran yang sejuk. Pertumbuhan orkid seringkali dikaitkan dengan kehadiran sejenis kulat yang dikenali sebagai *mycorrhiza* (Rasmussen, 1995). Borneo dikatakan tempat yang amat sesuai bagi pertumbuhan orkid sehinggakan ianya dikenali sebagai “The Orchid Island” oleh para pengkaji tumbuhan orkid (Lamb, 1991)

Keunikan orkid terletak pada struktur morfologinya yang bukan sahaja sesuai sebagai hiasan luaran juga hiasan dalaman. Tambahan pula ada di antara orkid yang terdiri dari spesies yang berbunga harum. Keharuman bunga orkid berlainan daripada bunga-bunga yang lain kerana mempunyai keharuman yang kuat serta boleh di nikmati dalam jangka yang panjang seiring dengan jangka hayat bunga orkid itu sendiri. Sifat wangi yang ada pada bunga orkid adalah disebabkan oleh kehadiran pigmen antosianin.



Antosianin merupakan pigmen yang wujud secara semulajadi pada tumbuhan. Pigmen ini terdapat pada bahagian-bahagian seperti bunga, buah, daun, batang serta akar sekaligus bertanggungjawab terhadap warna-warna biru, ungu, kuning dan oren pada bahagian-bahagian tersebut (Janna *et al.*, 2005). Walaubagaimanapun kehadiran pigmen antosianin pada bunga adalah lebih tinggi berbanding pada bahagian-bahagian lain. Antosianin tergolong dalam kumpulan flavanoid juga fenolik (Longo *et al.*, 2004). Kehadiran antosianin pada tumbuhan dikatakan mempunyai kaitan dengan sejenis enzim yang dikenali sebagai fenilalanina ammonia liase (PAL). Enzim fenilalanina ammonia liase ini juga wujud secara semulajadi pada tumbuhan dan merupakan kunci utama dalam kitaran fenolik (Geetha *et al.*, 2005).

Penghasilan pigmen antosianin oleh enzim fenilalanina ammonia liase (PAL) boleh diterangkan melalui Laluan Asid Shikimat. Dalam laluan ini, enzim fenilalanina ammonia liase (PAL) memangkinkan tindakbalas pertukaran L-fenilalanina kepada asid sinamik (Kim *et al.*, 1996).

Antosianin mempunyai banyak ciri-ciri yang bermanfaat baik pada tumbuhan itu sendiri mahupun pada haiwan khususnya manusia. Antosianin pada tumbuhan bertujuan menarik serangga bagi proses pendebungaan (Janna *et al.*, 2004). Di samping itu, kajian menunjukkan bahawa antosianin juga dikatakan baik untuk kesihatan manusia di mana ia bertindak sebagai agen antioksidan (Tsai *et al.*, 2001). Struktur antosianin yang boleh larut dalam air membolehkannya memasuki sistem pemakanan dalam keadaan akues (Janna *et al.*, 2004).



Sementara itu, kajian ke atas enzim fenilalanina ammonia liase menunjukkan bahawa enzim ini boleh dijadikan penunjuk atau sebagai penanda bagi kehadiran kompaun fenolik (Salisbury & Ross, 1992). Selain itu, enzim fenilalanina ammonia liase juga boleh digunakan sebagai agen bagi merawat penyakit fenilketonurea (PKU) (Kim *et al.*, 1996).

Walaupun bagaimanapun, setakat ini kajian terhadap antosianin dan enzim PAL amat jarang sekali dilakukan pada spesies tumbuhan berbunga yang harum terutamanya orkid manakala kajian terhadap enzim fenilalanina ammonia liase tidak pernah dilakukan ke atas manusia. Oleh itu, berasaskan betapa pentingnya antosianin dan enzim PAL bukan hanya pada tumbuhan malah pada manusia maka kajian yang lebih lanjut perlu dijalankan pada masa akan datang.

Kajian ini bertujuan untuk mengkaji tahap kewangian bunga orkid. Di samping itu, kajian ini dijalankan bagi menentukan kepekatan antosianin dan enzim PAL pada bunga dan daun orkid seterusnya mengenalpasti hubungkait antara antosianin dan enzim PAL. Selain itu, kajian ini juga dijalankan adalah untuk menentukan kadar spesifik aktiviti bagi enzim PAL pada bahagian bunga dan daun daripada tumbuhan orkid. Akhir sekali, kajian ini dijalankan adalah untuk membuktikan kehadiran antosianin pada tumbuhan orkid.

Seterusnya melalui kajian yang dijalankan ini, ianya diharapkan boleh menjadi panduan kepada para pelajar yang lain, juga menjadi titik tolak dalam membuat kajian yang lebih lanjut terhadap antosianin dan enzim fenilalanina ammonia liase (PAL) pada tumbuhan berbunga wangi.



BAB 2

ULASAN PERPUSTAKAAN

2.1 Sampel

Dalam kajian ini, pengestrakan antosianin dan enzim fenilalanine ammonia liase (PAL) adalah daripada tumbuhan orkid dari spesies yang wangi. Sebanyak 7 spesies orkid yang wangi telah dipilih bagi mengkaji tentang kandungan antosianin dan PAL. Semua spesies ini boleh didapati dari Borneo khususnya Sabah.

Setakat ini, kebanyakan kajian yang dijalankan untuk mengkaji tentang antosianin dan enzim fenilalanina ammonia liase yang dilakukan pada tumbuhan adalah ke atas bahagian – bahagian seperti pada buah, biji benih dan daun. Begitu sedikit kajian yang dilakukan bagi mengesan kehadiran dan aktiviti antosianin dan PAL ke atas bahagian bunga pada tumbuhan.

Sementara itu, kajian terhadap kehadiran dan aktiviti antosianin dan enzim PAL pada tumbuhan orkid seperti belum pernah dijalankan oleh mana-mana penyelidik lebih-lebih lagi ke atas spesies orkid yang wangi.



Orkid merupakan tumbuhan yang tergolong dalam keluarga *Orchidaceae* di mana ia dikatakan keluarga yang terbesar dalam spesies tumbuhan berbunga. Setakat ini, terdapat sebanyak 3000-4000 spesies *Orchidaceae* (Lamb, 1991).

Tumbuhan orkid boleh dikelaskan kepada dua kumpulan yang utama iaitu orkid yang hidup secara menumpang dan orkid yang tumbuh pada permukaan tanah pada bumi (Rasmussen, 1995).

Pertumbuhan orkid dikatakan mempunyai hubungkait dengan kehadiran sejenis kulat yang dikenali sebagai *mycorrhiza* (Rasmussen, 1995). *Mycorrhiza* merangsang pertumbuhan orkid supaya ia tumbuh dengan subur. Oleh itu, habitat orkid adalah berdasarkan kepada kehadiran kulat ini. Lazimnya orkid tumbuh dengan subur di kawasan yang mempunyai persekitaran yang sejuk dan lembab. Kawasan tanah tinggi merupakan habitat yang amat sesuai bagi orkid.

Daripada kajian yang telah dilakukan, sebanyak 2500-3000 spesies orkid boleh didapati di Borneo sekaligus menyebabkan Borneo dikenali sebagai 'Pulau Orkid' atau 'Orchid Island' (Lamb, 1991).

2.1.1 *Cymbidium rectum*

a) Habitat

Spesies orkid ini dikatakan berasal dari *Bacckera frutescus* dan di bahagian atas hutan kerangas. Di Borneo, ia selalunya didapati di Kalimantan Timur dan juga Nabawan. Spesies bunga ini juga boleh didapati di Semenanjung Malaysia, Salah satu negeri yang menanam spesies bunga ini ialah Negeri Sembilan (Lamb, 1991).

Pada amnya, spesies ini adalah spesies yang amat jarang sekali didapati terutamanya di Negeri Sabah. Kemungkinan besar ianya dipengaruhi oleh faktor tanah dan ketebalan hutan rimba yang ada di Sabah. Walaubagaimanapun, ia tetap menjadi satu tumbuhan yang ditanam di sekitar kawasan dataran Sook iaitu hutan berhampiran dengan Nabawan (Lamb, 1991).

b) Ciri-ciri

Cymbidium rectum (Foto 2.1) dikatakan mempunyai permukaan atau ruang pseudobulbs yang tidak terlalu kembang dan mempunyai panjang sebanyak 2 hingga 5 cm sahaja. Memang pada dasarnya setiap bunga mempunyai dua sepal iaitu sepal pada bahagian belakang dan sisi bunga (Lamb, 1991).

Mengikut pemerhatian yang telah dibuat, didapati orkid ini mempunyai daun yang sangat keras dan kasar dan bentuk daunnya seolah-olah seperti huruf "V". Panjang daun orkid ini boleh melebihi 100 cm panjang. Berkaitan dengan bunganya pula, didapati ianya memiliki kepanjangan dari sisi sebanyak 3 hingga 4 cm.

2.1.2 Cymbidium rectum

Warna bunga orkid adalah kuning dan krim di bahagian kelopak bunga dan sepalnya. Manakala di bahagian ruang permukaan bibir bunga pula dikelilingi dengan warna kuning muda (Lamb, 1991).



Foto 2.1 *Cymbidium rectum* (diambil dari Pusat Pemuliharaan Orkid Stesen Kolam Air Panas Poring, Ranau)

Di bahagian kolumn ini pula, di mana ianya mempunyai kepanjangan barisan yang pendek iaitu hanya 8 mm sahaja. Selain itu juga, di bahagian kapsul buahnya pula, memiliki kepanjangan 3.5 cm sahaja. Nama orkid ini pada asalnya diperolehi

melalui perkataan Latin *erectum*. Kedudukannya biasanya pada 6 m dari permukaan tanah. Bunganya boleh dilihat dan didapati sekitar bulan September hingga bulan Februari (Lamb, 1991).

2.1.2 *Dimorphorchis rossii Fowlie*

a) Habitat

Spesies orkid ini (Foto 2.2) hidup di sekitar sungai dan hutan tahap rendah. Ianya adalah spesies endemik iaitu ia hanya boleh didapati di Sabah sahaja. Ianya dikatakan tumbuh di sekitar Gunung Kinabalu dan tempat-tempat yang lain di Sabah. Spesies orkid ini dikatakan dalam bahaya atau akan mengalami kepupusan. Ini disebabkan oleh kegiatan penebangan pokok-pokok di kawasan Bukit Hempuen hingga ke Telupid (Lamb, 1991).

b) Ciri-ciri

Spesies orkid ini boleh dijadikan sebagai herba, yang mempunyai kepanjangan 50 hingga 200 cm panjang beserta dengan diameternya yang melebihi 1.5 cm. Spesies orkid ini mempunyai dua jenis bunga yang terletak pada dua bahagian yang berbeza iaitu pada bahagian atas dan bawah pada tangkai bunganya (Lamb, 1991).

Bunga pada bahagian atas adalah berwarna kuning cerah manakala bunga pada bahagian bawah pula adalah berwarna putih. Kedua-dua bunga ini mempunyai tinggi 3.5 cm dan saiz sisi 5 cm. Di samping itu, kedua-dua bunga ini mempunyai bintik

merah pada setiap kelopak bunga (Lamb, 1991). Bercakap mengenai sepal bunga ini pula, ia hanya mempunyai 1 jenis sepal sahaja iaitu sepal pada bahagian sisi bunga. Ini membuatkan spesies orkid ini nampak jauh berbeza daripada spesies orkid yang lain (Lamb, 1991).

Di samping itu, kelopak bunga ini mempunyai ukuran panjang 2.1 hingga 2.7 x 1.2 hingga 1.7 cm manakala ruang dipermukaan bibir bunga ini pula mempunyai saiz antara 0.8 hingga 0.9 cm panjang.

Spesies orkid ini mempunyai daun yang panjang iaitu melebihi 30 cm. Nama bunga ini merujuk kepada *Earl Ross* yang ada di Los Angeles, California (Lamb, 1991).



Foto 2.2 *Dimorphorchis rossii* (diambil dari Pusat Pemuliharaan Orkid Stesen Kolang Air Panas Poring, Ranau)

RUJUKAN

- Almeida, R. M. J., D'amico, E., Preuss, A., Carbone, F., Ric De Vos, C. H., Deiml, B., Mourgues, F., Perrotta, G., Fischer, C. T., Bovy, G. A., Martens, S. & Rosati, C. 2007. Characterization of major enzymes and genes involved in flavanoid and proanthocyanidin biosynthesis during fruit development in strawberry (*Fragaria X ananassa*), *Archives Of Biochemistry And Biophysics*, **465**: 61-71.
- Byrne, P. O'., 2001. *A To Z South East Asian Orchid Species*, Orchid Society of South East Asia/ Singapore.
- Barbagallo, N. R., Palmeri, R. Fabiano, S, Rapisarda, P & Spagna, G. 2005. Characteristic of β -glucosidase from sicilian blood oranges in relation to anthocyanin degradation, *Enzyme And Microbial Technology*, **41**: 570-575.
- Campbell, M. K. & Farrell, S. O. 2006. *Biochemistry Fifth Edition*, Thomson Learning, Inc, USA.
- Campos-Vargas, R. Hiroyuki, N., Suslow, T. & Salveit, M. E. 2004. Heat shock treatments delay the increase in induced phenylalanine ammonia-lyase activity by altering its expression, not its induction in romaine lettuce (*Lactuca sativa*) tissue, *Journal Of Physiology Plantarum*, **123**: 82-91.
- Choi, H. E., Chang, H., Cho, Y. J. & Chun S. H. 2006. Cytoprotective Effect of anthocianins against doxorubicin-induced toxicity in H9c2 cardiomyocytes in relation to their antioxidant activities, *Food And Chemical Toxicology*, **45**: 1873-1881.
- Chen, f., sun, Y., zhao, G., Liao, X., Hu, X., hu, j. & Wang, Z. 2006. Optimization of ultrasound-assited extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanin of extracts using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry, *Journal Of Ultrasonics Sonochemistry*, **14**: 767-778.
- Comber, J.J, 2001. *Orchids Of Sumtra*, The Royal Botanic Gardens, Malaysia.
- Duan, X., Jiang, Y., Su, X., Zhang, Z. & Shi , J. 2005. Antioxidant properties of anthocyanins extracted from litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit pricarp tissue in relation to their role in the pericarp browning, *Food Chemistry*, **101**: 1365-1371.
- Garcia-Beneytez, E., Revilla, E. & Cabello, F. 2002. Anthocyanin pattern of several red grape cultivars and wines made from them, *Eur Food Res Technol*, **215**: 32-37.
- Geetha, N. P., Amruthesh, K. N., Sharathachandra, R. G., & Shetty, H. S. 2005. resistance to downy mildew in pearl millet is associated with increased phenylalanine ammonia lyase activity, *Functional Plant Biology*, **32**: 267-275.



- Hopkins W. G. & Hiiner Norman P. A. 2004. *Introduction To Plant Physiology; Third Edition*, John Wiley & Son, Inc., USA.
- Hu, C., Cai, Y., Li, W., Corke, H. & Kitts, D. D. 2006. Anthocyanin characterization and bioactivity assessment of a dark blue grained wheat (*Triticum aestivum L. Cv. Hedog wumai*) extract, *Journal Of Food Chemistry*, **104**: 955-961.
- Janna, O. A., Khairul, A., Maziah, M. & Mohd, Y. 2005. Flower pigment analysis of *Melastoma malabathricum*, *African Journal Of Biotechnology*, **5 (2)**: 170-174.
- Jiang, Y & Joyce, D. C. 2003. ABA Effect on ethylene production, PAL activity, anthocyanin and phenolic contents of strawberry fruit, *Journal Of Plant Growth Regulation*, **39**: 171-174.
- Kim, S.H, Kronstad, J. W. & Ellis, B. E. 1996. Purification and characterization of phenylalanine ammonia-lyase from *Ustilago maydis*, *Journal Of Phytochemistry*, **43 (2)**: 351-357.
- Kostenyuk, I. A., Zon, J & Burns, J. K. 2002. Phenylalanine ammonia lyase gene expression during abscission in citrus, *Journal Of Physiology Plantarum*, **116**: 106-112.
- Lamb, J. J. 1991. *Orchids Of Borneo Vol. I*, The Sabah Society & The Royal Botanic, Kuala Lumpur.
- Lamb, J. J. 1994. *Orchids Of Borneo Vol. IV*, The Sabah Society & The Royal Botanic, Kuala Lumpur.
- Longo, L. & Vasapollo, G. 2004. Extraction and identification of anthocyanins from *Smilax aspera L. berries*, *Journal Of Food Chemistry*, **94**: 226-231.
- Luque-Rodriguez, J. M., Luque De Castro, M. D. & Perez-juan, P. 2006. Dynamic superheated liquid extraction of anthocyanins and other phenolics from red grape skins of winemaking residues, *Journal Of Bioresource Technology*, **98**: 2705-2713.
- Mann, J., Davidson, R. S., Hobbs, J. B., Banthorpe, D. V. & Harborne, J. B. 1994. *Natural Product: Their Chemistry And Biological Significance*, Wesley Longman Limited. England.
- Maier, T., Goppert, A., Kammerer, D. R., Shieber, A. & Carle, R. 2007. Optimization of a process for enzyme-assisted pigment extraction from grape (*Vitis vinifera L.*) pomace, *Eur Food Res Technol.*



- Marangoni, A. G. 2003. *Enzyme Kinetics: A Modern Approach*. John Wiley & Sons, Inc. USA,
- McDougall, J. G., Fyffe, S., Dobson, P. & Stewart, D. 2007. Anthocyanins from red cabbage – stability to stimulated gastrointestinal digestion, *Journal Of Phytochemistry*, **68**: 1285-12
- Mohr, H. & Schopfer, P. 1995. *Plant Physiology*, Springer, New York,
- Gizir, M. A., Turker, N. & Artuvan, E. 2006. Presurized acidified water extraction of black carrot [*Daucus carota ssp. sativus Var. atrorubens Alef.*] anthocyanins, *Eur Food Res Technol*.
- Neff, m. m. & chory, j. 1998. Genetic interaction between phytochrome A, phytochrome B and cryptochrome 1 during *Arabidopsis* development, *Plant Physiology* **118** (1): pp 27-35.
- Oliver, R. W. A (Ed). 1998. *HPLC Macromolecules: A Practical Approach*, Oxford University, US.
- Rasmussen, H. N. 1995. *Terrestrial Orchids; From Seed To Mycotrophic Plant*, Cambridge University Press, Britain.
- Romero-Cascale, I., Fernandez-Fernandez, I. J., Lopez-Roca, M. J. & Gomez-Plaza, E. 2004. The maceration process during winemaking extraction of anthocyanins from grape skins into wine, *Eur Res Technol*, **221**: 163-167.
- Rosenberg, I. M., 1996. *Protein Analysis and purification Benchtop Techniques*. Birkhauser, Boston.
- Sage, L. C. 1992. *Pigment Of The Imagination; A History Of Phytochrome Research*, Academic Press, Inc., USA.
- Salas, E., Guerneve, L. C., Fulcrand, H., Poncet-Legrand, C. & Cheynier, V. 2004. Structure determination and colour properties of new directly linked flavanol-anthocyanin dimer, *Tetrahedron Letters*, **45**: 8725-8729.
- Salisbury F. B & Ross C. W. 1992. *Plant Physiology; Fourth Edition*, Wadsworth, Inc., California.
- Sarma, D. A., Sreelakshmi, Y. & Sharma, R. 1997. Differential expression and properties of phenylalanine ammonia-lyase isoforms in tomato leaves, *Phytochemistry* **49**: 2233-2243.



- Schutz, K., Persike, M., Carle, R. & Schieber, A. 2006. Characterization and quantification of anthocyanins in selected artichoke (*Cynara scolymus* L.) cultivars by HPLC-DAD-ESI-MS", *Journal Of Analysis Bioanalysis Chemical*, **384**: 1511-1517.
- Shuler, M. L. & Kargi, F. 2002. *Bioprocess Engineering: Basic Concepts Second Edition*, Prentice-hall, Inc, USA.
- Stintzing, C. F. & Carle, R. 2004. Functional properties of anthocyanins and betalains in plant, food, and in human nutrition; A Review, *Trends In Food Science & Technology*, **15**: 19-38.
- Sun, Y., Liao, X., Wang, Z., Hu, X. & Chen, F. 2006. Optimization of microwave-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanin of extracts using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry . *Eur Food Restechnol*, **225**: 511-5523.
- Tsai, P., Mcintosh, J., Pearce, P., Camden, B. & Jordan, B. R. 2001. Anthocyanin and antioxidant capacity in roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract, *Food Research International*, **35**: 351-356.
- Torskangerpoll, K. & Andersen, M. O. 2003. Colour Stability Of Anthocyanins In Aqueous Solutios At Various pH Values, *Food Chemistry* **89**: 427-440.
- Vurro, M. & Ellis, B. E. 1997. Effect of fungal toxin on induction of phenylalanine ammonia-lyase activity in elicited cultures of hybrid poplar. *Plant Science* **126**: 29-38.
- Wyk, B. V. & Wink, M. 2004. *Medicinal Plants Of The World*, Briza Publication, Singapore.
- Yue, H., Yuan, Q. & Wang, W. 2007. Purification of phenylalanine ammonia-lyase in peg1000/na2so4 aqueous two-phase system by a two-step extraction, *Journal Of Biochemical Engineering*.

