

**KAJIAN PENYARINGAN FITOKIMIA DAN
AKTIVITI BIOLOGI KE ATAS ORKID**

NUR HANIM BINTI MOHAMAD

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

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

MAC 2005



BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: KAJIAN PENYARINGAN FITOKIMIA DAN AKTIVITI
BIOLOGI KE ATAS ORKID

Ijazah: SARJANA MUDA SAINS DENGAN KEPUJIAN (BIOTEKNOLOGI)

SESI PENGAJIAN: 2002/03

Saya NUR HANIM BINTI MOHAMAD
 (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

(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

[Signature]
 (TANDATANGAN PENULIS)

[Signature]
 (TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: LOT 952, KAMPUNG
BUDI, JALAN TAWANG,

DR. JUALANG @ AZLAN GANSALI
 Nama Penyelia

16020 KOTA BHARU, KELANTAN.

Tarikh: 29/3/05

Tarikh: 29/3/05

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).



PENAKUAN

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

Mac 2005


NUR HANIM BINTI MOHAMAD

HS2002-3097



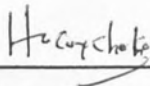
DIPERAKUKAN OLEH

Tandatangan

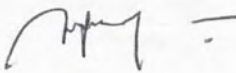
1. **PENYELIA**
DR. JUALANG @ AZLAN GANSAU



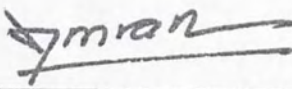
2. **KO-PENYELIA**
PROF. DR. HO COY CHOKE



3. **PEMERIKSA 1**
DR. WONG NYET KUI



4. **DEKAN**
PROF. MADYA DR. AMRAN AHMED





PENGHARGAAN

Dikeempatan ini saya ingin mengucapkan ribuan terima kasih kepada semua pihak yang telah banyak membantu saya dalam menyiapkan disertasi ini terutamanya kepada penyelia projek, Dr. Jualang @ Azlan Gansau dan ko-penyelia, Prof. Dr. Ho Coy Choke yang telah banyak memberikan tunjuk ajar.

Tidak lupa juga kepada kedua ibubapa, keluarga serta rakan-rakan seperjuangan yang banyak memberi bantuan serta sokongan moral. Selain daripada itu ucapan terima kasih ini juga ditujukan kepada pembantu-pembantu makmal yang banyak membantu dan berkerjasama terutamanya dalam menyediakan bahan kimia dan alatan yang digunakan dalam kajian ini. Penghargaan ini juga ditujukan kepada pihak Taman-taman Sabah, Taman Pertanian Tenom dan nurseri-nurseri disekitar Ranau yang banyak membantu dalam usaha mencari dan mendapatkan sampel spesis-spesis orkid. Pihak sekolah Sains dan Teknologi , Universiti Malaysia Sabah juga telah banyak membantu terutamanya dalam penyediaan bahan kimia.

Segala tunjuk ajar dan bantuan kalian akan dikenang dan semoga kalian sentiasa berada dibawah lindungan-Nya.



ABSTRAK

Kajian ini melibatkan kajian penyaringan fitokimia iaitu penyaringan sebatian alkaloid dan saponin serta kajian aktiviti biologi ke atas 40 spesis tumbuhan orkid. Kesemua sampel spesis orkid ini telah diekstrak dengan metanol 95% (v/v) dalam nisbah 1:7. Ujian penyaringan sebatian alkaloid melibatkan ujian Mayer dan ujian Dragendroff, manakala bagi ujian penyaringan saponin pula melibatkan ujian buih serta ujian Liebermann-Burchard. Bagi aktiviti biologi pula, ujian yang dijalankan ialah ujian antioksidasi dan ujian perencatan MKK1^{P386}-MSG5. Daripada ujian penyaringan fitokimia, didapati bahawa hanya dua sampel yang menunjukkan kehadiran saponin steroid iaitu ekstrak sampel *Cleisocentron merillianum* dan *Paphiopedilum rothschildianum* dan semua ekstrak sampel menunjukkan kehadiran alkaloid tetapi pada tahap yang berbeza. Manakala dalam ujian antioksidasi pula, aktiviti antioksidasi ekstrak sampel telah ditentukan dengan mengira aktiviti relatif terhadap BHT. Daripada keputusan yang diperolehi didapati bahawa 7 ekstrak sampel (*Bulbophyllum lobii*, *Ceratochilus jiewheoi*, *Cymbidium bicolor*, *Dimorphorchis rossii*, *Epigenium treacheanum*, *Paphiopedilum rothschildianum* dan *Vanda hastifera*) memberikan nilai serapan relatif yang kurang daripada 1 dan ini menunjukkan bahawa ekstrak-ekstrak sampel ini merupakan agen antioksidasi yang baik. Ekstrak sampel yang memberikan nilai terbaik ialah ekstrak *Dimorphorchis rossii* dengan nilai serapan relatif 0.40. Manakala hanya satu ekstrak sampel (*Dendrobium oblongum*) memberikan nilai serapan relatif sama dengan 1 yang menunjukkan bahawa ia merupakan agen antioksidasi. Ekstrak-ekstrak sampel yang selebihnya menunjukkan nilai serapan relatif yang melebihi 1 dan merupakan agen antioksidasi yang kurang baik. Dalam ujian perencatan MKK1^{P386}-MSG5 pula, semua ekstrak sampel memberikan keputusan negatif atau tidak menunjukkan potensi sebagai perencat MAP kinase fosfatase.



ABSTRACT

This study involves the phytochemical screening and biological activities of the methanolic crude extract of 40 orchids species in the ratio of 1:7. The phytochemical screening of alkaloid involves the Mayer and Dragendroff test whereas the screening of saponin involves the bubble and Liebermann-Burchad test. The biological activities involve the antioxidant test and MKK1^{P386}-MSG5 inhibitor test. The phytochemical screening showed the presence of saponins steroidal in only 2 extract sample which are *Cleisocentron merillianum* and *Paphiopedilum rothschildianum* and the presence of alkaloid in all extracts sample. In the antioxidant test, the potential of the extract as antioxidant agent is determined by calculating the relative activities against BHT. The result shows that 7 extracts (*Bulbophyllum lobii*, *Ceratochilus jiewheoi*, *Cymbidium bicolor*, *Dimorphorchis rossii*, *Epigenium treacheanum*, *Paphiopedilum rothschildianum* and *Vanda hastifera*) are potential as a good antioxidant agent and the best is the extract of *Dimorphorchis rossii* with the relative activities against BHT of 0.40. And only one extract shows the relative activities equal to 1 which is the extract of *Dendrobium oblongum* and the rest of the extracts show the relative activities more than 1 which show that there are not a good antioxidant agent. There is no positive result obtained from MAP kinase phosphatase inhibitor test.



KANDUNGAN

	Mukasurat
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	ix
SENARAI RAJAH	x
SENARAI FOTO	xi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
BAB 2 ULASAN LITERATUR	5
2.1 Sebatian Hasil Semulajadi	5
2.1.1 Alkaloid	6
2.1.2 Saponin	9
2.2 Antioksida	11
2.3 Ujian Perencatan MKK1 ^{P386} -MSG5	16



BAB 3 BAHAN DAN KAEDAH	
3.1 Pengumpulan Sampel	18
3.2 Penyediaan Ekstrak Kasar	18
3.3 Penyaringan Fitokimia	19
3.3.1 Ujian kehadiran sebatian alkaloid	19
3.3.2 Ujian kehadiran sebatian saponin	20
3.4 Ujian Aktiviti Biologi	22
3.4.1 Ujian aktiviti antioksida	22
3.4.2 Ujian perencatan MKK1 ^{P386} -MSG5	23
BAB 4 KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN	26
4.1 Pengekstrakan Sampel	26
4.2 Penyaringan Fitokimia	26
4.2.1 Alkaloid	28
4.2.2 Saponin	32
4.3 Penyaringan Aktiviti Biologi	35
4.3.1 Aktiviti antioksida	35
4.3.2 Ujian perencatan MKK1 ^{P386} -MSG5	45
BAB 5 KESIMPULAN	48
RUJUKAN	50
LAMPIRAN	53



SENARAI JADUAL

No. Jadual	Mukasurat
4.1 Keputusan ujian penyaringan fitokimia	27
4.2 Penentuan kuantitatif kehadiran alkaloid	29
4.3 Data bacaan absorbans (500nm) bagi ujian antioksida	36
4.4 Nilai serapan relatif terhadap BHT bagi ekstrak sampel	37



SENARAI RAJAH

No. Rajah	Mukasurat
2.1 Pengkelasan sebatian alkaloid serta contoh	8
2.2 Tindakbalas penghambatan antioksidan primer terhadap radikal lipid	15
3.1 Keputusan ujian perencatan MKK1 ^{P386} -MSG5 yang dijangkakan	25
4.1 Graf nilai serapan absorbans (500nm) melawan hari bagi sampel 1 hingga 10	39
4.2 Graf nilai serapan absorbans (500nm) melawan hari bagi sampel 11 hingga 20	40
4.3 Graf nilai serapan absorbans (500nm) melawan hari bagi sampel 21 hingga 30	41
4.4 Graf nilai serapan absorbans (500nm) melawan hari bagi sampel 31 hingga 40	42

SENARAI FOTO

No. Foto		Mukasurat
4.1	Contoh mendakan putih yang terbentuk dalam ujian Mayer	31
4.2	Contoh mendakan oren yang terbentuk dalam ujian Dragendroff	31
4.3	Contoh pembentukan buih dalam ujian buih	33
4.4	Contoh pembentukan buih selepas larutan akues natrium karbonat ditambah	34
4.5	Keputusan ujian perencatan MKK1 ^{P386} MSG5 bagi piring galaktosa dan glukosa 1 dan 2	46
4.6	Keputusan ujian perencatan MKK1 ^{P386} MSG5 bagi piring galaktosa dan glukosa 3 dan 4	40



BAB 1

PENDAHULUAN

Tumbuhan orkid merupakan salah satu kumpulan tumbuhan yang mempunyai paling banyak spesis yang diketahui iaitu lebih kurang 25000 hingga 30000 spesis di seluruh dunia. Tumbuhan orkid ditemui hampir di semua bahagian bumi, dari kawasan hutan hujan tropika sehinggalah dikawasan sejuk di Amerika Utara kecuali di Antartika. Walaubagaimanapun terdapat sesetengah spesis orkid yang hanya terdapat disesuatu kawasan sahaja contohnya spesis *Vanda* yang hanya boleh ditemui di Asia Tenggara sahaja.

Terdapat dua jenis tumbuhan orkid iaitu orkid yang tumbuh di daratan ('terrestrial orchid') dan juga orkid epifit ('epiphytes orchid') iaitu orkid yang tumbuh atau menumpang diatas pokok lain. Pertumbuhan setiap jenis orkid ini boleh dibahagikan kepada dua cara iaitu:

Pertama, Orkid simpodial – dimana pada orkid jenis ini, pucuknya akan tumbuh disekeliling pokok induk. Contoh orkid jenis ini ialah *Catleya* yang merupakan orkid jenis epifit simpodial yang mempunyai batang simpanan, 'pseudobulbs atau bulbs' yang membantu ia semasa musim kemarau.



Jenis kedua pula ialah orkid monopodial dimana pada orkid jenis ini, pertumbuhan berlaku pada bahagian apeks dimana ia akan meningkatkan ketinggian pokok orkid itu. Daun-daunnya akan disusun disekeliling batang pokok. Contoh bagi orkid monopodial ialah spesis *Vanda* dan *Phalaenopsis*.

Tumbuhan orkid boleh dikategorikan sebagai tumbuhan ubatan dimana menurut sejarah terdapat beberapa spesis orkid yang digunakan dalam sejarah perubatan kaum Cina yang dikenali sebagai Chinese Materia Medica (Shen Nung Pen-tsoo Ching) (Kong *et al.*, 2003). Antara spesis orkid yang digunakan dalam perubatan adalah seperti berikut:

- *Bletilla Striata* – juga dikenali sebagai *Limodorum striatum*, *Epidendrum tuberosum*, *Bletia hyacinthine* dan *Jimensia*. Manakala dalam bahasa Cina ia dikenali sebagai Dai Chi (Baiji). Antara kegunaan ubatan dari spesis ini ialah untuk merawat tuberculosis, gastric, ulser perut, pendarahan (luka) serta rekahan kulit pada kaki dan tangan.
- *Dendrobium sw* – dikenali sebagai Shih-hu dalam bahasa Cina. Ia digunakan dalam perawatan buah pinggang, impotensi, memberi tenaga, mengurangkan kekeringan pada mulut dan meredakan simptom pramenstruasi.
- *Gastrodia elate Blumei* – dikenali sebagai Chih Chien atau Tien Ma dan digunakan dalam merawat sakit kepala, epilepsi, selsema, meningkatkan pengaliran darah dan juga menguatkan memori.
- *Dichaea Lindley* – digunakan dalam perawatan mata terutamanya konjunktivitis.
- *Epidendrum Linnaeus* – merawat rekahan pada bibir.



Kajian fitokimia dan farmalogikal terhadap tumbuhan orkid mula dijalankan semenjak tahun 1892. Daripada kajian-kajian yang telah dibuat, didapati bahawa kebanyakan spesis orkid mengandungi komponen fitokimia seperti alkaloid, flavanoid, saponin dan lain-lain (Kong *et al.*, 2003).

Untuk mengenalpasti kehadiran sesuatu sebatian tertentu didalam tumbuhan, penyaringan fitokimia akan dilakukan. Ia merupakan satu kaedah asas dalam cabang kimia yang sering digunakan pada peringkat awal untuk tujuan ini. Diantara komponen kimia yang boleh ditemui pada tumbuhan termasuklah alkaloid, saponin, steroid, flavanoid, glikosida kardium, tannin dan sebagainya. Proses yang terlibat dalam fitokimia termasuklah pemisahan, penulenan dan penentuan struktur sebatian yang dikaji.

Di dalam kajian aktiviti biologi pula, antara ujian-ujian yang dilakukan ialah kajian antioksidan, antibakteria, ketoksikan, antifeedan dan juga ujian perencatan. Kajian-kajian ini bertujuan untuk mengenalpasti tumbuhan yang berpotensi untuk dikomersialkan.

Dalam kajian fitokimia dan aktiviti biologi terhadap tumbuhan orkid ini, objektif utama ialah untuk mengkaji kandungan alkaloid dan saponin serta menjalankan ujian antioksidan dan ujian perencatan MKK1^{P386}-MSG5 keatas spesis-spesis orkid yang terdapat di Sabah. Spesis-spesis orkid yang dikaji adalah seperti dalam lampiran.

Sampel-sampel orkid ini telah didapatkan dari Taman-taman Sabah, Taman Pertanian Tenom dan nurseri-nurseri disekitar Ranau . Sampel-sampel ini dibersihkan, dipotong



dan dikeringkan dalam oven pada suhu 40⁰C. Kemudian sampel yang telah kering dikisar menjadi serbuk dengan menggunakan pengisar. Sampel ini diekstrak dan penyaringan fitokimia dijalankan keatas hasil ekstrak kasar yang diperolehi itu.

Di dalam bahagian aktiviti biologi pula, ujian antioksida dijalankan dimana ekstrak sampel yang telah dicampurkan dengan bahan kimia tertentu diuji dengan menggunakan spektrofotometer UV bagi menentukan penyerapan warna merah pada jarak gelombang 500nm. Selain daripada itu ujian perencatan MKK1^{P386}-MSG5 turut dijalankan keatas yis.

Objektif kajian ini adalah seperti berikut:

- a) Menjalankan proses pengekstrakan komponen kimia dan mengenalpasti komponen metabolit sekunder iaitu alkaloid dan saponin di dalam spesies orkid yang berlainan.
- b) Menjalankan ujian antioksida terhadap ekstrak metanol sampel.
- c) Menjalankan ujian perencatan MKK1^{P386}-MSG5 terhadap yis ke atas ekstrak sampel.



BAB 2

ULASAN LITERATUR

2.1 Sebatian Hasil Semulajadi

Hasilan semulajadi merupakan sebatian yang dihasilkan oleh semua organisma hidup (tumbuhan dan haiwan). Hasil semulajadi dapat dikelaskan kepada 2 kumpulan berdasarkan tapak jalan metabolisma yang menghasilkannya serta kepentingannya, iaitu metabolit primer dan metabolit sekunder.

Metabolit primer menunjukkan fungsi sel yang jelas yang bertindak sebagai unit pembinaan untuk semua komponen dalam sel. Contoh bagi metabolit primer ialah asid amino protein, asid nukleik, lipid, karbohidrat dan lain-lain (Luckner, 1972).

Manakala metabolit sekunder pula tidak memperlihatkan fungsi sel seperti yang dicerapkan dalam metabolit primer, namun ia mungkin bertindak sebagai bahan perkumuhan daripada tumbuhan atau sebagai agen antibakteria yang menghalang jangkitan bakteria ke atas organisma yang menghasilkannya atau mungkin sebagai satu cara perlindungan atau pertahanan daripada musuh (Luckner, 1972). Sebatian ini telah

menarik perhatian ramai penyelidik terutama ahli kimia organik untuk mengkajinya kerana ia menunjukkan kepelbagaian sebatian yang luar biasa dan aktiviti-aktiviti antitoksik, antitumor, antivirus dan banyak lagi. Metabolit sekunder boleh dikelaskan kepada beberapa kumpulan berdasarkan struktur dan komposisinya. Contoh metabolit sekunder ialah alkaloid, steroid, saponin, terpena, sebatian fenolik, glikosida kardium dan lain-lain (Luckner, 1972).

2.1.1 Alkaloid

Secara umum, alkaloid merupakan sebatian yang mengandungi satu atau lebih atom nitrogen. Pada kebiasaannya, sebatian alkaloid tidak mempunyai warna, merupakan sebatian yang aktif dan kebanyakannya adalah jernih dan ada yang berada dalam keadaan cecair pada suhu bilik (Hesse, 2002). Selain daripada itu ciri-ciri yang terdapat pada sebatian alkaloid adalah seperti ia merupakan sebatian yang larut dalam air dan ia menunjukkan aktiviti biologi yang tinggi. Atom nitrogen yang terdapat pada sebatian ini akan menerima proton dan menyebabkan sebatian ini bersifat alkali. Alkaloid merupakan sebatian yang mempunyai gegelang hetero, walaubagaimanapun terdapat beberapa sebatian nitrogen yang tidak mempunyai gegelang turut dikenali sebagai alkaloid. Secara puratanya, hampir 12 000 alkaloid telah ditemui dalam hampir 20 peratus daripada tumbuhan berbunga terutamanya tumbuhan herba.



Salah satu ujian yang paling mudah untuk mengesan kehadiran alkaloid pada daun atau buah segar ialah dengan merasa rasa pahit yang terdapat padanya (Hesse, 2002). Ini adalah kerana sebatian alkaloid mempunyai rasa pahit dan alkaloid quinine merupakan salah satu sebatian yang mempunyai rasa yang paling pahit. Fungsi alkaloid dalam tumbuhan masih kabur namun ada yang dikatakan sebagai penggalak pertumbuhan atau sebagai pertahanan daripada serangga perosak namun kegunaannya dalam perubatan semakin meluas.

Sebatian alkaloid memberikan respon yang berbeza pada manusia. Dalam amaun yang tinggi, sebatian alkaloid akan menjadi toksik pada badan manusia namun dalam amaun yang sedikit ia mempunyai nilai perubatan yang tinggi. Sebatian ini banyak digunakan dalam tujuan farmalogikal seperti digunakan dalam pembuatan ubat tahan sakit.

Sebatian alkaloid dikelaskan mengikut sistem gegelang predomnan yang terdapat pada sebatian ini yang mana kebanyakan sebatian alkaloid disintesisikan oleh asid amino (Hopkins dan Huner, 2004). Walaupun terdapat beberapa alkaloid yang dijumpai dalam beberapa genera atau famili, kebanyakan spesis menunjukkan ciri-ciri tersendiri yang unik. Seperti sebatian metabolit sekunder yang lain, sesuatu sebatian alkaloid boleh ditemui pada bahagian tertentu tumbuhan seperti akar, daun dan buah muda (Hopkins dan Huner, 2004).

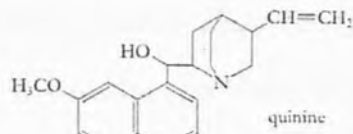
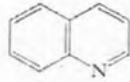


Menurut Hopkins dan Huner (2004), sebatian alkaloid boleh dikelaskan seperti rajah berikut:

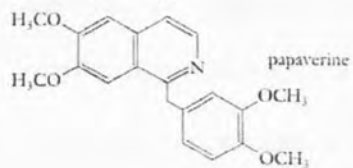
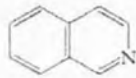
Kumpulan Alkaloid

Contoh

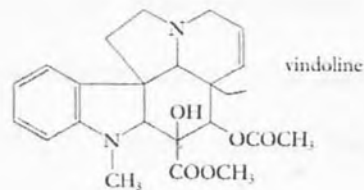
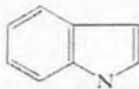
Quinoline



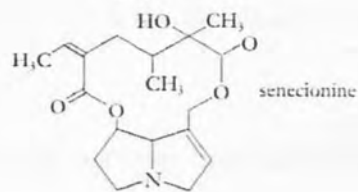
Isoquinoline



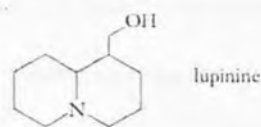
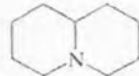
Indole



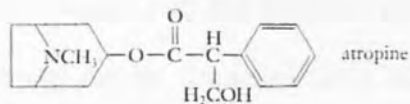
Pyrolizidine



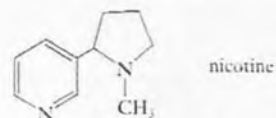
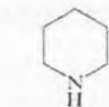
Quinolizidine



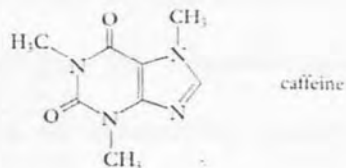
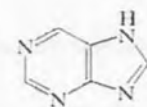
Tropane



Piperidine



Purine



Rajah 2.1 Pengkelasan sebatian alkaloid serta contoh.

2.1.2 Saponin

Saponin merupakan sebatian semulajadi yang bersifat seperti buih yang terdapat pada tumbuhan contohnya tumbuhan yang terdapat dikawasan gurun seperti *Yucca schidigera* dan *Quillaja saponaria*. Ekstrak daripada tumbuhan ini digunakan sebagai agent buih dalam pembuatan bir. Selain daripada itu, sebatian saponin juga digunakan dalam industri pembuatan kosmetik, syampo dan bahan emulsi fotografik. Permintaan yang tinggi terhadap penyediaan saponin daripada tumbuhan ini menyebabkan hampir 60 000 pokok digunakan setiap tahun dan ini jelas akan menyebabkan kemusnahan ekologi (Oleszek dan Marston, 2000). Antara alternatif yang telah dijalankan bagi mengatasi masalah ini ialah dengan menghasilkan saponin melalui kaedah pengkulturan sel terampai sepertimana yang telah dilaporkan telah dijalankan terhadap *Panax sp.*

Dari aspek pemakanan pula, sebatian saponin mempunyai kegunaan sebagai agen antifungus dan antibakteria. Ia juga dikatakan boleh megurangkan tekanan darah tinggi dan sebagai agen penghalang kanser. Beberapa kajian juga menunjukkan bahawa saponin boleh digunakan dalam perawatan penyakit berkaitan jantung. Ini menunjukkan bahawa sebatian saponin mempunyai banyak kegunaan sama ada dari segi perubatan, kosmetik mahupun industri.

Struktur saponin yang berkutub dan ampifilik serta kewujudannya sebagai campuran kompleks bersama metabolit sekunder yang lain menyebabkan ia memerlukan teknik-teknik serta peralatan yang canggih untuk menganalisis. Selain daripada itu tumbuhan sering mengandungi komponen-komponen yang hampir sama dengan sebatian saponin



yang mana hanya mempunyai sedikit perbezaan pada struktur. Ini menyukarkan proses pengesanan kehadiran sebatian saponin dalam tumbuhan (Oleszek dan Marston, 2000).

Walaupun bagaimanapun, dengan kecanggihan peralatan yang ada pada masa ini kehadiran saponin dapat dikesan dengan mudah menggunakan teknik seperti kromatografi dan spektroskopi. Terdapat beberapa kaedah untuk mengesan kehadiran saponin didalam tumbuhan. Kaedah-kaedah ini adalah berdasarkan aktiviti fizikal (pembentukan buih) dan aktiviti biological (haemolisis, antifungi) sebatian saponin (Oleszek dan Marston, 2000). Kaedah-kaedah yang boleh digunakan untuk mengesan kehadiran saponin adalah seperti berikut:

- a) Ujian Liebermann Burchard (perubahan warna)
- b) Haemolisis
- c) Ujian buih
- d) TLC
- e) GC
- f) HPLC
- g) HPLC/MS
- h) Radioimmunoassai
- i) ELISA

2.2 Antioksidan

Berbagai definisi telah diberikan untuk menggambarkan tentang antioksidan. Secara umum antioksidan didefinisikan sebagai bahan yang dapat menunda atau memperlambat dan mencegah proses pengoksidan lipid (Kim *et al.*, 2003). Dalam ertikata yang lebih khusus, antioksidan adalah zat yang dapat mencegah terjadinya reaksi radikal bebas dalam pengoksidan lipid.

Antioksidan sangat bermanfaat dalam kesehatan dan berperanan penting untuk mempertahankan mutu produk. Berbagai kerusakan seperti perubahan nilai gizi, perubahan warna dan bau serta kerusakan fisik yang lain pada sesuatu produk yang disebabkan oleh pengoksidan dapat dicegah oleh antioksidan ini.

Antioksidan dapat dikelaskan kepada dua kumpulan iaitu antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Antioksidan sintetik ialah antioksidan yang diperolehi dari hasil sintesis reaksi kimia manakala antioksidan alami (tulen) ialah antioksidan yang terhasil secara semulajadi. Diantara beberapa contoh antioksidan sintetik yang dibenarkan penggunaannya untuk makanan adalah seperti Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), Propil galat, tert-butil hidroksi quinon (TBHQ) dan tokoferol.

Contoh-contoh antioksidan ialah lignin dan flavanoid manakala contoh sebatian fenolik yang bertindak sebagai antioksidan ialah vitamin C dan vitamin E. Sumber antioksidan semulajadi adalah seperti tumbuhan herba, teh, koko, bijirin, buah-buahan, sayuran dan



tumbuhan atau alga. ' Sweet basil' merupakan antioksidan yang efektif yang terdapat dalam mint, daun ketumbar, rosemary, cili, bawang putih dan oregano.

Secara umum antioksidan dikatakan memiliki ciri-ciri seperti berikut:

- a) selamat penggunaannya
- b) tidak memberikan rasa dan warna pada produk
- c) efektif pada kosentrasi rendah
- d) tahan terhadap proses pengolahan produk (berkemampuan antioksidan yang baik). Ciri ini amat penting kerana sebahagian proses pengolahan menggunakan suhu yang tinggi yang dapat merosakkan kandungan lipid dan kestabilan antioksidan yang ditambahkan. Oleh itu kemampuan bertahan antioksidan terhadap proses pengolahan sangat diperlukan untuk melindungi produk akhir.
- e) Tersedia dengan harga yang murah.

Menurut Meyer (1973) dan Hamilton (1983), pengoksidaan lipid berlaku dalam dua peringkat. Dalam peringkat pertama, pengoksidaan berlaku perlahan dengan kelajuan seragam. Peringkat pertama ini lebih dikenali sebagai peringkat induksi. Pengoksidaan pada peringkat induksi ini berlaku beberapa ketika sehingga sampai pada tahap tertentu dimana tindakbalas memasuki peringkat kedua yang mempunyai kelajuan pengoksidaan yang dipercepatkan. Kelajuan pengoksidaan pada peringkat kedua adalah beberapa kali lebih cepat berbanding peringkat pertama.



RUJUKAN

- Cooper G. M. dan Hausman R.E., 2004. *The cell : A molecular approach*. Ed ke-3. ASM Press. Washington D.C.
- David J.N., Gordon M.C. & Kenneth M.S., 2000. The influence of natural products upon drugs discovery. *Journal of Natural Product* **17**, 215-234.
- Diaz J.G., Ruiz J.G. dan Herz W.,2004. Alkaloid from *Delphinium pentagynum*. *Phytochemistry* **65**(14), 123-2127.
- Ebadi M., 2002. *Pharmacodynamic basic of herbal medicine*. CRC Press. New York.
- Farooq A. dan Zhou M.M.,2004. Structure and regulation of MAPK kinase phosphatase. *Cellular Signaling* **16**(7), 769-779.
- Gordon, M.H., 1990. The mechanism of antioxidant action in vitro. Dlm: B.J.F. Hudson (pnyt.) *Food antioxidant*. Elsevier Applied Science, London.
- Habsah M., Amran M., Mackeen M.M., Lajis N.H., Kikuzaki H., Nakatani N., Rahman A.A., Ghafar dan Ali A.M., 2000. Screening of *Zingiberaceae* extracts for antimicrobial and antioxidant activities. *Journal of Ethnopharmacology* **72**, 403-410.
- Hamilton, R.J., 1983. The chemistry of rancidity in foods. Dlm: J.C. Allen dan R.J. Hamilton (pnyt.) *Rancidity in foods*. Applied Science Publishers, London.
- Harbone J.B.,1984. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Ed ke-2. Chapman and Hall, New York.
- Hesse M.2002. *Alkaloids, Nature's Curse or Blessing?*. Wiley-VCH. Germany.

- Hopkins W.G. dan Huner N.P.A.,2004.*Introduction to Plant Physiology*.Ed ke-3.
John Wiley and Son, United State of America.
- Kim K.S., Lee S., Lee Y.S., Jung S.H., Park Y., Shih K.H. dan Kim B.K.,2003.
Antioxidant activities of the extract from the herbs of *Artemisia apiacea*.
Journal of Ethnopharmacology **85**(1), 69-72.
- Kong J.M., Goh N.K., Chia L.S. dan Chia T.F.,2003. Recent advances in traditional
plant drugs and orchids. *Acta Pharmacologica Sinica* **24**(1), 7-21.
- Luckner M.,1972. *Secondary Metabolism in Plants and Animals* .Academic
Press. New York.
- Manitto P., 1981. *Biosynthesis of natural products*. Ellis Horwood Limited.
England.
- Meyer L.H.,1973. *Food chemistry*. Affiliated East-West Press PVT Ltd, New Delhi.
- Muda M. dan Arkininstall S.,2003. *Handbook of Cell Signaling*. Elseveir Science,
United State of America.
- Nick A., Rali T. dan Sticher O.,1995. Biological screening of traditional medicinal
plants from Papua New Guinea. *Journal of Ethnopharmacology* **49**(1995),
147-156.
- Oleszek W. and Marston A.2000.*Saponins in Food, Feedstuffs and Medicinal
Plants*.Kluwer Academic Publishers.Netherlands.
- Osawa, A. & Namiki M., 1981. A novel type of antioxidant isolated from leaf wax of
Eucaluptus leaves. *Journal of Agriculture Biology Chemistry* **45**(3), 735-739.



- Parker S.P., 1994. *Dictionary of scientific and technical terms*. Ed ke-5. McGraw-Hill Inc. United State.
- Solomons T.W., 2000. *Organic Chemistry*. Ed ke-7. Von Hoffmann Press, United States.
- Taichi Ohmoto, Zhonghua Jia, Kazuo Koike & Muyun Ni, 1994. Triterpenoid saponins from *Ardisia crenata*. *Phytochemistry* **37**, 1389-1396.
- Tan S.C., 1990. *Biokimia tumbuhan hijau*. Dewan Bahasa dan Pustaka. Kuala Lumpur.
- Vermeulen J.J., 1992. *Orchids of Borneo, Vol.2*. Benthon-Moxon Trust. England.
- Vogel E.F. DE. and Tuner H., 1992. *Orchids Monographs*. Leiden University, Netherlands.
- Zhang X., Ye W., Zhao S. dan Che C.T., 2004. Isoquinoline and isoindole alkaloid from *Menispermum dauricum*. *Phytochemistry* **65**(7), 929-932.

