

FORM PENGESAHAN STATUS TESIS@

MODUL: PENENTUAN AKTIVITI ANTIGUNA, ICANDUNGAN FENDILIC DAN
WANDUNGAN FLAVONOID DALAM SPECIES LILIN TERPILIH

Ijazah: SARJANA MUDA BIOLOGI PEMULIHARAAN

SESI PENGAJIAN: 2007 / 2007

Saya ROSULIYANI BT MISTAMIRUDDIN

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

SULIT

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

TERHAD

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

TIDAK TERHAD

Disahkan oleh



(TANDATANGAN PENULIS)

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: LORONG 7, BAHU 7, LOT 12,
BLOK 1, TAMAN SEJAYA,

90000 SANDAKAN -

Nama Penyelia

Tarikh: 27/04/07

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).



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENENTUAN AKTIVITI ANTIOKSIDA, KANDUNGAN
FENOLIK DAN KANDUNGAN FLAVONOID DALAM
SPESIES LIKEN TERPILIH

ROSKIYANI MISTAMIRUDDIN

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

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PROGRAM BIOLOGI PEMULIHARAAN
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

MAC 2007

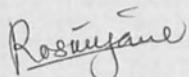


UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGAKUAN

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

19 Mac 2007



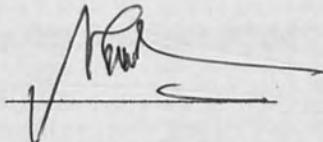
ROSKIYANI BINTI MISTAMIRUDDIN
HS2004-6079



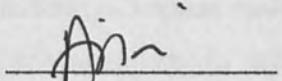
UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

DIPERAKUKAN OLEH**Tandatangan****1. PENYELIA**

EN. MOHD FADZELLY B. ABU BAKAR

**2. KO-PENYELIA BERSAMA**

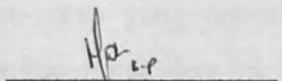
PROF. DATO' DR. NORAMLY B. MUSLIM

**3. PEMERIKSA 1**

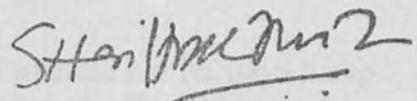
PN. NOR AZIZUN BT. RUSDI

**4. PEMERIKSA 2**

DR. KARTINI SAIBEH

**5. DEKAN SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI**

SUPT/KS PROF. MADYA SHARIFF ABD. KADIR OMANG

**UMS**
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGHARGAAN

Assalamualaikum Wbt...

Pertama sekali saya ingin mengucapkan syukur alhamdulillah kerana akhirnya dapat juga saya menyempurnakan Projek Sarjana Muda Biologi Pemuliharaan. Di kesempatan ini, saya ingin mengucapkan jutaan terima kasih terutamanya kepada penyelia saya En. Mohd Fadzelly Bin Abu Bakar yang banyak memberi tunjuk ajar, ilmu dan dorongan dalam menyempurnakan projek ini.

Di sini juga ingin saya ucapkan terima kasih yang tidak terhingga kepada mak, ayah serta adik-beradik saya yang banyak memberi sokongan dan dorongan kepada saya dari segi semangat, nasihat dan juga kewangan dalam menyempurnakan projek saya ini. Tidak dilupakan juga kepada orang yang tersayang serta rakan-rakan yang banyak membantu saya dalam menjalankan kajian seterusnya menyempurnakan projek saya ini.

Dengan terhasilnya Projek Sarjana Muda Biologi Pemuliharaan ini, saya harap iaanya dapat membantu mahasiswa-mahasiswa yang juga akan membuat projek ini pada masa akan datang sebagai rujukan. Akhir kata, sekali lagi diucapkan jutaan terima kasih kepada mereka-mereka yang banyak membantu saya dalam menyempurnakan Projek Sarjana Muda Biologi Pemuliharaan ini.

Sekian, terima kasih.

ABSTRAK

Kajian ini bertujuan untuk menentukan jumlah aktiviti antioksida, jumlah kandungan fenolik dan juga jumlah kandungan flavonoid daripada empat jenis spesis liken *Canoparmelia sp.*, *Peltigera sp.*, *Speerschneidera sp.*, dan *Cladonia sp.*. Jumlah aktiviti antioksida telah ditaksir dan dinilai melalui dua kaedah berlainan iaitu penentuan radikal bebas DPPH dan kuasa penurunan antioksida ferik (FRAP). *Cladonia sp.* merupakan spesis yang paling tinggi kandungan antioksida didalamnya iaitu sebanyak 61% diikuti *Canoparmelia sp.* sebanyak 44% kemudian *Peltigera sp.* sebanyak 41% dan *Speerschneidera sp.* sebanyak 40%. Keputusan kajian ini menunjukkan bahawa terdapat jumlah antioksida, kandungan fenolik dan flavonoid daripada empat jenis liken tersebut walaupun dengan nilai bacaan yang berbeza.

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the total of antioxidant activity, total phenolic and flavonoid constituent containing in four lichen species *Canoparmelia sp.*, *Peltigera sp.*, *Speerschneidera sp.*, dan *Cladonia sp.*. Antioxidant activity was evaluated by two separate methods: Free-radical Scavenging Assay DPPH and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP). *Cladonia sp.* was the species contain highest antioxidant which is 61% followed by *Canoparmelia sp.* about 44%, *Peltigera sp.* 41% and *Speerschneidera sp.* 40%. This result of this study showed that there was total antioxidant activity, total phenolic and flavonoid constituent in four lichen species that were tested although there were differences in the results.

ISI KANDUNGAN	MUKA SURAT
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	viii
SENARAI RAJAH	ix
SENARAI FOTO	x
SENARAI SIMBOL	xi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Pengenalan	1
1.2 Objektif Kajian	5
1.3 Persoalan Kajian	6
1.4 Tujuan Kajian	6
1.5 Hipotesis Kajian	6
1.6 Limitasi Kajian	7
BAB 2 TINJAUAN KAJIAN	8
BAB 3 METODOLOGI KAJIAN	17
BAB 4 HASIL DAN KEPUTUSAN	29
BAB 5 PERBINCANGAN	36
BAB 6 KESIMPULAN	41
RUJUKAN	42



SENARAI JADUAL

No. Jadual	Muka Surat
4.1 Nilai penyerapan sampel dan % kesan penghapusan radikal bebas	30
4.2 Nilai penyerapan sampel dan nilai FRAP	31
4.3 Nilai aktiviti antioksida menggunakan DPPH dan FRAP	32
4.4 Nilai penyerapan sampel dan kandungan fenolik	33
4.5 Aktiviti antioksida, kandungan fenolik dan flavonoid dalam liken	35



SENARAI RAJAH

No. Rajah	Muka Surat
3.1 Carta alir bagi aktiviti antiokksida.	25
3.2 Carta alir bagi jumlah kandungan fenolik dan flavonoid.	28
4.1 % Kesan penghapusan radikal bebas menggunakan DPPH	30
4.2 Jumlah kandungan flavonoid bagi empat spesis liken terpilih.	34
4.3 Jumlah kandungan fenolik dan flavonoid bagi empat spesis liken	34

SENARAI FOTO

No. Foto	Muka Surat
3.1 Spesis liken : <i>Canoparmelia sp.</i>	20
3.2 Spesis liken : <i>Peltigera sp.</i>	20
3.3 Spesis liken : <i>Speerschneidera sp.</i>	21
3.4 Spesis liken : <i>Cladonia sp.</i>	21



SENARAI SINGKATAN DAN SIMBOL

BHA = *Butylated hydroxyanisole*

BHT = *Butylated hydroxytoluene*

FRAP = *Ferric Reducing Antioxidant Power*

DPPH = *Diphenyl picrylhidrazil*

nm = nanometer

H0 = Hipotesis nol

μl = mikroliter

μM = mikrometer

mM = makrometer

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Pengenalan

Liken mempunyai hubungan mutualistik simbiotik yang terbentuk di antara kulat (mikobion) di mana kulat menyediakan badan buah dan struktur reproduktif. Alga hijau atau sianobakteria (fotobion) yang terdapat pada liken boleh menjalankan fotosintesis dan menghasilkan makanan (Jeffries & Young, 1994). Taburan liken adalah luas, di mana ia boleh ditemui di kawasan kering dan artik serta di kawasan-kawasan yang beriklim sederhana dan juga tropika. Menurut Gilbert, (2000) terdapat kira-kira 13,500 “spesis” liken manakala menurut Pegler, (1997) pula terdapat 18,000 spesies liken yang dianggarkan di seluruh dunia di mana 2/5 daripadanya adalah daripada genera *Ascomycota* dan selebihnya adalah daripada *Basidiomycota*. Tatanama dan juga pengelasan biasanya dikenal pasti melalui struktur talus fungal, iaitu: *fruticose* (seperti ‘shrub’), *foliose* (seperti daun), *squamulose* (seperti sisik), *filamentous* (terbentuk daripada alga pradominant), dan *leprose* (‘powdery aggregation’) (Pegler, 1997).



Liken tidak mempunyai akar dan tidak memerlukan bekalan air yang berterusan atau takungan air seperti tumbuhan-tumbuhan tinggi, malah mereka boleh tumbuh di kawasan yang mustahil bagi tumbuhan yang lain untuk hidup, seperti batu-batu yang terdedah, pelbagai struktur-struktur tiruan seperti dinding, bumbung dan tugu-tugu peringatan, di cabang-cabang dan batang-batang pokok, tiang-tiang pagar, batu-batu granit yang tahan kepada kesan cuaca dan tempat-tempat lain yang terdedah. Liken terpaksa bersaing dengan tumbuhan untuk keperluan cahaya matahari, tetapi oleh kerana saiznya yang kecil dan pertumbuhan yang lambat, maka ia tumbuh subur di kawasan-kawasan di mana tumbuhan tinggi menghadapi kesukaran untuk tumbuh. Warna liken boleh menjadi putih, hitam atau bertompok-tompok gelap dengan warna merah, jingga, kuning, atau hijau. Sesetengah liken hijau kelihatan seakan-akan sama dengan briofit terutamanya lumut hati. Pewarnaan pada liken ini berpunca daripada pengumpulan berbagai-bagai pigmen (bukan fotosintesis) di dalam talusnya, yang biasanya berbeza kandungan asid likeniknya (Abdullah, 1992).

Kebanyakan liken juga hidup seperti epiphytes (epi – di atas permukaan, phye – tumbuhan, menurut bahasa latin) di atas tumbuhan lain, khususnya pada bahagian batang dan dahan pokok. Apabila tumbuh di atas tumbuhan lain, liken bukanlah parasit; mereka tidak menggunakan mana-mana bahagian tumbuhan tersebut apatah lagi meracuninya. Beberapa jenis liken duduk di atas tanah adalah seperti genus *Cladina* (liken di kawasan beriklim tinggi), walau bagaimanapun, penghasilan kimia yang mlarut resap ke dalam tanah dan menunjukkan pecambahan tunas tumbuhan dan pertumbuhan tumbuhan yang baru (anak pokok). Ketahanan substratum merupakan faktor utama bagi habitat liken.

Kebanyakan liken tumbuh atau hidup di permukaan-permukaan batu atau kulit kayu pada pokok-pokok tua, tetapi banyak lagi yang lain yang tumbuh pada tanah dan pasir. Dalam kes ini, liken seringkali merupakan bahagian yang penting bagi ketahanan tanah, sungguhpun, dalam beberapa ekosistem padang pasir, benih pembuluh tumbuhan (tinggi) tidak boleh tumbuh kecuali di tempat-tempat di mana kulit liken mengukuhkan pasir dan membantu menakung air.

Liken adalah organisma yang boleh hidup lama dan mempunyai ciri-ciri yang jelas dan nyata daripada organisma yang lain kecuali sesetengah daripadanya, contohnya adalah seperti liken hijau. Pertumbuhan liken adalah pada persekitaran di mana hanya terdapat gangguan fizikal yang minima dan juga menerima cahaya yang kurang serta kadar kelembapan yang tinggi. Crittenden (1989) mencadangkan bahawa fotobion memperolehi nutrien daripada sel kulat dengan pengaliran jisim ataupun daripada pembauran. Tetapi, bahan-bahannya juga boleh diserap secara terus daripada air yang terperangkap di dalam ruang interselular (Farrar and Smith, 1976) terutamanya pada kawasan pertumbuhan di thali. Bentuk talus liken berubah-ubah dan struktur dalamannya adalah agak kompleks. Sementara talus beberapa liken terutamanya yang mengandungi satu ahli daripada kulat imperfekti adalah polimorfik, manakala yang lain pula mempunyai bentuk-bentuk yang berbeza. Kulat merupakan ahli yang lebih dominan, yang menentukan bentuk talus liken. Dalam kebanyakan liken, alganya terbatas kepada lapisan tertentu iaitu di antara lapisan kulat yang padat di sebelah atas dan lapisan kulat yang longgar berspan di sebelah bawah. Dalam setengah-setengah liken pula, satu lapisan kulat padat tambahan terdapat di permukaan bawah talus liken (Abdullah, 1992).

Liken tumbuh sangat perlahan dan biasanya mempunyai jangka hayat yang sangat panjang. Ini disebabkan sebagaimana yang telah dinyatakan tadi, liken biasa ditemui di kawasan-kawasan yang tidak membantunya untuk tumbuh dengan cepat. Usia sesetengah liken ‘alpin-artik’ pula dianggarkan berjulat daripada 100-450 tahun. Walau bagaimanapun, usia kebanyakan liken tidak begitu panjang. Liken boleh bertahan dalam keadaan basah berselang dengan kering tanpa sebarang kesan buruk. Ia menyerap air dengan cepat iaitu boleh menyerap air hingga 35 kali lebih berat daripada dirinya dalam air dan mengalami kehilangan air yang sama juga cepatnya. Liken juga merupakan pengumpul bahan-bahan bukan organan yang cukup cekap (Abdullah, 1992).

Sesetengah liken mempunyai kepentingan dari segi ekonomi. Rusa dan kerbau artik memakan sejenis liken iaitu daripada kelompok lumut jati. Sejumlah larva dari spesies Lepidoptera terutamanya makan liken ini. Ini termasuklah *Common Footman* dan *Marbled Beauty*. Walaupun begitu, liken adalah rendah protein dan tinggi karbohidrat, membuatkannya tidak sesuai untuk sesetengah haiwan. Liken juga digunakan oleh tupai *Northen Flying* untuk membuat sarang, makanan dan juga sumber air di musim sejuk. Walau bagaimanapun, manusia kadangkala memakan liken sebagai sumber makanan ketika dalam keadaan darurat.

Sebelum penemuan tar arang batu, liken merupakan sumber bahan pencelup yang utama. Liken juga menjadi sumber pencelup yang digunakan dalam penyediaan kertas litmus untuk bahan kimia. Pencelup tersebut bertukar menjadi biru dalam larutan bes dan

merah dalam larutan berasid. Selain itu, terdapat sesetengah pewangi juga diperbuat daripada liken. Di samping itu, terdapat sesetengah liken menghasilkan sebatian yang bertindak sebagai antibiotik terhadap sesetengah kulat dan bakteria gram positif yang tidak dapat dipengaruhi oleh antibiotik biasa juga merupakan penemuan yang paling menarik. Oleh itu, kesan daripada pencemaran terhadap liken pada bahagian sel, menghalang daripada berlakunya proses fotosintesis atau mengakibatkan kerosakan pada bahagian membran (Tarhanen *et al.*, 1996; Carreras and Pignata; 2001; Garty, 2001).

1.2 Objektif Kajian

Terdapat beberapa objektif bagi kajian ini iaitu:

- 1.2.1 Menentukan aktiviti antiokksida melalui kaedah FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) dan DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dengan menggunakan spektrofotometer.
- 1.2.2 Menentukan kandungan fenolik dengan menggunakan kaedah Folin-Ciocalteau.
- 1.2.3 Menentukan kandungan flavonoid dengan menggunakan kaedah Kolometrik Aluminium Klorida.

1.3 Persoalan Kajian

Kajian ini cuba menjawab beberapa persoalan utama berkaitan dengan kajian yang ingin dibuat. Secara umumnya persoalan kajian tertumpu kepada aspek-aspek berikut:

- 1.3.1 Adakah terdapat kandungan antiokksida di dalam spesies liken terpilih?
- 1.3.2 Adakah terdapat kesan kandungan fenolik dan juga kandungan flavonoid dalam spesies liken yang terpilih?

1.4 Tujuan Kajian

Tujuan kajian ini adalah untuk melihat sama ada spesies liken yang terpilih mempunyai aktiviti antiokksida. Seterusnya, melihat kandungan fenolik dan juga kandungan flavonoid dalam spesies liken.

1.5 Hipotesis Kajian

Hipotesis merupakan kenyataan yang menunjukkan kaitan antara dua boleh ubah atau lebih di dalam sesuatu penyelidikan. Terdapat dua jenis hipotesis yang digunakan dalam kajian ini, iaitu hipotesis nol dan juga hipotesis alternatif. Berikut ialah hipotesis nol yang cuba dibuktikan melalui analisis data dalam kajian ini:

Ho – Tidak terdapat antiokksida, jumlah kandungan fenolik dan juga jumlah kandungan flavonoid dalam spesies liken yang terpilih.

1.6 Limitasi Kajian

Untuk keberkesanan kajian, sampel bagi liken yang telah dikutip kemudian diasingkan supaya sampel yang digunakan tidak tercampur dengan partikel-partikel yang tidak diingini seperti tanah, sampah dan juga spesies yang lain. Ini kerana kandungan-kandungan ini nanti akan memberi ralat kepada sampel yang ingin dikaji. Oleh itu, pembersihan sampel harus dilakukan dengan teliti agar sampel yang diperolehi benar-benar adalah daripada sampel liken yang sebenar.



BAB 2

KAJIAN PERPUSTAKAAN

2.1 Liken

Liken digunakan sebagai bahan perubatan secara keseluruhannya, contohnya seperti spesies *Cetraria islandica*, *Lobaria pulmonaria* dan *Cladonia spores* sebagai ubatan yang efektif dalam rawatan pulmonari tuberkulosis (Vartia, 1973). Spesies liken biasa ditemui di Turki, terutamanya *C. islandica* yang merupakan salah satu daripada spesies liken yang lazim, di mana ia tumbuh di kawasan barat Turki (Dulger *et al.*, 1998). Kajian perubatan moden, mendapati bahawa 50% daripada semua spesies liken mempunyai kandungan antibiotik. Sebagai contoh *C. islandica* yang kaya dengan sumber asid protolikensterinik yang sangat aktif dalam melawan kanser tumor (Gilbert, 2000). Asid protolikensterinik tersisih daripada *C. islandica* dalam kultur *in-vitro*, dan menahan kesan pada 5-lipoksigenase. Asid protolikensterinik, α -metilena- γ -lakton, asid fumarprotosetrik dan β -orkinol depsidone sebagai major biologikal, bagi metabolit aktif sekunder dalam liken *C. islandica* (Ogmundsdottir *et al.*, 1998). Sesetengah spesies liken, digunakan ketika mengalami sakit perut dan juga sebagai anti-diabetik di dalam perubatan masyarakat Turki (Baytop, 1999). *C. islandica* dikenali oleh rakyat Turki sebagai ubatan

yang digunakan untuk rawatan penyakit hemoroid, bronkitis, disenteri dan tuberkulosis (Dulger *et al.*, 1998). Tambahan pula, spesies liken ini digunakan sebagai dadah hemostatik (Baytop, 1999).

Kebanyakan saintis telah mengkaji kandungan kimia yang terdapat dalam spesies liken *C. islandica* bermula sejak kurun ke-19 sehingga ke hari ini. Walau bagaimanapun, secara semula jadi kandungan kimia dalam liken tidak dapat dijelaskan sepenuhnya (Stepanenko *et al.*, 1997). Tambahan pula, tidak terdapat kajian pharmaceutikal mengenai kandungan dalam spesies liken tersebut. Sesetengah metabolit liken bagi *C. islandica* menunjukkan antimicrobacterial aktiviti yang sangat tinggi (Ingolfsdottir *et al.*, 1998). Alifatik α -metilena- γ -lakton tersisih daripada liken *C. islandica* ditemui mempunyai penghalang yang kuat terhadap aktiviti DNA polimerase bagi *human immunodeficiency virus-1 reverse transcriptase* (HIV-1 RT) (Pengsuparp *et al.*, 1995). Walau bagaimanapun, tidak terdapat sebarang maklumat mengenai aktiviti antioksida dalam ekstrak akueus bagi *C. islandica*. Dalam kajian Gulcin *et al.*, (2001) mereka menerangkan kesan antioksida bagi *C. islandica* dan membandingkan kesan antioksida dengan kegunaan lazim dalam makanan, seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT) dan α -tokoferol. Tambahan pula, komponen ini bertanggungjawab kepada kebolehan antioksidatif bagi *C. islandica* yang masih kurang jelas.

Sebagai sumber semulajadi antioksida, kebanyakannya memberi faedah kepada tumbuhan dan organisma lain. Liken merupakan tumbuhan tidak berbunga yang terdiri

daripada hubungan simbiotik bagi alga (fikobion) dan kulat (mikobion). Walaupun spektrum lebar bagi aktiviti biologikal menunjukkan liken, namun ia telah diabaikan begitu lama oleh ahli mikologi dan tidak dipentingkan oleh industri pharmaceutikal kerana kesukaran untuk mengkultur organisma, tiada kajian liken dalam perspektif biokimia (Adawadkar, & Makhija, 2004). Sejak kebelakangan ini, kaedah yang lebih efisien dijalankan untuk mengkultur sel fotobion, sel mikobion dan tisu liken (Yamamoto, Mizuguchi, & Yamada, 1985; Yamamoto *et al.*, 1993). Oleh kerana itu, penyaringan biokimia terhadap liken secara *in vitro* sebagai potensi molekul bioaktif boleh dijalankan. Tambahan pula, dalam kultur *in vitro* sel mikobion dan sel fotobion yang diasing serta tisu liken dikaji untuk menghasilkan kuantiti biojisim yang tinggi bagi skala industri dan digunakan secara kasar untuk program penyaringan bagi kebanyakkan aktiviti biologikal (Adawadkar, & Makhija, 2004; Behera, *et al.*, 2004).

2.1 Antioksida

Antioksida semulajadi dikaji adalah untuk melihat kapasitinya untuk melindungi organisma dan sel daripada rosak yang bertanggungjawab dalam proses penuaan, kemerosotan penyakit dan kanser (Cozzi *et al.*, 1997). Kebiasannya, aktiviti antioksida dapat diukur pada kebanyakan spesies buah-buahan, sayur-sayuran, herba, bijirin, pucuk dan juga pada biji benih (Kahkonen *et al.*, 1999; Velioglu *et al.*, 1998). Pelbagai antioksida bertindak sebagai radikal bebas dan memperbaiki kerosakan radikal bebas dalam biomolekul. Radikal bebas superoksida (SFR) biasanya dihasilkan daripada sebatian organik, protein dan sel. Ia boleh menjelaskan kesihatan. SFR terlibat dalam

penyebaran penyakit secara meluas seperti radang, diabetes, penyakit tua, barah dan penyakit kardiovaskular. Proses peroksidaan tisu lipid dalam organisma hidup telah meningkatkan perhatian dalam hubungan kepada penyakit tua dan patologikal seperti penyakit jantung, arteriosklerosis dan barah (Jorgensen & Skibsted, 1993).

Peroksidaan lipid mempunyai banyak kesan dalam merosakkan struktur membran dan fungsinya kerana ia menjaga membran dan menghasilkan banyak hasil yang berpotensi sebagai sitotoksik. Contohnya seperti aldehid tak tepu dan hidroperoksida lipid yang sangat toksik secara *in vitro* dan *in vivo*. Sebatian ini mampu terhasil walaupun dengan kehadiran enzim yang tak aktif, mengubahsuai biomolekul melalui ikatan kovalen dengan pecahannya dan memulakan radikal bebas (Hidalgo *et al.*, 1994).

Sel-sel organisma hidup telah dikembangkan melalui beberapa sistem pertahanan bagi menghalang spesies oksigen reaktif. Ini telah dibuktikan dengan eksperimen yang telah dilakukan dengan banyak secara *in vitro*. Di mana, enzim dan sebatian sekunder daripada vaskular tumbuhan yang menghalang pemusnahan oksidatif dengan menghalang pembentukan radikal bebas dan pemerangkapan spesies oksigen reaktif termasuklah radikal peroksi, di antara agen antioksida yang ditunjukkan melalui kehadiran kumpulan fenolik reaktif. Contoh sebatian-sebatian fenolik adalah vitamin E dan vitamin C. Sementara contoh bagi antioksida sintetik pula adalah BHA dan BHT yang digunakan sebagai penghalang daripada berlakunya proses pendegradasi oksidatif dalam kosmetik, dadah dan makanan (Hidalgo *et al.*, 1994).

Banyak kajian telah dijalankan untuk mencari sumber antiokksida semulajadi sebagai alternatif baru bagi menggantikan sumber yang sedia ada. Kajian tersebut banyak melibatkan tumbuhan herba, teh, buah-buahan dan pelbagai tumbuhan ubatan. Antara sumber semulajadi untuk meneutralkan radikal bebas terbaik adalah vitamin C, β -karotena dan selenium. Kajian telah menunjukkan bahawa bakteria berguna adalah antiokksida yang efektif dalam kajian oleh Felice *et al.* (1993).

Aktiviti bakteria menunjukkan keberkesanan antiokksida yang tinggi dalam oregano, daun retumbar, rosemary, cili, sagu, bawang dan bawang putih apabila ditambah kepada minyak bunga matahari pada paras 5g/ 250 g minyak. Kereaktifan antiokksida adalah sama ada lebih daripada BHA atau BHT. Terdapat banyak bahan yang bertanggungjawab kepada kesan antiokksida bagi bakteria. Contohnya seperti beta karotin merupakan kandungan yang lebih baik daripada 100mg tokoferol menurut Saito dan Asari (1976); eugenol, isoeugenol (Klaui, 1993) linalool dan linalil asetat (Yan & White, 1990, Berkstomp-Sternberg & Duke, 1994) termasuk juga flavonoid.

Antiokksida boleh mengganggu proses oksidasi dengan bertindak balas dengan radikal bebas, logam pemangkin bebas dan juga bertindak sebagai penurunan oksigen. Fungsi antiokksida fenolik adalah untuk memberhentikan radikal bebas dan kadang kala sebagai logam ‘chelator’ (Shahidi, 1992 dan Sanchez, 1999). Oleh itu, sistem pertahanan antokksida mempunyai hubungan dengan metabolisme aerobik untuk menghalang daripada kerosakan spesies oksigen reaktif (ROS).

RUJUKAN

- Abdullah, H., 1992. *Tumbuh-tumbuhan tak berbiji benih: bentuk dan fungsi*, Dewan Bahasa dan Pustaka, Kuala Lumpur.
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K and Hagen, T. M., 1993. Oxidants, antioxidants and the generative disease of aging, *Proceedings of National Academy of Science, USA*, **90**, 7915–7922.
- Beckstrom-Sternberg, S. dan Duke, J., 1994. Potential for synergistic action of phytochemical in species. *J. Food Science Technology Industry*. **31**, 68-70.
- Baytop, T., 1999. In: *Therapy with Medicinal Plants in Turkey (Past and Present)*, Istanbul University, Istanbul, p. 233.
- Behera, B. C., and Makhija, U., 2002. Inhibition of tyrosinase and xanthine oxidase by lichen species *Bulbothrix setschwanensis* in vitro, *Current Science* **82**, 61–66.
- Behera, B. C., Adawadkar, B., and Makhija, U., 2003. Inhibitory activity of xanthine oxidase and superoxide-scavenging activity in some taxa of the lichen family Graphidaceae, *Phytomedicine* **10**, 536–543.
- Behera, B. C., Adawadkar, B., and Makhija, U., 2004. Capacity of some Graphidaceous lichens to scavenge superoxide and inhibition of tyrosinase and xanthine oxidase activities, *Current Science* **87**, 83–87.
- Behera, B.C, Verma, N., Sonone, A., and Makhija, U., 2005. Evaluation of antioxidant potential of the cultured mycobiont of a lichen *Usnea ghattensis*, *Phytother. Res.* **19**, 58–64.

- Benzie, I. F. F. and Strain, J. J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* **239**: 70-76.
- Cao, G., Sofic, E., and Prior, R. L., 1997. Antioxidant and prooxidant behaviour of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*, **22** (5), 749-760.
- Carreras, H. A., and Pignata. M. L, 2001. Comparison among air pollutants, meteorological conditions and some chemical parameters in the transplanted lichen *Usnea amblyoclada*, *Environment Pollution* **111**, 45–52.
- Chye, T. S., 1990, *Biokimia tumbuhan hijau*, Dewan Bahasa dan Pustaka, Kuala Lumpur.
- Cozzi, R., Ricordy, R., Aglitti, T., Gatta, V., Petricone, P. and De Salvia, R., 1997. Ascorbic acid and β -carotene as modulators of oxidative damage. *Carcinogenesis* **18**, 223-228.
- Crittenden, P. D., 1989. *Nitrogen relations of mat forming fungi*. In *Nitrogen, Phosphorous and Sulphur Utilization by Fungi* (eds L. Boddy, R. Marchant and D.J Read), Cambridge University Press, Cambridge, 243-268.
- Crittenden, P. D., and Porter, N., 1991. Lichen forming fungi potential sources of novel metabolites, *Trends in Biotechnology* **9**, 409–414.
- Dean, R. T., and Davies, M. J., 1993. Reactive species and their accumulation on radical damaged proteins, *Trends in Biochemical Science* **18**, 437–441.
- Diplock, A.T., 1997. Will the 'good fairies' please proves to us that vitamin E lessens human degenerative of disease? *Free Radical Research* **27**, 511–532.



- Duh, P.D., Tu Y.Y., and Yen, G.C., 1999. Antioxidant activity of aqueous extract of harn jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat), *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* **32**, 269–277.
- Dülger, B., Gücin, F. and Aslan, A., 1998. *Cetraria islandica* (L) Ach. Likeninin Antimikrobiyal Aktivitesi. *Turkish Journal of Biology* **22**, 11–118.
- Farrar, J. F. and Smith, D. C., 1976. *Ecological physiology of the lichen Hypogymnia Physodes. III. The importance of the rewetting phase.* New Phytologist, **77**, 115–125.
- Fasihuddin Ahmad dan Hasmah Raji, 1993. *Kimia hasilan semulajadi dan tumbuhan ubatan.* Dewan Bahasa dan pustaka, Kuala Lumpur.
- Felice, M., Leonardis, T. dan Cmes, S., 1993. *Effect on autoxidation, Industrie Aliment.* **32**, 249-253.
- Garty, J., 2001. Biomonitoring atmospheric heavy metals with lichens: theory and application, *Crit. Revolution Plant Science* **2** (4), 309–371.
- Germano, M.P., Pasquale, D.E.R., D'Angelo, V., Catania, S., Silvaria, V., and Costa, C., 2002. Evaluation of extracts and isolated fraction from *Capparis spinosa* L. Buds as an antioxidant source, *Journal of Agriculture Food Chemistry* **50**, 1168–1171.
- Gilbert, O., 2000. *Lichens.* Harper Collins Publishers, London.
- Grice, H. C., 1986. Safety evaluation of butylated hydroxytoluene (BHT) in the liver, lung and gastrointestinal tract. *Food and Chemical Toxicology* **24**, 1127–1130.

- Gulcin, I., Oktay, M., Lu, O. I. K., and Aslan, A., 2001. Determination of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica* (L) Ach. *Journal of Ethnopharmacology* **78**, 325-329.
- Hall C.A and Cuppett, S.L., 1997. Structure-activities of natural antioxidants. In: O.I. Auroma and S.L. Cuppett, Editors, *Antioxidant methodology in vivo and in vitro concepts*, AOCS Press, Champaign, IL, 141-170.
- Halliwell, B., and Gutteridge, J. M. C., 1999. *Free radicals in biology and medicine*. 3rd ed. New York: Oxford University Press.
- Hidalgo, M. E., Fernandez, E., Quilhot, W. dan Lissi, 1994. *Antioxidant activity of despsides and depsidomes phytochemistry*. 1585-1587.
- Higuchi, M., Miura, Y., Boohene, J., Kinoshita, Y., Yamamoto, Y., Yoshimura, I., and Yamada, Y., 1993. Inhibition of tyrosinase activity by cultured lichen tissues and bionts, *Planta Medica* **59**, 253-255
- Ingolfsdottir, K., Chung, G. A. C., Skulason, V. G., Gissurarson, S. R., and Vilhemsdottir, M., 1998. Antimiyobacteriyal of lichen metabolites in vitro. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **6**, 141-144.
- Isaac, S., 1996. *Fungal-Plant Interaction*. 1st ed. Chapman & Hall, New York.
- Ismail, A. and Hong, T. S., 2002. Antioxidant activity in selected commercial seaweeds. *Malaysian Journal of Nutrition* **8**(2): 167-177.
- Jeffries, P. and Young, T. W. K., 1994. *Interfungal Parasitic Relationship*. London.
- Jorgensen, E., and Skibsted, L., 1993. *Carotenoids seavening of radical*, Zleben SM Unters Forsh 196, 423-429.

- Kahkonen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Raucha, J. P., Piblaja, K., Kulaja, T. S., and Heinonen, M., 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**, 3954-3962.
- Klaui, H., 1973. Natural occurring antioxidants proceedings of the institute of food science and technology of the United Kingdom, **64**, 195-209. Ruj. Tsimidou, M., Boskau, D. *Antioxidant activity of essential oils from the plants of the lamiaceae family*. Dlm. Charalambous (ed), 1994. Spices, herbs and edible fungi Elsevier sc. B.V., the Netherlands, 273-284.
- Mariken, J. T. J., Arts, J., Dallinga, S., Voss, H. P., Guido R. M. M., Haenen, Bast, A., 2002. A critical appraisal of the use of the antioxidant capacity (TEAC) assay in defining optimal antioxidant structure. *Journal of Food Chemistry*, **80**, 409-414.
- Meir, S., Kanner, J., Akiri B., and Hadas, S.P., 1995. Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves, *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **43**, 1813–1817.
- Nash, T.H., 1996. *Lichen biology*, Cambridge University Press, Great Britain.
- Ogmundsdottir, H. M., Zoega, G. M., Gissurarson, S. R., and Ingolfsdottir, K., 1998. Anti-proliferative effects of lichen-derived inhibitors of 5-lipoxygenase on malignant cell-lines and mitogen-stimulated lymphocytes. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **50**, 107–115.
- Pegler, D. N., 1997. *The Larger Fungi of Borneo*. Natural History Publication, Kota Kinabalu.

- Pengsuparp, T., Cai, L., Constant, H., Fong, H. H. S., Lin, L. Z., Kinghorn, A. D., Pezzuto, J. M., Cordell, G. A., Ingolfsdottir, K., Wagner, H., and Hughes, S. H., 1995. Mechanistic evaluation of new plant-derived compounds that inhibit HIV-1 reverse transcriptase. *Journal of Natural Products (Lloydia)* **58**, 1024–1031.
- Saito, Y., and Asari, T., 1976. Studies on the antioxidant properties of spices total tocopherol content in spices. *Journal Japan Social Food Nutrition* **29**, 289-292.
- Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. A., and Saura-Calixto, F., 1999. Free radical scavenging capacity an inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. *Food Research International* **32**, 407–412.
- Shahidi, F., and Wanasundara, P. K. J. P. D., 1992. Phenolic antioxidants. *Critica Reviews in Food Science and Nutrition* **32**, pp. 67–103.
- Stepanenko, L. S., Krivoshchekova, O. E., Dimitrenok, P. S., and Maximov, O. B, 1997. Quinones of *Cetraria islandica*. *Phytochemistry*, **46**, 568.
- Tarhanen, S., Holopainen, T., Poikolainen, J., and Oksanen, J., 1996. Effect of industrial emissions on membrane permeability of epiphytic lichens in northern Finland and the Kola peninsula industrial areas, *Water Air Soil Pollution*. **88**, 189–201.
- Tutour, B. L., 1990. Antioxidative activities of algal extracts. Synergistic effect with vitamin E, *Phytochemistry* **29**, 3759–3765.
- Vartia, K. O., 1973. Antibiotics in lichens. In: V. Ahmadjian and M.E. Hale, Editors, *The lichens*, Academic Press, New York, p. 547.

- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., and Oomah, B. D., 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**, 4113-4117.
- Wichi, H. P., 1988. Enhanced tumor development by butylated hydroxyanisole (BHA) from the prospective of effect on forestomach and oesophageal squamous epithelium. *Food and Chemical Toxicology* **26**, 717-723.
- Yamamoto, Y., Kinoshita, Y., Matsubara, H., Kinoshita, K., Koyama, K., Takahashi, K., Kurokawa, T., and Yoshimura, I., 1998. Screening of biological activities and isolation of biological active compounds from lichens, *Recent Research Developments in Phytochemistry* **2**, 23-34.
- Yamamoto, Y., Miura, Y., Higuchi, M., and Kinoshita, Y., 1993. Using lichen tissue cultures in modern biology, *The Bryologist* **96** (3), 384-393.
- Yamamoto, Y., Mizuguchi, R., and Yamada, Y., 1985. Tissue cultures of *Usnea rubescens* and *Ramalina yasudae* and production of usnic acid in their cultures, *Agriculture and Biological Chemistry* **49**, 3347-3348.
- Yan, P., and White, P., 1990. Linalyl acetate and other compounds with related structures as antioxidants in heated soybean oil. *Journal agriculture food chemistry*, **38**, 1904-1908.
- Yildirim, A., Oktay M., and Bilaloglu, V., 2001. The antioxidant activity of the leaves of *Cydonia vulgaris*, *Turkish Journal of Medical Science* **31**, 23-27.
- Zhishen, J., Mengcheng, T. And Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid content in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, **64**: 555-559.

