

**PENENTUAN AKTIVITI ANTIOKSIDAN DALAM DUKUNG ANAK
(*Phyllanthus niruri*)**

KOAY SUAT SUAT

**LATIHAN ILMIAH YANG DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI
SEBAHAGIAN DARIPADA SYARAT MEMPEROLEH
IJAZAH SARJANA MUDA SAINS MAKANAN
DENGAN KEPUJIAN (TEKNOLOGI
MAKANAN DAN BIOPROSES)**

**SEKOLAH SAINS MAKANAN DAN PEMAKANAN
UNIVERSITI SABAH
KOTA KINABALU**

2007

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS

JUDUL: PENENTUAN AKTIVITI ANTIOKSIDAN DALAM DUKUNG ANAK (Phyllanthus niruri)IJAZAH: SARJANA MUDA SAINS MAKANAN (TEKNOLOGI MAKANAN DAN BIOPROSES)SESI PENGAJIAN: 2004/03Saya KUAY SUAT SUAT

(HURUF BESAR)

mengaku membenarkan tesis (LPS/ Sarjana/ Doktor Falsafah) ini di simpan 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

(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

Suat.
(TANDATANGAN PENULIS)

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: 6-8-8, LIG KG MELAYU 2,BAJUDAR BARU,11500 AYER ITAM, PENANG.En. Mansoor Abdul Hamid

Nama Penyelia

Tarikh: 7/5/07Tarikh: 7/5/07

CATATAN: * Potong yang tidak berkenaan.

* Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampiran 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, at disertasi bagi pengajian secara kerja kursus dan penyelidikan, atau Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM)



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGAKUAN

Karya penyelidikan ini merupakan hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan, ringkasan dan rujukan yang telah saya jelaskan sumbernya.

7 MEI 2007

Suat .

(KOAY SUAT SUAT)

HN 2004-1979



PERAKUAN PEMERIKSA

DIPERAKUAN OLEH

TANDATANGAN

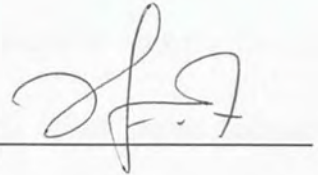
1. PENYELIA

(EN. MANSOOR ABDUL HAMID)



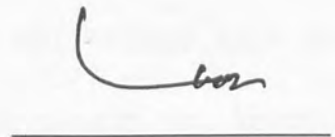
2. PEMERIKSA – 1

(PN. NOR QHAIRUL IZZREEN MOHD NOOR)



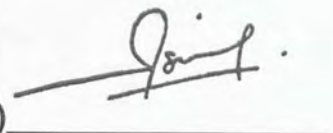
3. PEMERIKSA – 2

(DR. CHYE FOOK YEE)



4. DEKAN

(PROF. MADYA DR. MOHD. ISMAIL ABDULLAH)



PENGHARGAAN

Terlebih dahulu, saya ingin mengucapkan ribuan terima kasih kepada penyelia projek penyelidikan tahun akhir saya iaitu Encik Mansoor Abdul Hamid. Encik Mansoor Abdul Hamid telah banyak membantu saya sepanjang projek ini termasuklah segala komen-komen, teguran, bimbingan, nasihat dan sokongan.

Penghargaan saya juga ditujukan kepada Dekan Sekolah Sains Makanan Dan Pemakanan, Prof. Madya Dr. Ismail Abdullah dan semua pensyarah Sekolah Sains Makanan Dan Pemakanan yang telah memberi bimbingan dan berkongsi pengalaman sepanjang tahun pengajian saya di Universiti Malaysia Sabah. Ucapan terima kasih juga tidak lupa diucapkan kepada semua pembantu makmal Sekolah Sains Makanan Dan Pemakanan yang banyak membantu dalam penyempurnaan projek penyelidikan saya di makmal.

Ribuan terima kasih juga diucapkan kepada ahli keluarga saya yang tersayang yang telah banyak memberi bantuan, sokongan, dorongan serta keyakinan kepada saya dalam menyiapkan projek penyelidikan ini. Ucapan terima kasih juga tidak lupa diucapkan kepada semua rakan-rakan seperjuangan saya atas kerjasama dan bantuan yang diberikan sepanjang projek penyelidikan ini.

Ikhlas dari,
KOAY SUAT SUAT (HN 2004-1979)



ABSTRAK

Karya ilmiah ini dijalankan untuk mengkaji jumlah aktiviti antioksidan dan jumlah kandungan fenolik dalam herba dukung anak (*Phyllanthus niruri*). Dua jenis sampel yang digunakan dalam kajian ini iaitu sampel 1 yang dibeli dari Nova Laboratories dan sampel 2 yang dikumpul dan dikeringkan dengan ketuhar. Dua jenis pengekstrakan dijalankan terhadap sampel 1 dan sampel 2 iaitu air dan metanol dalam ujian antioksidan (ujian ferum (II) tiosianat, FTC dan ujian 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH). Ujian FTC dilakukan terhadap sampel 1 dan 2 dan ekstrak metanol dan air. Sampel 1 dalam ekstrak metanol mempunyai nilai peratus aktiviti antioksidan iaitu $74.42 \pm 0.89\%$ manakala sampel 2 dalam ekstrak air mempunyai nilai yang terendah iaitu sebanyak $53.69 \pm 0.74\%$. Nilai peratus penghapusan radikal DPPH yang paling tinggi dalam analisis ini ialah BHT pada kesemua kepekatan. Semua sampel mempunyai 50 peratus penghapusan radikal DPPH pada kepekatan melebihi 600 ppm kecuali sampel 2 dalam ekstrak air. Turutan menurun dalam peratus penghapusan radikal DPPH ialah ekstrak metanol sampel 1 > metanol sampel 2 > air sampel 1 > air sampel 2. Sampel 1 dan 2 dalam ekstrak aseton-metanol-air mempunyai 108.5 ± 0.1 mg GAE/g dan 97.8 ± 0.1 mg GAE/g kandungan kompaun fenolik dalam ujian Folin Ciocalteu. Dalam 1 mg GAE/g dalam *Phyllanthus niruri* adalah lebih tinggi dalam sampel 1. Secara keseluruhannya, sampel 1 mempunyai jumlah antioksidan dan jumlah kandungan fenolik yang lebih tinggi berbanding sampel 2.



DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY IN DUKUNG ANAK (*Phyllanthus niruri*)

ABSTRACT

*This research has been done to determine total antioxidant activity and total phenolic content present in dukung anak (*Phyllanthus niruri*). Two types of sample were used where sample 1 was bought from Nova Laboratories and sample 2 was collected and drying in oven. Two types of extraction were employed on both samples were water and methanol in the antioxidant tests (ferric thiocyanate, FTC and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH). Sample 1 in methanol extraction have highest percentage of antioxidant activity $74.42 \pm 0.89\%$ and lowest value of antioxidant activity is owned by sample 2 in water extraction that is $53.69 \pm 0.74\%$. BHT has highest percentage of scavenging radical DPPH at all concentration along the analysis. All samples reach 50% scavenging radical DPPH at concentration more than 600 ppm except sample 2 in water extraction. Scavenging radical DPPH in decreasing sequence is sample 1 in methanol extraction > sample 2 (methanol) > sample 1 (water) > sample 2 (water). Sample 1 and 2 *Phyllanthus niruri* in acetone-methanol-water extraction have 108.5 ± 0.1 mg GAE/g and 97.8 ± 0.1 mg GAE/g total phenolic compound in Folin Ciocalteu test respectively. *Phyllanthus niruri* has higher GAE/g value in sample 1. As conclusion, sample 1 has higher total antioxidant activity and total phenolic compound compared with sample 2.*



ISI KANDUNGAN

HALAMAN JUDUL	i
PENGAKUAN	ii
PENGAKUAN PEMERIKSA	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
<i>ABSTRACT</i>	vi
ISI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	xi
SENARAI RAJAH	xii
SENARAI SINGKATAN	xiv
SENARAI UNIT DAN SIMBOL	xv
SENARAI LAMPIRAN	xvi
 BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Pengenalan	1
1.2 Kepentingan Kajian	5
1.3 Objektif Kajian	5
1.4 Limitasi Kajian	6



BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN

2.1	Antioksidan dan Radikal Bebas	
2.1.1	Definisi Antioksidan	7
2.1.1.1	Antioksidan Semula jadi dan Antioksidan Sintetik	8
2.1.2	Definisi Radikal Bebas	11
2.1.3	Kesan dalam Kesihatan	14
2.2	Antioksidan dalam Makanan Diet (Dietary antioxidant)	
2.2.1	Vitamin E	15
2.2.2	Vitamin C	16
2.2.3	Karotenoid	17
2.2.4	Kumpulan Fenolik	19
2.3	Herba	20
2.4	Taksonomi Dukung Anak (<i>Phyllanthus niruri</i>)	22
2.4.1	Divisi: Magnoliophyta (angiosperma)	23
2.4.2	Kelas: Magnolipsida	24
2.4.3	Order: Malpighiales	25
2.4.4	Famili: Euphorbiaceae	25
2.4.5	Genus: <i>Phyllanthus</i>	26
2.4.6	Spesies: <i>Phyllanthus niruri</i>	28
2.5	Ciri-ciri dan Morfologi Dukung anak (<i>Phyllanthus niruri</i>)	
2.5.1	Deskripsi Dukung Anak (<i>Phyllanthus niruri</i>)	30
2.5.2	Habitat	35



2.5.3	Penanaman dan Penuaian	36
2.6	Kegunaan <i>Phyllanthus niruri</i> dalam Perubatan Tradisional	39
2.6.1	Kegunaan <i>Phyllanthus niruri</i> dalam Perubatan Tradisional	40
2.7	Fitokimia Dalam <i>Phyllanthus niruri</i>	43
2.7.1	Alkaloid	45
2.7.2	Flavonoid	46
2.7.3	Lignan	48

BAB 3 BAHAN DAN KAEDAH

3.1	Sampel	50
3.2	Bahan-bahan Kimia/ Reagen	50
3.3	Penyediaan Sampel	51
3.4	Pengekstrakan Untuk Ujian Jumlah Antioksidan	53
3.5	Pengekstrakan Untuk Ujian Jumlah Kandungan Fenolik	53
3.6	Ujian Jumlah Antioksida	
3.6.1	Ferum (II) Tiosianat (FTC)	54
3.6.2	Ujian 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)	56
3.7	Ujian Jumlah Kandungan Fenolik	57
3.8	Analisis Data Statistik	58



BAB 4 HASIL DAN PERBINCANGAN

4.1	Penyediaan Sampel <i>Phyllanthus niruri</i>	59
4.2	Pengekstrakan Untuk Ujian Jumlah Antioksidan	60
4.3	Pengekstrakan Untuk Ujian Jumlah Kandungan Fenolik	61
4.4	Ujian Jumlah Antioksida	
4.4.1	Ferum (II) Tiosianat (FTC)	61
4.4.2	Ujian 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)	64
4.5	Ujian Jumlah Kandungan Fenolik	69

BAB 5 KESIMPULAN DAN CADANGAN

5.1	Kesimpulan	72
5.2	Cadangan	73

RUJUKAN	75
----------------	----

LAMPIRAN	89
-----------------	----



SENARAI JADUAL

No. Jadual		Halaman
2.1	Pengelasan Dukung Anak (<i>Phyllanthus niruri</i>)	22
2.2	Susunan spesies <i>Phyllanthus</i> di Malaysia ke dalam subgenus dan sektio	27
2.3	Nama panggilan dalam <i>Phyllanthus niruri</i> bagi negara-negara berbeza	29
2.4	Perbandingan sifat pertumbuhan antara spesies dukung anak	31
2.5	Pembajaan <i>Phyllanthus niruri</i> di beberapa jenis tanah	38
2.6	Kegunaan <i>Phyllanthus niruri</i> di beberapa Negara	42
2.7	Bahan aktif dalam <i>Phyllanthus niruri</i>	44
3.1	Alat radas yang digunakan	50
3.2	Bahan kimia yang digunakan	51
4.1	Peratusan penghapusan radikal DPPH (1 %) dalam sampel 1 dan 2 dalam ekstrak metanol dan air	69



SENARAI RAJAH

No. Rajah		Halaman
2.1	Sumber utama radikal bebas dalam tubuh badan dan konsekuensi daripada kerosakan radikal bebas.	12
2.2	Pertumbuhan <i>Phyllanthus niruri</i> di kawasan tanah gambut	33
2.3	Pertumbuhan <i>Phyllanthus niruri</i> di kawasan terbiar	34
2.4	Sepohon <i>Phyllanthus niruri</i> di dalam plastik	34
2.5	Buah <i>Phyllanthus niruri</i> terbentuk di celah setiap daun kecil	35
2.6	Struktur kimia niruriside	45
2.7	Struktur kimia geraniin	46
2.8	Struktur kimia phyllanthin	46
2.9	Struktur molekul flavone	47
2.10	Struktur kimia rutin	47
2.11	Struktur kimia quercetin	48
2.12	Struktur kimia hypophyllanthin	48
2.13	Struktur kimia nirtetralin	49
2.14	Struktur kimia phylteralin	49
3.1	Carta alir penyediaan sampel dan ekstrak	52
3.2	Sampel <i>Phyllanthus niruri</i> 1	52
3.3	Sampel <i>Phyllanthus niruri</i> 2	52
3.4	Carta alir bagi kaedah Ferum Tiosianat (FTC)	55



3.5	Carta alir bagi kaedah 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)	57
3.6	Carta alir bagi kaedah Folin-Ciocalteu	58
4.1	Aktiviti antioksida oleh BHT, sampel 1 dan 2 dalam ekstrak metanol dan air dalam penghapusan radikal DPPH	66
4.2	Graf piawai asid galik pada penyerapan cahaya 760 nm	70

SENARAI SINGKATAN

ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
SST	Sekolah Sains dan Teknologi
SSMP	Sekolah Sains Makanan dan Pemakanan
UMS	Universiti Malaysia Sabah
FAO	<i>Food and Agricultural Organization</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
RNI	<i>Recommended Nutrient Intake</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
RAE	<i>Retinol Activity Equation</i>
SOD	<i>Superoxide dimutase</i>
ROS	<i>Reactive oxygen species</i>
HIV	<i>Human immunodeficiency virus</i>
AIDS	<i>Acquired immunodeficiency syndrome</i>
GAE	<i>Gallic acid Equation</i>



SENARAI UNIT DAN SIMBOL

%	Peratus
cm	Sentimeter
mm	Milimeter
g	Gram
μg	Mikrogram
mg	Milligram
ml	Milliliter
l	Liter
nm	Nanometer
β	Beta
°C	Darjah selsius
&	Dan
±	Lebih atau kurang
<	Kurang
>	Lebih
ppm	<i>Parts per million</i>
rpm	<i>Resolution per minute</i>



SENARAI LAMPIRAN

No. Lampiran		HALAMAN
A	Ujian <i>Paired Samples T-Test</i>	89
B	Ujian <i>Independent Samples T-Test</i> dalam Metanol	90
C	Ujian <i>Independent Samples T-Test</i> dalam Air	91



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Pengenalan

Antioksidan merupakan satu sebatian organik di mana dapat meneutralkan molekul oksigen yang reaktif dan mempertahankan badan manusia daripada kerosakan akibat daripada pengoksidaan (Smolin & Grosvenor, 2003). Antioksidan terdiri dari jenis enzim dan bukan enzim (sebatian organik) yang berkebolehan untuk mengurangkan kesan kerosakan radikal-radikal bebas dalam tisu tumbuhan dan haiwan.

Tumbuhan menghasilkan pelbagai sebatian antioksidan untuk menentang kehadiran pelbagai radikal bebas, manakala manusia pula perlu bergantung kepada tumbuhan yang tinggi kandungan antioksidannya untuk bekalan sebatian antioksidan bagi keperluan sistem pertahanan badan (Virmala, Adnan & Ahmad, 1998). Peranan antioksidan aktif dan radikal bebas semakin direstui oleh orang ramai kerana terlibat dalam pelbagai penyakit manusia dengan kerosakan tisu (Halliwell *et al.*, 1992). Pengeluaran oksigen aktif dan radikal bebas oleh karsinogen kimia akan memainkan peranan dalam proses karsinogenik (Cerutti, 1985).

Mengikut kepada Halliwell & Gutteridge (1989), radikal bebas membawa maksud sebarang spesies molekul yang hadir sendiri/ berdikari, ianya mengandungi elektron



yang tidak berpasangan dalam orbit atom. Ciri-ciri radikal seperti ditarik dengan lemah oleh medan magnet dan sangat reaktif. Radikal-radikal bebas samada menderma satu elektron kepada molekul yang lain atau menerima satu elektron daripada mereka. Oleh itu, radikal-radikal bebas boleh berkelakuan sebagai agen pengoksidaan atau agen penurunan. Oleh kerana tindak balas yang tinggi, kebanyakan radikal-radikal mempunyai hayat yang pendek di antara 10⁻⁶ saat atau kurang daripada itu dalam sistem biologi, manakala sebahagian kecil pula boleh hidup lebih lama (Halliwell & Gutteridge, 1989).

Kompaun fenolik biasanya boleh dijumpai dalam tumbuhan herba (Loliger, 1991). Fenolik boleh dibahagikan kepada empat kumpulan yang utama iaitu fenol, fenolik, asid terbitan hidroksicinnamik (Ho, 1992). Kompaun ini juga merupakan sumber antioksidan secara semula jadi. Demi sebab ini, perhatian terhadap bahan tumbuhan dalam kandungan fenolik adalah semakin meningkat dalam industri makanan. Di samping itu, kumpulan fenolik juga berfungsi dalam menghalang penurunan dalam oksidatif lipid dengan menambahkan kualiti dan nilai pemakanan dalam makanan. Kepentingan utama kumpulan fenolik sebagai makanan berfungsi adalah dalam penjagaan kesihatan dan mengelakkan penyakit jantung serta kanser (Loliger, 1991).

Kajian epidemiologikal telah mengesahkan bahawa pengambilan antioksidan seperti vitamin C dan vitamin E dapat mengurangkan risiko dalam menghadapi penyakit jantung, strok dan kanser (Gale *et al.*, 1995; Hoffman *et al.*, 1995). Oleh itu, pemakanan antioksidan memainkan peranan penting dalam mengelakkan penyakit-penyakit. Terdapat beberapa antioksidan sintetik telah diperkenalkan seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), dan *butylated hydroxyquinone* (TBHQ) adalah digunakan secara komersial pada masa kini. Akan tetapi, antioksidan



sintetik mendapat perhatian orang ramai tentang keselamatan dan ketoksikannya (Ito *et al.*, 1986). Dengan itu, perkembangan mendapatkan antioksidan semula jadi daripada tumbuh-tumbuhan masih dikatakan merupakan cara yang penting.

Malaysia adalah negara beriklim tropika yang mendapat cahaya matahari sepanjang tahun. Cahaya matahari ini menjadi salah satu sumber aruhan tegasan oksidatif dalam tumbuhan yang boleh menghasilkan radikal bebas. Untuk hidup, tumbuhan ini perlu mempunyai mekanisme pertahanan antioksidan yang baik. Oleh yang demikian, munculnya pelbagai spesies tumbuhan di negara ini yang mempunyai kapasiti antioksidan yang tinggi. Terdapat 10000 spesies tumbuhan peringkat tinggi dan 2000 spesies tumbuhan peringkat rendah di Semenanjung Malaysia, 16 peratus daripadanya mempunyai nilai perubatan (Hamid, 2001).

Negara kita, Malaysia sememangnya kaya dengan khazanah biodiversiti dari spesies dan segi baka yang baik. Seperti yang diketahui bahawa tumbuhan mempunyai nilai dalam perubatan tradisional tempatan. Apabila ubat herba disebut, maka kebanyakan orang ramai lazimnya akan terfikirkan tumbuhan liar seperti tongkat ali, kacip Fatimah dan bunga pakma (Ong, 2004).

Dukung anak atau juga dikenali dengan buah amin ialah sejenis rumpai yang boleh tumbuh di kawasan yang mempunyai habitat yang berbeza. Dukung anak tergolong dalam genus *Phyllanthus*. Genus *Phyllanthus* mempunyai lebih daripada 500 spesies dan sebahagian besar daripadanya mempunyai nilai perubatan yang tinggi (Musa, Zahara & Wan, 2005). Walaupun tumbuhan ini dikenali sebagai rumpai bagi petani tetapi juga merupakan tumbuhan yang khasiat perubatan yang bernilai bagi



pengamal perubatan tradisional. Tumbuhan genus ini digunakan untuk rawatan pelbagai penyakit sama ada oleh penduduk di kawasan tropika atau suhu sederhana.

Berdasarkan khasiat yang menakjubkan ini, dukung anak (*Phyllanthus niruri*) telah dianggap sebagai salah satu tanaman terpenting dalam abad ke-21. Antara spesies *Phyllanthus* yang banyak digunakan sebagai tumbuhan ubatan di Malaysia ialah cermai (*P. acidus*), pokok Melaka (*P. emblica*) dan naga buana (*P. pluchea*) (Musa, 1999).

Phyllanthus niruri lebih mudah didapati. *Phyllanthus niruri* merupakan tumbuhan yang tegak, beranting dan mencapai 60 m tinggi. Daunnya bertepi licin, bentuk bulat telur dan membujur serta panjangnya 5-8 cm. *Phyllanthus niruri* juga mempunyai ciri-ciri seperti bunganya kecil, terbentuk pada rangkai pendek di ketiak daun serta mengadap ke bawah. *Phyllanthus niruri* membiak melalui biji yang terletak di dalam kapsul buah (Musa, 1991).

Dukung anak (*Phyllanthus niruri*) kebiasaannya bertumbuh subur di kawasan lapang yang terbiar atau di tepi jalan raya. Oleh yang demikian ia kelihatan seperti rumpai liar. Antara kegunaan pokok ini adalah mengubati hepatitis B (Mexia, Haowei & Yanjun, 1995) dan di Malaysia ia digunakan untuk merawat kencing tidak lawas, cirit-birit, kencing berdarah (Muhamad, 1994), penyakit batu karang, demam kuning, dan tekanan darah tinggi (Mustafa, 1992).



1.2 Kepentingan Kajian

Pada era yang moden ke-21, kesedaran yang meningkat dan semakin menitikberatkan kesihatan dan nutrisi dalam makanan di kalangan orang ramai Malaysia. Pemakanan makanan yang mengandungi antioksidan disebabkan oleh peranannya utama yang boleh melindungi badan daripada kerosakan oleh radikal bebas. Produk-produk herba didapati semakin memperolehi pasaran yang potensi yang baik di Malaysia disebabkan kelebihannya dalam kesihatan. Dalam kajian ini, jumlah aktiviti antioksidan dan jumlah kandungan fenolik dalam dukung anak (*Phyllanthus niruri*) ditentukan. Dengan ini, kajian akan menjadikan sebagai satu maklumat penting kepada orang ramai dan menggalakkan mereka menggunakannya sebagai sebahagian dalam makanan dietnya di samping mengelakkan daripada penyakit kemerosotan (*degenerative diseases*). Selain itu, saya juga berharap kajian ini dapat menggalakkan industri makanan tempatan untuk mewujudkan pelbagai jenis produk-produk herba seperti dukung anak (*Phyllanthus niruri*) lalu mengkomersialkannya ke luar negara mahupun dalam negeri.

1.3 Objektif Kajian

Objektif am kajian ini ialah penentuan jumlah aktiviti antioksidan dan jumlah kandungan fenolik dalam dukung anak (*Phyllanthus niruri*). Manakala objektif spesifik dalam kajian ini:

1. Untuk menentukan dan membandingkan jumlah kandungan antioksidan dalam dukung anak (*Phyllanthus niruri*) dengan *ferric thiocyanate* (FTC) dalam ekstrak air dan metanol



2. Untuk menguji dan membandingkan aktiviti penghapusan radikal dengan DPPH dalam ekstrak air dan metanol
3. Untuk menentukan dan membandingkan jumlah kandungan fenolik dalam dukung anak (*Phyllanthus niruri*) dengan Folin Ciocalteu

1.4 Limitasi Kajian

Dalam kajian yang dijalankan, kandungan mineral dalam tanah, cuaca, lokasi tempat dukung anak (*Phyllanthus niruri*) ditanam serta spesies herba yang dibuat kajian mungkin mempengaruhi kandungan antioksidan dan fenolik di dalam herba yang dikaji. Tempoh kematangan buah juga tidak dapat dikenalpasti kerana sampel dari Nova Laboratories, Selangor. Tempoh kematangan mungkin mempengaruhi antioksidan di dalam sampel yang dikaji.

Tambahan pula, anggapan dibuat bahawa dukung anak (*Phyllanthus niruri*) yang diperolehi dalam kajian ini tidak akan dijadikan sebagai representatif dengan sampel yang diperolehi dari penanaman berskala besar dan di dalam negeri Malaysia.



BAB 2

ULASAN PERPUSTAKAAN

2.1 Antioksidan dan Radikal Bebas

2.1.1 Definisi Antioksidan

Oksigen merupakan elemen yang terpenting kepada semua benda hidup seperti manusia, haiwan dan tumbuhan dalam kehidupan. Oksigen biasanya digunakan sebagai penerima untuk agen penurunan dan terlibat dalam proses respirasi dan fotorespirasi. Semasa proses ini berlangsung, molekul oksigen dan air akan dihasilkan sebagai oksigen terturun. Walaubagaimanapun, selain dua hasil oksigen terturun ini, spesies terturun oksigen yang reaktif juga terbentuk. Akan tetapi, oksigen yang kita sedut untuk bernafas akan menjadi musuh kepada tubuh badan kita. Hal ini demikian kerana tindakan pengoksidaan tertentu adalah diperlukan untuk hidup; tetapi, tindakan pengoksidaan yang terlalu melampau akan mencederakan dan membinasakan badan kita (Mc Cord, 1987). Terdapat empat jenis bentuk oksigen yang boleh merosakkan kita yang telah dikenalpasti iaitu: (i) radikal hidroksil, (ii) radikal superoksida (dua radikal bebas), (iii) spesies oksigen yang bukan radikal reaktif tunggal, dan (iv) peroksida hidrogen (Miller, 1995).



- Braca, A., Fico, G., Poloti, M., Morelli, I. & Mendez, J. 2002. Antioxidant activity of flavonoids from *Licania licaniaeflora*. *Journal of Ethnopharmacology*. 79: 379-381.
- Braca, A., Fico, G., Morelli, I., De Simone, F., Tome, F. & De Tommasi, N. 2003. Antioxidant & free radical scavenging activity of flavonol glycosides from different *Aconitum* sp. *Journal of Ethnopharmacology*. 86: 63-67.
- Brigelius-Flohe, R. 1999. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radic. Biol. Med.* 27: 951-965.
- Buelga, C.S. & Williamson, G. 2003. *Methods in Polyphenol Analysis*. Cambridge: Royal Society of Chemistry.
- Burda, S. & Oleszek, W. 2001. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49: 2774-2779.
- Burkhill, I.H. 1966. *Dictionary of the Economic Products of the Malay Peninsula*. Vol. II. Kuala Lumpur: Ministry of Agriculture and Cooperatives.
- Caius, J.F. 1986. *The medicinal and poisonous plants of India*. India: Scientific Publ., Jodhpur. 220-223.
- Cao, G., Sofic, E., & Prior, R. L. 1997. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure –activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*. 22: 749-760.
- Cerutti, P.A. 1985. Prooxidant states and tumor promotion. *Science*. 227: 375-381.
- Chang, W.S., Lee, Y.L., Lu, F.I & Chiang, H.C. 1993. Inhibitory effects of flavonoids on xanthine oxidase. *Anticarcers Research*. 13: 2165-2170.



- Chauhan, J.S., Sultan, M. & Srivastava, S. K. 1977. Two new glycoflavones from the roots of the *Phyllanthus niruri*. *Planta Med Suppl.* 32:217-222.
- Chen, C. W., & Ho, C. T. 1995. Antioxidant properties of polyphenols extracted from green tea and black tea. *Journal of Food Lipids.* 2: 35-46.
- Collier, W.A. & Van De Piji, L. 1949. The antibiotic action of plants, especially the higher plants, with results with Indonesian plants. *Chron Nat.* 105:8
- Copper, K. & Kenneth H, M.D. 1994. *Antioxidant Revolution*. Nashville: Thomas Nelson Publisher.
- David, M. 1984. *Conservation of crop germplasm – an international perspective crop science society of America, 677 south Segoe Road, Madison, wi53711.* 8 : 1-55.
- Davies, K.J.A. 1991. *Oxidative Damage and Repair*. New York: Pergamon Press.
- Fasihuddin Ahmad. 1993. Penggunaan tumbuhan ubatan oleh suku kaum di Sabah. Dlm. Khozirah Shaari, Azizol Abdul Kadir, Mohd. Ali Abd. Razak (pnyt.). *Proceeding of the Conference Medicinal Prodcuts From Tropical Rain Forests*. Kepong: Forest Research Institute Malaysia. 80-92.
- Gale, C.R., Martyn, C.N., Winter, P.D. & Cooper, C. 1995. Vitamin C and risk of death from stroke and coronary heart disease in cohort of elderly people. *Br. Med. J.* 310: 1563-1566.
- Gulcin, I., Sat, I.G., Beydemir, S., Elmastas, M. & Kufrevioglu, O.I. 2004. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata thunb*) bud and lavender (*Lavandula stoechas L.*). *Food Chemistry.* 87: 393-400.
- Gupta, O.P. 1984. *Scientific weed management*. New Delhi: Today and Tomorrow's Printers and Publ.



- Gupta, S., Yadava, J. N. S. & Tandon, J. S. 1993. Antisecretory (antidiarrheal) activity of Indian medicinal plants against *Escherichia coli* enterotoxin induced secretion in rabbit and guinea pig ileal loop model. *Int J pharmacol.* 30(3): 198-204.
- Gutteridge, J.M. & Halliwell, B. 2000. Free radicals and antioxidants in the year 2000: a historical look to the future. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 899: 136-147.
- Hash & Robert. 1994. *Eat smart think smart*. New York: Harper Collins. 40-43.
- Halliwell, B. 1994. Free radicals, antioxidants and human diseases: curiosity, cause or consequence. *Lancet.* 344: 721-724.
- Halliwell, B. 1995. How to characterize an antioxidant: an update. *Biochem. Soc. Symp.* 61: 73-101.
- Halliwell, B. 1996. Antioxidants in Human Health and Disease. *Annual Revision Nutrition.* 16: 33-50.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J.C. 1995. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radic Biol Med.* 18: 125-126.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J.M. 1989. *Free radicals in biology and medicine*. 2nd edition. Oxford: Clarendon Press.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J.M.C. 1990. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol.* 186: 1-85.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. & Cross, C.E. 1992. Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now? *Journal Lab. Clin. Med.* 119: 598-620.
- Harborne, J.B. 1960. The chromatography of the flavonoid pigments. *Chromatog. Rev.* 2 Press. 103-106.



- Harinder, S.G. 1997. *Antioxidants and Diseases Prevention*. New York: CRC Press.
- Harish, R. & Shivanandappa, T. 2006. Antioxidant activity and hepatoprotective potential of *Phyllanthus niruri*. *Food Chemistry*. 95: 180-185.
- Henderson, M.R. 1974. *Malayan wild flowers dicotyledons*. Kuala Lumpur: Art Printing Works. 462-463.
- Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H. & Venema, D.P. 1992. Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids of vegetables and fruits. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 40: 1591-1598.
- Hirschman, G.S. & Rojas de Arias, A. 1990. A survey of medicinal plants of Minas Gerais, Brazil. *J Ethnopharmacol*. 29(2): 159-172.
- Ho, C.T. 1992. Phenolic Compounds in Food. In *Phenolics Compounds In The Food & Their Effect In Health II: Antioxidants & Canser Prevention*. USA: American Chemical Society.
- Hoffman, R.M. & Garewal, H.S. 1995. Antioxidants and the prevention of coronary heart disease. *Arch. Intern. Med*. 155: 241-246.
- Holben, D.H. & Smith, A.M. 1999. The diverse role of selenium within selenoproteins: a review. *Journal Am. Diet Assoc*. 99: 836-843.
- Holm-nielsen, L.B. 1979. Comments on the distribution and evolution of the genus *Phyllanthus* (Euphorbiaceae). In: Larsen, K. and Holm-Nielsen L.B. (eds.). *Tropical Botany*. New York: Academic Press. 277-290.
- Holttum, R.E. 1989. *Plant Life in Malaysia*. (Cetak Ulang). Kuala Lumpur: Longman.



- Howell, J.C. 1986. Food antioxidants, international perspectives-welcome and industry remarks. *Food chemistry toxicol.* 24: 997.
- Hukeri, V.I., Kalyani, G. A. & Krakani, H. K. 1988. Hypoglycemic activity of flavonoids of *phyllanthus fraternus* in rats. *Fitoterapia.* 59(1):68-70.
- Huang, D.J., Lin, C.D., Chen, H.J. & Lin, Y.H. 2004. Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato constituents. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 45: 179-186.
- Indu, B.J. & Ng, I.T. 2000. *Herbs : The Green Pharmacy of Malaysia*. Serdang: Malaysian agricultural research and development institute (MARDI). 78-80.
- Ito, N., Hirose, M., Fukushima, S., Tsuda, H., Shira, T. & Tatematsu, M. 1986. Studies on antioxidants: Their carcinogenic and modifying effects on chemical carcinogenesis. *Food Chem. Toxicol.* 24: 1071-1082.
- Jain, S.R. & Sharma, S.N. Hypoglycaemic drugs of Indian indigenous origin. 1967. *Planta Med.* 15(4): 439-442.
- Jenkins, D. 1995. Clinical trials and efficacy testing of functional foods. Pre-conference proceedings of the first Canadian workshop/symposium on functional foods. *Toronto Sept 28-29 & 18-19.*
- John, D. 1984. One hundred usefull rew drugs of the Kani Tribes of Trivandrum Forest Division, Kerala, India. *Int J crude Drugs Res.* 22(1): 17-39.
- Jorgensen, E. & Skibsted, I.F. 1993. Carotenoid scavenging of radicals. *Zlebensm Unters Forsh.* 196 : 423-429.
- Khan, M.R., Ndaalio, G., Nkunya, M.H.H. & Wevers, H. 1987. Studies on the rational medine. Part II. Preliminary screening of medicinal plants for anti-gonococci activity. *Pak J Sci Ind Res.* 27(5/6): 189-192.



- Khairana, H., Juriayati, J., Jamia, A.J., Ibrahim, J. & Azean A.G. 2000. Penggunaan tumbuhan ubatan untuk merawat penyakit diabetes dalam perubatan tradisional Melayu. Dalam Chang, Y.S., Mastura M., Vimala S. & Zainon, .A.S. *Proceeding of the Seminar on Medicinal & Aromatic Plants: Towards Bridging Science and Herbal Industry, 12-13 September*. Kuala Lumpur: Forest Research Institute Malaysia. 253-256.
- Kikuzaki, H. & Nakatani, N. 1993. Antioxidant effects of some ginger constituents. *Journal Food Science*. 58: 1407-1410.
- Kirkman, H.N., Galiano, S. & Gaetani, G.F. 1987. The function of catalase-bound NADPH. *Journal Biol. Chem*. 26: 660-665.
- Kitisin, T. 1952. Pharmacological studies. 3. *Phyllanthus niruri*. *Siriraj Hospital Gaz*. 4:641-649.
- Kahkonen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S. & Heinonen, M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47 (10): 3954-3962.
- Kumazawa, S., Hamasaka, T. & Nakayama, T. (2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins, *Food Chem*. 84: 329-339.
- Larson, R.A. 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*. 27: 969-978.
- Loliger, J. 1991. The Uses of Antioxidants In Food. In *Free Radicals and Food Additives*. London: Taylor and Francis.
- MC Cord, J.M. 1987. Oxygen derived radicals a link between reperfusion injury and inflammation. *Federation Proceedings*. 46: 2402-2409.
- Mehrotha, R., Rawat, S., Kulshreshtha, D.K., Patnaik, G. K. & Dhawan, B. N. 1990. In vitro studies on the effect of certain natural products against hepatitis B virus.



Indian J Med Res B. 92(2): 133-138.

Meixa, W., Haowei, C. & Yanjun, L. 1995. Herbs of the genus *Phyllanthus* in the treatment of chronic hepatitis B : Observation with three preparations from different geographic sites. *Journal Laboratory Clinical Medical.* 2:126-350.

Miller, B. 1995. *Antioxidant Made Simple*. Texas: Bruce Miller Enterprise.

Mohamad, Y.T., Siti, H.M.Y., Noor, E.M.N., Abdul, A.K, Soepadmo, E. & Asmah, O.. 1986. *Biologi, Satu Pendekatan dari Segi dan Fungsi*. (Cetak Ulang). Kuala Lumpur: Universiti Malaya.

Moreno, A.R. 1975. *Two Husband Sixty Eight Medicinal Plants Used To Regulated Fertility in Some Countries of South America*. Unpublished (Stenciled) Review in Spanish.

Mulchandani, N.B. & Hassarajani, S.A. 1984. 4-Methoxy-nor-securinine, a new alkaloid from *phyllanthus niruni*. *Planta Med.* 1: 104,105.

Muhamad Zakaria & Mustafa Ali Mohd. 1992. *Tumbuhan dan Perubatan Tradisional*. Kuala Lumpur: Fajar Bakti.

Muhamad, Z.B. 1994. *Kajian Entobotani dan Morfologi Tumbuhan Ubatan*. Selangor: Fakulti Pertanian, UPM. 26-27.

Musa, Y. 1999. *Agromedia*. Bil. 16. Serdang: MARDI Telong.

Musa Yaakob. 1991. *Teknologi Makanan*. Jil. 7. Serdang: MARDI.

Musa, Y., Zaharah, A. & Wan Zaki Wan Mamat. 2005. *Dukung Anak. Dalam Penanaman Tumbuhan Ubatan dan Beraroma*. Serdang: MARDI.



- Mustafa, A.M & Muhamad B.Z. 1992. *Tumbuhan dan Perubatan Tradisional*. Kuala Lumpur: Fajar Bakti Sdn. Bhd. 122-123.
- Mustafa, A.M. & Muhamad B.Z. 1994. *Traditional Malay Medicinal Plants*. Kuala Lumpur: Fajar Bakti Sdn. Bhd. 1-11.
- Nacz, M., Wanasundara, P.K.J.P.D., & Shahidi, F. 1992. Facile spectrophotometric quantification method of sinapic acid in hexane-extracted and methanol-ammonia water-treated mustard and rapeseed meals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40(3): 444-448.
- Niki, E. 2001. Free radicals in the 1990s: from in vitro to in vivo. *Free Radical Res*. 33: 693-704.
- Ogata. T., Higuchi H., Mochida S., Matsumoto H., Kato A., Endo T., Kaji, A. & Kaji, H. 1992. HIV-1 reverse transcriptase inhibitor from *Phyllanthus niruri*. 1937-1944. *AIDS Res Human Retroviruses*.
- Osawa, T. & Namiki, M. 1981. A novel type of Antioxidant Isolated from Leaf Wax of eucalyptus leaves. *Agricultural and Biological Chemistry*. 45 (3): 735-739.
- Papas, A.M. 1996. Determinants of antioxidant status in humans. *Lipids*. 31: 77-82.
- Pomeranz, Y. & Meloan, C.E. 1980. *Food Analysis Laboratory Experiments*. Westport: AVI Publishing Company, INC.
- Porcher, Michel H. 2004. 1995 - 2020, *Sorting Phyllanthus Names*. *Multilingual Multiscript Plant Name Database (M.M.P.N.D) - A Work in Progress*. Australia: Institute of Land & Food Resources. The University of Melbourne. Atas talian: <http://gmr.landfood.unimelb.edu.au/Plantnames/Sorting/Phyllanthus.html>.



- Pratt, O.E. 1992. Natural antioxidants from plant material. *In phenolic compounds in the food and their effect on health II: Antioxidants & cancer prevention*. Huang, M.T., Ho, C.T. & Chang, Y.C. USA: American Chemical Society.
- Profesor Dr. Ong Hean Chooi. 2004. *Tumbuhan Liar: Khasiat Ubatan dan Kegunaan Lain*. Kuala Lumpur: Utusan Publication & Distribution Sdn. Bhd.
- Quisumbing, E. 1951. Medicinal plant of the Philippines. *Tech Bull 16*, Rep Philippines, Dept Agriculture National Resources, Manila.
- Raja, M. 2000. Medicinal and aromatic plants. A consumer perspective. Dalam Chang, Y.S., Mastura M., Vimala, S. & Zainon, A.S. *Proceeding of the Seminar on Medicinal & Aromatic Plants: Towards Bridging Science and Herbal Industry, 12-13 September*. Kuala Lumpur: Forest Research Institute Malaysia. 26-31.
- Ramirez, V.R., Mostacero, L.J., Garcia, A.E., Mejia, C.F., Pelaez, P.F., Medina, C.D. & Miranda, C.H. 1988. Vegetables empleados en medicina tradicional Norperuana. *Banco Agrario Del Peru & NACL Univ Trujillo, Peru, June*. 54.
- Ridley, H.N. 1923. *Flora of the Malay Peninsula*. Kuala Lumpur: Art Printing Works. 3: 199-205.
- Robinson, E.E., Maxwell, S.R.J. & Thorpe, G.H.G. 1997. An investigation of the antioxidant activity of black tea using enhanced chemiluminescence. *Free Radical Res.* 26: 291-302.
- Rose, J.K.L. 1995. *Kajian Morfologi dan Palinologi Beberapa Jenis Tumbuhan Ubatan*. Selangor: Fakulti pertanian, UPM. 29-30.
- Ross, I.A. 2003. *Medicinal Plants of the World*. Vol. 1: Chemical Constituents, Traditional and Modern Medicinal Uses. 2nd edition. Totowa: Human Press Inc.



- Santo, A.R., Filho, V.C., Niero, R., Viana, A.M., Moreno, F.N., Campos, M.M., Yunes, R.A. & Calixto, J.B. 1994. Analgesic effects of callus culture extracts from selected species of *Phyllanthus* in mice. *J Pharm Pharmacog.* 46(9): 755-759.
- Satue-Gracia, M. T., Heinonen, M., & Frankel, E. N. 1997. Anthocyanins as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin liposome systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 45: 3362-3367.
- Sayyada Khatoon, Vartika Rai, Ajay Kumar Singh Rawat & Shanta Mehrotra. 2006. Comparative pharmacognostic studies of three *Phyllanthus* species. *Journal of Ethnopharmacology.* 104: 79-86.
- Schavenberg, P. & Paris, F. 1977. *Guide to Medical Plants.* New York: Kents Publishing, Inc., Connection.
- Simic, M.G. & Jovanovic, S.V. 1994. Inactivation of Oxygen Radicals by Dietary Phenolic Compounds in Anticarcinogenesis. In *Food Phytochemicals for Cancer Prevention II: Teas, Spices, and Herbs.* Ho, C.T., Osawa, T., Huang, M.T. and Rosen, R.T. Washington: American Chemical Society. Pg 20-32.
- Sircar, N.N. 1984. Pharmaco-therapeutics of Dasemani drugs. *Ancient Sci Life.* 22(3): 111-119.
- Smolin, L.A. & Grosvenor, M.B. 2003. *Nutrition From Science To Life.* Forth Worth: Harcourt College Publishers.
- Sparz, L. & Bloom, A.D. 1992. *Biological consequences of oxidative stress implications for cardiovascular disease and carcinogenesis.* Oxford: Oxford University Press. 590.
- Srivastava Anup, Harish, Shereen R. & Shivanandappa, T. 2006. Antioxidant activity of the roots of *Decalepis hamiltonii* (Wight & Arn.). *LWT.* 39: 1059-1065



- Stevanato, R., Fabris, S. & Momo, F. 2004. Enzymatic method for the determination of total phenolic content in tea and wine. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 52: 6287-6293.
- Suh, N., Luyengi, L., Fong, H.H.S., Kinghorn, A.D. & Pezzuto, J.M. 1995. Discovery of natural product chemopreventive agents utilizing HL-60 cell differentiation as a model. *Anticancer Research*. 15: 223-240.
- Taylor, L. 2003. Chanca Piedra (Stone breaker). Atas talian: <http://www.rain-tree.com/chanca.htm>. Printed on 2003.
- Vazquez, B., Avilla, G., Segura, D. & Eslante, B. 1996. Anti-inflammatory activity of extracts from Aloe vera gel. *Journal Ethnopharmacology*. 55: 69-75.
- Velazco, E.A. 1980. Herbal and traditional practices related to maternal and child health care. *Rural Reconstruction Review*. 35-39..
- Virmala, M.K., Adnan, M.I. & Ahmad, A.R. 1998. Antioxidant ulam to fight free radicals. Frim in focus (December). *Newsletter of forest research insititute of Malaysia*. Publ. no. 5.
- Watson, L & Dallwitz, M.J. 1992. Euphorbiaceae in the families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, information retrieval. Atas talian: <http://delta-intkey.com>.
- Wasuwat, S. 1967. A list of Thai medicinal plants, ASRCT, Bangkok, Report No.1 on Res. Project 17. *ASRCT Bangkok Thailand*. 17: 22.
- Webster, G.L. 1956. A monographic study of the West Indian species of *Phyllanthus*. *Journal Arnold Arbor*. 37 : 91-122, 217-268, 340-359, 38: 51-80, 170-198, 295-373, 39: 49-100, 111-212.
- Wiat, C. 2002. *Medicinal plants of Southeast Asia*. 2nd edition. Malaysia: Prentice Hall Person Sdn. Bhd.



- Wong, Y.Y. & Kitts, D. 2006. Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. *Food Chemistry*. 97:505–515.
- Wrolstad, R.E., Acrel, T.C., Decker, C.A., Penner, M.H., Reid, O.S., Schwartz, S.J., Shoemaker, C.F., Smith, D. & Sparns, P. 2003. *Handbook of food analytical chemistry: Pigments, colorants, flavors, texture and bioactive food components*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. Publishing.
- Wurtzen, G & Olsen, P. 1986. BHA study in pigs. *Food Chemistry Toxicol.* 24: 1229-1233.
- Yapp, D.T. 1995. Medicinal products from the Sarawak forest-a potential non-timber forest product or not? Dlm. Yaakub Johari, Maryati Mohammed & Sintoh, M. (pnyt.). *Sustainable Utilization of NTFP*. Issues 2nd prospects. Kuala Lumpur: Pelanduk Publication. 231-237.

