

# Penentuan Aktioksidan dan Fenolik Terhadap Serbuk Daun Rerama Kering dan Daun Rerama Segar (*Christia vespertilionis*)

Annie Azlina Shahrani<sup>1</sup>, Normadiah Md Sabri<sup>2</sup>, Nurul Saidatul Asyikin Musa<sup>3</sup>

Jabatan Teknologi Makanan, Politeknik Sultan Haji Ahmad Shah.  
E-mail: annie1@polisas.edu.my

## Abstrak

*Christia Vespertilionis* juga dikenali sebagai Daun Rerama merupakan salah satu tanaman yang mempunyai nilai perubatan yang boleh merawat sakit malaria dan mempunyai ciri-ciri antikanser yang dipercayai mengandungi kandungan antioksidan. Antioksidan merupakan molekul yang mampu memperlambat atau mencegah proses oksidasi molekul lain. Oksidasi adalah reaksi kimia yang dapat menghasilkan radikal bebas yang menghasilkan reaksi berantai yang boleh merosakkan sel. Penelitian ini bertujuan bagi menentukan aktiviti antioksidan dan kandungan fenolik dalam serbuk daun rerama kering dan daun rerama segar. Pengekstrakan daun rerama segar dan serbuk daun rerama kering adalah menggunakan pelarut etanol 95%. Penentuan kadar jumlah fenolik menggunakan kaedah reagen Folin-ciocalteau dan diuji dengan menggunakan UV- spektrofotometer 1800 series pada jarak gelombang 765nm. Aktiviti antioksidan ditentukan dengan kaedah 2,2-diphenyl-1-picrilhidrazyl (DPPH) dan diuji dengan menggunakan UV-spektrofotometer 1800 series pada jarak gelombang 517nm. Hasil analisis menunjukkan terdapat aktiviti antioksidan dan kandungan kadar jumlah fenolik dalam sampel serbuk daun rerama kering dan daun rerama segar. Dari hasil penelitian diperolehi kandungan antioksidan dengan kaedah DPPH menunjukkan IC 50 bagi serbuk daun rerama kering ialah 400 ppm dan daun rerama segar ialah 80 ppm. Kadar jumlah fenolik pada serbuk daun rerama kering ialah 103 ppm dan daun rerama segar ialah 254ppm. Kesimpulannya, daun rerama segar mempunyai nilai aktiviti antioksidan dan kadar kandungan fenolik yang tinggi berbanding serbuk daun rerama kering.

**Keywords:** *Christia Vespertilionis*, Daun Rerama, Fenolik, Antioksidan, DPPH, Folin-ciocalteau, UV-spektrofotometer.

## 1. Pendahuluan

Daun Rerama digunakan sebagai salah satu kaedah rawatan secara tradisional sejak dahulu lagi. Seluruh tumbuhan daun rerama juga digunakan secara tradisional bagi merawat gigitan ular manakala daun digunakan sebagai rawatan topikal untuk menyembuhkan tulang yang patah. Daun segar yang dihancurkan boleh digunakan pada badan untuk merawat kudis.

Antioksidan adalah sebatian yang melindungi sel melawan kerosakan akibat oksigen reaktif. Ketidakseimbangan antara antioksidan dan oksigen reaktif mengakibatkan stress oksidatif yang menimbulkan kerosakan sel. Terdapat dua jenis antioksidan iaitu, antioksidan semulajadi yang boleh diperolehi dari bahan semulajadi contohnya beta karoten, vitamin C dan vitamin E, dan antioksidan sintetik iaitu antioksidan yang diperolehi dari

hasil kimia contohnya BHA (Butil Hidroksi Anisol) dan BHT (Butil Hidroksi Toluen), TBHQ (Tert-Butil Hidroksi Quinon). Sumber antioksidan semulajadi dapat diperoleh dari buah-buahan dan sayur-sayuran yang diambil sehari-hari.

Fenolik atau polifenol adalah metabolit tumbuhan yang mana terdapat di dalam tumbuh-tumbuhan. Terdapat banyak fenolik telah terbukti mengandung tahap aktiviti antioksidan yang tinggi. Fenolik memberi sumbangan kepada aktiviti antioksidan keseluruhan tumbuhan terutamanya disebabkan oleh sifat redoks. Pengoksidaan dan pengurangan (redoks) adalah reaksi berlawanan. Proses penurunan di mana biasanya ada kehilangan oksigen. Sementara dalam proses pengoksidaan terdapat penambahan unsur oksigen. Reaksi sedemikian dikenali sebagai reaksi redoks. Pengoksidaan dan penurunan merupakan istilah kimia dan dalam istilah biologi, ia lebih dikenali dengan terma antioksidan dan pro-oksidan.

Spesies Oksigen Reaktif (ROS) atau '*Reactive Oxygen Species*' merupakan frasa yang digunakan bagi menerangkan bahawa sebilangan molekul reaktif dan radikal bebas yang diperoleh daripada molekul oksigen. (Hancock, 2001). '*Reactive Oxygen Species*' (ROS) dan radikal yang lain terlibat dalam pelbagai fenomena biologi seperti mutasi, karsinogenesis, degeneratif, penuaan dan lain-lain. Secara amnya, mekanisme fenolik untuk aktiviti antioksidan adalah meneutralkan radikal bebas lipid dan mencegah penguraian hidroperoksida ke dalam radikal bebas (Md. Ali Akhbar Hossain, 2015).

Penyakit degeneratif merupakan penyakit-penyakit kronik nombor satu di Asia Tenggara iaitu penyakit obesiti, kolestrol dan darah tinggi. Penyakit degeneratif seperti darah tinggi merupakan penyakit yang sukar untuk diubati dicirikan oleh kemerosotan organ-organ tubuh yang terjejas oleh gaya hidup. Berdasarkan data WHO tahun 2008, angka kematian di Asia Tenggara sekitar 14.5 juta, sekitar 55% (7.9 juta) disebabkan penyakit degeneratif. Angka kematian akibat penyakit ini diramalkan akan meningkat 21% pada tahun 2018 (WHO, 2011). Fungsi utama antioksidan ialah untuk menghalang atau menyekat tindak balas pengoksidaan pada lemak, perubahan pigmen, pemerangan pada makanan, pemusnahan vitamin, aroma dan rasa asli, serta perubahan pada organoleptik makanan tersebut. Penggunaannya amat meluas dalam minyak dan hasilan berminyak atau berlemak. Antioksidan menghalang ketengikan oksidasi yang disebabkan oleh pengoksidaan atmosfera dan menghalang degradasi lemak yang boleh menyebabkan perubahan rasa dan bau.

Kebanyakan bahan antioksidan yang digunakan dalam industri makanan adalah seperti vitamin C, vitamin E, asid sitrik, amina dan sebatian berfenol yang rendah atau tinggi kepekatan yang boleh menjadi toksik kepada manusia. Oleh yang demikian, penggunaan bahan-bahan ini mampu memperlambatkan atau menghalang molekul pengoksidaan yang lain (Nickerson dan Ronsivalli, 1980).

Dalam kajian ini, serbuk daun rerama kering dan daun rerama segar akan diekstrak dengan menggunakan etanol 95% dan dibiarkan semalaman. Ujian antioksidan dilakukan dengan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dan ujian fenolik dengan menggunakan kaedah Folin-Ciocalteu Reagent (FCR). Alat instrumen yang digunakan ialah UV-Spektrofotometer Shiadzu.

## **2. Rasional Kajian**

Kajian dilakukan adalah untuk mengkomersilkan tumbuhan herba sebagai ganti bahan antioksidan yang sedia ada. Selain itu, tumbuhan herba adalah semulajadi yang tidak memudaratkan kesihatan. Menurut Garnock-Jones (1983), bahan antioksidan yang diguna pakai dalam industri mengandungi campuran kimia yang boleh menjejaskan kesihatan. Tumbuhan herba yang digunakan mengandungi banyak khasiat dalam perubatan tradisional.

Daun rerama (*Christia vespertilionis*) dipilih kerana mengandungi banyak khasiat. Daun Rerama digunakan sebagai salah satu kaedah rawatan secara tradisional sejak dahulu lagi. Seluruh tumbuhan daun rerama juga digunakan secara tradisional bagi merawat gigitan ular manakala daun digunakan sebagai rawatan topikal untuk menyembuhkan tulang yang patah. Daun segar yang dihancurkan boleh digunakan pada badan untuk merawat kudis.

Antioksidan terdapat di dalam buah-buahan, sayur-sayuran dan teh merupakan faktor utama untuk mengurangkan penyakit kronik, penyakit jantung dan sesetengah penyakit kanser. Kaedah DPPH iaitu radikal bebas 2, 2-Diphenyl-1-1 Picrylhydrazy, adalah kaedah yang sangat cepat mudah dan murah untuk menentukan aktiviti antioksidan. DPPH digunakan secara meluas dalam menguji reaksi kestabilan kompaun radikal bebas yang dicari atau hidrogen penderma bagi menilai aktiviti antioksidan dalam makanan. Kaedah DPPH boleh digunakan untuk sampel cecair atau pepejal dan ia tidak spesifik pada mana-mana komponen antioksidan dan membantu mengetahui fungsi ciri-ciri makanan.

## **3. Skop Kajian**

Analisis yang dijalankan melibatkan dua sampel bagi tujuan menentukan aktiviti antioksidan dan fenolik. Sampel yang digunakan ialah serbuk daun rerama kering dan daun rerama segar. Penentuan aktiviti antioksidan menggunakan kaedah DPPH manakala penentuan kadar kandungan fenolik menggunakan kaedah Folin- Ciocalteu Reagent (FCR). Bagi mendapatkan bacaan aktiviti antioksidan dan kandungan kadar fenolik, alat instrumen UV-Spektrofotometer digunakan.

## 4.0 Kajian Bahan Bertulis

### 4.1 Pengenalan

Daun Rerama atau nama saintifiknya '*Christia vespertilionis*' merupakan pokok kekacang hiasan dalam spesies *Fabaceae*. Ia juga dikenali sebagai *Mariposa Christia vespertilionis*. *Mariposa* bermaksud rama-rama di dalam Bahasa Sepanyol. Daun rerama boleh didapati dengan mudah di Asia dan boleh habitatnya boleh mencapai ketinggian sehingga 1.2 meter Panjang (H. Bunawan, 2015). Terdapat 13 spesies di Asia tropika dan lima spesies yang lainnya dijumpai di China. Taburan tumbuhan ini di Asia tropika dan Asia subtropika termasuklah di Pulau Rukyu, Taiwan, Indochina, Malaysia, Indonesia, Vietnam, Laos, Kemboja, Thailand, India, China dan Australia Utara. Genus ini juga tumbuh secara semula jadi di Fiji dan beberapa pulau di Caribbean termasuklah St. Vincent, Martinique, Jamaica dan St. Kitts (Locke and Heald, 1994). *Christia spp.* biasanya tumbuh di kawasan kering, berumput, tanah berpasir dan di tepi jalan. Genus *Christia* kebiasaannya digelar '*The island pea*' (USDA 2006), adalah tumbuhan herba yang tidak menjalar digunakan sebagai hiasan di kebun-kebun di Asia Tenggara kerana bentuk daunnya yang unik dan toleransi terhadap kemarau.

### 4.2 Botani Genus *Christia*

Spesies genus *C. vespertilionis* ini (van Meeuwen et al., 1961), disebarkan oleh benih atau keratan dalam campuran bebas gambut di bawah matahari penuh, kelembapan yang tinggi, media lembab dan suhu minimum 21°C (Barham, 1996). *Christia vespertilionis* tumbuh hingga ketinggian 1 m. Ia mempunyai batang langsing dengan daun trifoliat. Daun remaja mempunyai warna ungu dan yang matang berwarna hijau tua dengan jalur hijau pucat di sepanjang urat yang menonjol.

Sub-famili *Papilionoideae* (bunga) dari *Fabaceae*, yang dikenali sebagai *Leguminosae*, mempunyai kepelbagaian tahap tinggi dan fungsi khusus (Lavin, 2006). Suku *Desmodieae* subfamili ini terdiri daripada tumbuh-tumbuhan atau pokok renek dengan spesies yang unik (Bailey et al, 1997). Genus *Christia*, yang dahulu dikenali sebagai *Lourea*, adalah salah satu daripada dua genera yang mempunyai daun kecil yang hadir dan bersulam dengan dua atau lebih segmen dilipat dan disertakan dalam kelopak (Keng et al, 1993). Spesies *Christia* adalah tumbuh-tumbuhan tegak atau rumput yang subur atau sub-pokok renek yang mempunyai daun kompaun trifoliat dan daun pada tumbuhan yang sama. Semua daun disusun seli dengan struktur daun kecil di pangkal.

Sekelompok bunga atau rangkaian bunga pada batang (*rasem*) kadang terdapat pada sudut antara batang dan daun (*axillary*). Ia mempunyai bunga kecil berwarna putih dan kelopak berbentuk loceng yang membesar dengan umur. Kelopaknya mempunyai lima bentuk bujur yang meruncing hingga ke hujung dan sedikit lebar. Tiub bunga mempunyai kelopak sentral yang besar, dengan lipatan yang berbeza dan dua kelopak sayap

bersebelahan dengan apeks yang tumpul atau bulat (Moench, 1794; Moench, 1802)

Tanaman tropika seperti *Christia* menjalani perubahan morfologi dan fisiologi berdasarkan tahap cahaya ambien. Tanaman yang tumbuh di tempat teduh mempunyai daun yang lebih luas, lebih nipis, lebih gelap dan batang yang lebih tebal disebabkan oleh penurunan kadar fotosintesis dan pengeluaran karbohidrat, yang mengurangkan pertumbuhan (Wong dan Wilson, 1980, Joiner, 1981; Nelson, 1998; Baruch et al, 2000) berbanding tumbuhan yang terdedah kepada cahaya.

#### 4.3 Khasiat Daun Rerama

Daun rerama pernah menjadi bualan hangat dalam kalangan masyarakat akan keberkesannya khasiatnya dalam merawat pelbagai penyakit seperti mengubati kanser, anti-malaria, strok, darah tinggi, kencing manis, masalah usus seperti gastrik, sembelit, cirit-birit dan lain-lain. Daun rerama banyak digunakan secara tradisional oleh masyarakat yang mempercayai khasiatnya.

*Christia constricta*, *C. obcordata* dan *C. vespertilionis* berharga kerana kualiti perubatan mereka di Indochina dan Jepun. *Christia obcordata* digunakan untuk merawat penyumbatan kencing, dan nefritis akut dan kronik. *Christia vespertilionis* digunakan bercampur dengan air untuk merawat tuberkulosis, bronkitis dan tonsil yang meradang, selesema, kelemahan otot dan peredaran darah yang lemah (Nippon, 2006).

Seluruh tumbuhan daun rerama juga digunakan secara tradisional bagi merawat gigitan ular manakala daun digunakan sebagai rawatan topikal untuk menyembuhkan tulang yang patah. Daun segar yang dihancurkan boleh digunakan pada badan untuk merawat kudis.

#### 4.4 Antioksidan

##### 4.4.1 Pengenalan

Antioksidan adalah nutrien dalam makanan yang melindungi sel daripada rosak yang disebabkan oleh radikal bebas. Radikal bebas adalah molekul yang tidak stabil yang boleh merosakkan sel. Kerosakan sel boleh meningkatkan risiko kanser, sakit jantung, katarak dan diabetes. Antioksidan adalah sebatian yang melindungi sel melawan kerosakan akibat oksigen reaktif. Ketidakseimbangan antara antioksidan dan oksigen reaktif mengakibatkan stres oksidatif yang menimbulkan kerosakan sel (Cristobal & Donald, 2000).

Ia juga merupakan sebatian yang mampu menghalang reaksi radikal bebas dalam tubuh manusia. Radikal bebas merupakan penyebab utama penyakit seperti kardiovaskular dan kanser. Dalam tubuh manusia, sebatian oksigen reaktif seperti hidroksil akan menyerang asid lemak tidak

tepu pada membran sel dan menyebabkan pengoksidaan. (Madhujith dan Shahidi, 2005).

Radikal bebas juga boleh menjejaskan fungsi otak. Antioksidan menghalang pengoksidaan molekul lain. Pengoksidaan adalah tindak balas kimia yang memindahkan elektron atau hidrogen dari bahan ke agen pengoksida. Tindak balas pengoksidaan boleh menghasilkan radikal bebas. Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mengandungi elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Radikal bebas bersifat tidak stabil dan sangat reaktif yakni cenderung bereaksi dengan molekul lainnya untuk mencapai kestabilan. Radikal dengan kereaktifan yang tinggi ini dapat memulakan suatu reaksi yang berantai dalam sesekali pembentukannya sehingga menimbulkan senyawa yang tidak normal dan memulakan reaksi berantai yang dapat merosakkan sel-sel penting dalam tubuh (Badarinath et al, 2010). Radikal bebas dapat diatasi dengan penggunaan antioksidan (Mandat et al, 2009)

#### 4.4.2 Jenis Antioksidan

Antioksidan boleh dikelaskan kepada dua kumpulan iaitu antioksidan sintetik dan antioksidan semulajadi. Antioksidan semulajadi boleh didapati dari semua bahagian tumbuhan dan ia termasuk karatenoid, vitamin, fenolik dan flavonoid. Sumber tumbuhan makanan antioksidan daripada bijirin, buah-buahan dan sayur-sayuran.

Antioksidan sintetik termasuklah BHA (butil hidroksilanisol), BHT (butil hidroksitoluena) dan sebagainya. Butil Hidroksianisole (BHA) tidak wujud secara semulajadi. Ia melebur pada suhu lebih kurang 65°C dan mempunyai rasa fenolik, ia larut dalam lemak tetapi tidak larut dalam air. Keberkesanannya meningkat dengan kepekatan BHA iaitu sehingga 0.02%. ia boleh aktif dalam pembakaran dan makanan yang bergoreng, dalam lemak atau lemak khinzir (lard) yang mengandungi BHA. Kestabilannya akan menurun apabila dikenakan pada suhu tinggi dan kehilangan kestabilannya disebabkan oleh pemeruapan antioksida. Walaubagaimanapun, kerosakan BHA adalah rendah.

Butil Hidroksitoluene atau nama IUPAC BHT ialah 2,6-bis (1,1-dimetiletill)-4-metilfenol atau nama lainnya 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol; 2,6-di-tert-butyl-p-cresol (DBPC); butylated hydroxytoluene; BHT. formula molekulnya  $C_{15}H_{24}O$ . Rupa BHT ialah serbuk putih. Mempunyai ketumpatan 1.048 g/cm<sup>3</sup>, pepejal. Takat leburnya ialah 70-73 °C dan takat didihnya 265 °C (538.15 K). Ia tidak larut dalam air. Butil hidroksitoluene (BHT), juga dikenali sebagai Butilhidroksitoluene, adalah lipofilik (larut lemak) kompond organik ini digunakan ebagai bahan tambah antioksidan (nombor E, E321), juga baik dalam kosmetik, farmasi, getah dan produk petroleum.

Antioksidan berfenol hidroksitoluena berbutil (BHT) yang tulen berwarna putih, berhablur, tiada rasa atau bau, tiak larut dalam air tetapi larut dalam lemak dan pelarut organik. Sifatnya hampir sama dengan BHA. BHT yang tulen dalam lemak ringkas adalah kurang berkesan jika

dibandingkan dengan propilgalat dan NDGA tetapi lebih baik daripada BHA. Gabungan BHA dan BHT membentuk sinergi dalam lemak tetapi tidak dalam hasil pembakaran. Kajian ketoksikan BHT pada tikus, anjing dan anjing menunjukkan ia tidak berbahaya.

#### 4.5 Sebatian Fenolik

Fenolik tumbuhan dan "polifenol" adalah unsur semulajadi yang wujud secara biogenetik dari laluan fliklpropanoid yang fliklpropanoid, yang secara langsung menyediakan phenylpropanoid, atau laluan polyetide" asetik/melanoik yang boleh menghasilkan fenol mudah, atau kedua-duanya sekali gus menghasilkan monomerik dan polimer fenol dan polifenol, yang memenuhi pelbagai peranan fisiologi dalam tumbuhan. Tumbuhan yang lebih tinggi mensintesis beberapa ribu sebatian fenolik yang berbeza. Keupayaan untuk mensintesis sebatian fenolik telah dipilih sepanjang perjalanan evolusi dalam keturunan tumbuhan yang berbeza, dengan itu membenarkan tumbuh-tumbuhan dapat menghadapi cabaran persekitaran yang berubah-ubah sepanjang masa evolusi.

Fenolik tumbuhan dianggap mempunyai peranan utama sebagai sebatian pertahanan apabila tekanan alam sekitar, seperti cahaya tinggi, suhu rendah, jangkitan patogen, herbivora, dan kekurangan nutrien, boleh menyebabkan peningkatan pengeluaran radikal bebas dan spesies oksidatif lain dalam tumbuh-tumbuhan. Kedua-dua tegasan biotik dan abiotik merangsang fluks karbon dari yang utama ke laluan metabolik sekunder, dengan itu mendorong pergeseran sumber yang ada yang menyokong sintesis produk sekunder. Satu hubungan yang menarik antara pasangan metabolisme primer dan sekunder pengumpulan proline metabolit tekanan dengan pemindahan tenaga ke arah biosintesis fenilpropanoid melalui laluan pentosfosfat oksida. Pengoksidaan berganti-ganti NADPH oleh sintesis proline dan pengurangan NADP + oleh dua langkah oksidatif dari laluan pentos fosfat oksidatif membawa kepada pengumpulan serentak sebatian fenolik. Tekanan penyejukan menyebabkan peningkatan jumlah kandungan fenolik dan kapasiti antioksidan dalam tumbuhan. (Pennycooke et al., 2005).

Asid fenolik, tanin hidrolisis, dan flavonoid mempunyai kesan anti-karsinogen dan anti-mutagenik kerana mereka bertindak sebagai agen pelindung DNA terhadap radikal bebas, oleh karsinogen tidak aktif, menghalang enzim yang terlibat dalam pengaktifan pro-karsinogen dan dengan mengaktifkan xenobiotik enzim detoksifikasi. (Ozcan, 2014). Unsur fenolik juga mampu mempertahankan tumbuhan daripada kerosakan (Valemtine et al., 2003).

#### 4.6 Manfaat Kesihatan Terhadap Kandungan Fenolik

Unsur-unsur kimia yang diekstrak dari tumbuhan, sebatian fenolik, boleh menghalang penyerapan amilase dalam rawatan penyerapan

karbohidrat, seperti kencing manis. Terdapat banyak buah dan sayuran yang mengandungi sebatian fenolik, terutamanya, anggur dan tomato. Sebatian fenolik, seperti asid fenolik dan flavonoid, dapat menggalakkan manfaat kesihatan dengan mengurangkan risiko sindrom metabolik dan komplikasi berkaitan diabetes jenis 2.

Reaktif oksigen (ROS) dan spesies nitrogen reaktif (RNS) adalah molekul teroksida yang sangat reaktif, yang dihasilkan secara berterusan oleh keadaan sel normal, contohnya aktiviti rantai pernafasan mitokondria dan keradangan, yang boleh menyebabkan kerosakan pada molekul lain seperti protein dan DNA. Enzim antioksidan termasuk dismutase superoxide (SOD), glutathione peroxidase (GPx) dan catalase (CAT), semuanya akan memainkan peranan penting dalam menyingkirkan daripada oksidan ini dan mencegah kecederaan. (Derong Lin et al., 2016).

Etanol adalah alkohol cecair yang dihasilkan oleh penapaian pelbagai jenis bahan biologi. Bahan-bahan ini termasuk bijirin seperti gandum, barli, jagung, kayu, dan tebu. Etanol disebut juga etil alkohol dengan rumus kimia  $C_2H_5OH$  atau  $CH_3CH_2OH$  dengan takat didihnya  $78.4^\circ C$ . Etanol memiliki sifat tidak berwarna, meruap dan dapat bercampur dengan air (Kartika et al., 1997).

#### 4.7 Jenis Pelarut (Etanol)

Pelarut etanol digunakan secara meluas kerana mengandungi ketoksikan yang rendah dan hasil pengeluaran ekstrak yang tinggi. Hal ini disebabkan polariti boleh dikawal mengikut nisbah yang terpilih (Franco et al., 2008).

### 1. Metodologi

Daun rerama segar (*Christia vespertilionis*) dipetik dari pokok dan disusun pada dulang bersih kemudian dikeringkan selama semalaman pada suhu  $6^\circ C$  di dalam oven. Setelah kering, daun rerama tersebut dikisar untuk dijadikan serbuk. Manakala bagi sampel daun rerama segar pula, ia dipetik segar dari pokok kemudian dihancurkan dengan menggunakan mortar. Seterusnya, pengekstrakan sampel dilakukan dengan menggunakan etanol 95% dan dibiarkan semalaman di dalam peti sejuk. Keesokan harinya analisis antioksidan menggunakan kaedah DPPH dan analisis fenolik menggunakan kaedah reagen Folin-ciocalteu dilakukan.

#### 5.1 Penyediaan Bahan Mentah

Di dalam kajian ini, terdapat satu sampel yang digunakan iaitu daun rerama (*Christia vespertilionis*). Sampel yang digunakan adalah dari jenis tumbuhan herba yang mudah untuk didapati. Umum mengetahui bahawa tumbuhan herba mempunyai pelbagai khasiat, maka analisis ini dijalankan bagi memanfaatkan khasiatnya. Daun rerama boleh didapati dari Taman



Pertanian, Bukit Goh, Kuantan. Daun rerama perlu didapati di dalam keadaan yang segar.

## 5.2 Penyediaan Serbuk Daun Rerama

Daun rerama dibersihkan dan ditoskan. Kemudian dikeringkan selama semalaman pada suhu 6°C. Daun rerama yang telah kering kemudian dikisar dengan menggunakan mesin pengisar untuk dijadikan serbuk (Azizah et al., 2009).

Manakala bagi daun rerama segar pula ia akan dipetik segar dari pokok kemudian dibersihkan dan ditoskan. Seterusnya, daun rerama segar akan dihancurkan menggunakan mortar.

## 5.3 Pengekstrakan Sampel Menggunakan Pelarut Etanol 95%.

Sampel (serbuk daun rerama kering dan serbuk daun rerama segar) ditimbang sebanyak 0.025g, kemudian ditambah dengan etanol 95% sehingga mencapai sukatan sebanyak 100ml. Sampel akan dibiarkan semalaman di dalam peti sejuk sebelum digunakan untuk proses seterusnya. (Azizah et al., 2009).

## 5.4 Penentuan Jumlah Fenolik Menggunakan Reagen Folin-Ciocalteu (FCR)

2 ml pengekstrakan serbuk daun rerama dipipet ke dalam tabung uji. Seterusnya tambahkan 4 ml 50% reagen Folin- Ciocalteu dan 4 ml 5% sodium karbonat. Letakkan tabung uji di tempat yang gelap selama 1 jam. Ukur kadar penyerapan cahaya pada 765nm menggunakan spektrofotometer. Kemudian ulang semula langkah tersebut dengan menukarkan pengekstrakan serbuk daun rerama dengan siri standard asid gallic (100ppm, 200ppm, 300ppm, 400ppm dan 500ppm). Graf lengkung kalibrasi vs kepekatan diplotkan (Singleton et al., 1999).

## 5.5 Penentuan Aktiviti Antioksidan Menggunakan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)

Pengekstrakan serbuk daun rerama disediakan dalam larutan bersiri (100ppm, 200ppm, 300ppm, 400ppm dan 500ppm) dengan isipadu 10 ml dan dicukupkan jumlah tersebut dengan pelarut, etanol 95%. Seterusnya 2 ml setiap larutan bersiri dicampurkan sebatu dengan 4 ml 0.1 mM reagen DPPH dan 2 ml etanol 95%. Letakkan campuran tersebut di tempat yang gelap selama 30 minit. Kadar penyerapan cahaya diukur pada 517 nm menggunakan spektrofotometer (Brand-williams et al., 1995).

## 5.6 Penyediaan Standard Butil Hidroksianisole (BHA).

Pengekstratan standard (BHA) disediakan dalam larutan bersiri (100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm dan 500 ppm) dengan isipadu 10 ml. Kemudian, 2 ml setiap larutan bersiri dicampur sebatian dengan 4 ml 0.1 mM reagen DPPH dan 2 ml etanol 95%. Campuran tersebut diletakkan di tempat yang gelap selama 30 minit. Kadar penyerapan cahaya diukur pada 517 nm menggunakan uv-spektrofotometer.

Graf peritus perencatan melawan kepekatan (standard dan sampel) diplotkan (Brand-williams et al., 1995).

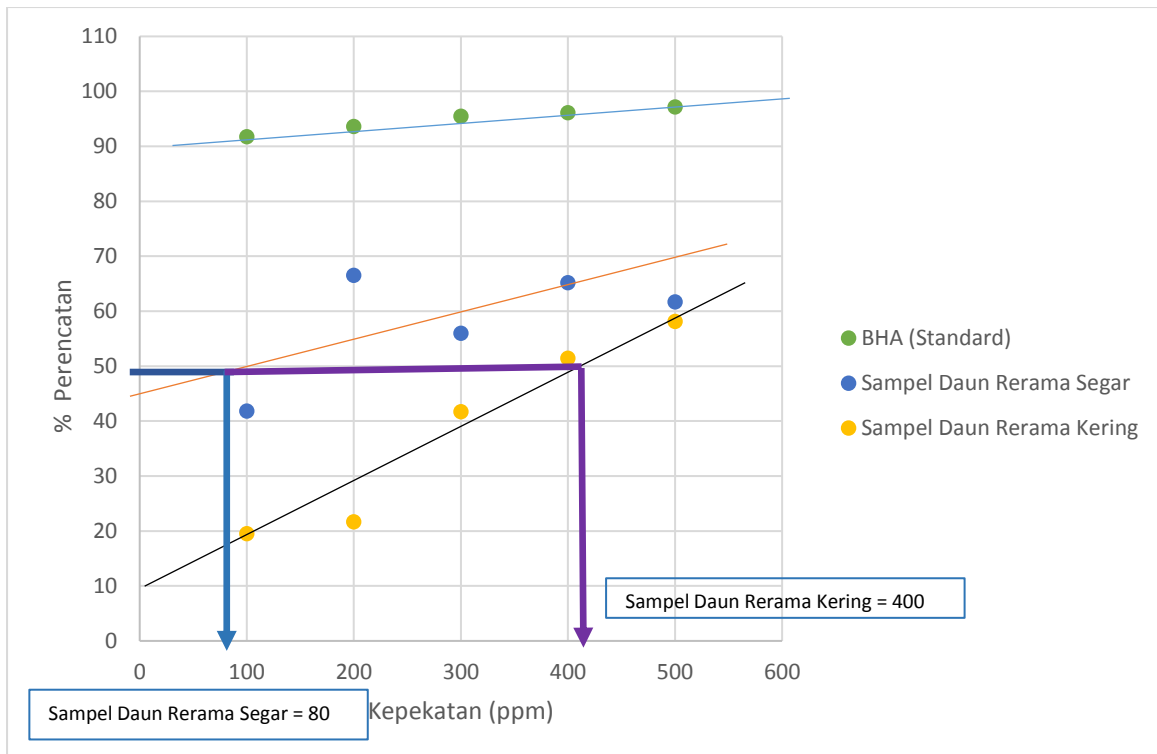
## 6. Keputusan dan Perbincangan

Graf 1 berikut menunjukkan keputusan analisis antioksidan bagi sampel serbuk daun rerama kering dan daun rerama segar. Didapati, keputusan antioksidan bagi kedua-dua sampel berada pada bawah garisan standard. Daun rerama segar didapati mempunyai kandungan antioksidan yang tinggi berbanding serbuk daun rerama kering. Graf analisis juga menunjukkan nilai IC 50 pada kedua-dua sampel. Bagi daun rerama segar, nilai IC 50 berada pada kepekatan 80ppm manakala bagi serbuk daun rerama kering, nilai IC 50 berada pada kepekatan 400 ppm. Hal ini jelas menunjukkan daun rerama segar mempunyai kandungan antioksidan yang tinggi kerana mampu merencat radikal bebas pada kepekatan yang lebih rendah berbanding serbuk daun rerama kering.

Data Peratus Perencatan Standard dan Sampel menggunakan daripada UV-Spektrofotometer:

<b>Kepekatan (ppm)</b>	<b>BHA (Standard)</b>	<b>Sampel Daun Rerama Segar</b>	<b>Sampel Daun Rerama Kering</b>
100	91.76	41.85	19.49
200	93.61	66.55	21.68
300	95.46	55.96	41.68
400	96.13	65.21	51.43
500	97.14	61.68	58.15

Graf 1: Peratus Perencatan melawan Kepekatan Larutan (ppm)



Graf 2 berikut menunjukkan keputusan analisis fenolik terhadap serbuk daun rerama kering dan daun rerama segar. Analisis dijalankan menggunakan kaedah reagen Folin-ciocalteau. Berdasarkan standard asid galik, didapati kepekatan bagi sampel serbuk daun rerama kering ialah 103 ppm. Manakala, bagi sampel daun rerama segar, kepekatan yang didapati ialah 254 ppm. Analisis menunjukkan daun rerama segar mempunyai kandungan fenolik yang lebih tinggi berbanding serbuk daun rerama kering.

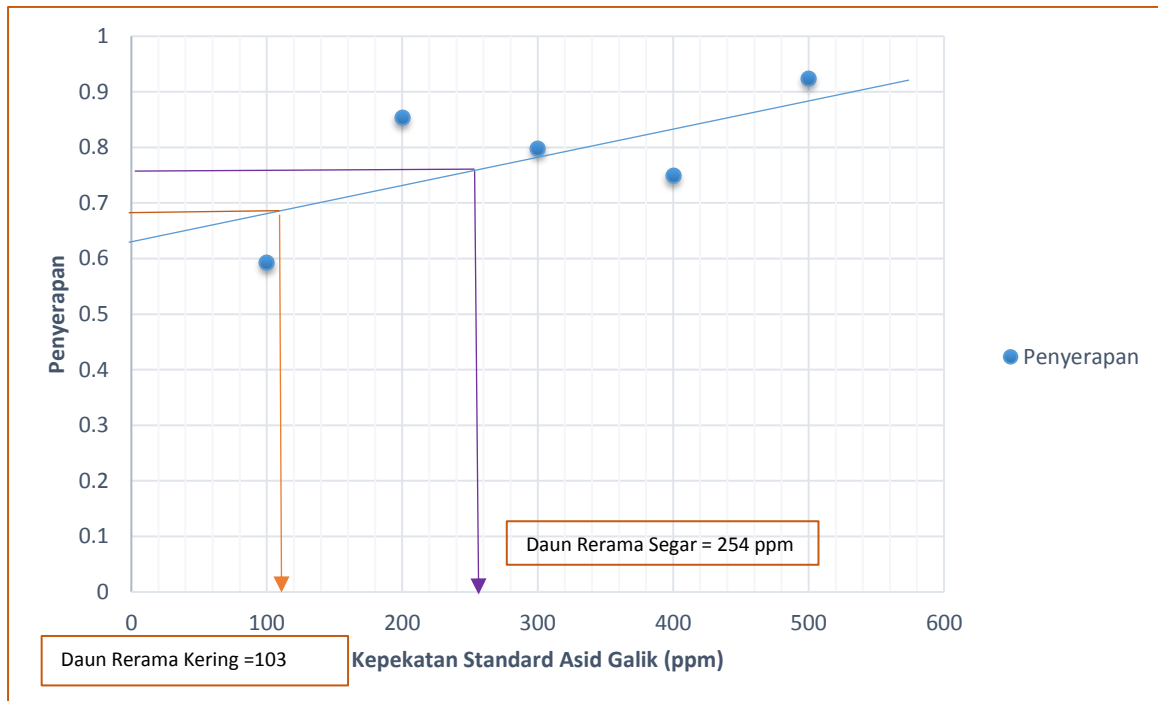
#### Data Standard Asid Galik

Kepekatan Standard Asid Galik	Penyerapan
100	0.593
200	0.854
300	0.798
400	0.750
500	0.925

## Data Sampel Daun Rerama Kering dan Daun Rerama Segar

Sampel	Penyerapan
Sampel Daun Rerama Kering	0.69
Sampel Daun Rerama Segar	0.76

Graf 2: Penyerapan Melawan Kepekatan (ppm)



## 7. Kesimpulan dan Cadangan

Berdasarkan keputusan yang diperolehi, daun rerama segar menunjukkan kandungan aktiviti antioksidan yang tinggi berbanding serbuk daun rerama kering. Bagi kandungan aktiviti antioksidan menunjukkan IC 50 bagi daun rerama segar adalah lebih baik iaitu pada 80 ppm berbanding serbuk daun rerama kering iaitu pada 400 ppm. Seterusnya, daun rerama segar mempunyai nilai kandungan fenolik yang tinggi iaitu 254 ppm berbanding serbuk daun rerama kering iaitu 103 ppm. Daripada keputusan aktiviti antioksidan yang diperolehi dibandingkan dengan standard BHA untuk mengetahui tahap kekuatan antioksidan di dalam daun rerama segar dan serbuk daun rerama kering, keputusan menunjukkan daun rerama segar mempunyai peratusan aktiviti antioksidan yang lebih tinggi daripada serbuk daun rerama kering. Peratusan aktiviti antioksidan daun rerama masih dibawah peratus aktiviti antioksidan BHA.

Cadangan penambahbaikan daripada kajian ini ialah dengan melakukan analisis ketoksikan daun rerama.

## Rujukan

- Azizah, A. H., Wee, K. C., Azizah, O and Azizah (2009). M. Effect of boiling and stir frying on total phenolics, carotenoids and radical scavenging activity of pumpkin (*Cucurbita moschato*). *International Food Research Journal* 16: 45-51.
- Barham, J.M. (1996). *Christia vespertilionis* var. *verspertilionis* Leguminose. *Curtis's Bot. Mag.* 13 (1): 19-21.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie* 28: 25-30.
- Derong Lin 1, Mengshi Xiao 1, and Jingjing Zhao 1, (2016), An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes, *Molecules* 2016, 21, 1374; doi:10.3390/molecules21101374.
- Dewi Tristantini, Alifah Ismawati, Bhayangkara Tegar Pradana, Jason Gabriel Jonathan (2016). *Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (Mimusops elengi L). Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan"*. ISBN 1693-4393.
- Dina Pratiwi, Sri Wahdaningsih, Isnindar (2013). *Uji Aktivitas Antioksidan Daun Bawang Mekah (Eleutherine americana Merr.) dengan Metode DPPH (2,2- Difenil-1 Pikrilhidrazil)*.
- Donald, R.B and M. Cristobal (2000). *Antioxidant Activity Of Flavonoids*. Department Of Environ and Molec. Toxic. Oregon State University, Corvallis, Oregon.
- Franco, D. , Sineiroz, J. , Rubilar, M. , Sanchez, M. Jerez, M. , Pinelo, M. , Costoya, N. and Nunez, M. J. (2008). *Polyphenols from plant material: Extraction and Antioxidant Power*. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* 7(8): 3210-3216.
- H. Bunawan, S. N. Bunawan, and S. N. Baharum (2015). *The Red Butterfly Wing (Christia Vespertilionis): A promising cancer cure in Malaysia*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 7(8),5. University Kebangsaan Malaysia.
- Khalaf, N.A., Shakya, A.K., Al-Othman A, El-Agbar Z., Farah H., (2008). *Antioxidant Activity of Some Common Plants*. *Turk J Biol* 32 51-55.
- Lock, J.M. and J. Heald. 1994. *Legumes of Indo-China – A Checklist*. Royal Botanic Gardens, Kew. Pp 66.
- Md. Ali Akhbar Hossain, Md. Selim Hossain, Kaniz Fatema, Benazir Ahmed Siddique, Hanif Sikder, Md Sohel Sarker (2015). *An Evaluation on Antioxidant Activity, Total Phenolic and Total Flavonoid contents of*

- Extract from Adina Cordifolia (Roxb).* American Journal of Plant Sciences, 2015, 6, 633-639.
- M.K. Zainola, A. Abd-Hamida,\* , S. Yusofb, R. Musec (2003). *Antioxidative activity and total phenolic compounds of leaf, root and petiole of four accessions of Centella asiatica (L.) Urban.* Food Chemistry 81 575–581.
- Monica Butnariu1\* and Ioana Grozea2, Antioxidant (Antiradical) Compounds, Journal of Bioequivalence & Bioavailability, Volume 4(6): xvii-xix (2012) – xvii.
- Ni Kadek Fina Parwati, Mery Napitupulu, Anang Wahid M. Diah. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Binahong (Anredera Cordifolia (Tenore) Steenis) Dengan 1,1- Difenil-2 Pikrilhidrazil (DPPH) Menggunakan Spektrofotometer UV VIS.* Vol 3, No. 4, 2014: 206 213.
- Lock, J.M. and J. Heald (1994). *Legumes of Indo-China – A Checklist.* Royal Botanic Gardens, Kew. Pp 66.
- Md. Ali Akhbar Hossain, Md. Selim Hossain, Kaniz Fatema, Benazir Ahmed Siddique, Hanif Sikder, Md Sohel Savker (2015). *An Evaluation on Antioxidant Activity, Total Phenolic and Total Flavonoid contents of Extract from Adina Cordifolia (Roxb).* American Journal of Plant Sciences 6, 633-639.
- M.K. Zainola, A. Abd-Hamida,\* , S. Yusofb, R. Musec (2003). *Antioxidative activity and total phenolic compounds of leaf, root and petiole of four accessions of Centella asiatica (L.) Urban.* Food Chemistry 81 575–581.
- Nickerson, J. T. R., and L. J. Ronsivalli (1980). *Elementary Food Science,* Second Edition, Westport, Connecticut (USA).
- Nina Salamah, Liani Farahana (2014). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Herba Pegagan (Centella Asiatica (L.) Urb Dengan Metode Fosfomolibdat.* Pharmacia, Vol. 4, No. 1: 23-30.
- Nina Salamah, Nurushoimah (2014). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Herba Pegagan (Centella Asiatica (L) Urb.) Dengan Metode Penghambatan Degradasi Beta Karoten.* Farmasains Vol 2, No. 4.
- Nippon Shinyaku Co. (2006). *Japanese Greenhouse New Medicine Corporations Herbs - 41.* The leaf is similar to the airplane, “[hikoukisu]”, *Christia vespertilionis (L.f.) Bakh.f. (Legumes).*
- Ohashi, H., R.M. Polhill and B. Raven (1981). *Advances in Legume Systematics, Part 1.* Royal Botanic Gardens, Kew. Desmodieae, p. 292-300. In: Polhill, R.M. and P.H. Raven (eds.)
- Shapiro M (1972). Redox balance in the body: An approach to quantification. *J Surg Res* 3: 138 152.

- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M., (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substances and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. *Metho*
- T.Ozcan, A. Akpinar-Bayazit, L. Yilmaz-Ersan, and B. Delikanli (2014). *Phenolics in Human Health*. International Journal of Chemical Engineering and Applications, Vol. 5, No. 5. 393-394.
- Velentine IK, Maria VK, Bruno B (2003). *Phenolic cycle in plants and environment*. J Mol. Cell Biol., 2: 13-18.
- USDA National Agricultural Statistics Service (2006). *Floriculture Crops 2005 Summary*. Sp Cr 6-1 (06).ds in *Enzymology* 299, 152-178.
- Van Meeuwen, M.S., C.G.G.J. van Steenis, and J. Stemmerik (1961). *Preliminary revisions of some genera of Malaysian Papilionaceae II*. Reinwardtia 6: 85-108.
- Vimalkumar CS, Hosagaudar VB, Suja SR, Vilash V, Krishnakumar NM, Latha PG (2014). *Comparative preliminary phytochemical analysis of ethanolic extracts of leaves of Olea dioica Roxb., infected with the rust fungus Zaghouania oleae (E.J.Butler) Cummins and non-infected plants*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2014; 3(4): 69-72.
- Wong, C.C. and J.R Wilson (1980). *Effects of Shading on the Growth and Nitrogen Content of Green Panic and Siratro in Pure and Mixed Swards Defoliated at two Frequencies*. Aust. J. Agric. Res., 31.