

Kesan Kaedah Pengeringan dan Pelarut yang Berbeza terhadap Kandungan Fenol, Aktiviti Antioksidan dan Antihiperghlisemik Ekstrak Rizom Halia Hutan (*Alpinia mutica* Roxb.)

(Effect of Different Drying Methods and Solvents on Phenol Content, Antioxidant and Antihyperglycemic Activity of Ginger Rhizome Extract (*Alpinia mutica* Roxb.))

LIM CHUE LI¹, HAFEEDZA ABDUL RAHMAN^{1,2,*}, ZULIKA ARSHAD¹, NAJIHAH HASSAN NOORHADI¹, NOORUL SYUHADA MOHD RAZALI^{1,2}, SENG JOE LIM^{1,2} & NOOR-SOFFALINA SOFIAN-SENG^{1,2}

¹Jabatan Sains Makanan, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor Darul Ehsan, Malaysia

²Pusat Inovasi Teknologi Manisan (MANIS), Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor Darul Ehsan, Malaysia

Diserahkan: 18 Mei 2021/Diterima: 7 September 2021

ABSTRAK

Alpinia mutica Roxb. (Zingiberaceae), juga dikenali sebagai halia hutan ialah sejenis tumbuhan yang kaya dengan sumber bahan bioaktif, berupaya menentang sel kanser dan berpotensi untuk bertindak sebagai agen antioksidan. Kajian ini dijalankan untuk mengkaji kesan kaedah pengeringan (pengeringan ketuhar (PK) dan sejuk beku (PB)) serta penggunaan campuran pelarut etanol dan air pada nisbah yang berbeza (100:0, 50:50 dan 0:100) terhadap kandungan fenol, aktiviti antioksidan dan antihiperghlisemik ekstrak rizom *A. mutica* (ERA). Kandungan fenol ERA dikaji dengan ujian penentuan Jumlah Kandungan Fenol (TPC) manakala aktiviti antioksidan ditentukan dengan Ujian Aktiviti Penyingkiran Radikal Bebas (DPPH) dan Ujian Kuasa Penurunan Ferik (FRAP). Aktiviti antihiperghlisemik dikaji melalui perencatan enzim α -glukosidase. Hasil kajian ini menunjukkan bahawa penggunaan kaedah pengeringan dan pelarut yang berbeza mempengaruhi kandungan fenol, aktiviti antioksidan dan kesan antihiperghlisemik ERA. Sampel PK yang diekstrak dengan nisbah pelarut 100:0 menunjukkan aktiviti antioksidan (DPPH) dan kesan antihiperghlisemik yang terbaik dengan nilai kepekatan perencatan separuh maksimum (IC_{50}) yang paling rendah, 550.94 ± 50.02 dan 84.97 ± 11.69 $\mu\text{g/mL}$. Sampel PK (100:0) juga mencatatkan kandungan fenol (155.55 ± 9.36 mg GAE/g ekstrak) dan nilai FRAP (108.98 ± 10.08 mg TEAC/g ekstrak) yang tertinggi dengan perbezaan yang ketara berbanding dengan sampel lain ($p < 0.05$). Korelasi positif antara TPC dengan aktiviti antioksidan dan antihiperghlisemik menunjukkan kebarangkalian bahawa sebatian fenol ialah komponen yang bertanggungjawab terhadap aktiviti biologi yang diperolehi. Hasil kajian ini menunjukkan bahawa teknik pengeringan dan nisbah pelarut ekstrak yang digunakan jelas mempengaruhi kandungan fenol, aktiviti antioksidan dan kesan antihiperghlisemik (ERA).

Kata kunci: Aktiviti biologi; makanan fungsian; pengeringan ketuhar; pengeringan sejuk beku; sebatian bioaktif

ABSTRACT

Alpinia mutica Roxb. (Zingiberaceae), also known as *halia hutan* is a plant rich in various bioactive compounds (i.e. α -terpineol, linalool and camphor) that are reported to be capable of fighting cancer cells and has the potential to act as a natural antioxidant. This study was carried out to investigate the effect of different drying methods (oven drying (OD) and freeze-drying (FD)) and different extraction solvent ratio of ethanol:water (100:0, 50:50 and 0:100) on the phenolic content, antioxidant and antihyperglycemic activity of *A. mutica* rhizome extract (ERA). The phenolic content of ERA was determined using Total Phenolic Content (TPC) while antioxidant activity was measured using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) Free Radical Scavenging test and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) test. Antihyperglycemic activity was determined by measuring the inhibition of α -glucosidase enzyme activity. Using the Pearson Correlation test, the correlation between phenolic content and antioxidant and antihyperglycemic activity was evaluated. The findings of this study indicated that the different drying methods and types of solvent may have

significant effects on the phenolic contents, antioxidant and antihyperglycemic activity of ERA. Sample OD extracted with 100:0 showed the best antioxidant (DPPH) and antihyperglycemic activity with the lowest IC_{50} value of 550.94 ± 50.02 and 84.97 ± 11.69 $\mu\text{g/mL}$. PK (100:0) also showed highest phenolic content (155.55 ± 9.36 mg GAE/g extract) and FRAP value (108.98 ± 10.08 mg TEAC/g extract) significantly ($p < 0.05$) compared to other samples. A positive correlation between TPC with antioxidant and antihyperglycemic activity showed that the phenolic compound may be responsible for the biological activity obtained. This finding suggested that the total phenolic content, antioxidant and antihyperglycemic effects of ERA is significantly influenced by drying technique and extraction solvents used.

Keywords: Bioactive compounds; biological activity; freeze-drying; functional food; oven drying

PENGENALAN

Alpinia mutica Roxb. atau halia hutan ialah sejenis tumbuhan herba yang berasal daripada keluarga Zingiberaceae (Ma et al. 2017). *A. mutica* tumbuh dengan meluas di kawasan tropika dan subtropika di seluruh Asia, Australia dan Kepulauan Pasifik (Kress et al. 2005). Tumbuhan ini mempunyai ciri-ciri yang unik iaitu daun dan rizom tumbuhan yang beraromatik apabila dihancurkan (Burkill 1996). Daun dan rizom *A. mutica* sering digunakan oleh penduduk tempatan bagi tujuan perubatan tradisi seperti rawatan kembung perut serta mengurangkan bengkak (Ibrahim et al. 2014). Rizom *A. mutica* telah dilaporkan kaya dengan pelbagai sumber bioaktif seperti α -terpineol dan linalool yang telah menunjukkan aktiviti antioksidan (Zengin & Baysal 2014). Oleh itu, *A. mutica* dipercayai berpotensi untuk menjadi sumber antioksidan semula jadi serta berupaya untuk melawan pelbagai jenis kanser (Pande & Chanda 2020).

Pengeringan merupakan sejenis teknik pengawetan makanan yang sering digunakan dalam kehidupan harian. Proses ini memainkan peranan yang penting dalam industri makanan kerana proses ini dapat memanjangkan jangka hayat makanan serta boleh mengurangkan kos untuk pembungkusan dan pengangkutan makanan. Proses pengeringan boleh menyebabkan perubahan warna dan rupa bentuk makanan, kehilangan aroma, perubahan tekstur dan kehilangan nilai nutrisi (Kumar et al. 2014). Oleh itu, pemilihan kaedah pengeringan yang sesuai untuk produk tertentu amat penting untuk meningkatkan kualiti produk tersebut (Sojak & Glowacki 2010).

Penggunaan pelarut untuk pengekstrakan ialah teknik yang sering digunakan untuk mengasingkan sebatian bioaktif daripada makanan (Sardarodiyani & Mohamadi Sani 2016). Komponen bioaktif dan aktiviti antioksidan makanan bergantung kepada pelarut yang digunakan kerana polariti dan ciri-ciri kimia setiap pelarut adalah berbeza (Marcus 2017). Metanol dan

etanol sering digunakan dalam pengekstrakan sebatian antioksidan daripada makanan kerana pelarut alkohol mempunyai polariti yang serupa dengan sebatian fenol dan berupaya untuk mengekstrak sebatian fenol dengan cekap. Menurut kajian oleh Do et al. (2014), pengekstrakan dengan menggunakan metanol dan etanol boleh menghasilkan ekstrak dengan kandungan fenol yang lebih tinggi berbanding dengan pelarut lain seperti aseton.

Penggunaan teknik pengeringan serta pemilihan pelarut yang terbaik amat penting bagi menghasilkan ekstrak tumbuh-tumbuhan dengan nilai antioksidan dan kandungan sebatian bioaktif yang optimum. Ini adalah kerana antioksidan merupakan sebatian yang amat sensitif kepada cahaya, haba dan kehadiran oksigen. Antioksidan memainkan peranan penting untuk menghalang atau merencat pengoksidaan, suatu keadaan apabila terdapat kehilangan elektron daripada molekul. Terdapat dua jenis iaitu antioksidan, iaitu antioksidan semula jadi dan sintetik (Shahidi & Zhong 2010). Kini antioksidan ialah salah satu bahan penting yang sering digunakan untuk tujuan pengawetan dalam industri makanan (Sardarodiyani & Mohamadi Sani 2016). Antioksidan yang digunakan dalam industri mempunyai ciri-ciri seperti bebas toksik, berkesan dalam kepekatan yang rendah, stabil, tidak mempunyai bau, rasa dan warna serta mempunyai kelarutan yang baik dalam produk yang digunakan (Kiokias et al. 2008). Penggunaan antioksidan sebagai bahan tambahan berupaya untuk memanjangkan jangka hayat makanan tanpa menjejaskan kualiti sensori atau nutrisi makanan tersebut (Sardarodiyani & Mohamadi Sani 2016).

Tekanan oksidatif ialah tindak balas yang berlaku apabila terdapat ketidakseimbangan antara spesies oksigen reaktif (ROS) dan sistem pertahanan antioksidatif (Shah & Modi 2015). Kajian menunjukkan bahawa tekanan oksidatif boleh membawa kepada diabetes melitus jenis kedua, tekanan darah tinggi dan aterosklerosis (Canivell & Gomis 2014).

Diabetes melitus, juga lebih dikenali sebagai kencing manis ialah sejenis penyakit metabolik yang dicirikan oleh hiperglisemia yang disebabkan oleh rintangan insulin (Canivell & Gomis 2014). Menurut laporan Tinjauan Kesihatan dan Morbiditi Kebangsaan (NHMS), kadar kes diabetes yang dikenal pasti dalam kalangan warga dewasa di Malaysia ialah sebanyak 7.2% pada tahun 2011 dan telah meningkat kepada 8.3% pada tahun 2015 serta 9.4% pada tahun 2019. Hiperglisemia kronik diabetes biasanya dikaitkan dengan kerosakan, kegagalan organ-organ penting terutamanya mata, buah pinggang, saraf, jantung dan salur darah. Simptom hiperglisemia termasuk poliuria, polidipsia, penurunan berat badan, polifagia dan kabur penglihatan (Canivell & Gomis 2014). Antara ubat-ubatan antidiabetik yang disarankan oleh pengamal perubatan bertauliah untuk penghidap diabetes ialah seperti metformin dan akarbos bagi mengawal paras gula dalam darah. Namun begitu penggunaan ubat sintetik telah mendatangkan pelbagai kesan sampingan. Hal ini menyebabkan permintaan yang semakin meningkat terhadap produk semula jadi yang boleh menurunkan paras gula dalam darah (Cheng & Fantus 2005).

Oleh itu, penyelidikan ini dijalankan untuk mengkaji kaedah pengeringan dan pelarut yang paling sesuai untuk menghasilkan ekstrak rizom *A. mutica* yang mempunyai kandungan fenol yang tinggi, aktiviti antioksidan dan antihiperglisemik yang terbaik untuk dijadikan makanan berfungsi sebagai alternatif kepada antioksidan sintetik dan rawatan tambahan bagi pengurusan diabetes yang berkesan dan kurang kesan sampingan kepada pengguna.

BAHAN DAN KAEDAH

BAHAN KIMIA DAN REAGEN

Bahan kimia yang telah digunakan dalam kajian ini adalah etanol, reagen Folin-Ciocalteu, 7% natrium karbonat, 2% larutan metanol aluminium klorida, 2,2-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), metanol, larutan ferik klorida ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), 10 mM 2,4,6-tripirydy-s-triazine (TPTZ), 40 mM asid hidroklorik (HCl), heksana, penimbal asetat ($\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$), natrium asetat trihidrat ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), pemangkin (K_2SO_4 dan CuSO_4 dalam nisbah 10:1), H_2SO_4 (pekat), 4% larutan asid borik, 1.25% H_2SO_4 , 1.25% NaOH, 1% HCl, asid asetat glasial, 10 mM p-nitrofenil- α -D-glukopiranosid (pNPG), 50 mM penimbal fosfat, larutan enzim α -glukosidase dan 2 M glisin. Semua bahan kimia yang digunakan adalah bergred analitikal daripada Sigma-Aldrich, USA kecuali yang telah dinyatakan sebaliknya.

ANALISIS PROKSIMAT

Sampel segar digunakan untuk menilai komposisi sampel seperti kandungan air, kadar abu, kadar protein kasar, kadar lemak kasar, kadar serat kasar dan kandungan karbohidrat. Analisis dijalankan berdasarkan prosedur piawai Persatuan Ahli Kimia Analitik Rasmi (AOAC 2000) manakala kandungan karbohidrat ditentukan dengan menolak jumlah kandungan air, kadar abu, kadar protein kasar, kadar lemak kasar dan kadar serat kasar daripada nilai 100. Semua analisis dijalankan sebanyak tiga kali ulangan ($n=3$) dan hasil kajian yang diperolehi dilaporkan dalam bentuk peratusan.

PENYEDIAAN SAMPEL DAN PENGERINGAN SAMPEL

Rizom *A. mutica* segar yang diperolehi dari Kompleks Rumah Tumbuhan, Universiti Kebangsaan Malaysia pada tiga hari yang berbeza diasingkan daripada daun dan batang serta dibersihkan sebelum dikeringkan pada suhu 40°C dalam ketuhar (UM 400, Memmert Universal Oven, Germany) sehingga mencapai berat yang konsisten. Untuk pengeringan sejuk beku, sampel PB disimpan dalam peti sejuk HVF-301S HESSTAR (Hesstar Corporation Sdn. Bhd.) pada suhu -20°C selama 48 jam sebelum dikeringkan dengan pengering sejuk beku (H027080 Alpha Freeze Dryer Bench Top) sehingga mencapai berat yang tekal. Setelah dikeringkan, rizom dikisar sehingga menjadi serbuk yang halus dengan pengisar elektrik Waring blender 7011 S (Waring Commercial, America) dan diayak menggunakan pengayak dengan saiz jaringan 60 untuk mendapatkan serbuk kering rizom yang bersaiz sama iaitu sekitar 250 mikron. Saiz serbuk yang halus bukan sahaja dapat mempengaruhi proses pengekstrakan dan bahan bioaktif yang dihasilkan (Alsaud & Farid 2020), malahan dapat mempengaruhi nilai pemakanan sesuatu sampel kerana saiz zarah yang lebih kecil dapat meningkatkan tindak balas antioksidan dalam sampel makanan yang dihasilkan (Wan-Mokhtar et al. 2020). Bagi setiap kaedah pengeringan, uji kaji diulang sebanyak tiga replikasi. Serbuk rizom kemudiannya dibungkus dan disimpan dalam peti sejuk beku HVF-301S HESSTAR (Hesstar Corporation Sdn. Bhd.) pada suhu -20°C sebelum diekstrak untuk analisis seterusnya.

PENGEKSTRAKAN SAMPEL

Pengekstrakan sampel dilakukan berdasarkan kaedah Rahman et al. (2017). Rizom *A. mutica* yang telah dikisar diekstrak menggunakan etanol dan air pada tiga nisbah

yang berbeza iaitu 100:0, 50:50 dan 0:100. Rizom *A. mutica* yang telah kering direndam dalam pelarut dengan menggunakan nisbah sampel dan etanol 1:10 (50 g sampel dalam 500 mL pelarut) selama 24 jam dengan menggunakan penggongcang (KS 4000 IC Control, IKA Shakers, Germany). Kelajuan ditetapkan pada 200 rpm dan suhu 25 °C. ERA ditapis dengan menggunakan kertas penapis Whatman No 1. Pelarut yang masih berada dalam ekstrak rizom tersebut disejatkan dengan menggunakan penyejat berputar, Laborota 4000 efficient (Heidolph, Germany) pada 40 °C. Selepas itu, pengeringan sejuk beku dilakukan supaya air dapat disingkirkan sepenuhnya daripada sampel. Hasil pengekstrakan tersebut disimpan dalam botol gelap pada suhu -20 °C sebelum analisis yang seterusnya. Proses pengekstrakan dijalankan sebanyak tiga replikasi. Bacaan peratusan pemulihan bagi setiap sampel dihitung dengan menggunakan formula berikut:

$$\% \text{ pemulihan} = (\text{Berat ekstrak} / \text{Berat sampel kering}) \times 100$$

PENENTUAN KANDUNGAN FENOL (TPC)

Jumlah kandungan fenol ditentukan berdasarkan kaedah Hashim et al. (2019). Sebanyak 1 mL ERA dicampurkan dengan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu dan dibiarkan selama tiga hingga lapan min. Sebanyak 4 mL larutan 7.5% natrium karbonat ditambahkan dalam campuran tersebut dan digoncang. Campuran dibiarkan selama dua jam dalam keadaan gelap. Bacaan penyerapan larutan diukur dengan menggunakan pembaca mikroplat UV-Vis berjenama (Biotech 259037, Epoch, USA) pada jarak gelombang 765 nm.

Larutan asid galik digunakan sebagai larutan piawai dalam ujian ini. Larutan piawai disediakan pada kepekatan 0 dan 0.1 mg/mL menggunakan air suling. Keluk piawai diplot dan kandungan fenol telah dinyatakan dalam unit mg asid galik setara per g ekstrak (mg GAE/g ekstrak). Bacaan bagi kandungan fenol ditentukan menggunakan formula berikut:

$$T (\text{mg GAE/g ekstrak}) = C \times V/M$$

dengan C ialah kepekatan asid galik daripada graf (mg/mL); V ialah isi padu larutan ekstrak (mL); dan M ialah berat ekstrak (mg).

PENYINGKIRAN RADIKAL BEBAS 2,2-DIFENIL-2-PIKRILHIDRAZIL (DPPH)

Kuasa penyingkiran radikal bebas *A. mutica* diukur berdasarkan kaedah Sin et al. (2018). Aktiviti antioksidan

dinyatakan sebagai IC₅₀ (kepekatan *A. mutica* yang diperlukan untuk menyingkirkan 50% radikal bebas). Larutan 0.1 mM DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) digunakan sebagai larutan stok piawai dan disediakan secara segar setiap kali digunakan. Sebanyak 2.50 mg serbuk DPPH dicairkan dengan metanol sehingga memenuhi 100 mL kelalang volumetrik. Sampel (80 µL) dicampurkan dengan 560 µL larutan DPPH dan dibiarkan dalam keadaan gelap pada suhu bilik selama 30 min. Kemudian, bacaan penyerapan diukur pada jarak gelombang 517 nm dengan menggunakan pembaca mikroplat UV-Vis (Biotech 259037, Epoch, USA). Sampel kosong disediakan melalui campuran 560 µL larutan DPPH dan 80 µL pelarut yang digunakan dalam pengekstrakan sampel serta diukur pada 517 nm. Analisis ini dijalankan sebanyak tiga replikasi dengan menggunakan asid askorbik dan BHA sebagai kawalan positif. Bacaan bagi peratus aktiviti penyingkiran radikal bebas dan IC₅₀ bagi sampel dihitung dengan menggunakan formula berikut:

$$\text{Aktiviti penyingkiran radikal bebas (\%)} = (A \text{ kosong} - A \text{ sampel}) / (A \text{ sampel}) \times 100$$

dengan A ialah daya serapan

Peratusan aktiviti penyingkiran radikal bebas daripada enam ekstrak berlainan kepekatan digunakan untuk menghasilkan satu plot bagi pengiraan nilai IC₅₀ sampel ERA dan kawalan positif.

PENURUNAN KUASA ANTIOKSIDAN ION FERIK (FRAP)

Kaedah penurunan kuasa ferik (FRAP) telah dijalankan berdasarkan kaedah oleh Mirghani et al. (2018) dengan menggunakan UV-Vis spektrofotometer pada 593 nm. Kaedah ini adalah berdasarkan konsep pengurangan Fe³⁺ TPTZ kompleks kepada sebatian ferus yang berwarna biru pada pH yang rendah. Tiga larutan reagen yang berbeza digunakan untuk menyediakan reagen FRAP iaitu larutan 0.3 M penimbal asetat (CH₃OOH/CH₃COONa), larutan 10 mM 2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazin (TPTZ) dalam 40 mM asid hidroklorik (HCl) serta larutan 20 mM FeCl₃•6H₂O. Ketiga-tiga larutan ini disediakan secara berasingan dalam nisbah 10:1:1.

Larutan 0.3 M penimbal asetat pada pH 3.6 disediakan melalui campuran 0.31 g natrium asetat trihidrat (CH₃COONa•3H₂O) dan 1.6 mL asid asetat glasial dan kemudian dicairkan dengan 100 mL air suling. Larutan 40 mM HCl disediakan sebelum larutan TPTZ dengan mencairkan 1.67 mL larutan 12 M asid HCl kepada 500 mL menggunakan air suling.

Seterusnya, larutan 10 mM larutan TPTZ disediakan dengan mencairkan 0.1562 g serbuk TPTZ dalam 50 mL larutan dengan 40 mM HCl. 20 mM larutan $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ disediakan melalui campuran 0.2703 g serbuk $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dengan air suling sehingga larut sepenuhnya dan dipenuhi sehingga 50 mL. Larutan penimbal asetat, 10 mM larutan TPTZ dan 20 mM larutan $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dicampurkan pada nisbah 10:1:1 untuk menghasilkan larutan FRAP segar dan dipanaskan sehingga suhu 37 °C sebelum digunakan.

Kemudian, sebanyak 1950 μL larutan FRAP segar dicampurkan dengan 50 μL sampel ekstrak untuk analisis aktiviti antioksidan. Selepas 30 min, 200 μL daripada campuran dimasukkan ke dalam 96 mikroplat dan bacaan penyerapan diambil pada jarak gelombang 595 nm dengan menggunakan mikroplat UV-Vis (Biotech 259037, Epoch, USA). Penambahan 1 mg Trolox dalam 10 mL metanol yang berkepekatan 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ adalah sebagai larutan stok. Trolox yang mempunyai kepekatan yang berbeza boleh dihasilkan melalui pencairan bermula daripada 0-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Keluk piawai diplot dengan piawai Trolox dan nilai kuasa penurunan ferik dinyatakan sebagai mg TEAC/g ekstrak.

Bacaan bagi kuasa penurunan ferik adalah dengan menggunakan formula berikut:

$$T (\text{mg TEAC/g ekstrak}) = C \times V/M$$

dengan C ialah kepekatan Trolox daripada graf ($\mu\text{g}/\text{mL}$); V ialah isi padu larutan ekstrak (mL); dan M ialah berat ekstrak (g).

PERENCATAN α -GLUKOSIDASE

Kaedah perencatan α -glukosidase yang dijalankan adalah berdasarkan Zayapor et al. (2020). Larutan 10 mM larutan p-nitrofenil- α -D-glukofiranoside (pNG) disediakan dalam 50 mM fosfat penimbal (pH 6.5). Seterusnya, 10 μL sampel, 130 μL daripada 30 mM larutan fosfat penimbal dan 10 μL larutan α -glukosidase (3 U/mL) diprainskubasi dalam 96 plat pada suhu 25 °C selama 5 min. Selepas itu, 50 μL daripada larutan tersebut dimasukkan ke dalam mikroplat dan diinkubasi selama 15 min pada suhu 25 °C. Sebanyak 50 μL 2 M glisin (pH 10) ditambah untuk menghentikan tindak balas enzim. Sampel kosong disediakan dengan menggunakan kaedah yang sama seperti sampel uji kaji, tetapi larutan enzim dan substrat yang digunakan dalam sampel uji kaji digantikan dengan 50 μL 30 mM larutan fosfat penimbal manakala glisin pula digantikan dengan 50 μL air suling.

Bacaan penyerapan diambil pada jarak gelombang 405 nm dengan menggunakan mikroplat UV-Vis (Biotech 259037, Epoch, USA). Peratusan perencatan dihitung menggunakan formula berikut:

$$\% \text{ Perencatan} = (\Delta\text{An} - \Delta\text{As}) / \Delta\text{An} \times 100$$

ΔAn ialah perbezaan antara kawalan negatif (dengan enzim) dan kawalan negatif (tanpa enzim); dan ΔAs ialah perbezaan pada penyerapan antara sampel (dengan enzim) dengan sampel kosong (tanpa enzim).

ANALISIS STATISTIK

Semua analisis dilakukan sebanyak tiga kali replikasi ($n=3$). Data dianalisis menggunakan Ujian Analisis Varians (ANOVA) dan Ujian Tukey untuk menguji sebarang perbezaan antara sampel dengan menggunakan perisian Minitab versi 17.0 pada aras signifikan 95% ($p < 0.05$). Ujian Korelasi Pearson dijalankan untuk menentukan hubungan kait antara jumlah kandungan fenol dengan aktiviti antioksidan serta antihiperlipidemik ERA. Microsoft Excel versi 2016 juga digunakan untuk menghasilkan data graf dan carta bar.

HASIL DAN PERBINCANGAN

ANALISIS PROKSIMAT RIZOM *A. mutica*

Hasil kajian ini menunjukkan bahawa kandungan tertinggi dalam rizom *A. mutica* adalah karbohidrat (65.40%), diikuti dengan kandungan air (31.09%) dan serat kasar (19.69%). Kandungan serat rizom *A. mutica* (19.69%) adalah lebih tinggi berbanding *A. calcarata* (7.25%) manakala kandungan air dalam rizom *A. mutica* juga dilaporkan lebih tinggi iaitu 31.09% berbanding dengan spesies lain dalam genus yang sama seperti *A. officinarum* (12.4%), *A. galanga* (12.5%), *A. zerumbet* (9.11%) dan *A. calcarata* (14.5%) (Indrayan et al. 2009). Selain itu, hasil kajian ini juga menunjukkan bahawa rizom *A. mutica* mempunyai kadar lemak (1.46%), kadar abu (1.40%) dan kadar protein (0.64%) yang rendah (Jadual 1).

KESAN KAEDAH PENGERINGAN DAN NISBAH PELARUT YANG BERBEZA TERHADAP PERATUSAN PEMULIHAN EKSTRAK RIZOM *A. mutica*

Pengekstrakan menggunakan pelarut sering digunakan untuk mengekstrak sebatian daripada tumbuh-tumbuhan kerana proses pengendalian yang mudah, kecekapan dan kebolegunaan yang luas. Menurut Dorta et al.

(2012), metanol atau etanol adalah pelarut yang paling kerap digunakan dalam pengekstrakan. Selain daripada metanol dan etanol, air juga sering digunakan dalam pengekstrakan sebatian polifenol daripada tumbuh-tumbuhan. Hasil kajian peratusan pemulihan ERA

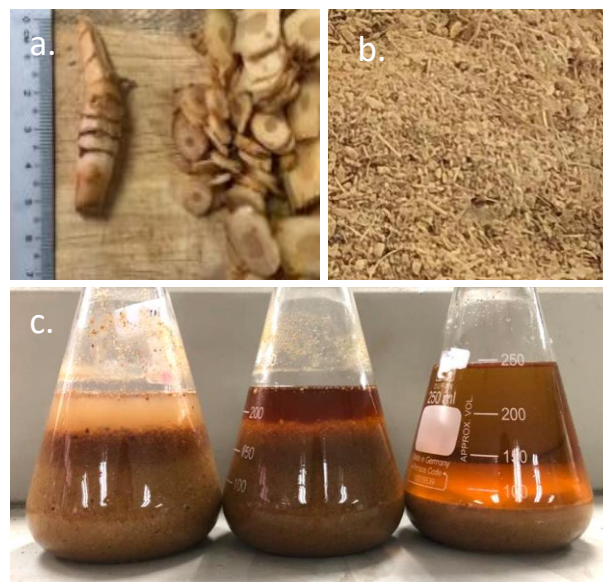
telah disenaraikan dalam Jadual 2. Hasil kajian ini menunjukkan bahawa pelarut 50:50 dapat mengekstrak lebih banyak sebatian diikuti pelarut 0:100 dan akhirnya 100:0. Hasil kajian ini juga menunjukkan bahawa peratus pemulihan sampel PB 50:50 adalah lebih tinggi secara signifikan ($p < 0.05$) berbanding sampel 100:0

JADUAL 1. Analisis proksimat rizom *A. mutica*

Analisis proksimat	Peratusan (%)
Kandungan air	31.09 ± 0.20
Abu	1.40 ± 0.27
Karbohidrat	65.40 ± 0.23
Protein	0.64 ± 0.05
Lemak	1.46 ± 0.29
Serat kasar	19.69 ± 2.44

bagi sampel PK dan PB. Dalam kajian yang dilakukan oleh Teng et al. (2019), pengekstrakan sampel secara optimum didapati dalam pelarut 50:50 berbanding dengan nisbah pelarut yang lain. Hal ini disebabkan penggunaan campuran alkohol dan air memodulasikan polariti pelarut alkohol dan juga meningkatkan kelarutan polifenol dan menyumbang kepada peningkatan peratusan pemulihan ekstrak (Mohammedi & Atik 2011). Keputusan kajian ini juga disokong oleh Siti Zulaikha et al. (2017) yang melaporkan bahawa peratus pemulihan ekstrak 50% etanol *Phyllanthus acidus* adalah

lebih tinggi berbanding ekstrak 100% etanol. Ini adalah kerana penggunaan air sebagai pelarut bukan sahaja dapat menyumbang kepada pengekstrakan sebatian polifenol malah bahan tinggi polariti lain seperti polisakarida, asid amino, gula dan nukleotida dalam kuantiti yang banyak daripada tumbuh-tumbuhan. Penambahan air sebagai pelarut turut menggalakkan hidrolisis, seterusnya mengurangkan risiko pengoksidaan di dalam sebatian tersebut (Osorio-Tobon 2020). Rajah 1 menunjukkan sampel segar, sampel kering dan ekstrak rizom *A. mutica*.



RAJAH 1. Sampel segar (a), sampel kering (b) dan ekstrak (c) rizom *A. mutica*

JADUAL 2. Peratusan pemulihan sampel ekstrak rizom *A. mutica* dengan menggunakan nisbah pelarut dan kaedah pengeringan yang berbeza

Nisbah pelarut (etanol:air)	Jenis pengeringan	Peratusan pemulihan (%)
100:0	PK	6.22 ± 1.36 ^c
	PB	6.11 ± 1.01 ^c
50:50	PK	14.29 ± 1.74 ^{ab}
	PB	15.51 ± 3.92 ^a
0:100	PK	9.24 ± 1.76 ^{bc}
	PB	10.68 ± 1.13 ^{abc}

PK=Pengeringan ketuhar; PB=Pengeringan sejuk beku

Nisbah etanol:air = 100:0, 50:0, 0:100

Nilai menunjukkan min ± sisihan piawai. Min (n=3) dengan abjad yang berbeza menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p < 0.05$) dianalisis dengan ujian Tukey menggunakan minitab versi 17

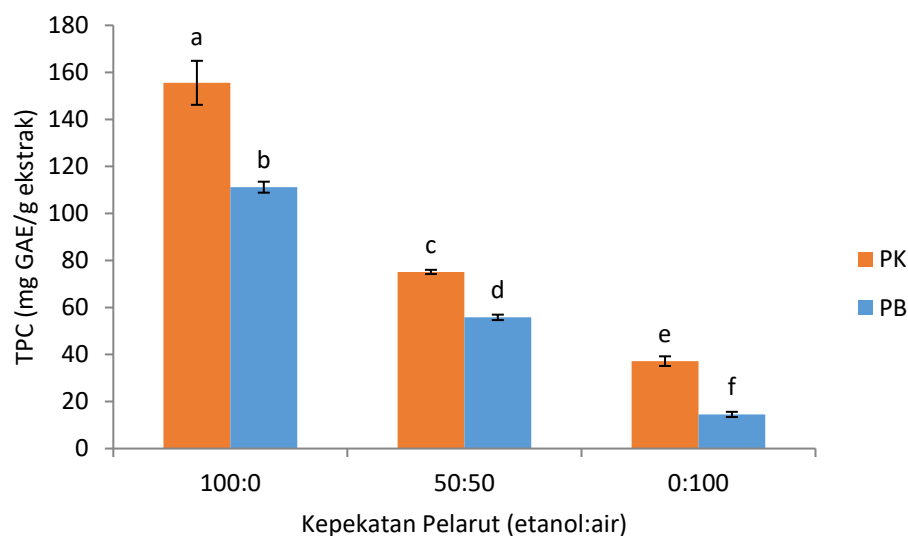
^{a-c}: menunjukkan perbandingan antara kaedah pengeringan dan nisbah etanol:air yang berbeza

% pemulihan = (Berat ekstrak/Berat sampel kering) × 100

KESAN KAEDAH PENERINGAN DAN NISBAH PELARUT YANG BERBEZA TERHADAP JUMLAH KANDUNGAN FENOL (TPC)

Kandungan fenol menyumbang kepada nilai gizi dan juga kualiti dari segi warna, rasa, aroma dan perisa makanan serta menyumbang kepada tahap kesihatan yang lebih baik. Selain itu, kandungan fenol juga

memainkan peranan dalam mekanisme pertahanan tumbuh-tumbuhan, membantu memerangkap spesies oksigen reaktif (ROS) serta mengelakkan kerosakan molekul disebabkan mikroorganisma (Vaya et al. 1997). Rajah 2 menunjukkan jumlah kandungan fenol dalam ERA bagi kaedah pengeringan serta pelarut yang berbeza.



RAJAH 2. Jumlah kandungan fenol ekstrak rizom *A. mutica* dengan kaedah pengeringan dan nisbah pelarut berbeza

PB= pengeringan sejuk beku; PK= pengeringan ketuhar

Nisbah etanol:air = 100:0, 50:0, 0:100

Nilai menunjukkan min ± sisihan piawai. Min (n=3) dengan abjad yang berbeza menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p < 0.05$) dianalisis dengan ujian Tukey menggunakan minitab versi 17.0

^{a-f} menunjukkan perbandingan antara kaedah pengeringan dan nisbah etanol:air yang berbeza

Hasil kajian ini menunjukkan bahawa terdapat perbezaan signifikan ($p < 0.05$) dalam penggunaan pelarut yang berbeza terhadap kandungan fenol sampel ERA. Hasil kajian ini menunjukkan bahawa sampel PK yang diekstrak dengan 100:0 menunjukkan jumlah kandungan fenol yang paling tinggi ($p < 0.05$) iaitu 155.55 ± 9.36 mg GAE/g ekstrak manakala sampel PB yang diekstrak dengan 0:100 menunjukkan jumlah kandungan fenol yang paling rendah ($p < 0.05$) iaitu 37.18 ± 2.04 mg GAE/g ekstrak. Hasil kajian ini menunjukkan bahawa 100:0 merupakan pelarut yang terbaik ($p < 0.05$) dalam pengekstrakan sebatian fenol daripada sampel ERA berbanding dengan 50:50 dan 0:100. Hal ini disokong oleh kajian Noreen et al. (2017) yang menunjukkan bahawa sampel *Limnophila aromatica* yang diekstrak dengan 100% etanol menyumbang kepada jumlah kandungan fenol yang tertinggi dan diikuti dengan 50% etanol dan 0% etanol. Kajian Noreen et al. (2017) menunjukkan bahawa jumlah kandungan fenol sampel berkurangan apabila kandungan air dalam pelarut meningkat. Hal ini disebabkan sebahagian besar kandungan sebatian bukan fenol seperti karbohidrat dan terpena wujud dalam ekstrak air berbanding ekstrak lain. Selain itu, berdasarkan kajian Naczka dan Shahidi (2006), pelarut yang mempunyai ketumpatan yang rendah mempunyai kadar penyerapan yang tinggi dan membolehkan pelarut untuk menembusi liang tumbuhan untuk mengekstrak sebatian bioaktif. Disebabkan etanol mempunyai ketumpatan yang lebih rendah (0.789 g/cm^3) daripada air (1.0 g/cm^3), etanol lebih berkesan dalam pengekstrakan sebatian fenol berbanding dengan air.

Hasil kajian ini juga jelas menunjukkan bahawa sampel yang dikeringkan dengan PK mempunyai jumlah kandungan fenol yang lebih tinggi ($p < 0.05$) daripada sampel yang dikeringkan dengan PB untuk ketiga-tiga pelarut yang berbeza. Hasil kajian ini selari dengan hasil kajian oleh Elshaafi et al. (2020) yang melaporkan pengeringan sampel daun ara yang menggunakan ketuhar pada suhu $40 \text{ }^\circ\text{C}$ mencatatkan jumlah kandungan fenol yang tertinggi secara signifikan ($p < 0.05$) berbanding dengan sampel pengeringan sejuk beku. Ini menunjukkan bahawa pendedahan sampel kepada suhu $40 \text{ }^\circ\text{C}$ dengan pengeringan ketuhar tidak akan menjejaskan jumlah kandungan fenol sampel dan kajian ini juga menunjukkan nilai TPC yang lebih tinggi bagi sampel pengeringan ketuhar berbanding dengan sampel pengeringan sejuk beku (Chong & Lim 2011). Hasil kajian ini juga disokong oleh kajian Hossain et al. (2010) yang menunjukkan bahawa sampel PB

mempunyai jumlah kandungan fenol yang lebih rendah daripada sampel PK. Jumlah kandungan fenol yang lebih rendah dalam sampel PB mungkin disebabkan pengikatan sebatian fenol dengan sebatian lain seperti protein atau disebabkan berlakunya perubahan struktur kimia disebabkan oleh pengeringan sejuk beku (Sagrini & Chong 2013).

KESAN KAEDAH PENGERINGAN DAN NISBAH PELARUT YANG BERBEZA TERHADAP AKTIVITI PENYINGKIRAN RADIKAL BEBAS (DPPH)

Dalam kajian ini, aktiviti penyingkiran radikal bebas DPPH dilaporkan dalam nilai IC_{50} iaitu kepekatan ERA yang diperlukan untuk memerangkap 50% radikal bebas. Nilai IC_{50} yang lebih rendah menunjukkan aktiviti antioksidan yang tinggi. Asid askorbik dan BHA telah digunakan sebagai kawalan positif untuk tujuan perbandingan. Jadual 3 menunjukkan bahawa terdapat perbezaan signifikan ($p < 0.05$) dalam penggunaan pelarut serta kaedah pengeringan yang berbeza terhadap aktiviti penyingkiran radikal bebas sampel ERA. Keputusan ujian antioksidan ini menunjukkan arah aliran yang sama seperti keputusan bagi jumlah kandungan fenol iaitu kaedah pengeringan PK dan pelarut 100:0 adalah lebih baik secara signifikan ($p < 0.05$) berbanding pengeringan PB serta pelarut 50:50 dan 0:100.

Hasil kajian ini disokong oleh Dhanani et al. (2017) yang menunjukkan bahawa sampel yang diekstrak dengan 100% etanol menunjukkan IC_{50} yang paling rendah dan diikuti dengan sampel yang diekstrak dengan 50% etanol dan 0% etanol. Kajian Sun et al. (2015) juga menunjukkan keputusan yang sama iaitu sampel 100% etanol menunjukkan IC_{50} yang paling rendah berbanding dengan sampel yang diekstrak dengan 50% etanol dan 0% etanol. Hal ini menunjukkan pengekstrakan menggunakan etanol dapat memberikan aktiviti antioksidan yang optimum. Hasil kajian ini juga menjelaskan peranan sebatian fenol dan flavanoid untuk memerangkap radikal bebas DPPH dalam aktiviti antioksidan sampel dan menyumbang kepada nilai IC_{50} yang rendah (Scapin et al. 2016).

Jumlah kandungan fenol yang tinggi membawa kepada peratusan penyingkiran radikal bebas yang tinggi (Das et al. 2012). Oleh itu, jumlah kandungan fenol yang paling tinggi dalam sampel PK 100:0 juga membawa kepada peratusan penyingkiran radikal bebas yang paling tinggi serta nilai IC_{50} yang paling rendah dalam sampel tersebut. Aktiviti antioksidan dilihat mempunyai

hubungan yang positif dengan kandungan fenol dengan jumlah kandungan fenol yang tinggi memberikan kapasiti antioksidan yang tinggi kerana terdapat korelasi linear antara kedua-dua parameter (Johari & Kong 2019). Oleh itu, kandungan fenol yang tinggi dalam ekstrak

etanol dapat dikaitkan dengan peningkatan aktiviti antioksidan seperti yang ditunjukkan melalui ujian penyingkiran radikal DPPH ini. Justeru, keputusan kajian ini menunjukkan bahawa ERA berpotensi digunakan sebagai agen antioksidan daripada sumber semula jadi.

JADUAL 3. Nilai IC_{50} dan peratusan penyingkiran radikal bebas ekstrak rizom *A. mutica* dengan kaedah pengeringan dan nisbah pelarut berbeza

Nisbah pelarut (etanol:air)	Jenis pengeringan	DPPH
		IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
100:0	PB	1312.57 \pm 161.43 ^c
	PK	550.94 \pm 50.02 ^f
50:50	PB	2415.01 \pm 148.64 ^c
	PK	1885.42 \pm 63.95 ^d
0:100	PB	4147.60 \pm 184.91 ^a
	PK	3362.58 \pm 152.79 ^b
AA (kawalan positif)	-	18.92 \pm 2.24 ^g
BHA (kawalan positif)	-	24.92 \pm 3.65 ^g

PB= pengeringan sejuk beku; PK= pengeringan ketuhar; AA= asid askorbik; BHA= butil hidroksi anisol

Nisbah etanol:air = 100:0, 50:0, 0:100

Kepekatan sampel yang digunakan dalam pengiraan peratusan penyingkiran radikal bebas ialah 5000 ppm manakala bagi kawalan positif (AA dan BHA) ialah 500 ppm

Nilai menunjukkan min \pm sisihan piawai. Min (n=3) dengan abjad yang berbeza menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p < 0.05$) dianalisis dengan ujian Tukey menggunakan minitab versi 17.0

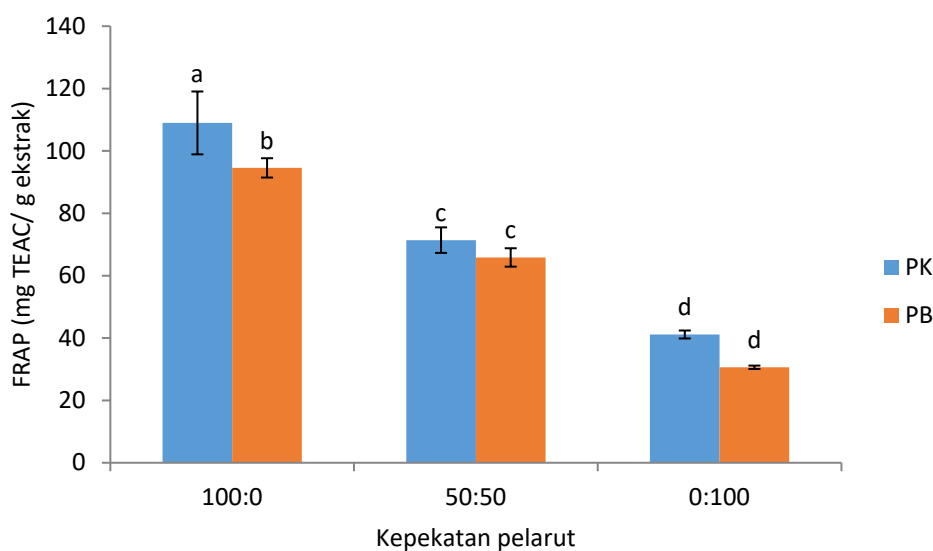
*^g menunjukkan perbandingan antara kaedah pengeringan dan nisbah etanol:air yang berbeza

KESAN KAEDAH PENGERINGAN DAN NISBAH PELARUT YANG BERBEZA TERHADAP KUASA PENURUNAN FERIK (FRAP)

Keupayaan antioksidan bagi ERA melalui kuasa penurunan ferik (FRAP) ditunjukkan dalam Rajah 3. Hasil kajian menunjukkan bahawa terdapat perbezaan signifikan ($p < 0.05$) dalam penggunaan pelarut yang berbeza (100:0, 50:50 dan 0:100) terhadap jumlah kandungan fenol sampel ERA. Sampel yang diekstrak dengan 100:0 menunjukkan jumlah kuasa penurunan ferik yang tertinggi secara signifikan ($p < 0.05$) berbanding dengan sampel ekstrak lain. Hasil kajian ini disokong oleh Othman et al. (2007) yang menunjukkan bahawa sampel koko dari Sulawesi yang diekstrak

dengan etanol menunjukkan aktiviti antioksidan yang baik berdasarkan ujian penurunan kuasa ferik.

Kajian oleh Othman et al. (2007) juga menunjukkan bahawa terdapat korelasi positif antara ujian FRAP dan kandungan fenol untuk ekstrak etanolik dan air. Hal ini disokong oleh kajian Chanthastri et al. (2018) yang melaporkan sampel ekstrak tumbuhan THP-R016 mempunyai jumlah kandungan fenol yang tertinggi serta menunjukkan jumlah kuasa penurunan ferik kedua tertinggi iaitu $96.76 \pm 2.35 \mu\text{m Fe}_2\text{SO}_4/\text{g}$ ekstrak berbanding sampel ekstrak tumbuhan lain. Penemuan ini selari dengan hasil kajian ini kerana sampel PK 100:0 mempunyai kandungan fenol tertinggi serta menunjukkan jumlah kuasa penurunan ferik yang tertinggi ($p < 0.05$) berbanding dengan sampel ekstrak lain.



RAJAH 3. Kuasa penurunan ferik ekstrak rizom *A. mutica* dengan kaedah pengeringan dan nisbah pelarut berbeza

PB= pengeringan sejuk beku; PK= pengeringan ketuhar

Nisbah etanol:air = 100:0, 50:0, 0:100

Nilai menunjukkan min \pm sisihan piawai. Min (n=3) dengan abjad yang berbeza menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p < 0.05$) dianalisis dengan ujian Tukey menggunakan minitab versi 17.0

^{a-d} menunjukkan perbandingan antara kaedah pengeringan dan nisbah etanol:air yang berbeza

Hasil kajian ini menunjukkan bahawa penggunaan kaedah pengeringan yang berbeza tidak menunjukkan perbezaan signifikan ($p > 0.05$) untuk ketiga-tiga nisbah pelarut yang digunakan kecuali untuk sampel yang diekstrak dengan 100:0. Ia turut disokong oleh Khanizadeh (2011) yang menunjukkan bahawa penggunaan kaedah pengeringan yang berbeza tidak mempengaruhi aktiviti antioksidan kepingan epal dalam ujian kuasa penurunan ferik secara signifikan. Oleh itu, sampel yang diekstrak dengan 100% etanol menunjukkan aktiviti antioksidan yang paling baik kerana berupaya untuk menurunkan lebih banyak ion ferik (III) kepada ion ferik (II). Hasil kajian ini juga disokong oleh Alothman et al. (2009) yang menunjukkan bahawa kuasa penurunan ferik sampel adalah bergantung kepada pelarut yang digunakan dan kajian tersebut telah menunjukkan bahawa peningkatan kepekatan etanol dalam pengekstrakan sampel menyumbang kepada aktiviti antioksidan yang lebih baik berdasarkan kaedah FRAP.

KESAN KAEDAH PENERINGAN DAN NISBAH PELARUT YANG BERBEZA TERHADAP PERATUSAN PERENCATAN α -GLUKOSIDASE

Jadual 4 menunjukkan keputusan perencatan α -glukosidase ERA dan kawalan positif iaitu kuersetin.

Keputusan dilaporkan dalam nilai IC_{50} dan peratus (%) perencatan kerana ekstrak 0:100 tidak dapat merencat lebih daripada 50% aktiviti enzim α -glukosidase. Hasil kajian ini menunjukkan bahawa tidak ada sebarang perbezaan signifikan ($p > 0.05$) antara kaedah pengeringan yang berbeza iaitu PB dan PK bagi ketiga-tiga jenis pelarut. Ekstrak PK dan PB 100:0 dan 50:50 serta kuersetin menunjukkan peratus perencatan yang lebih tinggi secara signifikan ($p < 0.05$) berbanding ekstrak PB 0:100 dan PK 0:100.

Bagi nilai IC_{50} pula, keputusan kajian ini menunjukkan nisbah pelarut 100:0 (etanol: air) sebagai nisbah ideal untuk menghasilkan ERA dengan aktiviti antihiperghlisemik yang paling tinggi kerana nilai IC_{50} yang lebih rendah secara signifikan ($p < 0.05$) berbanding dengan ekstrak 50:50. Bagi ekstrak 100:0, pengeringan ketuhar merupakan teknik pengeringan yang lebih baik untuk menghasilkan ERA dengan aktiviti antihiperghlisemik yang lebih baik berbanding dengan pengeringan sejuk beku kerana tiada perbezaan yang signifikan ($p > 0.05$) antara nilai IC_{50} bagi PK 100:0 dan kawalan positif kajian ini iaitu kuersetin menunjukkan bahawa ekstrak PK 100:0 berpotensi sebagai agen perencat enzim α -glukosidase yang berkesan untuk mengawal paras gula dalam darah. Manakala, ekstrak 0:100 merupakan pelarut yang tidak

sesuai untuk pengekstrakan kerana ia tidak berjaya merencat 50% aktiviti antihyperglisemik (peratus perencatan α -glukosidase adalah sebanyak $6.99 \pm 0.02\%$

dan $12.80 \pm 2.21\%$ sahaja). Oleh itu, PK 100:0 merupakan sampel yang paling sesuai digunakan untuk menghasilkan ERA dengan aktiviti antihyperglisemik yang paling tinggi.

JADUAL 4. Nilai IC_{50} dan peratusan perencatan α -glukosidase ekstrak rizom *A. mutica* dengan kaedah pengeringan dan nisbah pelarut yang berbeza

Kepekatan pelarut (etanol:air)	Jenis pengeringan	Perencatan α -glukosidase	
		IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	%
100:0	PB	158.8 ± 19.2^c	89.54 ± 3.46^a
	PK	84.97 ± 11.69^d	94.63 ± 0.70^a
50:50	PB	395.4 ± 29.7^a	79.85 ± 11.72^a
	PK	244.4 ± 45.20^b	90.70 ± 6.94^a
0:100	PB	Td	6.99 ± 0.02^b
	PK	Td	12.80 ± 2.21^b
Kuersetin (kawalan positif)	-	54.73 ± 6.66^d	94.29 ± 4.85^a

PB = pengeringan sejuk beku; PK = pengeringan ketuhar

Nisbah etanol:air = 100:0, 50:0, 0:100

td = tidak dapat dikesan

Kepekatan sampel dan kuersetin yang digunakan dalam pengiraan peratusan perencatan α -glukosidase ialah 1000 ppm

Nilai menunjukkan min \pm sisihan piawai. Min ($n=3$) dengan abjad yang berbeza menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p < 0.05$) dianalisis dengan ujian Tukey menggunakan minitab versi 17.0

^{a-d} menunjukkan perbandingan antara kaedah pengeringan dan nisbah etanol:air yang berbeza

Hasil kajian ini disokong oleh Pramod et al. (2019) yang telah menunjukkan bahawa sampel yang diekstrak dengan etanol menunjukkan IC_{50} yang lebih rendah daripada sampel yang diekstrak dengan air. Keputusan kajian ini juga menunjukkan bahawa kehadiran sebatian fenol yang tinggi pada sampel PK 100:0 berkemungkinan besar bertanggungjawab terhadap aktiviti antihyperglisemik yang diperolehi. Kajian ini disokong oleh Zhang et al. (2015) yang menunjukkan bahawa sebatian fenol yang banyak dalam sampel boleh merencatkan aktiviti enzim hidrolisis karbohidrat seperti α -glukosidase disebabkan kemampuan sebatian fenol untuk mengikat kepada molekul protein. Secara amnya, α -glukosidase merupakan enzim pencernaan karbohidrat berfungsi untuk membantu penyerapan glukosa dalam darah. Namun, pencernaan karbohidrat juga akan menyebabkan peningkatan paras gula dalam darah pesakit diabetes. Oleh itu, perencatan enzim α -glukosidase akan dapat menghadkan kadar penyerapan glukosa yang berlebihan ke dalam badan, justeru mengawal paras gula dalam darah dan seterusnya mengurangkan komplikasi yang berpunca daripada hyperglisemia (Hossain et al. 2020).

HUBUNG KAIT ANTARA JUMLAH KANDUNGAN FENOL DENGAN AKTIVITI ANTIOKSIDAN DAN ANTIHIPERGLISEMIK DALAM KAEDAH PENGERINGAN DAN PELARUT YANG BERBEZA

Hubung kait antara TPC dengan DPPH (IC_{50}), FRAP dan perencatan enzim α -glukosidase (%) bagi setiap kaedah pengeringan (PB dan PK) adalah seperti dalam Jadual 5. Bagi sampel PB, korelasi negatif yang tinggi dan signifikan telah ditunjukkan antara TPC dengan DPPH (IC_{50}) ($r = -0.969$, $p < 0.001$) manakala korelasi positif yang tinggi dan signifikan telah ditunjukkan antara TPC dengan FRAP ($r = 0.985$, $p < 0.001$) serta perencatan α -glukosidase ($r = 0.869$, $p < 0.01$). Bagi sampel PK, korelasi negatif yang tinggi dan signifikan juga telah ditunjukkan antara TPC dengan DPPH (IC_{50}) ($r = -0.966$, $p < 0.001$) manakala korelasi positif yang tinggi telah ditunjukkan antara TPC dengan FRAP ($r = 0.983$, $p < 0.005$) dan perencatan α -glukosidase ($r = 0.768$, $p < 0.05$). Korelasi antara TPC dengan DPPH adalah negatif kerana nilai IC_{50} (DPPH) digunakan yang membawa maksud semakin tinggi kandungan fenol yang ada pada sampel PB dan PK, semakin rendah nilai IC_{50} ujian DPPH

tersebut. Hasil kajian ini menunjukkan bahawa bagi kedua-dua kaedah pengeringan, kehadiran TPC yang tinggi menyumbang kepada aktiviti antioksidan dan antihiperlipidemia yang lebih baik. Clarke et al. (2013) juga menyatakan bahawa aktiviti antioksidan yang tinggi

adalah berkait dengan kandungan fenol yang tinggi dalam sampel. Ujian TPC biasanya dijalankan bersama-sama dengan ujian DPPH dan FRAP untuk meningkatkan ketepatan data berkenaan aktiviti antioksidan pada ekstrak tumbuh-tumbuhan.

JADUAL 5. Hubungan kait antara jumlah kandungan fenol dengan aktiviti antioksidan dan antihiperlipidemia dalam kaedah pengeringan berbeza

Kaedah pengeringan	TPC		
	DPPH	FRAP	α -glukosidase
PB	-0.969***	0.985***	0.869**
PK	-0.966***	0.983***	0.768*

PB= pengeringan sejuk beku; PK= pengeringan ketuhar

Data menunjukkan nilai r yang dianalisis dengan ujian Korelasi Pearson menggunakan minitab versi 17.0

* Signifikan pada $p < 0.05$, ** Signifikan pada $p < 0.01$, *** Signifikan pada $p < 0.001$

Hubungan antara TPC dengan DPPH (IC_{50}), FRAP dan perencatan α -glukosidase bagi setiap pelarut yang digunakan telah ditunjukkan dalam Jadual 6. Bagi ekstrak 100:0, korelasi negatif yang tinggi dan signifikan telah ditunjukkan antara TPC dan DPPH (IC_{50}) ($r = -0.908$, $p < 0.05$) dan korelasi positif tinggi yang signifikan ditunjukkan antara TPC dengan FRAP ($r = 0.869$, $p < 0.01$) manakala tiada korelasi signifikan ditunjukkan antara TPC dan perencatan α -glukosidase. Bagi ekstrak 50:50, tiada korelasi signifikan ditunjukkan antara TPC dengan FRAP dan perencatan α -glukosidase manakala korelasi negatif yang tinggi dan signifikan dapat dilihat antara TPC dengan DPPH (IC_{50}) ($r = -0.958$, $p < 0.01$). Bagi ekstrak 0:100 pula, korelasi negatif tinggi yang

signifikan juga ditunjukkan antara TPC dengan DPPH (IC_{50}) ($r = -0.943$, $p < 0.01$) manakala korelasi positif yang tinggi dan signifikan telah ditunjukkan antara TPC dengan FRAP ($r = 0.965$, $p < 0.01$) serta perencatan α -glukosidase ($r = 0.934$, $p < 0.01$). Korelasi negatif antara TPC dengan DPPH adalah disebabkan nilai IC_{50} digunakan (semakin rendah nilai IC_{50} , semakin tinggi aktiviti penyingkiran radikal bebas DPPH). Keputusan menunjukkan semakin tinggi kandungan sebatian fenol, semakin baik aktiviti antioksidan (100:0 dan 0:100) dan antihiperlipidemia (0:100) ERA. Kajian ini juga turut disokong oleh Kumari dan Awanish (2017) yang menunjukkan korelasi positif signifikan telah wujud antara TPC dengan FRAP bagi sampel rizom *Hedychium coronarium*.

JADUAL 6. Korelasi antara jumlah kandungan fenol dengan aktiviti antioksidan dan antihiperlipidemia dalam nisbah pelarut berbeza

Nisbah pelarut	TPC		
	DPPH	FRAP	α -glukosidase
100:0	-0.908*	0.869*	0.750
50:50	-0.958**	0.665	0.636
0:100	-0.943**	0.965**	0.934**

Nisbah pelarut (etanol:air)= 100:0, 50:50 dan 0:100

Data menunjukkan nilai r yang dianalisis dengan ujian Korelasi Pearson menggunakan minitab versi 17.0

* Signifikan pada $p < 0.05$, ** Signifikan pada $p < 0.01$, *** Signifikan pada $p < 0.001$

KESIMPULAN

Rizom *A. mutica* mengandungi karbohidrat (65.40%), diikuti dengan kandungan air (31.09%), serat kasar (19.69%), lemak (1.46%), abu (1.40%) serta protein (0.64%). Berdasarkan kajian ini, sampel PK yang diekstrak dengan pelarut 100:0 menunjukkan jumlah kandungan fenol dan aktiviti antioksidan melalui keupayaan penurunan ion ferik (FRAP) yang lebih tinggi secara signifikan ($p < 0.05$) berbanding sampel yang diekstrak menggunakan pendekatan yang berbeza. Nilai IC_{50} terendah juga telah diperolehi menggunakan sampel PK 100:0 bagi ujian antihiperlipidemia serta penyingkiran radikal bebas (DPPH) yang signifikan ($p < 0.05$) berbanding dengan sampel lain. Keputusan kajian ini menunjukkan bahawa kaedah pengeringan dan jenis pelarut yang digunakan memainkan peranan penting terhadap keputusan kajian yang diperolehi. Korelasi positif dan signifikan wujud antara TPC dengan DPPH dan FRAP. PK 100:0 merupakan kaedah pengeringan dan pelarut paling ideal dalam menghasilkan ekstrak dengan bioaktiviti yang paling optimum dan disyorkan untuk digunakan bagi kajian akan datang.

PENGHARGAAN

Pengarang ingin mengucapkan terima kasih kepada Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia atas sumbangan teknikal serta sumber kewangan yang diberikan melalui geran FRGS/1/2020/WAB04/UKM/02/3.

RUJUKAN

- Alothman, M., Bhat, R. & Karim, A.A. 2009. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry* 115(3): 785-788.
- Alsaud, N. & Farid, M. 2020. Insight into the influence of grinding on the extraction efficiency of selective bioactive compounds from various plant leaves. *Applied Sciences* 10: 1-12.
- Association of Official Analytical Chemists, AOAC. 2000. *Official Methods of Analysis*. Washington D.C.
- Burkill, I.H. 1966. *A Dictionary of the Economic Products of the Malay Peninsula*. Kuala Lumpur: Governments of Malaysia and Singapore by the Ministry of Agriculture and cooperatives.
- Canivell, S. & Gomis, R. 2014. Diagnosis and classification of autoimmune diabetes mellitus. *Autoimmunity Reviews* 13(4-5): 403-407.
- Chanthasri, W., Puangkeaw, N., Kunworarath, N., Kunworarath, N., Jaisamut, P., Limsuwan, S., Maneenoon, K., Choochana, P. & Chusri, S. 2018. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 20 polyherbal remedies used as tonics by folk healers in Phatthalung and Songkhla provinces, Thailand. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 18(1): 1-11.
- Cheng, A.Y.Y. & Fantus, I.G. 2005. Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Canada Medical Association Journal* 172(2): 213-226.
- Chong, K.L. & Lim, Y.Y. 2011. Effects of drying on the antioxidant properties of herbal tea from selected Vitex species. *Journal of Food Quality* 35(1): 51-59.
- Clarke, G., Ting, K.N., Wiart, C. & Fry, J. 2013. High correlation of 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging, ferric reducing activity potential and total phenolics content indicates redundancy in use of all three assays to screen for antioxidant activity of extracts of plants from the Malaysian rainforest. *Antioxidants* 2(1): 1-10.
- Das, A., Raychaudhuri, U. & Chakraborty, R. 2012. Effect of freeze drying and oven drying on antioxidant properties of fresh wheatgrass. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 63(6): 718-721.
- Dhanani, T., Shah, S., Gajbhiye, N.A. & Kumar, S. 2017. Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. *Arabian Journal of Chemistry* 10: 1193-1199.
- Do, Q.D., Angkawijaya, A.E., Tran-Nguyen, P.L., Huynh, L.H., Soetaredjo, F.E., Ismadji, S. & Ju, Y.H. 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis* 22(3): 296-302.
- Dorta, E., Lobo, M.G. & Gonzalez, M. 2012. Reutilization of Mango byproducts: Study of the effect of extraction solvent and temperature on their antioxidant properties. *Journal of Food Science* 71(1): 80-88.
- Elshaafi, I.M., Musa, K.H. & Abdullah Sani, N. 2020. Effect of oven and freeze drying on antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of fig (*Ficus carica* L.) leaves. *Food Research* 4(6): 2114-2121
- Hashim, H., Ahmad, W.Y.W., Zubairi, S.I. & Maskat, M.Y. 2019. Effect of pH on adsorption of organic acids and phenolic compounds by amberlite ira 67 resin. *Jurnal Teknologi* 81(1): 69-81.
- Hossain, M.B., Barry-Ryan, C., Martin-Diana, A.B. & Brunton, N.P. 2010. Effect of drying method on the antioxidant capacity of six Lamiaceae herbs. *Food Chemistry* 123(1): 85-91.
- Hossain, U., Das, A.K., Ghosh, S. & Sil, P.C. 2020. An overview on the role of bioactive α -glucosidase inhibitors in ameliorating diabetic complications. *Food and Chemical Toxicology* 145: 111738.
- Ibrahim, H., Sivasothy, Y., Syamsir, D.R., Nagoor, N.H., Jamil, N. & Awang, K. 2014. Essential oil composition and antimicrobial activities of two closely related species, *Alpinia mutica* Roxb. and *Alpinia latilabris* Ridl., from Peninsular Malaysia. *The Scientific World Journal* 2014: 430831.

- Indrayan, A.K., Agrawal, P., Rathi, A.K., Shatru, A., Agrawal, N.K. & Tyagi, D.K. 2009. Nutritive value of some indigenous plant rhizomes resembling ginger. *Sri Lankan Journal of Biology* 2(2): 36-45.
- Johari, M.A. & Khong, H.Y. 2019. Total phenolic content and antioxidant and antibacterial activities of *Pereskia bleo*. *Advances in Pharmacological and Pharmacological Sciences* 2019: 7428593.
- Khanizadeh, S. 2011. Impact of drying processes on bioactive phenolics, vitamin C and antioxidant capacity of red-fleshed apple slices. *Journal of Food Processing and Preservation* 35(4): 453-457.
- Kiokias, S., Varzakas, T. & Oreopoulou, V. 2008. *In vitro* activity of vitamins, flavonoids, and natural phenolic antioxidants against the oxidative deterioration of oil-based systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 48(1): 78-93.
- Kress, W., Liu, A., Newman, M. & Li, Q. 2005. The molecular phylogeny of *Alpinia* (Zingiberaceae): A complex and polyphyletic genus of gingers. *American Journal of Botany* 92(1): 167-178.
- Kumar, C., Karim, M.A. & Joardder, M.U.H. 2014. Intermittent drying of food products : A critical review. *Journal of Food Engineering* 121: 48-57.
- Kumari, S. & Awanish, P. 2017. Antioxidant potentials of successive solvent extracts from the unexplored *Hedychium coronarium* rhizome. *Journal of Food Science and Technology* 54(10): 3297-3306.
- Ma, X.N., Xie, C.L., Miao, Z., Yang, Q. & Yang, X.W. 2017. An overview of chemical constituents from *Alpinia* species in the last six decades. *Royal Society of Chemistry Advances* 7(23): 14114-14144.
- Marcus, Y. 2018. Extraction by subcritical and supercritical water, methanol, ethanol and their mixtures. *Separations* 5(1): 4.
- Mirghani, M.E.S., Elnour, A.A.M., Kabbashi, N.A., Alam, M.Z., Musa, K.H. & Abdullah, A. 2018. Determination of antioxidant activity of gum arabic: An exudation from two different locations. *Science Asia* 44: 179-186.
- Mohammed, Z. & Atik, F. 2011. Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) Karst. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 2(1): 609-615.
- Naczki, M. & Shahidi, F. 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41(5): 1523-1542.
- Noreen, H., Semmar, N., Farman, M. & McCullagh, J.S.O. 2017. Measurement of total phenolic content and antioxidant activity of aerial parts of medicinal plant *Coronopus didymus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 10(8): 792-801.
- Osorio-Tobon, J.F. 2020. Recent advances and comparisons of conventional and alternative extraction techniques of phenolic compounds. *Journal of Food Science and Technology* 57: 4299-4315.
- Othman, A., Ismail, A., Abdul, N. & Adenan, I. 2007. Food chemistry antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. *Food Chemistry* 100(4): 1523-1530.
- Pande, J. & Chanda, S. 2020. Screening of anticancer properties of some medicinal plants - Review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 9(3): 2319-7706.
- Pramod, M., Gurdeep, S., Neetesh, J. & Gupta, M.K. 2019. *In-vitro* studies on inhibition of alpha amylase and alpha glucosidase by plant extracts of *Alternanthera*. *Pungens kunth Journal of Drug Delivery and Therapeutics* 8(6A): 64-68.
- Rahman, H.A., Saari, N., Abas, F., Ismail, A., Mumtaz, M.W. & Abdul Hamid, A. 2017. Anti-obesity and antioxidant activities of selected medicinal plants and phytochemical profiling of bioactive compounds. *International Journal of Food Properties* 20(11): 2616-2629.
- Sagrin, M.S. & Chong, G.H. 2013. Effects of drying temperature on the chemical and physical properties of *Musa acuminata* Colla (AAA Group) leaves. *Industrial Crops & Products* 45: 430-434.
- Sardarodiyani, M. & Mohamadi Sani, A. 2016. Natural antioxidants: Sources, extraction and application in food systems. *Nutrition and Food Science* 46(3): 363-373.
- Scapin, G., Schmidt, M.M., Prestes, R.C. & Rosa, C.S. 2016. Phenolics compounds, flavonoids and antioxidant activity of chia seed extracts (*Salvia hispanica*) obtained by different extraction conditions. *International Food Research Journal* 23(6): 2341.
- Shah, P. & Modi, H.A. 2015. Comparative study of DPPH, ABTS and FRAP assays for determination of antioxidant activity. *International Journal for Research in Applied Science and Engineering Technology* 3(98): 2321-9653.
- Shahidi, F. & Zhong, Y. 2010. Novel antioxidants in food quality preservation and health promotion. *European Journal of Lipid Science and Technology* 112(9): 930-940.
- Sin, T.C., Syed Khalafu, S.H., Mustapha, W.A.W., Maskat, M.Y. & Lim, S.J. 2018. Deodorisation of fucoidan and its effect towards physicochemical characteristics and antioxidation activities. *Sains Malaysiana* 47(7): 1501-1510.
- Sojak, M. & Głowacki, S. 2010. Analysis of giant pumpkin (*Cucurbita maxima*) drying kinetics in various technologies of convective drying. *Journal of Food Engineering* 99: 323-329.
- Sun, C., Wu, Z., Wang, Z. & Zhang, H. 2015. Effect of ethanol/water solvents on phenolic profiles and antioxidant properties of beijing propolis extracts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2015: 595393.
- Teng, H., Seuseu, K.T., Lee, W.Y. & Chen, L. 2019. Comparing the effects of microwave radiation on 6-gingerol and 6-shogaol from ginger rhizomes (*Zingiber officinale* Rosc). *PLoS ONE* 14(6): e0214893.

- Vaya, J., Belinky, P.A. & Aviram, M. 1997. Antioxidant constituents from licorice roots: Isolation, structure elucidation and antioxidative capacity toward LDL oxidation. *Free Radical Biology and Medicine* 23(2): 302-313.
- Wan-Mohtar, W.A.A.Q.I., Halim-Lim, S.A., Kamarudin, N.Z., Rukayadi, Y., Abd Rahim, M.H., Jamaludin, A.A. & Ilham, Z. 2020. Fruiting-body-base flour from an Oyster mushroom waste in the development of antioxidative chicken patty. *Journal of Food Science* 85(10): 3124-3133.
- Zayapor, M.N., Abdullah, A. & Mustapha, W.A.W. 2020. Antioxidant and anti-diabetic status of popular Malay health tonic consumed for wellness: Help or hype? *Sains Malaysiana* 49(1): 145-154.
- Zengin, H. & Baysal, A.H. 2014. Antibacterial and antioxidant activity of essential oil terpenes against pathogenic and spoilage-forming bacteria and cell structure-activity relationships evaluated by SEM microscopy. *Molecules* 19(11): 17773-17798.
- Zhang, H., Wang, G., Beta, T. & Dong, J. 2015. Inhibitory properties of aqueous ethanol extracts of propolis on alpha-glucosidase. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 2015: 587383.
- Zulaikha, A.S., Mediani, A., Khoo, L.W., Lee, S.Y., Leong, S.W. & Abas, F. 2017. Effect of different drying methods and solvent ratios on biological activities of *Phyllanthus acidus* extracts. *International Food Research Journal* 24(1): 114-120.

*Pengarang untuk surat-menyurat; email: hafeedzarahman@ukm.edu.my