

**AKTIVITI ANTI PENGOKSIDA DAN ANTI BAKTERIA PRODUK
SPIRULINA PLATENSIS**

WONG HOW CHAI

**PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

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

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

APRIL, 2007

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: AKTIVITI ANTI PENGIKSIDA DAN ANTI BAKTERIA

PRODUK SPIRULINA PLATENSIS

Ijazah: SARJANA MUDA SAINS DENGAN KEPUJIAN KIMIA INDUSTRI

SESI PENGAJIAN: 2004/2005

Saya WONG HOW CHAI

(HURUF BESAR)

mengaku membenarkan tesis (LPS/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 institusi pengajian tinggi.
4. **Sila tandakan (/)

SULIT

TERHAD

TIDAK TERHAD

**PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

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

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

Chai

(TANDATANGAN PENULIS)

Alamat Tetap: 17D, Lorong 4,
Jalan Perpat, Wang King Huo 14,
96000 Sibu, Sarawak.

Tarikh: 13/4/07.

Disahkan oleh

[Signature]
(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Nama Penyelia

Tarikh: _____

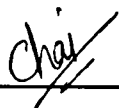
CATATAN: * Potong yang tidak berkenaan.

** 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 disertasi bagi pengajian secara kerja kursus dan penyelidikan, atau 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.



WONG HOW CHAI**HS2004-4560****APRIL, 2007**

**PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

PENGESAHAN**NAMA: WONG HOW CHAI****TAJUK: AKTIVITI ANTI PENGOKSIDA DAN ANTI BAKTERIA PRODUK
SPIRULINA PLATENSIS.**

(DR. HOW SIEW ENG)

(EN. MOH PAK YAN)**PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

(EN. JAHIMIN ASIK)

(PROF MADYA DR. SHARIFF A. K. OMANG)
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI**APRIL, 2007**

PENGHARGAAN

Terima kasih kepada *Jesus* yang saya hormati dengan limpahnya, saya dapat siapkan disertasi saya dalam jangka masa yang ditetapkan dengan jayanya. Di sini, saya mahu menyatakan ribuan terima kasih kepada penyelia saya iaitu Dr. How Siew Eng kerana beliau telah meruangkan banyak masa untuk memberikan didik ajar, pimpingan, dan sokongan yang padu semasa penyelidikan saya dijalankan. Terdapat banyak ilmu pengetahuan dicurahkan oleh Dr. How kepada saya dan pelbagai jenis pengalaman dialami oleh saya semasa disertasi ini dijalankan.

Seterusnya, saya juga merakamkan terima kasih kepada pensyarah-pensyarah kimia industri yang lain terutamanya Dr. Noumie@Loumie Surugau dan Dr. Marcus Jopony kerana sudi memberikan panduan kepada saya semasa projek ini dilaksanakan. Tutor-tutor program kimia industri terutamanya Cik Newati Wid, Amelia yang sudi bersama saya apabila menghadapi cabaran dalam kajian saya dan jasa mereka adalah amat diingati oleh saya. Pembantu-pembantu makmal seperti Encik Rasidin dan Encik Sani yang tidak penat melayan permintaan saya.

Selain itu, saya juga mengambil kesempatan ini untuk mengucapkan terima kasih kepada rakan-rakan seperjuangan saya dalam menjayakan disertasi ini terutamanya Bong Wan Yuen, Tang Iyu Ying dan Wong Siew Ching yang sudi berkongsi ilmu bersama saya. Tanpa rupa juga kepada dua kawan baik saya iaitu Sia Sung Kiong dan Yong Wu Hock yang sudi memberikan bantuan dan sokongan kepada saya semasa penyelidikan saya dilancarkan. Setulus ingatan buat sekeluarga saya, semoga kebahagiaan dinikmati berkekalan.

WONG HOW CHAI

HS2004-4560

HS 07 KIMIA INDUSTRI

ABSTRAK

Spirulina Platensis merupakan alga biru-hijau yang mempunyai fungsi anti pengoksida, antiviral, antineoplastik dan sebagainya. Kajian ini bertujuan membandingkan ciri produk *Spirulina* dengan jenama berlainan (PROVITE dan DXN), dari segi jumlah kandungan fenoliknya, sifat anti pengoksida dan anti bakteria. Kaedah Folin-Ciocalteu digunakan untuk menentukan jumlah kandungan fenolik dalam ekstrak akueus sampel *Spirulina* dan didapati *Spirulina* PROVITE (88.2927 ± 0.0006) mengandungi kandungan fenolik yang lebih tinggi daripada produk DXN (71.5917 ± 0.0009). Ujian "1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl" (DPPH) dan ujian ferum tiosianat (FTC) telah digunakan untuk menentukan sifat anti pengoksida sampel kajian di mana *Spirulina* PROVITE menunjukkan aktiviti anti pengoksida yang lebih tinggi daripada DXN dalam kedua-dua ujian. Kajian ini menunjukkan terdapat hubungan terus antara kandungan fenolik dan aktiviti anti pengoksida. Ujian anti bakteria menggunakan kaedah peresapan disk menunjukkan sampel *Spirulina* adalah tidak aktif terhadap semua bakteria yang diuji (*Bacillus Aureus* (B43/04B), *Escherichia Coli* (E91/026), *Staphylococcus Cereus* (S277), *Pseudomonas Aeruginosa* (ATCC 10145), *Salmonella Typhimurium* (S1000)). Sebagai kesimpulan, produk *Spirulina* PROVITE mempunyai kandungan fenolik dan sifat anti bakteria yang lebih tinggi daripada produk *Spirulina* DXN, akan tetapi kedua-duanya tidak mempunyai sifat anti bakteria.

**ANTIOXIDANTIVE ACTIVITY AND ANTIBACTERIA OF SPIRULINA
PLATENSIS PRODUCTS**

ABSTRACT

Spirulina Platensis is a blue-green algae that have antioxidant, antiviral, antineoplastic and others. The main purpose of this study was to compare the characteristic of Spirulina products with different brands (PROVITE and DXN) from the aspects of total phenolic contents, antioxidant and antibacteria activities. The Folin-Ciocalteu method was used to determine the total phenolic contents in Spirulina aqueous extract. The results showed that Spirulina PROVITE (88.2927±0.0006) contained a higher total phenolic contents than Spirulina DXN (71.5917±0.0009). 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl test (DPPH) and ferric thiocyanate test (FTC) were used to determine the antioxidant property of the samples in which Spirulina PROVITE showed a higher antioxidative activity compared to Spirulina DXN in both tests. This study showed a direct correlation between phenolic contents and antioxidative activity. An antibacteria test using disc diffusion method showed that both of the Spirulina samples were not active against all the bacteria (Bacillus Aureus (B43/04B), Escherichia Coli (E91/026), Staphylococcus Cereus (S277), Pseudomonas Aeruginosa (ATCC 10145), Salmonella Typhimurium (S1000)). As a conclusion, Spirulina PROVITE showed a higher phenolic contents and more potential antioxidative activity compared to the DXN products. However, both products were not potential antibacteria against.

SENARAI KANDUNGAN

Halaman

HALAMAN JUDUL	i
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	x
SENARAI RAJAH	xi
SENARAI FOTO	xii
SENARAI SIMBOL	xiii
SENARAI LAMPIRAN	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Kajian	1
1.2 Objektif Kajian	4
1.3 Skop Kajian	5
BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN	6
2.1 Pengenalan Kepada Kimia Hasil Semula Jadi	6
2.2 Sejarah Perkembangan Kimia Hasil Semula Jadi	8
2.3 Kajian Terhadap Sebatian Fenolik	10
2.4 Agen Pengoksida Dan Anti Pengoksida Serta Kepentingannya	13
2.5 Mekanisme Pengoksida	15
2.5.1 Radikal Bebas	15
2.5.2 Oksigen Tunggal	16
2.6 Kajian Terhadap Lipid Peroksidaan	18
2.7 Kajian Terhadap Spirulina Sebagai Herba Tradisional	20
2.7.1 Pengenalan Kepada <i>Spirulina</i>	20

2.7.2 Kegunaan <i>Spirulina</i>	22
2.8 Kajian Terhadap β -Karotenoid	23
2.9 Kajian Terhadap Biloprotein	26
2.10 Kaedah-kaedah Ujian Anti Pengoksida	27
2.10.1 Kajian Terhadap Ferum Tiosianat	27
2.11 Kesan-kesan <i>Spirulina</i> Terhadap Manusia	28
2.11.1 Kesan Anti Kanser	28
2.11.2 <i>Spirulina</i> Membawa Kebaikan Terhadap Sistem Keimunan	29
2.11.3 Fikosiani <i>Spirulina</i> Membina Darah	29
BAB 3 BAHAN DAN KAEDAH	31
3.1 Alat Radas Dan Bahan Kimia	31
3.2 Penyediaan Sampel	32
3.3 Pengekstrakan Pepejal-Cecair	33
3.4 Penentuan Jumlah Sebatian Fenolik	35
3.5 Ujian Anti Pengoksida	36
3.5.1 Ujian Dengan 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)	36
3.5.2 Kaedah Ferum Tiosianat (FTC)	37
3.6 Aktiviti Antibakteria	38
3.6.1 Penyediaan Media	38
3.6.2 Pengkulturan Media Bakteria	39
3.6.3 Penyediaan Laktofenol Kain Kapas Biru	39
3.6.4 Penyediaan Disk	40
3.6.5 Tindak Balas Berinteraksi Di Antara Bakteria Dan Larutan Kawalan	40
3.6.6 Ujian Bakteriostatik	41
BAB 4 KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN	42
4.1 Hasil pengekstrakan	42
4.2 Penentuan Jumlah Sebatian Fenolik	44
4.3 Aktiviti Anti Pengoksida	48

4.3.1	Ujian dengan 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)	48
4.3.2	Ujian Dengan Kaedah Ferum Tiosianat(FTC)	50
4.3.3	Hubung Kait Di Antara Jumlah Kandungan Fenolik Dengan Aktiviti Anti Pengoksida.	53
4.4	Ujian Anti Bakteria	55
BAB 5	KESIMPULAN	58
	RUJUKAN	60
	LAMPIRAN	69

SENARAI JADUAL

No. Jadual		Halaman
2.1	Spesies oksigen yang aktif dan spesies yang berkaitan	14
3.1	Alat radas yang digunakan	31
3.2	Bahan kimia yang digunakan	32
4.1	Jumlah berat serbuk <i>Spirulina</i> sebelum dan selepas dikeringbekukan bersama dengan peratus hasil pengekstrakan.	43
4.2	Jadual ini menunjukkan nilai serapan pada 760 nm terhadap piawaian asid galik yang berlainan kepekatan untuk mendapatkan rumus 3.1 dan 3.2.	46
4.3	Jumlah kandungan fenolik (mg GAE / g) dalam kormersial <i>Spirulina</i>	47
4.4	Nilai peratus perencatan bagi BHT, <i>Spirulina</i> DXN, <i>Spirulina</i> PROVITE yang berlainan kepekatan.	49
4.5	Nilai serapan relatif terhadap BHT	52
4.6	Ujian anti bakteria terhadap <i>Spirulina</i> produk herba	55

SENARAI RAJAH

No. Rajah		Halaman
2.1	Laluan ringkas biogenesis bagi hasilan semula jadi.	7
2.2	Laluan fosfat pentosa untuk mensistesis sebatik-sebatik fenolik.	12
2.3	Mekanisma fotopeka-teraruh bagi peroksidaan lipid.	19
2.4	Jenis ikatan C-H dalam lipid.	19
2.5	Bentuk-bentuk <i>Spirulina</i> yang berlingkar dan berpilin.	21
2.6	Struktur kimia bagi pelbagai jenis karotenoid.	25
4.1	Graf nilai serapan melawan kepekatan.	48
4.2	Graf serapan pada hari pertama hingga ke hari kesepuluh untuk menunjukkan perbezaan serapan pada setiap sampel <i>Spirulina</i> .	51

SENARAI FOTO

No. Foto

Halaman

3.1	Serbuk <i>Spirulina</i> yang digunakan dalam kajian ini.	33
3.2	Penyejat putaran digunakan untuk mengeringkan sampel dalam kajian.	34
3.3	Spektrofotometer UV-Vis yang digunakan dalam kajian ini.	36
4.1	Keputusan anti bakteria terhadap produk <i>Spirulina</i>	56

SENARAI SIMBOL

NADP	Nikotinamida adenina dinukleotida fosfat
NADPH	Nikotinamida adenina dinukleotida fosfat hidrogen
PEP	Fosfoenol piruvat
DAPH	Dioksiarabino heptulosonate
GPX	Guaiakol Peroksidasa
DNA	Asid deoksiribonukleik
$^3\text{O}_2$	Oksigen biasa
$^1\text{O}_2$	Oksigen tunggal
C-H	Karbon-Hidrogen
FTC	Kaedah ferum tiosinat
DPPH	Kaedah 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
EPO	Hormon erythropoietin
UV-Vis	Ultraviolet Visible
BHT	2,6-di-tert-butilfenol
$^{\circ}\text{C}$	Suhu dalam darjah Celsius

SENARAI LAMPIRAN

LAMPIRAN		Halaman
A	Rumus digunakan dalam pengiraan peratus hasil pengestrakan.	69
B	Pengiraan untuk pengcairan asid galik	70
C	Keputusan berkaitan dengan jumlah kandungan fenolik.	71
D	Pengiraan asid galik setara (Gallic Asid Equivalent- GAE) dan Jumlah kandungan fenolik dalam unit mg GAE terhadap setiap <i>Spirulina</i> .	76
E	Keputusan berkaitan dengan BHT, <i>Spirulina</i> DXN dan <i>Spirulina</i> PROVITE setelah diuji melalui ujian DPPH.	80
F	Pengiraan peratus perencatan berkaitan dengan ujian DPPH.	81
G	Keputusan berkaitan dengan ujian ferum tiosinat.	82

BAB 1

PENGENALAN

1.1 Latar Belakang Kajian

Anti pengoksida juga dikenali sebagai anti oksigen. Anti pengoksida sebenarnya merujuk kepada suatu bahan kimia yang spesifik untuk mengelakkan penggunaan oksigen. Pada abad ke-19 dan permulaan abad ke-20, anti pengoksida menjadi suatu isu yang hangat untuk dikaji dengan meluas dalam pemprosesan industri seperti kakisan logam, bahan letupan dan pemvulkanan getah (Matill, 1967).

Kajian awal penggunaan anti pengoksida difokuskan terhadap nutrisi adalah untuk menghalang pengoksidaan lemak tak tepu yang menyebabkan kegemukan (Wolf, 2005). Aktiviti anti pengoksida boleh ditentukan dengan mudah apabila lemak diletakkan pada kontena kaca yang tertutup dan kadar penggunaan oksigen ditentukan. Namun demikian, vitamin A, C, dan E telah dikenalpasti sebagai suatu anti pengoksida yang mengubah terhadap bidang makanan. Mekanisma tindak balas anti pengoksida pertama kali dijumpai oleh Moreau dan Dufraisce (1996) yang mempercayai bahawa aktiviti anti pengoksida merupakan suatu bahan yang digunakan untuk pengoksidaan lipid dan memimpin kepada kefahaman bagi anti pengoksida sebagai agen penurunan untuk rantai tindak balas pemecahan oksidatif.

Semua organisma mengandung enzim dan bahan kimia. Anti pengoksida digunakan untuk pelbagai tujuan dalam bidang biologi termasuk melindungi kemusnahan sel-sel dalam badan manusia secara oksidatif (Finkel & Holbrook, 2000). Cahaya matahari berinteraksi dengan atmosfera yang kaya dengan oksigen dan mengakibatkan kecederaan kulit manusia. Kesan yang paling teruk akibat kemusnahan foto ini ialah menyebabkan kanser kulit pada manusia. Manakala, penuaan foto merupakan salah satu kesan yang kurang memudaratkan kerana ia menyebabkan perubahan yang kecil pada permukaan kulit manusia. Kesan-kesan ini termasuklah kulit berkedut-kedut, kekeringan dan sebagainya (Trautinger, 2001).

Terdapat beratus-ratus jenis bahan telah disintetikkan dan digunakan dengan meluas. Anti pengoksida sintetik seperti butil hidrosiltuolena (BHT), butil hidrosilanisol (BHA), tert-butylhidroquinon (TBHQ) dan propil galat (PG) adalah digunakan dengan meluas sebagai anti pengoksida dalam industri makanan. Bagaimanapun, bahan-bahan ini mungkin menyebabkan kerosakan hati (Drinda & Baltes, 1998). Dalam eksperimen terhadap haiwan, BHA menunjukkan sifat-sifat karsinogenik. Selain itu, BHT pula boleh menyebabkan kecederaan dalaman dan luaran pada dos yang tinggi dan menyumbang kepada kematian sesetengah jenis tikus dan guinea babi. Kesan ini adalah disebabkan oleh keupayaan BHT untuk mengurangkan vitamin K, pembekuan darah (Ito *et al.*, 1986). Tambahan pula, bahan kimia yang disintetikkan dan digunakan sebagai penambahan makanan biasanya cenderung mengalami penyingkiran. Oleh itu, tokofenol yang merupakan anti pengoksida semula jadi telah digunakan secara meluas dalam penambahan makanan (Osawa & Namiki, 1981).

Akibat daripada kesan-kesan tersebut, anti pengoksida sintetik telah digantikan dengan pelbagai produk semula jadi seperti herba dan bahan-bahan daripada tumbuhan yang lain untuk meningkatkan kelarutannya di dalam air dan minyak. Terdapat kajian berkaitan dengan aktiviti anti pengoksida untuk pengekstrakan herba (Junstacholate & Berghofer, 2005). Anti pengoksida semula jadi yang diekstrakkan daripada herba menjadi semakin popular kerana digunakan dengan meluasnya dalam penambahan makanan (Osawa & Namiki, 1981).

Sumber anti pengoksida semula jadi datang daripada tumbuhan fenolik primer yang berlaku pada setiap bahagian tumbuhan termasuk buah, daun, akar, biji benih, dan sayur-sayuran (Pratt & Hudson, 1990). Sebatian-sebatian fenolik merupakan hasil yang mengalami metabolisma sekunder dan telah merebak di dalam dunia tumbuhan kerana kepelbagaian fungsinya untuk bertindak sebagai penamatan radikal-radikal bebas (Mathew & Emilia, 2006). Sebatian fenolik menjadi semakin popular untuk meningkatkan kesihatan manusia. Kandungan fenolik memainkan peranan yang penting sebagai anti pengoksida dengan kewujudan penukarganti hidrosil dan struktur aromatik untuk bertindak balas dengan radikal bebas (Foti *et al.*, 1996)

Organisma aerobik yang hidup di marin seperti alga akan mengembangkan pelbagai pertahanan terhadap kerosakan pengoksida kerana organisma tersebut mempunyai pembelaan anti pengoksida yang kuat. Sebenarnya, anti pengoksida ialah sejenis enzim ataupun molekul organik yang berinteraksi terhadap kerosakan akibat daripada oksigen yang berada dalam tisu-tisu (Giulio *et al.*, 1981). Alga mengandungi khasiat yang tinggi dan digunakan oleh manusia di negara-negara maju dan negara membangun sebagai penambahan makanan (Hidenori, 2004). Di Malaysia, terdapat

syarikat yang ditubuhkan untuk membuat dan memproses alga spesies *Spirulina* sebagai penambahan makanan. Contohnya syarikat DXN. Walau bagaimanapun, sesetengah daripada spesies alga adalah bertoksin (Gitte *et al.*, 2001). Oleh itu, kajian perlu diteruskan untuk menjamin keselamatan dan keberkesanan menggunakan penambahan makanan.

Anti bakteria ialah satu istilah yang diperuntukkan kepada sebarang jenis sebatian kimia yang dapat membantu membunuh ataupun menindas pertumbuhan mikroorganisma seperti bakteria, yis dan sebagainya. Sebatian anti bakteria berfungsi untuk memperbaiki sel-sel badan manusia dan haiwan supaya ia dapat berfungsi dengan baik. Namun demikian, tindakan ini tidak semestinya membunuh kesemua mikroorganisma yang terdapat pada persekitaran di mana ia diperlukan (Rauha *et al.*, 2000). Oleh itu, kajian terhadap anti bakteria perlu diteruskan terhadap *Spirulina* untuk membuktikan ia mempunyai fungsi-fungsi menindas pertumbuhan mikroorganisma.

1.2 Objektif Kajian

Objektif kajian ini ialah

- (i) Untuk menentukan jumlah kandungan fenolik di dalam produk *Spirulina* yang berlainan.
- (ii) Untuk mengkaji aktiviti anti pengoksida produk *Spirulina* yang berlainan.
- (iii) Untuk mengkaji aktiviti anti bakteria produk *Spirulina* yang berlainan.

1.3 Skop Kajian

Kajian ini melibatkan penyediaan dan pengekstrakan sampel *Spirulina*. Tiga ujian telah digunakan dalam kajian ini iaitu ujian penentuan kandungan fenolik, ujian anti pengoksida, dan ujian anti bakteria. Kandungan fenolik yang berada di dalam serbuk *Spirulina* dikaji dengan menggunakan kaedah folin-ciocalteu. Manakala, kaedah 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dan kaedah ferum tiosianat (FTC) juga digunakan dalam kajian anti pengoksida. Terdapat lima jenis bakteria dipilih untuk mengkaji aktiviti anti bakteria *Spirulina*.

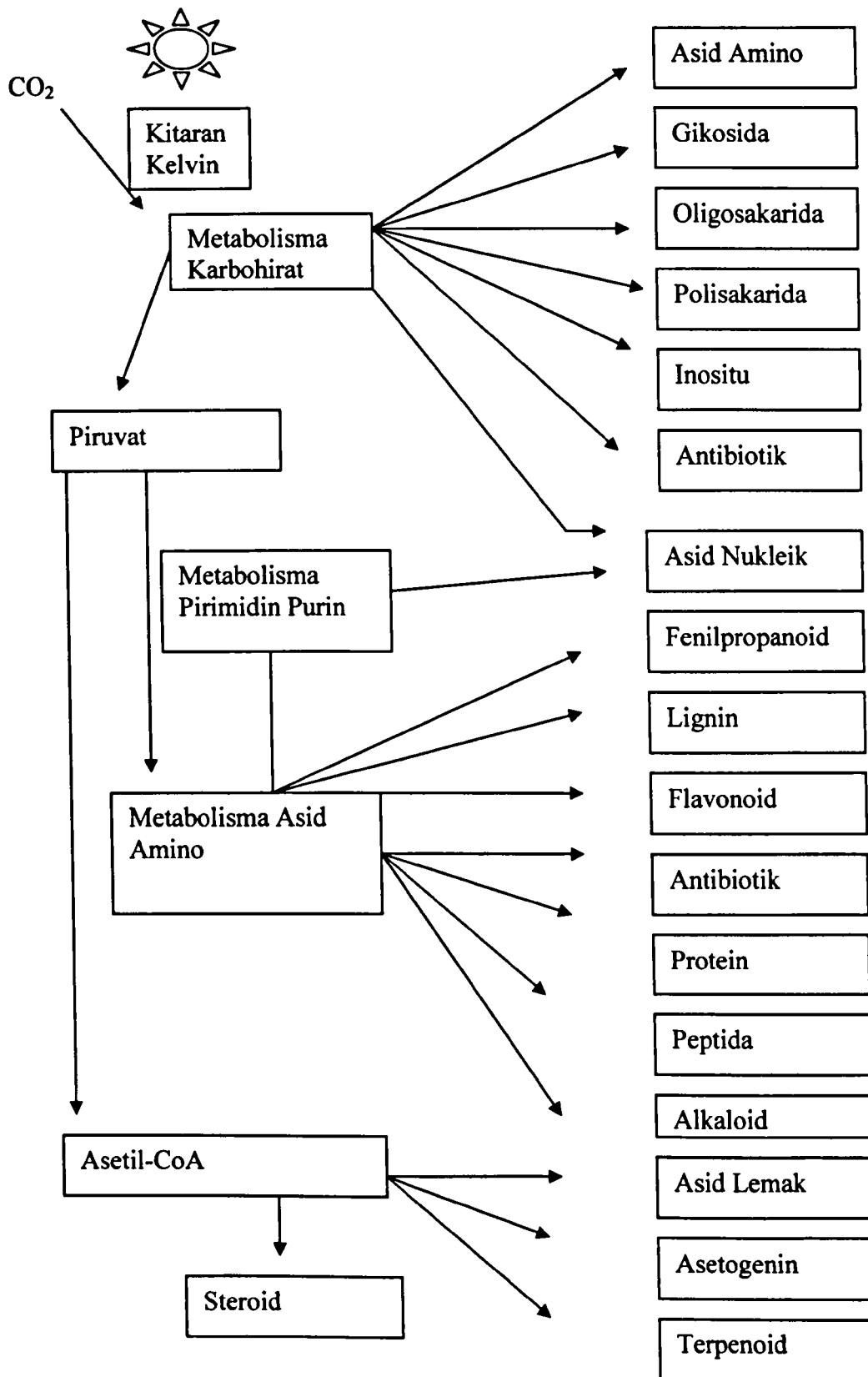
BAB 2

ULASAN PERPUSTAKAAN

2.1 Pengenalan Kepada Kimia Hasil Semulajadi

Hasil semula jadi merupakan sebatian yang dihasilkan oleh semua organisma hidup. Sumber-sumber ini termasuklah pelbagai jenis mikroorganisma, serangga, tumbuh-tumbuhan dan haiwan. Hasil semula jadi selalu memperuntukkan makanan dan perubatan kepada manusia sejagat (Fasihuddin & Hasmah, 1993). Hasil ini dapat dikelaskan kepada dua kumpulan yang utama iaitu berdasarkan kepada tapak jalan metabolisma yang menghasilkannya dan kepentingannya iaitu metabolisma primer dan metabolisma sekunder. Kedua-dua metabolisma ini merupakan kilang biokimia bagi kimia hasil semula jadi seperti yang ditunjukkan pada Rajah 2.1 (Bhat *et al.*, 2005).

Sebenarnya, metabolisma primer memainkan peranan yang penting kerana telah menunjukkan fungsi sel yang jelas yang bertindak sebagai unit pembinaan untuk semua komponen dalam sel. Kumpulan-kumpulan hasil semula jadi yang termasuk dalam metabolisma primer adalah asid amino, protein, asid nukleik, lipid dan karbohidrat. Manakala, metabolisma sekunder menunjukkan bagaimana organisma



Rajah 2.1 Lualan ringkas biogenesi bagi hasilan semulajadi (Fasihuddin & Hasmah, 1993).

hidup berhubung kait secara rapat dengan kawasan sekitarnya dan ia mungkin bertindak sebagai bahan perkumuhan dari tumbuhan atau sebagai agen antibakteria yang menghalang jangkitan bakteria ke atas organisma yang menghasilkannya. Kumpulan-kumpulan yang termasuk dalam metabolisma sekunder adalah alkaloid, steroid, terpena, sebatian fenolik, glikosida kardium, dan sebagainya (Fasihuddin & Hasmah, 1993).

Namun demikian, metabolisma sekunder yang dihasilkan oleh organisma marin terutamanya alga adalah jauh berbeza dengan metabolisma sekunder yang diasingkan oleh tumbuhan peringkat tinggi. Sebagai contohnya, organisma marin seperti alga biru-hijau telah menghasilkan lebih kurang 60% daripada protein tumbuhan berbanding dengan tumbuhan darat yang berperingkat tinggi yang mengandungi komponen kimia yang lain (Yen *et al.*, 2005). Seterusnya, kajian juga menunjukkan bahawa organisma marin seperti *Spirulina* kaya dengan sebatian fenolik dan sebatian-sebatian lain yang mempunyai atom halogen sementara tumbuhan peringkat tinggi kurang atau jarang menghasilkan sebatian jenis ini. Keadaan ini boleh berlaku disebabkan oleh faktor habitat serta keperluan organisma itu yang berlainan dalam persekitaran hidupnya (Miranda *et al.*, 1998).

2.2 Sejarah Perkembangan Kimia Hasilan Semulajadi

Kimia hasilan semula jadi adalah berkaitan dengan bahan kimia yang berbau, rasa, warna, dan menyelesaikan masalah penyakit. Selepas lebih kurang 4 bilion tahun berevolusi, persaingan di antara semua jenis kehidupan telah mencapai keadaan yang

stabil untuk dibawa ke suatu tahap yang mengandungi kepelbagaian biologi di mana keadaan ini telah menggalakkan pembentukan kepelbagaian kimia (Bhat *et al.*, 2005).

Dalam beberapa abad ini, China telah mengetuai dunia dalam penggunaan hasil semula jadi untuk kesihatan. Salah seorang daripada antologi kesihatan sains di Negara China iaitu Nei Ching, di mana hasil penulisan beliau mengenai tumbuhan perubatan telah membawa kepada kemasyhuran dalam legenda maharaja kuning pada kurun ke-13 sebelum abad. Penggalian makam Dinasti Han (206 sebelum masihi-220 selepas masihi) di bahagian Hunan, China pada 1974 telah menjumpai beberapa buah buku perubatan yang telah mengalami pereputan. Buku tersebut mencatatkan ilmu perubatan dari yang asas sehingga ke perubatan klasik Nei Ching (Barton & Nakanishi, 1999).

Secara amnya, Shen Nung Pen Tsao Ching merupakan sebuah buku yang berkaitan dengan herba-herba Cina yang tertua di negara China. Salah satu daripada herba-herba Cina rakyat yang paling terkenal ialah akar ginseng *Panax ginseng* yang digunakan untuk penyenggaraan kesihatan dan rawatan pelbagai jenis penyakit. Namun demikian, *Panax ginseng* telah membawa kesan biologi berkaitan dengan aktiviti sinergisti di antara saponin yang dikenal sebagai ginsenosida dan flavonoid. *Ginkgo biloba* L. juga merupakan sejenis ubatan rakyat yang sangat popular seperti yang dinyatakan di dalam "Chinese materia medica" yang menunjukkan kesan untuk meningkatkan memori dan menajamkan mental kewaspadaan. Ginkgolida dan flavonoid merupakan kandungan bahan kimia yang paling aktif dalam pengekstrakan *Ginkgo biloba* (Bhat *et al.*, 2005).

RUJUKAN

- Adlercreutz, H. & Mazur, W. 1997. Beta-Karotena Terdapat Dalam Kebanyakan Alga seperti Cyanophyta (*Spirulina*), Chlorophyta, Xanthophyta dan sebagainya-Phyto-oestrogens and Western Diseases. *Annually Medical* **29**, ms. 95-120.
- Albanes, D., Heinone, O. P. & Taylor, P. R. 1996. Alpha-Tocopherol and Beta-Carotene Supplements and Lung Cancer Incidence in the Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study: Effects of Base-Line Characteristics and Study Compliance. *Journal National Cancer* **88**, ms. 1560-1570.
- Andreas, M. P. 1999. *Antioxidant Status, Diet, Nutrition and Health*. CRC Press, Florida.
- Andurwulan, N., Fardiaz, D., Wattimena, G. A. & Setty, K. 1999. Antioxidant Activity Associated with Lipid and Phenolic Mobilization During Seed Germination of *Pangium Edula* Reinw. *Journal Agriculture Food Chemistry* **47** (31), ms. 158-163.
- Annapurna, V. V., Deosthale, Y. G. & Bamji, M. S. 1991. *Spirulina* as a Source of Vitamin A. *Plants Foods Human Nutrition* **41**, ms. 125-134.
- Azzi, A., Breyer, I., Feher, M., Ricciarelli, R., Stocker, A., Zimmer, S. & Zingg, J. 2001. Nonantioxidant Functions of α -tocopherol in Smooth Muscle Cells. *Nutrition*. **131**, ms. 378-381.
- Barton, D. & Nakanishi, K. 1999. *Comprehensive Natural Products Chemistry*. Ed. 3. Elsevier Science Ltd, Amsterdam.
- Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C. & Truck, M. 1966. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disc Method. *American Journal of Clinical Pathology* **45** (4), ms. 493-496.

- Bendich, A., Philip, M. & Tengerdy, R. P. 1990. *Antioxidant Nutrients and Immune Function*. Plenum Press, New York.
- Bhat, S. V., Nagasampagi, B. A. & Sirakumar, M. 2005. *Chemistry of Natural Product*. Narosa publishing House, New Delhi.
- Brand, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. 1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologies* **28**, ms. 25-30.
- Bruice, P. Y. 2004. *Organic Chemistry*. Ed. Fourth. Pearson Education, Inc., Upper Saddle River.
- Buettner, G. R. 1993. The Pecking Order of Free Radicals and Antioxidant: Lipid Peroxidation, α -tocopherol, and Ascorbate. *Archives Biochemistry Biophysical* **300**, ms. 535-543.
- Burton, G. W., Joyce, A. & Ingold, K. U. 1983. Is Vitamin E the only Lipid Soluble, Chain Breaking Antioxidant in Human Blood Plasma and Erythrocyte Membranes? *Archives Biochemistry Biophysical* **221**, ms. 281-290.
- Careri, M., Furlattini, L., Mangia, A., Musci, M., Anklam, E., Theobald, A. & Holst, C. V. 2001. Supercritical Fluid Extraction for Liquid Chromatographic Determination of Carotenoids in *Spirulina Pacifica* Algae: A Chemometric Approach. *Journal of Chromatography A* **912**, ms. 61-71.
- Cervato, G., Carabelli, M., Gervasio, S., Cittera, A., Cazzala, R. & Cestaro, B. 2000. Antioxidant Properties of Oregano (*Origanum vulgare*) Leaf Extracts. *Journal Food Biochemistry* **24**, ms. 453-465.

- Christophersen, A. G., Jun, H., Jorgensen, K. & Skibsted, L. H. 1991. Photobleaching of Astaxanthin and Canthaxanthin: Quantum-Yields Dependence of Solvent, Temperature, and Wavelength of Irradiation in Relation to Packaging and Storage of Carotenoid Pigmented Salmonoids. *Z Lebensm Unterster Forscher* **192**, ms. 433-439.
- Cooper, D. A., Eldridge, A. L. & Peters, J. C. 1999. Dietary Carotenoids and Lung Cancer: A Review of Recent Research. *Nutrition Review* **57**, ms. 133-145.
- Cosgrove, J. P., Church, D. F. & Pryor, W. A. 1987. The Kinetics of the Autoxidation Polyunsaturated Fatty Acids. *Lipids* **22**, ms. 299-304.
- Criqui, M. H. & Ringel, B. L. 1994. Does Diet or Alcohol Explain the French Paradox? *Lancet* **344**, ms. 1719-1723.
- Ding, M. L. & Yu, Z. Q. 1997. *Spirulina* Industry in China: Present Status and Future Prospects. *Journal of Applied Phycology* **9**, ms. 25-28.
- Dixon, R. A., Harrison, M. J. & Lamb, C. J. 1994. Early Events in the Activation of Plant Defense Responses. *Annully Review Phytopathol* **32**, ms. 479-501.
- Dixon, R. A. & Paiva, N. L. 1995. Stress-Induced Phenylpropanoid Metabolism. *Plant Cell* **7**, ms. 1085-1097.
- Dorothea, F. K. R., Benjamin, P. Y. L., Barbara, N. & James F. L. 2005. Improved Method for the Determinate of Anatoxin-a and Two of Its Metabolites in Blue-Green Algae Using Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. *Journal of AOAC International* **88** (6), ms. 1741-1747.
- Drinda, H. & Baltes, W. 1998. Antioxidant Properties of Lipid and Dihydrolipoic Acid in Vegetable Oils and Lard. *Z Lebensm Unters Forsch A* **208**, ms. 270-276.

- Esterbauer, H., Striegi, G., Puhl, H. & Rotheneder, M. 1989. Continuous Monitoring of *In Vitro* Oxidation of Human Low Density Lipoprotein. *Free Radical Res Community* **6**, ms. 67-75.
- Fasihuddin, A. & Hasmah, R. 1993. *Kimia Hasil Semula Jadi dan Tumbuhan Ubatan*. Dewan Bahasa dan Pustaka, Kuala Lumpur.
- Freya, Q. S., Hong, P. W., Eric, E. K., Kate, L. C., Sean, M. M. & Garry, R. B. 2002. Comparing β -Carotene, Vitamin E and Nitric Oxide as Membrane Antioxidants. *Biology Chemistry* **383**, ms. 671-681.
- Finkel, T. & Holbrook, N. J. 2000. Oxidants, Oxidative Stress and the Biology of Ageing. *Nature* **408** (6809), ms. 239-47.
- Gerster, H. 1993. Anticarcinogenic Effect of Common Carotenoids. *International Journal Vitamin Nutrition* **63**, ms. 93-121.
- Gey, F. K. 1994. *Free Radical in the Environment Medicine and Toxicology*. Richelieu Press, London.
- Gitte, S. J., Donald, I. G. & Christian, D. 2001. Blue-Green Alga as an Immuno-Enhancer and Biomodulator. *JANA* **3** (4), ms. 24-30.
- Giulio, R. T., Washburn, P. C., Wenning, R. J., Winston, G. W. & Jewell, C. S. 1981. Biochemical Responses in Aquatic Animals: A Review of Determinants of Oxidative Stress. *Environmental Toxicology Chemistry* **8**, ms. 1103-1123.
- Gokhan, D. & Mehmet A., 2006. Antioxidant Properties of Roasted Apricot (*Prunus Armeniaca L.*) Kernel. *Food Chemistry* **100**, ms. 1171-1181.
- Gropper, S. S. 2000. *The Biochemistry of Human Nutrition*. Wadsworth, United States.

- Gunstone, F. D. 1996. *Fatty Acid and Lipid Chemistry*. Glasgow: Blackie Academic and Professional.
- Hahlbrock, K. & Scheel, D. 1989. Physiology and Molecular Biology of Phenylpropanoid Metabolism. *Plant Mol Biology* **40**, ms. 347-369.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J. M. C. 1993. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Clarendon Press, Oxford.
- Harborne, J. B. 1984. *Comparative Biochemistry of the Flavoid*. Academic Press, London.
- Hayashi, O. 1994. Enhancement of Antibody Production in Mice Melalui Penambahan *Spirulina* Platensis. *Journal of Nutritional Sciences and Vitaminologi* **40**, ms. 199
- Henning, B. & Chow, C. K. 1988. Lipid Peroxidation and Endothelial Cell Injury: Implications in Artherosclerosis. *Free Radical Biology Medical* **4**, ms. 99-106.
- Hidenori, S. 2004. Mass Production of *Spirulina*, an Edible Microalga. *Hydrobiologia* **512**, ms. 39-44.
- Ito, N., Hirose, M., Fukushima, H., Tsuda, T. & Tatenatsu, M. 1986. Studies on Antioxidants: Their Carcinogenic and Modifying Effects on Chemical Carcinogens. *Food and Chemical Toxicology* **24**, ms. 1071-1092.
- James, L. K. 1994. *Nobel Laureates in Chemistry*. American Chemical Society and Chemistry Heritage Foundation.
- Johnson, J. G. 1975. *Antioxidant Synthesis and Applications*. Noyes, Data Corporation Park Ridge, London.

- Juntacholate, T. & Berghofer, E. 2005. Antioxidative Properties and Stability of Ethanolic Extracts of Holy Basil Galangal. *Food Chemistry* **92**, ms. 193-202.
- Karlsson, J. 1997. *Antioxidant and Exercise*. Human Kinetics, United States.
- Krinsky, N. I. 1998. The Antioxidant and Biological Properties of the Carotenoids. *Annually Academic Science New York* **854**, ms. 443-447.
- Kahkonen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K. dan Kujala, T.S., 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **47**, ms. 3954-3962.
- Lea, C. H. & Ward, R. J. 1959. Relative Antioxidant Activities of the Seven Tocopherols. *Journal Science Food Agriculture* **10**, ms. 537-548.
- Li, D. M. 1995. *In: Spirulina Chapter 4: Spirulina as a Health Food*. Chinese Agro Technology Publisher, Beijing.
- Lisheng, L. 1991. Inhibitive Effective and Mechanism of Polysaccharide of *Spirulina Platensis* on Transplanted Tumor Cells in Mice. *Nutrition* **5**, ms. 33-38.
- Lissi, E. A., Pizarro, M., Aspee, A. & Romay, C. 2000. Kinetics of Phycocyanin Bilin Groups Destruction by Peroxyl Radicals. *Free Radical Biological Medical* **28**, ms. 1051-1055.
- Mann, J. 1992. *Murder, Magic and Medicine*. Oxford University Press, New York.
- Matill, H. A. 1967. Antioxidants. *Annually Review Biochemistry* **16**, ms. 177-192.
- Miranda, M. S., Cintra, R. G., Barros, S. B. M. & Mancini, F. J. 1998. Antioxidant Activity of the Microalga *Spirulina Maxima*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **31**, ms. 1075-1079.

- Mitchell, G. V., Grundel, E., Jenkins, M. & Blakely, S. R. 1990. Effects of Graded Dietary Levels of *Spirulina Maxima* on Vitamin A and E in Male Rats. *Journal Nutrition* **120**, ms. 1235-1240.
- Ness, A. R. & Powles, J. W. 1997. Fruits and Vegetables and Cardiovascular Disease: A Review. *International Journal Epidemiol* **26**, ms. 1-13.
- O'Heocha, C. 1962. *The Physiology and Biochemistry of Algae*. John and Wiley, New York.
- Omenn, G. S., Goodman, G. E. & Thornquist, M. D. 1996. Effects of Combination of Beta Carotene and Vitamin A on Lung Cancer and Cardiovascular Disease. *Journal Medical* **334**, ms. 1150-1155.
- Osawa, T. & Namiki, M. 1981. A novel Type of Antioxidant Isolated from Leaf Wax of Eucalyptus Leaves. *Agricultural and Biological Chemistry* **45** (3), ms. 735-739.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N. & Gordon, M. 2001. *Antioxidants in Food, Practical Applications*. Woodhead, New York.
- Porter, N. A., Caldwell, S. E. & Mills, K. A. 1995. Mechanism of Free Radical Oxidation of Unsaturated Lipids. *Lipids* **30**, ms. 277-290.
- Qureshi, M. A. & Ali, R. A. 1996. Phagocytic Potential of Feline Macrophages after Exposure to a Water Soluble Estrak bagi *Spirulina* in Vitro. *Immunopharmacology* **55**, ms. 223-228.
- Richard, K. & Ronald, H. H. 1998. The Study of *Spirulina* - Effect on the AIDS Virus, Cancer and the Immune System. *Healthy & Natural Journal* **21**, ms. 21-22.

- Rock, C. L. 1997. Carotenoids: Biology and Treatment. *Pharmacological Treatment* 75, ms. 185-197.
- Rohana, A. & Amir, H. K. 1992. *Kimia Analisis : Kaedah Pemisahan*. Dewan Bahasa dan Pustaka. Selangor.
- Romay, C., Armesto, J., Ramirez, D., Gonzalez, R., Ledon, N. & Garcia, I. 1998. Antioxidant and Anti-inflammatory Properties of C-phycoerythrin From Blue Green Algae. *Inflammatory* 47, ms. 36-41.
- Ruan, J. S., Long, C. S. & Guo, B. J. 1988. *Spirulina* Prevented Damage Induced by Radiation. *Journal Genetics* 10, ms. 27-30.
- Russell, R. M. 1998. Physiological and Clinical Significance of Carotenoids. *International Journal Vitamin Nutrition* 68, ms. 349-353.
- Sheldon, R. P. & Durham, M. D. 2003. Cutaneous Photodamage, Oxidative Stress, and Topical Antioxidant Protection. *Journal Am Academic Dermatol* 48, ms. 1-19.
- Shetty, K. 1997. Biotechnology to Harness the Benefits of Dietary Phenolics Focus On *Lamiaceae*. *Asia Pacific Journal Clinical Nutrition* 21, ms. 79-102.
- Steinberg, D., Parthasarathy, S., Carew, T. E., Khoo, J. C. & Witztum, J. L. 1989. Beyond Cholesterol. Modifications of Low-Density Lipoprotein That Increase Its Atherogenicity. *Journal Medical* 320, ms. 915-924.
- Steinmetz, K. A. & Potter, J. D. 1996. Vegetables, Fruit, and Cancer Prevention: A Review. *Journal Am Diet Association* 96, ms. 1027-1039.
- Subramaniam, V., Mohd. I. A. & Abdul, R. A. 1998. *Antioxidant Activity in Malaysia Ulam*. Interdisciplinary Approaches in Natural Product Science.

- Trautinger, F. 2001. Mechanisms of Photodamage of the Skin and Its Functional Consequences for Skin Aging. *Clinical Experiment Dermatol* **26**, ms. 573-577.
- Wolf, G. 2005. The Discovery of the Antioxidant Function of Vitamin E: the Contribution of Henry A. Mattill. *Journal Nutrition* **135** (3), ms. 363-366.
- Wolfe, K., Wu, X. & Liu, R. H. 2003. Antioxidant Activity of Apple Peels. *Journal Agriculture Food Chemistry* **51**, ms. 609-614.
- Yen, C., Lynn, Y. & Bellanca, A. 2005. Cancer Fighting *Spirulina*. *The Newsletter for Kiwi Ora* **2** (1), ms. 56-58.
- Zhang, C. 1994. *The Effects of Polysaccharide and Phycocyanin from Spirulina Platesis Variety on Peripheral Blood and Hematopoietic System of Bone Marrow in Mice*. Second Asia-Pacific Conference on Alga Biotechnology, 25-27 April.
- Zvi, R. 2003. *The Chemistry of Phenols, Part 2*. John Wiley & Sons Ltd., England.