

## Kesan Pelarut yang Berbeza terhadap Ciri Fizikokimia, Kandungan Fenol dan Aktiviti Antioksidan Daun Galak Tua (*Stemona curtisii*) (The Effect of Different Solvents on the Physicochemical Characteristics, Phenolic Content and Antioxidant Activity of Galak Tua (*Stemona curtisii*) Leaves)

LOW XIANG TING<sup>1</sup>, TENGGU FARIZAN IZZI CHE KU JUSOH<sup>3</sup> & HASLANIZA HASHIM<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Jabatan Sains Makanan, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia

<sup>2</sup>Pusat Inovasi dan Teknologi Manisan (MANIS), Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia

<sup>3</sup>Pusat Pengajian Industri Makanan, Fakulti Biosumber dan Industri Makanan, Universiti Sultan Zainal Abidin, Kampus Besut, 22200 Besut, Terengganu, Malaysia

Diserahkan: 2 Ogos 2023/Diterima: 3 Januari 2024

### ABSTRAK

*Stemona curtisii* atau juga dikenali sebagai pokok Galak Tua adalah herba daripada famili Stemonaceae yang digunakan dalam perawatan tradisi. Matlamat penyelidikan ini adalah untuk mengkaji kesan pengekstrakan menggunakan pelarut yang berbeza terhadap ciri fizikokimia, kandungan fenol dan aktiviti antioksidan daun *S. curtisii*. Dalam kajian ini, jenis pelarut (metanol, etanol dan aseton) dan kepekatan pelarut yang berbeza (50%, 80% dan 100%) digunakan untuk mengekstrak sebatian fenol daripada sampel daun. Untuk penentuan ciri fizikokimia, analisis warna menunjukkan bahawa ekstrak daun *S. curtisii* menggunakan 50% etanol memberikan perubahan warna yang paling tinggi secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding pelarut lain. Nilai pH bagi ekstrak daun *S. curtisii* dengan ketiga-tiga jenis dan kepekatan pelarut adalah berasid dengan julat daripada 4.12 hingga 5.26. Daun *S. curtisii* yang diekstrak dengan 80% etanol mempunyai nilai pH yang paling tinggi (5.26) secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding semua pelarut yang digunakan. Keputusan kajian telah membuktikan ekstrak daun *S. curtisii* menggunakan 80% metanol menunjukkan kandungan fenol ( $78.3 \pm 2.3 \mu\text{g GAE/kg}$ ) yang paling tinggi secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding dengan pelarut lain. Selain itu, pengekstrakan menggunakan 80% etanol menunjukkan aktiviti antioksidan yang paling tinggi secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding pelarut lain terhadap ujian DPPH iaitu  $84.05 \pm 0.29\%$ . Bagi ujian ABTS, daun *S. curtisii* diekstrak dengan 80% metanol memberikan nilai ABTS ( $74.44 \pm 0.12\%$ ) paling tinggi secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding pelarut lain. Bagi ujian FRAP pula, hanya ekstrak daun *S. curtisii* menggunakan 80% metanol menunjukkan aktiviti antioksidan ( $13.4 \pm 0.62 \mu\text{g GAE/kg}$ ) yang paling tinggi secara signifikan ( $p < 0.05$ ). Oleh itu, 80% metanol adalah pelarut yang paling sesuai untuk pengekstrakan daun *S. curtisii* yang mana ekstrak tersebut mempunyai kandungan fenol dan aktiviti antioksidan yang tinggi berbanding pelarut lain.

Kata kunci: Antioksidan; fizikokimia; pelarut; pengekstrakan; *Stemona curtisii*

### ABSTRACT

*Stemona curtisii* or locally known as Galak Tua, is a herbaceous plant from family Stemonaceae used in traditional treatments. This study aims to determine the effect of extraction using different solvents on the physicochemical properties, phenolic content and antioxidant activities of *S. curtisii* leaves. In the present study, different types (methanol, ethanol and acetone) with various concentrations (50%, 80% and 100%) of solvent were used to extract phenolic compound from leaf sample. To determine physicochemical property, colour analysis of leaf extract *S. curtisii* showed that the 50% ethanol extract from *S. curtisii* leaves had the significantly highest value ( $p < 0.05$ ) for colour difference as compared to other extracts. For pH values, extract *S. curtisii* using three various types and concentrations of solvents as well as the control were acidic in the range of 4.12 to 5.26. The pH value of *S. curtisii* leaves that extracted by 80% ethanol was significantly higher ( $p < 0.05$ ) than other extraction solvents. The results also proved that the 80% methanol extract had the significantly highest ( $p < 0.05$ ) phenolic content ( $78.3 \pm 2.3 \mu\text{g GAE/kg}$ ) than the others. Besides, extraction using 80% methanol and 80% ethanol showed the significantly highest ( $p < 0.05$ ) antioxidant activities towards

DPPH which is  $84.05 \pm 0.29\%$ . For ABTS test, *S. curtisii* leaves extracted with 80% methanol had the highest ABTS values ( $74.44 \pm 0.12\%$ ) compared other solvents. For FRAP test, only the 80% methanol extract exhibited significantly the highest ( $p < 0.05$ ) antioxidant activity ( $13.4 \pm 0.62\%$ ). Thus, 80% methanol was the most appropriate solvent for extraction of *S. curtisii* leaves as the resulting extract had higher phenolic content and antioxidant activities than others.

Keywords: Antioxidant; extraction; physicochemical; solvent; *Stemona curtisii*

## PENGENALAN

Tumbuhan herba adalah sangat bernilai berbanding dengan tumbuhan lain disebabkan oleh kandungan sebatian fitokimia yang penting bagi tujuan perubatan dan ia dapat digunakan untuk membangunkan ubat baharu (Kumari, Kaurav & Chaudhary 2021). Ekstrak tumbuhan herba yang tergolong dalam famili *Stemonaceae* lazimnya dijadikan sebagai ubat tradisi di Thailand memandangkan ia mempunyai kebaikan dari aspek perubatan dan biologi seperti melindungi daripada kanser hati dan jangkitan kulit. Selain itu, tumbuhan dalam spesies *Stemona* juga dapat digunakan dalam formula ubat antikanser dan antiradang (Rutnakornpituk et al. 2018). Ekstrak akar spesies *Stemona* digunakan dalam perubatan tradisional untuk merawat bronkitis, pertusis dan tuberkulosis (Pyne et al. 2017). Tumbuhan *Stemona* mengandungi banyak metabolit sekunder aktif secara biologi yang mempunyai nilai perubatan yang tinggi (Liu et al. 2021). Li et al. (2022) pula menyatakan bahawa banyak kajian telah menunjukkan bahawa tumbuhan *Stemona* merupakan sumber metabolit sekunder terutamanya alkaloid dan stilbenoid. Ekstrak akar *S. curtisii* menggunakan etil asetat sebagai pelarut menunjukkan aktiviti pemerangkapan radikal bebas DPPH. Hal ini telah mendedahkan aktiviti antioksidasi dalam ekstrak etil asetat bagi *S. curtisii*. Kajian tersebut juga melaporkan bahawa daun *S. curtisii* mempunyai potensi menjadi sumber antioksidasi semula jadi (Nyo, Win & Phyu et al. 2019). Menyedari potensi ini, *S. curtisii* dipilih untuk penyelidikan ini bagi menentukan ciri fizikokimia, kandungan fenol dan aktiviti antioksidasi daripada bahagian daun *S. curtisii*.

Proses pengekstrakan bertujuan untuk memaksimumkan jumlah sebatian yang diinginkan dan mendapatkan aktiviti biologi ekstrak yang paling tinggi (Truong et al. 2019). Pemilihan jenis pelarut dan kaedah pengekstrakan yang sesuai amat mempengaruhi aktiviti antioksidasi dan jumlah kandungan flavonoid daripada tumbuhan (Hossain et al. 2021). Komposisi dan kandungan bagi setiap sebatian fenol adalah bergantung kepada polariti dan kelikatan pelarut pengekstrakan. Oleh itu, pemilihan pelarut yang sesuai dapat meningkatkan keberkesanan pengekstrakan sebatian bioaktif daripada tumbuhan (Zhu et al. 2020). Kajian terdahulu daripada Chen, Mohd Mokhtar dan Noor (2022) menyatakan bahawa metanol, etanol dan eseton merupakan pelarut organik yang sering digunakan secara meluas untuk mengekstrak sebatian bioaktif disebabkan polaritinya yang

sesuai. Penambahan air kepada pelarut organik boleh meningkatkan keterlarutan sebatian polar disebabkan mendorong pembengkakan matriks sel daun (Shams et al. 2015).

Oleh itu, objektif kajian ini adalah untuk mengkaji kesan pengekstrakan menggunakan jenis pelarut (metanol, etanol dan aseton) dan kepekatan pelarut yang berbeza (50%, 80% dan 100%) terhadap ciri-ciri fizikokimia dan kandungan fenol serta aktiviti antioksidasi daun *S. curtisii*.

## BAHAN DAN KAEDAH

### PENYEDIAAN SAMPEL DAN BAHAN KIMIA YANG DIGUNAKAN

Daun *S. curtisii* yang digunakan dalam kajian ini diperolehi daripada Rumah Tumbuhan, Universiti Kebangsaan Malaysia, Bangi, Selangor, Malaysia. Daun yang dipilih adalah pada tahap kematangan 3 iaitu daun matang berwarna hijau gelap (Halim et al. 2022). Daun diasingkan daripada ranting pokoknya sebelum proses pengeringan. Kemudian, daun dibalut dengan kerajang aluminium dan disimpan di dalam peti sejuk pada suhu  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  sehingga analisis selanjutnya dijalankan. Pelarut pengekstrakan yang digunakan dalam kajian ini adalah metanol, etanol dan aseton. Reagen Folin-Ciocalteu, 7.5% natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) dan asid galik digunakan dalam ujian penentuan jumlah kandungan fenol (TPC). 2,2-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dan metanol digunakan dalam ujian pemerangkapan radikal bebas DPPH. 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-asid sulfonik) (ABTS), kalium persulfat dan metanol digunakan untuk ujian pemerangkapan radikal kation ABTS. 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ), asid hidroklorik (HCl), penimbal asetat pada pH 3.6,  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  dan asid askorbik digunakan untuk ujian kuasa penurunan ferik. Bahan kimia yang digunakan adalah bergred analitikal dan diperolehi daripada pembekal Sigma Aldrich.

### PENGERINGAN SAMPEL

Sebanyak 500 g daun *S. curtisii* ditimbang dan dikeringkan dalam ketuhar (INB 500, Laboratory Incubator Memmert, Germany) pada suhu  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  selama 3 jam sehingga mencapai kandungan lembapan akhir yang malar kurang daripada 10% (Agomuo, Okache & Abdurrauf 2021). Uji kaji ini dijalankan sebanyak tiga replikasi. Sampel yang

telah dikeringkan dikisar dengan pengisar (E8122, Waring blender, USA) dan seterusnya ditapis dengan menggunakan penapis 60 mesh untuk menghasilkan serbuk halus. Kesemua serbuk disimpan di dalam peti sejuk pada suhu 4 °C sehingga analisis selanjutnya dijalankan.

#### PENGEKSTRAKAN DAUN *S. curtisii*

Proses pengekstrakan dijalankan menggunakan kaedah Justine et al. (2019) dengan sedikit pengubahsuaian. Sampel diekstrak menggunakan jenis pelarut pada kepekatan yang berbeza. Sebanyak 10 g serbuk sampel diekstrak dengan 100 mL pelarut yang berbeza iaitu 50% metanol, 80% metanol, 100% metanol, 50% etanol, 80% etanol, 100% etanol, 50% aseton, 80% aseton, 100% aseton dan air suling dengan menggunakan nisbah sampel dan pelarut 1:10. Sampel yang diekstrak menggunakan air suling sebagai kawalan. Reka bentuk uji kaji yang digunakan adalah Reka Bentuk Faktorial 3×3 dengan Blok. Sampel digoncang dengan penggoncang orbital (KS 4000 ic control, IKA Incubator Shaker, Germany) pada kelajuan 200 rpm selama 24 jam pada 28 °C bagi mendapatkan cecair supernatan. Supernatan tersebut ditapis dengan menggunakan kertas turas Whatman No. 1 untuk mendapatkan hasil turasan. Setelah itu, pelarut daripada ekstrak disingkirkan dengan menggunakan alat penyejat berputar (RV 10, IKA Rotary Evaporator, Germany) pada suhu 40 °C sehingga semua pelarut disingkirkan. Seterusnya, kesemua ekstrak disimpan di dalam botol gelap pada suhu -20 °C sehingga analisis selanjutnya.

#### ANALISIS WARNA

Analisis warna ekstrak daun *S. curtisii* dijalankan menggunakan kaedah Siakeng et al. (2020). Kaedah kolorimetri digunakan untuk mengukur warna ekstrak kawalan dan sampel diekstrak dengan menggunakan kolorimeter (CR-400 Chroma Meter, Konica Minolta, Japan) berdasarkan sistem CIE L\*a\*b\*. Koordinat L\*, a\* dan b\* menunjukkan kepada darjah kecerahan, darjah merah (a) atau hijau (-a) dan darjah kuning (b) atau biru (-b) masing-masing. Nilai L\* yang menentukan tahap kecerahan adalah antara 0 (hitam) hingga 100 (putih). Kolorimeter dikalibrasi dengan jubin putih setiap kali sebelum pengukuran warna dijalankan. Nilai L\*, a\* dan b\* diukur bagi setiap sampel sebanyak tiga kali dengan menggunakan kolorimeter. Jumlah perubahan warna ( $\Delta E$ ) antara ekstrak kawalan (air suling) dengan sampel ekstrak bagi setiap pengekstrakan dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\Delta E = \sqrt{(L - L_o)^2 + (a - a_o)^2 + (b - b_o)^2}$$

dengan  $L_o$ ,  $a_o$  dan  $b_o$  ialah parameter bagi kawalan ekstrak; dan L, a dan b ialah parameter bagi sampel ekstrak.

#### ANALISIS pH

Analisis pH ekstrak daun *S. curtisii* dijalankan berdasarkan kaedah Mohammadipour dan Sourri (2019). Penentuan pH bagi semua ekstrak daun dijalankan dengan menggunakan meter pH (BP 3001, Trans Instruments, Singapore). Sebelum analisis, meter pH dikalibrasi menggunakan penimbang piawai pH 4.0 dan 7.0. Larutan bagi setiap sampel hendaklah dikacau dengan sekata sebelum mengukur nilai pH. Setiap bacaan diambil pada suhu bilik (25 °C). Analisis ini dijalankan sebanyak tiga replikasi.

#### PENENTUAN JUMLAH KANDUNGAN FENOL (TPC)

Penentuan jumlah kandungan fenol dijalankan menggunakan kaedah Folio-Ciocalteu (Raja et al. 2019). Sebanyak 1 mL larutan ekstrak sampel daun *S. curtisii* dimasukkan ke dalam tabung uji masing-masing dan dicampurkan dengan 5 mL reagen Folio-Ciocalteu. Reagen Folin-Ciocalteu tersebut telah dicairkan sebanyak 10 kali dengan air suling. Selepas 5 minit, 4 mL larutan 7.5% natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ditambah dan dibiarkan untuk bertindak balas selama 2 jam pada suhu bilik (25 °C). Penyerapan sampel akan diukur pada 765 nm dengan menggunakan spektrofotometer (Epoch™ Microplate Spectrophotometer, Biotech Instrument, USA). Larutan asid galik digunakan sebagai larutan piawai dalam penentuan jumlah kandungan fenol ini. Lengkung piawai disediakan menggunakan satu siri kepekatan larutan stok yang berbeza melalui proses pencairan bermula daripada 0, 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm. Semua sampel diuji sebanyak tiga replikasi. Jumlah kandungan fenol dinyatakan sebagai kesetaraan asid galik dalam unit  $\mu\text{g}$  per kg sampel ekstrak ( $\mu\text{g}$  GAE/kg sampel) dengan menggunakan formula:

$$\text{Jumlah kandungan fenol ekstrak } (\mu\text{g GAE/kg}) = \frac{R \times DF \times TV}{SV \times wt \times 10^3}$$

dengan R ialah bacaan dari lengkung piawai (ppm); DF

ialah faktor pencairan; TV ialah jumlah isi padu larutan ekstrak dihasilkan; SV ialah isi padu larutan ekstrak digunakan untuk analisis; dan wt ialah jisim ekstrak (g).

#### AKTIVITI PEMERANGKAPAN RADIKAL BEBAS (DPPH)

Penentuan aktiviti pemerangkapan radikal bebas DPPH dijalankan berdasarkan kaedah Alara et al. (2018). Sebanyak 0.1 mM larutan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) disediakan dengan mencairkan sebanyak 4 mg serbuk DPPH dalam 100 mL metanol. Sebanyak 2 mL 0.1 mM DPPH metanolik dicampurkan dengan 0.2 mL larutan sampel ekstrak. Campuran dibiarkan selama 30 minit pada suhu bilik (25 °C) di tempat yang gelap. Setelah itu, kadar penyerapan dibaca pada jarak gelombang 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer (Epoch™ Microplate Spectrophotometer, Biotech Instrument, USA). Reagen pengosong disediakan dengan menggantikan sampel kepada metanol. Analisis diulang sebanyak tiga kali dan bacaan pengosong akan dibandingkan dengan peratusan aktiviti pemerangkapan radikal bebas sampel. Pengiraan aktiviti pemerangkapan radikal bebas DPPH (%) akan dibuat dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Aktiviti pemerangkapan radikal bebas DPPH (\%)} = \frac{A_{\text{pengosong}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{pengosong}}} \times 100\%$$

dengan  $A_{\text{pengosong}}$  ialah bacaan penyerapan bagi campuran metanol dan larutan DPPH metanolik tanpa menambahkan sampel ekstrak dan  $A_{\text{sampel}}$  ialah bacaan penyerapan bagi campuran sampel ekstrak dan larutan DPPH metanolik.

#### AKTIVITI PEMERANGKAPAN RADIKAL KATION (ABTS)

Penentuan aktiviti pemerangkapan radikal kation ABTS dijalankan menggunakan kaedah Alara et al. (2018). Sebanyak 7 mM larutan 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-asid sulfonik) (ABTS) dan 2.45 mM kalium persulfat dicampurkan dalam nisbah 1:1 dan campuran tersebut dibiarkan untuk bertindak balas selama 12 jam pada suhu bilik (25 °C) dalam keadaan yang gelap. Kemudian, reagen radikal kation ABTS disediakan melalui pencairan 2 mL larutan stok ABTS dengan 120 mL metanol untuk mendapatkan penyerapan  $1.1 \pm 0.02$  pada 734 nm menggunakan spektrofotometer (Epoch™ Microplate Spectrophotometer, Biotech Instrument, USA). Sebanyak 0.15 mL larutan sampel ekstrak dicampurkan dengan 2.85 mL larutan ABTS dan dibiarkan selama 2 jam dalam keadaan yang gelap. Nilai penyerapan sampel diukur pada jarak gelombang 734 nm menggunakan spektrofotometer. Metanol digunakan sebagai pengosong. Semua analisis diulang sebanyak tiga replikasi. Aktiviti pemerangkapan

radikal kation ABTS (%) dihitung dengan menggunakan formula seperti berikut:

$$\text{Aktiviti pemerangkapan radikal kation ABTS (\%)} = \frac{A_{\text{pengosong}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{pengosong}}} \times 100\%$$

dengan  $A_{\text{pengosong}}$  ialah penyerapan bagi campuran metanol dan larutan ABTS metanolik tanpa menambahkan sampel ekstrak dan  $A_{\text{sampel}}$  ialah penyerapan bagi campuran sampel ekstrak dan larutan ABTS metanolik.

#### PENENTUAN KUASA PENURUNAN ION FERIK (FRAP)

Penentuan kuasa penurunan ferik (FRAP) dilakukan berdasarkan kaedah Prastiwi et al. (2020). Bahan kimia yang akan digunakan dalam ujian ini adalah larutan ferum klorida heksahidrat ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), 10 mM 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) dalam 40 mM asid hidroklorik (HCl) dan penimbal asetat ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ) disediakan secara berasingan. Sebanyak 0.054 g serbuk  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  dicampurkan dengan air suling sehingga larut dan dimasukkan ke dalam 10 mL kelalang volumetrik untuk menghasilkan 20 mM  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Sebelum menyediakan larutan TPTZ, 40 mM larutan HCl perlu disediakan dengan mencairkan 0.328 mL larutan asid HCl kepada 100 mL dengan menggunakan air suling. Kemudian, 10 mM larutan TPTZ disediakan dengan mencairkan 0.031 g serbuk TPTZ dalam 10 mL larutan dengan 40 mM HCl. Manakala 0.3 M larutan penimbal asetat pada pH 3.6 disediakan melalui campuran 0.31 g natrium asetat trihidrat ( $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) dan 1.6 mL asid asetat glasial dan kemudian dicairkan kepada 100 mL menggunakan air suling. Reagen FRAP segar disediakan dengan mencampurkan 100 mL 0.3 M larutan penimbal asetat (pH 3.6), 10 mL 10 mM TPTZ dan 10 mL 20 mM  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  dalam nisbah 10:1:1. Seterusnya, sebanyak 1.5 mL reagen FRAP segar dan 0.5 mL larutan sampel ekstrak dicampurkan dan dibiarkan bertindak balas selama 30 minit dalam keadaan gelap. Selepas 30 minit, bacaan penyerapan diambil pada jarak gelombang 593 nm menggunakan spektrofotometer (Epoch™ Microplate Spectrophotometer, Biotech Instrument, USA). Asid askorbik digunakan sebagai larutan stok piawai dalam ujian ini. Lengkung piawai disediakan menggunakan satu siri kepekatan larutan stok yang berbeza melalui pencairan pada 0, 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm. Semua sampel akan diuji sebanyak tiga replikasi. Lengkung piawai diplotkan dengan asid askorbik ( $\mu\text{g/mL}$ ) pada paksi-x dan penyerapan pada paksi-y. Nilai kuasa penurunan ferik (FRAP) dinyatakan sebagai kesetaraan asid askorbik dalam unit  $\mu\text{g}$  per kg sampel ekstrak ( $\mu\text{g}$  AEAC/kg ekstrak). Aktiviti penurunan ion ferum ditentukan menggunakan formula berikut:

Nilai kuasa penurunan ferik ( $\mu\text{g AEAC/kg ekstrak}$ )=

$$\frac{R \times DF \times TV}{SV \times wt \times 10^3}$$

dengan R ialah bacaan dari lengkung piawai (ppm); DF ialah faktor pencairan; TV ialah jumlah isi padu larutan ekstrak dihasilkan; SV ialah isi padu larutan ekstrak digunakan untuk analisis; dan wt ialah jisim ekstrak (g).

#### ANALISIS STATISTIK

Kesemua data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan perisian Minitab 19.2020.1. Analisis varians (ANOVA) dua hala dan analisis perbandingan berpasangan Tukey dijalankan untuk menentukan perbezaan bererti pada aras keyakinan 95% ( $p < 0.05$ ). Kesemua analisis dijalankan sebanyak tiga replikasi.

#### HASIL DAN PERBINCANGAN

##### KESAN JENIS DAN KEPEKATAN PELARUT KE ATAS WARNA

Jadual 1 menunjukkan warna ekstrak daun *S. curtisii* menggunakan jenis dan kepekatan pelarut yang berbeza. Berdasarkan Jadual 1 dapat diperhatikan bahawa pengekstrakan menggunakan jenis pelarut dan kepekatan pelarut yang berbeza telah menyebabkan perubahan warna daun *S. curtisii*. Julat bagi nilai  $L^*$  adalah dari  $14.55 \pm 0.17$  (100% aseton) hingga  $37.22 \pm 0.18$  (50% etanol). Pengekstrakan daun *S. curtisii* menggunakan ketiga-tiga jenis pelarut (metanol, etanol dan aseton) dalam kepekatan 50% telah menunjukkan nilai  $L^*$  yang lebih tinggi secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding dengan kepekatan pelarut lain iaitu 80% dan 100%.

Bagi nilai  $a^*$  yang mengukur tahap kemerahan pada nilai positif dan tahap kehijauan pada nilai negatif, pengekstrakan daun *S. curtisii* menggunakan air suling, 50% aseton, 50% etanol, 50% metanol dan 80% etanol menunjukkan nilai positif manakala pengekstrakan menggunakan 80% metanol, 80% aseton, 100% metanol, 100% etanol dan 100% aseton menunjukkan nilai negatif. Pengekstrakan menggunakan ketiga-tiga jenis pelarut dan kepekatan pelarut berbeza telah menunjukkan perubahan yang ketara ( $p < 0.05$ ) berbanding ekstrak air suling kecuali pengekstrakan menggunakan 50% metanol. Daun *S. curtisii* diekstrak dengan 50% aseton pula mencatatkan nilai  $a^*$  yang paling tinggi secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding dengan ekstrak kawalan iaitu air suling. Pigmen antosianin biasanya memberikan warna merah kepada daun (Li et al. 2019). Pengekstrakan menggunakan 100% aseton menunjukkan nilai negatif  $a^*$  yang paling rendah secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding dengan pelarut lain. Hal ini mungkin disebabkan 100% aseton dapat mengekstrak

klorofil yang lebih banyak dalam daun *S. curtisii*. Aseton bersifat mudah meruap dan mudah terbakar. Ia dapat memberikan nilai penyerapan klorofil yang tinggi. Berdasarkan kajian mengenai *Spirullina* sp., pelarut aseton amat sesuai digunakan untuk mengekstrak pigmen klorofil. Gabungan pelarut organik dengan air dapat meningkatkan kecekapan hasil pengekstrakan (Nguyen et al. 2021). Secara umumnya, klorofil adalah pigmen daun yang memberi warna hijau dan penting untuk pertukaran cahaya kepada tenaga kimia (Li et al. 2019).

Bagi nilai  $b^*$  yang menunjukkan tahap kekuningan pada nilai positif dan tahap kebiruan pada nilai negatif, kesemua jenis dan kepekatan pelarut pengekstrakan digunakan telah mencatatkan nilai positif dalam kajian ini. Hanya pengekstrakan daun *S. curtisii* menggunakan 50% aseton tidak berbeza secara signifikan ( $p > 0.05$ ) terhadap nilai  $b^*$  berbanding dengan ekstrak air suling (kawalan). Pengekstrakan dengan 50% metanol dan 50% etanol telah mencatatkan nilai  $b^*$  yang lebih tinggi secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding dengan ekstrak air suling. Karotenoid adalah pigmen tumbuhan yang memberi warna merah, kuning dan oren apabila degradasi klorofil berlaku (Sousa 2022). Warna karotenoid lazimnya terdiri daripada kuning (lutein,  $\alpha$ -karotena,  $\beta$ -karotena), oren kemerahan (kapsantin) dan merah (likopena) (Li et al. 2021). Metanol sering digunakan untuk mengekstrak karotenoid yang bersifat polar dan bukan polar kerana metanol dapat memberi kesan sinergistik dalam proses pengekstrakan (Bose & Ranvir 2023). Kajian mengenai tomato ceri yang dijalankan oleh Pandurangaiah et al. (2020) menyatakan bahawa terdapat korelasi positif antara nilai  $b^*$  dan kandungan  $\beta$ -karotena.

Jumlah perubahan warna ( $\Delta E$ ) merupakan gabungan daripada nilai  $L^*$ ,  $a^*$  dan  $b^*$ . Menurut Ratsewo et al. (2016),  $\Delta E$  adalah parameter kolorimetrik yang digunakan secara meluas untuk mengenal pasti perubahan warna dalam makanan. Bagi pengekstrakan daun *S. curtisii* menggunakan 50% aseton dan 80% aseton, kesan perubahan warna adalah paling minimum dan tidak signifikan ( $p > 0.05$ ). Berdasarkan Jadual 1, didapati bahawa pengekstrakan daun *S. curtisii* dengan 50% etanol menunjukkan perubahan warna yang paling tinggi secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding dengan pelarut lain. Hal ini mungkin disebabkan daun *S. curtisii* diekstrak dengan 50% etanol mempunyai tahap kecerahan yang lebih tinggi. Selain itu, perubahan warna yang paling minimum ditunjukkan pada ekstrak 50% aseton dan ekstrak 80% aseton. Namun begitu, tiada perbezaan yang signifikan ( $p > 0.05$ ) antara kedua-dua ekstrak tersebut terhadap perubahan warna. Warna matriks tumbuhan merupakan satu parameter yang dapat mencerminkan jenis sebatian terkandung dalam komposisi ekstrak (Cagliari et al. 2022). Oleh itu, analisis warna adalah penting untuk memahami hubungan antara jenis dan kepekatan pelarut yang berbeza dengan warna ekstrak daun.

JADUAL 1. Warna ekstrak daun *S. curtisii* menggunakan jenis dan kepekatan pelarut yang berbeza

Jenis pelarut	Kepekatan pelarut (%)	L*	a*	b*	ΔE
Air suling (Kawalan)	100	23.29 ± 0.11 <sup>b</sup>	3.39 ± 0.06 <sup>c</sup>	9.57 ± 0.09 <sup>b</sup>	-
	50	27.40 ± 0.47 <sup>b</sup>	3.50 ± 0.14 <sup>c</sup>	16.35 ± 0.19 <sup>a</sup>	8.24 ± 0.67 <sup>d</sup>
Metanol	80	19.45 ± 0.31 <sup>c</sup>	-0.14 ± 0.05 <sup>e</sup>	3.31 ± 0.03 <sup>c</sup>	8.22 ± 0.09 <sup>d</sup>
	100	16.42 ± 0.29 <sup>d</sup>	-4.17 ± 0.08 <sup>f</sup>	2.04 ± 0.10 <sup>d</sup>	10.83 ± 0.14 <sup>c</sup>
Etanol	50	37.22 ± 0.18 <sup>a</sup>	6.18 ± 0.11 <sup>b</sup>	16.46 ± 0.19 <sup>a</sup>	16.03 ± 0.64 <sup>a</sup>
	80	20.24 ± 0.45 <sup>c</sup>	0.25 ± 0.03 <sup>d</sup>	3.32 ± 0.27 <sup>c</sup>	7.88 ± 0.22 <sup>d</sup>
	100	16.56 ± 0.19 <sup>d</sup>	-12.87 ± 0.11 <sup>g</sup>	2.34 ± 0.21 <sup>d</sup>	10.50 ± 0.47 <sup>c</sup>
Aseton	50	23.40 ± 0.28 <sup>b</sup>	8.23 ± 0.01 <sup>a</sup>	9.62 ± 0.22 <sup>b</sup>	5.37 ± 0.94 <sup>e</sup>
	80	20.30 ± 0.15 <sup>c</sup>	-0.32 ± 0.08 <sup>e</sup>	3.74 ± 0.26 <sup>c</sup>	7.62 ± 0.13 <sup>e</sup>
	100	14.55 ± 0.17 <sup>e</sup>	-18.64 ± 0.06 <sup>h</sup>	1.51 ± 0.03 <sup>e</sup>	12.90 ± 0.14 <sup>b</sup>

<sup>a-g</sup> Abjad berbeza pada lajur yang sama menunjukkan perbezaan signifikan ( $p < 0.05$ )

#### KESAN JENIS DAN KEPEKATAN PELARUT KE ATAS NILAI pH

Nilai pH bagi ekstrak daun *S. curtisii* dengan menggunakan jenis pelarut (metanol, etanol dan aseton) dan kepekatan pelarut (50%, 80% dan 100%) yang berbeza ditunjukkan dalam Jadual 2. Hasil kajian ini menunjukkan bahawa nilai pH ekstrak daun *S. curtisii* dengan menggunakan ketiga-tiga jenis dan kepekatan pelarut serta kawalan iaitu air suling adalah berasid. Nilai pH adalah dari 4.12 hingga 5.26. Jadual 2 menunjukkan ekstrak air suling (kawalan) mempunyai tahap keasidan yang lebih tinggi berbanding dengan ekstrak metanol, etanol dan aseton.

Berdasarkan Jadual 2, daun *S. curtisii* yang diekstrak dengan air suling sebagai kawalan mempunyai nilai pH yang paling rendah ( $pH = 4.12$ ) secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding dengan pelarut lain. Pengekstrakan menggunakan ketiga-tiga pelarut iaitu metanol, etanol dan aseton yang berkepekatan 100% tidak menunjukkan perbezaan secara signifikan ( $p > 0.05$ ) terhadap nilai pH berbanding sampel kawalan. Antara ketiga-tiga kepekatan pelarut, pengekstrakan menggunakan 80% pelarut (metanol, etanol dan aseton) telah mencatatkan nilai pH yang lebih tinggi secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding pelarut lain. Walau bagaimanapun, nilai pH bagi ekstrak daun *S. curtisii* menggunakan 80% metanol adalah tidak berbeza secara signifikan ( $p > 0.05$ ) berbanding 50% metanol. Nilai pH bagi ketiga-tiga 100% pelarut pengekstrakan adalah lebih rendah secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding 50% pelarut pengekstrakan. Hasil kajian menunjukkan bahawa tiada perbezaan yang

signifikan ( $p > 0.05$ ) antara 50% metanol dan 50% aseton terhadap nilai pH. Manakala nilai pH bagi ekstrak 50% metanol adalah lebih tinggi secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding 50% etanol. Nilai pH yang diperoleh bagi ekstrak daun *S. curtisii* dalam kajian ini dikelaskan sebagai asid lemah yang menghasilkan ion hidrogen secara tidak sempurna dan akan menghasilkan julat nilai pH antara 3 hingga 5 (Triyono et al. 2019). Nilai pH ekstrak dapat memberi kesan yang signifikan terhadap pengekstrakan sebatian fenol. Peningkatan pengekstrakan kandungan fenol dalam keadaan pH yang rendah disebabkan perencatan pengoksidaan enzim sebatian fenol berlaku.

Perubahan pH boleh menyebabkan perubahan cas bagi sebatian fitokimia semula jadi yang hadir dalam ekstrak tumbuhan (Ahmadi, Jafarizadeh-Malmiri & Jodeiri 2018). Nilai pH yang rendah bagi ekstrak tumbuhan boleh menunjukkan kehadiran asid oksalik, asid askorbik dan asid tartarik (Mehdi et al. 2019). Melalui kajian ini, dapat disimpulkan bahawa jenis dan kepekatan pelarut pengekstrakan yang berbeza memberi kesan terhadap nilai pH ekstrak daun *S. curtisii* yang menunjukkan terdapat perbezaan antara sebatian kimia yang dapat melarut dalam pelarut organik dan dalam air.

#### KESAN JENIS DAN KEPEKATAN PELARUT KE ATAS PENENTUAN ANTIOKSIDA

Kesan jenis dan kepekatan pelarut ke aras penentuan antioksidasi; jumlah kandungan fenol ( $\mu\text{g GAE/kg}$ ), peratus pemerangkapan radikal bebas DPPH (%), peratus

JADUAL 2. Nilai pH ekstrak daun *S. curtisii* dengan menggunakan jenis dan kepekatan pelarut yang berbeza

Jenis pelarut	Kepekatan pelarut (%)	Nilai pH
Air suling (Kawalan)	100	4.12 ± 0.08 <sup>e</sup>
	50	5.04 ± 0.03 <sup>bc</sup>
Metanol	80	5.19 ± 0.05 <sup>ab</sup>
	100	4.26 ± 0.02 <sup>e</sup>
	50	4.79 ± 0.09 <sup>d</sup>
Etanol	80	5.26 ± 0.04 <sup>a</sup>
	100	4.19 ± 0.02 <sup>e</sup>
	50	4.94 ± 0.08 <sup>cd</sup>
Aseton	80	5.24 ± 0.04 <sup>a</sup>
	100	4.16 ± 0.04 <sup>e</sup>

<sup>a-c</sup> Abjad berbeza menunjukkan perbezaan signifikan ( $p < 0.05$ )

pemerangkapan radikal kation ABTS (%) dan kuasa penurunan ferik ( $\mu\text{g GAE/kg}$ ) dalam ekstrak daun *S. curtisii* ditunjukkan dalam Jadual 3. Ekstrak daun *S. curtisii* yang telah diekstrak dengan menggunakan jenis pelarut (metanol, etanol dan aseton) serta kepekatan pelarut (50%, 80% dan 100%) yang berbeza menunjukkan peningkatan yang signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding sampel kawalan.

Berdasarkan Jadual 3, jumlah kandungan fenol ekstrak daun *S. curtisii* yang menggunakan ketiga-tiga jenis pelarut iaitu metanol, etanol dan aseton dalam kepekatan 80% adalah tinggi secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding pelarut lain. Daun *S. curtisii* yang diekstrak menggunakan 80% metanol memberikan kandungan fenol yang paling tinggi secara signifikan ( $p < 0.05$ ) dalam semua pelarut yang dikaji, iaitu  $78.3 \pm 2.3 \mu\text{g GAE/kg}$ . Namun, tidak terdapat perbezaan yang signifikan ( $p > 0.05$ ) antara daun *S. curtisii* yang diekstrak menggunakan 80% etanol dan 80% aseton. Menurut Khalid et al. (2021), daun *Momordica charantia* yang diekstrak dengan 80% metanol memberikan jumlah kandungan fenol yang paling tinggi berbanding pelarut lain (80% etanol, 100% metanol dan 100% etanol). Antara pelbagai jenis pelarut pengekstrakan, metanol dianggap sebagai pelarut organik yang paling berkesan untuk menghasilkan sebatian fenol, flavonoid dan aktiviti antioksidan yang tinggi (Kumar et al. 2020). Kajian Nobossé, Fombang dan Mbofung (2018) menunjukkan bahawa metanol adalah pelarut pengekstrakan yang terbaik

untuk pengekstrakan sebatian fenol daripada daun *Moringa oleifera* berbanding etanol dan air. Dalam kajian ini, ekstrak air suling (kawalan) menghasilkan kandungan fenol yang paling rendah secara signifikan ( $p < 0.05$ ). Kajian lepas Do, Truong dan Nguyen (2020) melaporkan bahawa air suling menunjukkan kecekapan yang paling rendah untuk pengekstrakan sebatian fenol berbanding pelarut metanol, etanol dan aseton daripada daun *Ocimum basilicum*. Air suling tidak berkesan dalam pengekstrakan sebatian fenol disebabkan sebatian fenol lebih melarut dalam pelarut organik dan mempunyai indeks polariti yang lebih rendah berbanding air (Safrina et al. 2022).

Jumlah kandungan fenol bagi ekstrak daun *S. curtisii* dengan menggunakan ketiga-tiga kepekatan pelarut adalah berbeza secara signifikan ( $p < 0.05$ ) antara satu sama lain. Kandungan fenol dalam ekstrak daun menurun secara signifikan ( $p < 0.05$ ) dengan mengikut urutan: 80% pelarut > 50% pelarut > 100% pelarut. Terdapat perbezaan dalam pengekstrakan jumlah kandungan fenol antara pelarut pengekstrakan disebabkan keterlarutan sebatian fenol adalah tidak sama dalam pelarut yang berbeza (Zainal et al. 2022). Akueus metanol dan etanol telah dibuktikan sebagai pelarut pengekstrakan yang berkesan untuk mengekstrak sebatian fenol daripada tumbuhan yang berlainan. Keputusan kajian ini menunjukkan bahawa campuran alkohol dengan air mempunyai kecekapan pengekstrakan yang lebih tinggi berbanding dengan

alkohol tulen atau air sebagai pelarut pengekstrakan (Kashaninejad et al. 2020). Hal ini disebabkan campuran alkohol seperti etanol dan air adalah lebih berpolar berbanding dengan etanol tulen yang boleh meningkatkan hasil kandungan fenol (Lohvina, Sándor & Wink 2021). Polariti pelarut yang lebih tinggi dapat memecahkan ikatan hidrogen dalam struktur polifenol dan meningkatkan keterlarutannya dalam pelarut organik (Muzolf-Panek & Stuper-Szablewska 2021).

Bagi ketiga-tiga kepekatan pelarut ini, daun yang diekstrak dengan 100% pelarut (metanol, etanol dan aseton) menghasilkan kandungan fenol yang lebih rendah ( $p < 0.05$ ) berbanding dengan pelarut lain. Namun begitu, ekstrak bagi 100% metanol, 100% etanol dan 100% aseton tidak berbeza secara signifikan ( $p > 0.05$ ) dengan ekstrak air suling (kawalan). Keputusan yang diperoleh dalam kajian ini adalah selari dengan kajian Muzolf-Panek dan Stuper-Szablewska (2021) yang melaporkan polariti bagi pelarut alkohol tulen adalah terlalu rendah untuk mengekstrak sebatian fenol. Hal ini disebabkan sebatian fenol yang diekstrak daripada tumbuhan adalah bergantung kepada polariti pelarut yang digunakan dalam pengekstrakan.

Dari segi peratus pemerangkapan radikal bebas DPPH pula, didapati nilai DPPH bagi pengekstrakan menggunakan 80% etanol (84.05%) dan 80% metanol (82.07%) adalah lebih tinggi secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding dengan pelarut yang lain. Nilai DPPH bagi pengekstrakan menggunakan 80% aseton pula adalah lebih rendah (78.34%) secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding 80% etanol dan 80% metanol tetapi paling tinggi ( $p < 0.05$ ) jika dibandingkan dengan kepekatan aseton yang dikaji. Hasil ini adalah selaras dengan keputusan kandungan fenol dalam pengekstrakan menggunakan pelarut berkepekatan 80%. Keputusan kajian ini telah menunjukkan perkaitan antara jumlah kandungan fenol dan aktiviti antioksidan dalam daun *S. curtisii*. Menurut Shah dan Patel (2021), sebatian fenol yang hadir dalam ekstrak boleh menyumbang kepada aktiviti pemerangkapan DPPH. Berdasarkan kajian Chatatikun dan Chiabchalard (2017), daun *S. curtisii* yang diekstrak dengan pelarut etanol mempunyai aktiviti antioksidan yang lebih tinggi dalam ujian pemerangkapan radikal bebas (DPPH) berbanding pelarut eter petroleum dan diklorometana.

JADUAL 3. Jumlah kandungan fenol ( $\mu\text{g GAE/kg}$ ), peratus pemerangkapan radikal bebas DPPH (%), peratus pemerangkapan radikal kation (%) dan kuasa penurunan ferik ( $\mu\text{g GAE/kg}$ ) bagi sampel daun *S. curtisii*

Jenis pelarut	Kepekatan pelarut (%)	Jumlah kandungan fenol ( $\mu\text{g GAE/kg}$ )	Peratus pemerangkapan radikal bebas DPPH (%)	Peratus pemerangkapan radikal kation ABTS (%)	Kuasa penurunan ferik ( $\mu\text{g GAE/kg}$ )
Air suling (Kawalan)	100	$1.54 \pm 0.026^d$	$25.26 \pm 0.41^s$	$27.55 \pm 0.22^f$	$1.88 \pm 0.067^f$
	50	$34.6 \pm 1.6^c$	$67.54 \pm 0.31^{cd}$	$56.42 \pm 0.14^c$	$7.14 \pm 0.64^c$
Metanol	80	$78.3 \pm 2.3^a$	$82.07 \pm 1.23^a$	$74.44 \pm 0.12^a$	$13.4 \pm 0.62^a$
	100	$2.24 \pm 0.17^d$	$42.28 \pm 0.21^e$	$48.74 \pm 0.22^e$	$5.72 \pm 0.51^d$
Etanol	50	$34.8 \pm 0.2^c$	$68.70 \pm 0.41^c$	$54.17 \pm 0.11^{cd}$	$7.11 \pm 0.64^c$
	80	$63.7 \pm 1.2^b$	$84.05 \pm 0.29^a$	$72.49 \pm 0.23^a$	$10.8 \pm 0.97^b$
	100	$2.77 \pm 0.053^d$	$40.27 \pm 1.35^{ef}$	$47.62 \pm 0.10^e$	$3.66 \pm 0.036^e$
Aseton	50	$34.7 \pm 0.31^c$	$65.87 \pm 0.12^d$	$50.62 \pm 0.16^{de}$	$3.58 \pm 0.18^e$
	80	$62.6 \pm 4.9^b$	$78.34 \pm 1.73^b$	$65.71 \pm 0.22^b$	$9.83 \pm 0.059^b$
	100	$1.91 \pm 0.044^d$	$38.09 \pm 0.12^f$	$28.64 \pm 0.18^f$	$3.52 \pm 0.04^e$

<sup>a-s</sup> Abjad berbeza pada lajur yang sama menunjukkan perbezaan signifikan ( $p < 0.05$ )



Bagi ketiga-tiga kepekatan pelarut pengekstrakan, didapati bahawa aktiviti pemerangkapan DPPH meningkat secara signifikan ( $p < 0.05$ ), iaitu 100% pelarut < 50% pelarut < 80% pelarut. Potensi ekstrak untuk menghapuskan radikal bebas boleh dikaitkan dengan jumlah kandungan fenol yang terkandung dalam ekstrak dan jenis pelarut pengekstrakan yang digunakan (Ntshanka et al. 2020). Penambahan air kepada pelarut organik dapat meningkatkan kecekapan pengekstrakan. Hal ini boleh dijelaskan dengan air mempunyai potensi untuk meningkatkan polariti pelarut alkohol. Penambahan air juga menambahkan pembengkakan dalam sel bahan tumbuhan yang akan meningkatkan luas permukaan antara matriks tumbuhan dan pelarut untuk bertindak balas (Xie et al. 2015). Kajian ini menunjukkan penggunaan jenis pelarut yang berbeza memberikan nilai DPPH yang berbeza. Aktiviti pemerangkapan DPPH ekstrak tumbuhan adalah berbeza mengikut polariti pelarut pengekstrakan. Hasil kajian menunjukkan ekstrak air suling (kawalan) mempunyai aktiviti pemerangkapan DPPH yang paling rendah secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding pelarut lain. Keputusan ini adalah selari dengan kajian Van Cuong dan Chin (2018) yang telah melaporkan ekstrak menggunakan pelarut organik tulen atau campuran pelarut organik dengan air menunjukkan keupayaan pemerangkapan radikal bebas yang lebih tinggi berbanding ekstrak air.

Dari aspek pemerangkapan radikal kation ABTS, nilai ABTS yang diperolehi daripada ekstrak daun *S. curtisii* dengan menggunakan pelarut yang berbeza adalah seperti berikut dalam susunan menurun: 80% metanol > 80% etanol > 80% aseton > 50% metanol > 50% etanol > 50% aseton > 100% metanol > 100% etanol > 100% aseton > air suling (kawalan). Hasil kajian menunjukkan daun *S. curtisii* yang diekstrak dengan 80% metanol (74.44%) dan 80% etanol (72.49%) memberi nilai ABTS yang lebih tinggi secara signifikan berbanding dengan pelarut lain. Manakala nilai ABTS bagi daun *S. curtisii* yang diekstrak dengan 80% aseton adalah lebih rendah secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding dengan 80% metanol dan 80% etanol. Walau bagaimanapun, tiada perbezaan yang signifikan ( $p > 0.05$ ) antara daun *S. curtisii* yang diekstrak dengan 80% metanol dan 80% etanol. Dalam pengekstrakan daun *S. curtisii* dengan menggunakan pelarut yang berbeza, pelarut dengan kepekatan 80% telah memberikan nilai ABTS yang lebih tinggi secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding pelarut dengan kepekatan 50% dan 100%. Menurut Safarzadeh Markhali, Teixeira dan Rocha (2022), pelarut berkepekatan 100% mungkin tidak sesuai untuk proses pengekstrakan. Secara umumnya, penggunaan pelarut yang mempunyai polariti terlalu tinggi atau tidak polar akan mempengaruhi pengekstrakan sebatian fenol.

Bagi ketiga-tiga jenis dan kepekatan pelarut yang berbeza, pelarut pengekstrakan (kecuali 100% aseton) telah memberi kesan terhadap antioksidan yang tinggi secara signifikan ( $p < 0.05$ ) jika dibandingkan dengan ekstrak air

suling (kawalan). Daun *S. curtisii* yang diekstrak dengan 100% aseton dan ekstrak air suling tidak menunjukkan perbezaan yang signifikan ( $p > 0.05$ ) terhadap nilai ABTS. Menurut Mohapatra et al. (2021), air mempunyai polariti yang tinggi tetapi tidak sesuai dijadikan pelarut untuk mengekstrak sebatian bioaktif daripada daun *Centella asiatica*. Hal ini dijelaskan kerana air mempunyai tegangan permukaan yang tinggi dan akan merosakkan sebatian hidrofilik seperti kumpulan COO dan OH. Hasil kajian ini menunjukkan bahawa nilai ABTS bagi daun *S. curtisii* lebih rendah berbanding dengan nilai DPPH. Hal ini mungkin disebabkan kehadiran sebatian antioksidan yang boleh dihapuskan oleh radikal ABTS dan DPPH adalah berbeza (Dadi et al. 2018).

Dari segi kuasa penurunan ion ferik pula, daun *S. curtisii* yang diekstrak menggunakan 80% metanol mempunyai nilai FRAP yang tertinggi (13.4  $\mu\text{g GAE/kg}$ ) secara signifikan ( $p < 0.05$ ), diikuti dengan 80% etanol, 80% aseton, 50% metanol, 50% etanol, 100% metanol, 100% etanol, 50% aseton, 100% aseton dan air suling (kawalan). Nilai FRAP bagi daun *S. curtisii* yang diekstrak menggunakan 80% etanol dan 80% aseton adalah lebih rendah secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding 80% metanol. Daun *S. curtisii* yang diekstrak menggunakan 80% metanol dengan kuasa penurunan yang lebih tinggi mungkin disebabkan kehadiran fitokimia yang lebih banyak dalam ekstrak dan juga dikaitkan dengan keupayaan pelarut pengekstrakan untuk melarut sebatian lebih tinggi. Kajian yang dijalankan oleh Mayuri, Asima dan Joseph (2022) melaporkan ekstrak metanol bagi daun *Artemisia stelleriana* menunjukkan kuasa penurunan yang lebih tinggi berbanding dengan pelarut lain iaitu aseton, etanol dan air.

Berdasarkan Jadual 3, didapati bahawa nilai FRAP bagi ketiga-tiga kepekatan pelarut meningkat secara signifikan ( $p < 0.05$ ), iaitu 100% pelarut < 50% pelarut < 80% pelarut. Hal ini menunjukkan bahawa sebatian yang dapat diekstrak dengan pelarut berpolar menyumbang kepada aktiviti antioksidan. Sebatian fenol yang mengandungi kumpulan hidroksil memainkan peranan dalam aktiviti antioksidan yang mana ia akan menderma hidrogen untuk mengurangkan ion ferik (Abate, Abebe & Mekonnen 2017). Hasil kajian mendapati nilai FRAP bagi daun *S. curtisii* yang diekstrak menggunakan 50% aseton dan 100% aseton lebih rendah secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding pelarut yang lain kecuali ekstrak air suling (kawalan). Keadaan yang sama juga berlaku pada jumlah kandungan fenol dan ujian ABTS dalam daun *S. curtisii* yang menunjukkan ekstrak 100% aseton tidak memberi kesan terhadap aktiviti antioksidan yang tinggi secara signifikan ( $p > 0.05$ ) berbanding dengan ekstrak air suling (kawalan). Dalam kajian ini, daun *S. curtisii* yang diekstrak dengan air suling sebagai kawalan memberikan nilai FRAP yang paling rendah secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding pelarut yang lain. Menurut Kalidindi et al. (2015), sebatian

fenol merupakan komponen antioksidan utama dan jumlah kandungan fenol adalah berkadar langsung dengan aktiviti antioksidan. Kajian Arokiyaraj et al. (2018) juga menunjukkan kesan keupayaan penurunan dalam ekstrak disebabkan oleh kehadiran sebatian fitokimia khususnya sebatian fenol.

#### KESIMPULAN

Kesimpulannya, jenis dan kepekatan pelarut pengekstrakan yang berbeza mempengaruhi perubahan warna ( $\Delta E$ ), nilai pH, jumlah kandungan fenol dan aktiviti antioksidan ekstrak daun *S. curtisii*. Kesan perlakuan jenis dan kepekatan pelarut juga menyumbang kepada perubahan warna ekstrak daun *S. curtisii* yang signifikan ( $p < 0.05$ ) dengan perubahan terendah pada pengekstrakan menggunakan 50% aseton ( $\Delta E$  5.37) manakala perubahan tertinggi direkodkan pada pengekstrakan menggunakan 50% etanol ( $\Delta E$  16.03). Berdasarkan analisis pH, nilai pH ekstrak daun *S. curtisii* dengan menggunakan ketiga-tiga jenis dan kepekatan pelarut pengekstrakan adalah berasid. Jenis dan kepekatan pelarut yang paling sesuai untuk menyumbang kepada jumlah kandungan fenol dan aktiviti antioksidan yang tinggi adalah 80% metanol.

#### PENGHARGAAN

Kajian ini dibiayai oleh Skim Geran Penyelidikan Fundamental dengan kod FRGS/1/2020/WAB04/UKM/02/4. Penulis juga ingin mengucapkan terima kasih kepada Jabatan Sains Makanan, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia untuk kemudahan makmal yang disediakan.

#### RUJUKAN

- Abate, L., Abebe, A. & Mekonnen, A. 2017. Studies on antioxidant and antibacterial activities of crude extracts of *Plantago lanceolata* leaves. *Chemistry International* 3(3): 277-287.
- Agomuo, J., Okache, T. & Abdulrauf, A. 2021. Effect of drying methods on the physicochemical and sensory properties of Jute (*Corchorus olitorius*) leaves. *Journal of Agriculture and Agricultural Technology* 6(2): 160-166.
- Ahmadi, O., Jafarizadeh-Malmiri, H. & Jodeiri, N. 2018. Eco-friendly microwave-enhanced green synthesis of silver nanoparticles using *Aloe vera* leaf extract and their physico-chemical and antibacterial studies. *Green Processing and Synthesis* 7(3): 231-240.
- Alara, O.R., Abdurahman, N.H., Abdul Mudalip, S.K. & Olalere, O.A. 2018. Characterization and effect of extraction solvents on the yield and total phenolic content from *Vernonia amygdalina* leaves. *Journal of Food Measurement and Characterization* 12(1): 311-316.
- Arokiyaraj, S., Bharanidharan, R., Agastian, P. & Shin, H. 2018. Chemical composition, antioxidant activity and antibacterial mechanism of action from *Marsilea minuta* leaf hexane: Methanol extract. *Chemistry Central Journal* 12(1): 1-11.
- Bose, A. & Ranvir, S. 2023. A systematic review on carotenoids: Its health benefits, extraction and fortifications in food. *Journal of Pharma Innovation* 12(6): 3793-3799.
- Cagliari, A., Martiny, T.R., Nascimento, R., Morais, M.M. & Rosa, G.S.D. 2022. Effects of different drying conditions on bioactive potential of Brazilian olive leaf. *Brazilian Journal of Food Technology* 25: 1-16.
- Chatatikun, M. & Chiabchalard, A. 2017. Thai plants with high antioxidant levels, free radical scavenging activity, anti-tyrosinase and anti-collagenase activity. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 17(1): 1-9.
- Chen, C., Mokhtar, R. A. M., Sani, M. S. A., & Noor, N. Q. I. M. 2022. The Effect of Maturity and Extraction Solvents on Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Mulberry (*Morus alba*) Fruits and Leaves. *Molecules* 27(8). <https://doi.org/10.3390/molecules27082406>
- Dadi, D.W., Emire, S.A., Hagos, A.D. & Assamo, F.T. 2018. Influences of different drying methods and extraction solvents on total phenolic and flavonoids, and antioxidant capacity of *Moringa stenopetala* leaves. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 7(1): 962-967.
- Do, T.H., Truong, H.B. & Nguyen, H.C. 2020. Optimization of extraction of phenolic compounds from *Ocimum basilicum* leaves and evaluation of their antioxidant activity. *Pharmaceutical Chemistry Journal* 54(2): 162-169.
- Halim, M.A., Kanan, K.A., Nahar, T., Rahman, M.J., Ahmed, K.S., Hossain, H., Mozumder, N.R. & Ahmed, M. 2022. Metabolic profiling of phenolics of the extracts from the various parts of blackberry plant (*Syzygium cumini* L.) and their antioxidant activities. *LWT - Food Science and Technology* 167: 113813.
- Hossain, M., Arafat, M., Alam, M. & Hossain, M. 2021. Effect of solvent types on the antioxidant activity and total flavonoids of some Bangladeshi legumes. *Food Research* 5(4): 329-335.
- Justine, V.T., Mustafa, M., Kankara, S.S. & Go, R. 2019. Effect of drying methods and extraction solvents on phenolic antioxidants and antioxidant activity of *Scurrula ferruginea* (Jack) Danser (Loranthaceae) leaf extracts. *Sains Malaysiana* 48(7): 1383-1393.
- Kalidindi, N., Thimmaiah, N.V., Jagadeesh, N.V., Nandee, R., Swetha, S. & Kalidindi, B. 2015. Antifungal and antioxidant activities of organic and aqueous extracts of *Annona squamosa* Linn. leaves. *Journal of Food and Drug Analysis* 23(4): 795-802.

- Kashaninejad, M., Sanz, M., Blanco, B., Beltrán, S. & Niknam, S.M. 2020. Freeze dried extract from olive leaves: Valorisation, extraction kinetics and extract characterization. *Food and Bioproducts Processing* 124: 196-207.
- Khalid, Z., Hassan, S.M., Mughal, S.S., Hassan, S.K. & Hassan, H. 2021. Phenolic profile and biological properties of *Momordica charantia*. *Chemical and Biomolecular Engineering* 6(1): 17-29.
- Kumar, N., Pratibha, Neeraj & Sharma, S. 2020. Effect of solvents on physiochemical properties of freeze-dried pomegranate seed (Cv. Bhagwa). *International Journal of Fruit Science* 20(2): 590-604.
- Kumari, I., Kaurav, H. & Chaudhary, G. 2021. *Myristica fragrans* (Jaiphal): A significant medicinal herbal plant. *International Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology* 8(2): 213-224.
- Li, H.M., He, T.T., Zhang, M., Liu, J.N., Zhao, X., Liu, J. & Fang, L. 2022. Stilbenoids from the roots of *Stemona tuberosa*. *Natural Product Research* 36(3): 695-700.
- Li, Y., Sun, Y., Jiang, J. & Liu, J. 2019. Spectroscopic determination of leaf chlorophyll content and color for genetic selection on *Sassafras tzumu*. *Plant Methods* 15(1): 1-11.
- Liu, Y.Q., Shen, Y., Teng, L., Yang, L.F., Cao, K., Fu, Q. & Zhang, J. 2021. The traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of *Stemona* species: A review. *Journal of Ethnopharmacology* 265: 113112.
- Lohvina, H., Sándor, M. & Wink, M. 2021. Effect of ethanol solvents on total phenolic content and antioxidant properties of seed extracts of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) varieties and determination of phenolic composition by HPLC-ESI-MS. *Diversity* 14(1): 7.
- Mayuri, M., Asima, D. & Joseph, K.S. 2022. Phytochemical analysis and antioxidant activities of *Artemisia stelleriana* Besser leaf extracts. *Plant Science Today* 9(2): 215-220.
- Mehdi, M.A., Alarabi, F.Y., Farooqui, M. & Pradhan, V. 2019. Phytochemical screening and antiamebic studies of *Tamarindus indica* of leaves extract. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 12(2): 507-512.
- Mohammadipour, N. & Souri, M.K. 2019. Beneficial effects of glycine on growth and leaf nutrient concentrations of coriander (*Coriandrum sativum*) plants. *Journal of Plant Nutrition* 42(14): 1637-1644.
- Mohapatra, P., Ray, A., Jena, S., Nayak, S. & Mohanty, S. 2021. Influence of extraction methods and solvent system on the chemical composition and antioxidant activity of *Centella asiatica* L. leaves. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 33: 101971.
- Muzolf-Panek, M. & Stuper-Szablewska, K. 2021. Comprehensive study on the antioxidant capacity and phenolic profiles of black seed and other spices and herbs: Effect of solvent and time of extraction. *Journal of Food Measurement and Characterization* 15(5): 4561-4574.
- Nguyen, N.H.K., An, N.T.D., Anh, P.K. & Truc, T.T. 2021. Microwave-assisted extraction of chlorophyll and polyphenol with antioxidant activity from *Pandanus amaryllifolius* Roxb. in Vietnam. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 1166(1): 012039.
- Nobossé, P., Fombang, E.N. & Mbofung, C.M.F. 2018. Effect of age and extraction solvent on phytochemical content and antioxidant activity of fresh *Moringa oleifera* L. leaves. *Food Sci. Nutr.* 6(8): 2188-2198.
- Ntshanka, N.M., Ejidike, I.P., Mthunzi, F.M., Moloto, M.J. & Mubiayi, K.P. 2020. Investigation into the phytochemical profile, antioxidant and antibacterial potentials of *Combretum molle* and *Acacia mearnsii* leaf parts. *Biomedical and Pharmacology Journal* 13(4): 1683-1694.
- Nyo, A.M.T., Win, A. & Phyu, S. 2019. Study on phytochemical constituents and evaluation of radical scavenging activity of Myanmar traditional medicinal plant *Stemona curtisii* Hook F. *International Journal of Research & Review* 6(8): 393-398.
- Pandurangaiah, S., Sadashiva, A.T., Shivashankar, K.S., Sudhakar Rao, D.V. & Ravishankar, K.V. 2020. Carotenoid content in cherry tomatoes correlated to the colour space values L\*, a\*, b\*: A non-destructive method of estimation. *Journal of Horticultural Sciences* 15(1): 27-34.
- Prastiwi, R., Elya, B., Hanafi, M., Desmiaty, Y. & Sauriasari, R. 2020. The antioxidant activity of *Sterculia stipulata* Korth woods and leaves by FRAP method. *Pharmacognosy Journal* 12(2): 236-239.
- Pyne, S.G., Jatisatienr, A., Mungkornasawakul, P., Ung, A.T., Limtrakul, P., Sastraruji, T., Sastraruji, K., Chaiyong, S., Umsumarn, S. & Baird, M.C. 2017. Phytochemical, synthetic and biological studies on *Stemona* and *Stichoneuron* plants and alkaloids: A personal perspective. *Natural Product Communications* 12(8): 1365-1369.
- Raja, K.S., Taip, F.S., Azmi, M.M.Z. & Shishir, M.R.I. 2019. Effect of pre-treatment and different drying methods on the physicochemical properties of *Carica papaya* L. leaf powder. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 18(2): 150-156.
- Ratsewo, J., Tangkhawanit, E., Meeso, N., Kaewseejan, N. & Siriamornpun, S. 2016. Changes in antioxidant properties and volatile compounds of kaffir lime leaf as affected by cooking processes. *International Food Research Journal* 23(1): 188-196.

- Rutnakornpituk, B., Boonthip, C., Kerdpan, J., Fakfeang, N. & Kholam, W. 2018. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents and analyses of active compounds in *Stemona collinsae* Craib crude extracts. *International Journal of Science* 15(1): 25-36.
- Safarzadeh Markhali, F., Teixeira, J.A. & Rocha, C.M. 2022. Effect of ohmic heating on the extraction yield, polyphenol content and antioxidant activity of olive mill leaves. *Clean Technologies* 4(2): 512-528.
- Safrina Hapsari, Imelia Yohed, Rachel Angie Kristianita, Nurud Jadid, Hakun Wirawasista Aparamarta & Setiyo Gunawan. 2022. Phenolic and flavonoid compounds extraction from *Calophyllum inophyllum* leaves. *Arabian Journal of Chemistry* 15(3): 103666.
- Shah, K.H. & Patel, P.M. 2021. Evaluation of antioxidant activity of *Cedrela toona* Roxb. leaf extracts. *Himalayan Journal of Health Sciences* 6(1): 24-31.
- Shams, K.A., Abdel-Azim, N.S., Saleh, I.A., Hegazy, M., El-Missiry, M.M., Hammouda, F.M., Bohouth, E. & Tahrir, E. 2015. Green technology: Economically and environmentally innovative methods for extraction of medicinal & aromatic plants (MAP) in Egypt. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 7(5): 1050-1074.
- Siakeng, R., Jawaid, M., Asim, M. & Siengchin, S. 2020. Accelerated weathering and soil burial effect on biodegradability, colour and texture of coir/ pineapple leaf fibres/ PLA biocomposites. *Polymers (Basel)* 12(2): 458-472.
- Sousa, C. 2022. Anthocyanins, carotenoids and chlorophylls in edible plant leaves unveiled by tandem mass spectrometry. *Foods* 11(13): 1924.
- Triyono, A., Luthfianti, R., Rahman, T. & Pamungkas, N. 2019. The effects of solvents and maltodextrin on the characteristics of *Physalis angulata* L. leaf extract. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 251(1): 012030.
- Truong, D.H., Nguyen, D.H., Ta, N.T.A., Bui, A.V., Do, T.H. & Nguyen, H.C. 2019. Evaluation of the use of different solvents for phytochemical constituents, antioxidants, and *in vitro* anti-inflammatory activities of *Severinia buxifolia*. *Journal of Food Quality* 2019: 1-7.
- Van Cuong, T. & Chin, K.B. 2018. Evaluation of *Cudrania tricuspidata* leaves on antioxidant activities and physicochemical properties of pork patties. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources* 38(5): 889.
- Xie, J.H., Dong, C.J., Nie, S.P., Li, F., Wang, Z.J., Shen, M.Y. & Xie, M.Y. 2015. Extraction, chemical composition and antioxidant activity of flavonoids from *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja leaves. *Food Chemistry* 186: 97-105.
- Zainal, W.N.H., Nur Amirah Adlina, M.A., Albar, S.S. & Rusli, A.S. 2022. Effects of extraction method, solvent and time on the bioactive compounds and antioxidant activity of *Tetrigona apicalis* Malaysian propolis. *Journal of Apicultural Research* 61(2): 264-270.
- Zhu, H., Zhang, J., Li, C., Liu, S. & Wang, L. 2020. *Morinda citrifolia* L. leaves extracts obtained by traditional and eco-friendly extraction solvents: Relation between phenolic compositions and biological properties by multivariate analysis. *Industrial Crops and Products* 153: 112586.

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