

3.3 Ujian Antioksidan

3.3.1 Asai Pelupusan Radikal Bebas Difenil Pikril Hidrazil (DPPH)

Ekstrak mentah metanol *Cassia alata* L. dan *Cassia tora* L. diuji dengan ujian pra-penyaringan pada kepekatan 5 mg/ml. Ujian pra-penyaringan juga dijalankan ke atas asid askorbik dan BHA sebagai rujukan positif. Asid askorbik dan BHA adalah antioksidan yang dihasilkan secara sintetik. Keputusan ditunjukkan dalam Jadual 3.17.

Jadual 3.17 : Pra-penyaringan Pelupusan (I%) radikal bebas DPPH oleh ekstrak metanol *Cassia alata* L. , *Cassia tora* L. dan bahan rujukan pada kepekatan 5 mg/ml.

Bahan Rujukan	Kesan Pelupusan (I%)
<i>Cassia alata</i> L.	92.82±1.79
<i>Cassia tora</i> L.	92.96±1.88
Asid askorbik	92.25±1.10
Butil Hidroksianisol (BHA)	91.53±1.15

Min peratus ± SD (n=3).

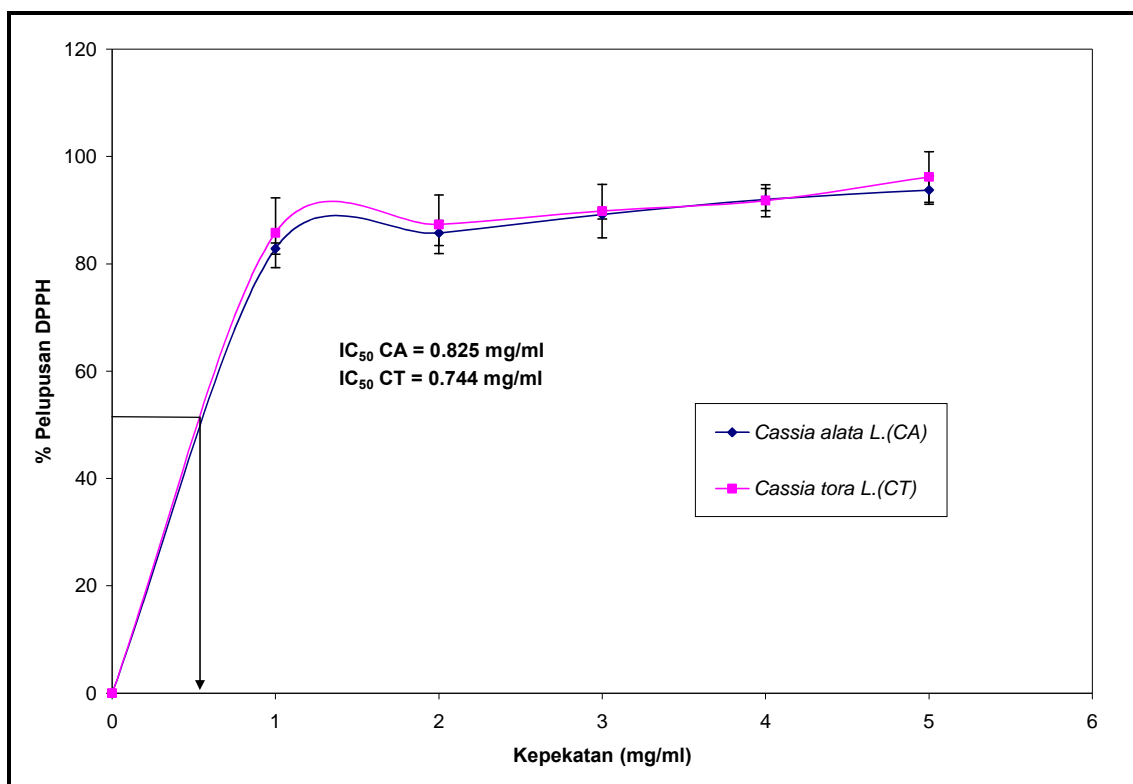
Kemudian, kedua-dua ekstrak diuji aktiviti antioksidan seterusnya pada kepekatan 5 mg/ml, 4 mg/ml, 3 mg/ml, 2 mg/ml dan 1 mg/ml untuk menentukan Nilai Kepekatan Rencatan 50 (IC₅₀). Keputusan ditunjukkan dalam Jadual 3.18 (a) dan (b). Nilai Kepekatan Rencatan 50 (IC₅₀) bagi kedua-dua ekstrak ditentukan dengan memplotkan graf dan keputusan ditunjukkan seperti Rajah 3.19.

Jadual 3.18 (a) : Pelupusan (I%) radikal bebas DPPH oleh ekstrak metanol *Cassia alata* L.

Kepekatan Ekstrak <i>Cassia alata</i> L. (mg/ml)	Nilai absorbans (D.O)			Peratus rencatan (I %)			
	1	2	3	1	2	3	Min ± SD
5	0.158	0.074	0.106	90.84	96.00	94.32	93.72 ± 2.63
4	0.175	0.148	0.112	89.86	92.00	94.00	91.95 ± 2.07
3	0.195	0.210	0.184	88.70	88.64	90.14	89.16 ± 0.85
2	0.282	0.272	0.220	83.66	85.29	88.22	85.72 ± 2.31
1	0.317	0.306	0.310	81.63	83.45	83.40	82.83 ± 1.04
Kawalan	1.726	1.849	1.867	-	-	-	-

Jadual 3.18 (b) : Pelupusan (I%) radikal bebas DPPH oleh ekstrak metanol *Cassia tora* L.

Kepekatan Ekstrak <i>Cassia tora</i> L. (mg/ml)	Nilai absorbans (D.O)			Peratus rencatan (I %)			
	1	2	3	1	2	3	Min ± SD
5	0.170	0.029	0.011	90.77	98.34	99.40	96.17 ± 4.71
4	0.207	0.144	0.095	88.76	91.78	94.73	91.76 ± 2.99
3	0.287	0.161	0.104	84.41	90.81	94.23	89.82 ± 4.98
2	0.308	0.259	0.116	83.27	85.21	93.56	87.34 ± 5.47
1	0.365	0.275	0.128	80.17	84.29	92.89	85.78 ± 6.49
Kawalan	1.841	1.751	1.801	-	-	-	-



Rajah 3.19: Graf menunjukkan aktiviti pelupusan (%) radikal DPPH oleh ekstrak metanol *Cassia alata* L. (CA) dan *Cassia tora* L. (CT). Min peratus \pm SD (n=3).

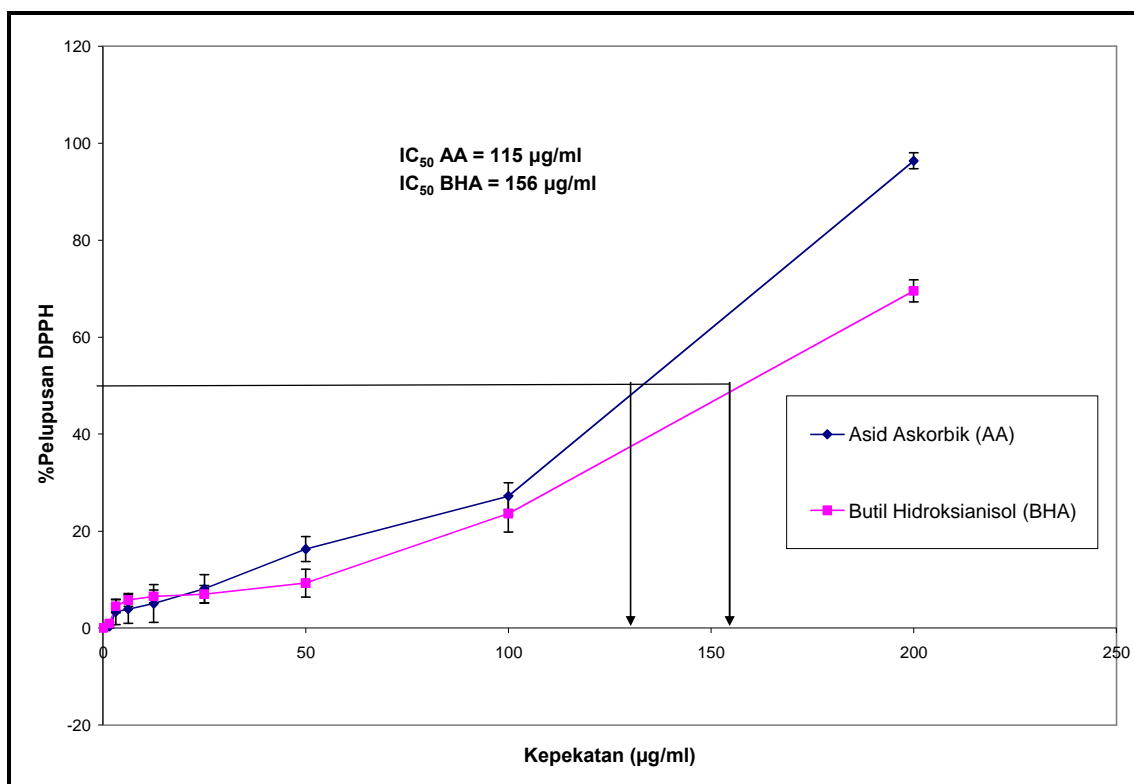
Nilai Kepekatan Rencatan 50 (IC₅₀) bagi bahan rujukan positif iaitu asid askorbik (AA) dan BHA juga ditentukan dengan kaedah yang sama dan keputusan ditunjukkan seperti dalam Jadual 3.19 (a), (b) dan graf diplotkan seperti Rajah 3.20.

Jadual 3.19 (a) : Pelupusan (I%) radikal bebas DPPH oleh Asid Askorbik.

Kepekatan Asid Askorbik (µg/ml)	Nilai absorbans (D.O)			Peratus rencatan (I %)			
	1	2	3	1	2	3	Min ± SD
200.00	0.040	0.099	0.056	97.8	94.61	96.74	96.38 ± 1.62
100.00	1.265	1.352	1.289	30.34	26.36	24.97	27.22 ± 2.79
50.00	1.610	1.552	1.443	11.34	15.47	16.1	16.30 ± 2.59
25.00	1.673	1.775	1.493	7.87	3.32	13.1	8.10 ± 2.95
12.50	1.676	1.825	1.599	7.71	0.60	6.93	5.08 ± 3.90
6.25	1.723	1.826	1.614	5.12	0.54	6.05	3.90 ± 2.95
3.12	1.724	1.830	1.638	5.07	0.33	4.66	3.35 ± 2.63
1.56	1.814	1.834	1.707	0.11	0.11	0.64	0.29 ± 0.31
Kawalan	1.816	1.834	1.718	-	-	-	-

Jadual 3.19 (b) : Pelupusan (I%) radikal bebas DPPH oleh BHA

Kepekatan BHA (µg/ml)	Nilai absorbans (D.O)			Peratus rencatan (I %)			
	1	2	3	1	2	3	Min ± SD
200.00	0.511	0.561	0.583	72.14	68.43	68.07	69.55 ± 2.25
100.00	1.481	1.321	1.354	19.25	25.66	25.85	23.59 ± 3.76
50.00	1.605	1.626	1.701	12.49	8.50	6.85	9.28 ± 2.90
25.00	1.668	1.673	1.714	9.05	5.85	6.13	7.01 ± 1.77
12.50	1.686	1.674	1.722	8.07	5.80	5.70	6.52 ± 1.34
6.25	1.699	1.684	1.737	7.36	5.23	4.87	5.82 ± 1.35
3.12	1.733	1.688	1.772	5.51	5.01	2.96	4.49 ± 1.35
1.56	1.786	1.740	1.785	2.62	2.08	2.25	0.93 ± 0.28
Kawalan	1.834	1.777	1.826	-	-	-	-



Rajah 3.20: Graf menunjukkan aktiviti pelupusan (%) radikal DPPH oleh Asid Askorbik (AA) dan Butil Hidroksianisol (BHA). Min peratus \pm SD (n=3).

Nilai Kepekatan Rencatan 50 (IC₅₀) bagi ekstrak metanol *Cassia alata* L., *Cassia tora* L., asid askorbik (AA) dan BHA adalah seperti yang dinyatakan dalam Jadual 3.20.

Jadual 3.20: Nilai IC₅₀ bagi kedua-dua ekstrak dan kawalan positif

Sampel	DPPH (IC ₅₀)
<i>Cassia alata</i> L.	0.825 mg/ml
<i>Cassia tora</i> L.	0.744 mg/ml
Asid askorbik	0.115 mg/ml
BHA	0.156 mg/ml

3.3.2 Asai Pengurangan Kuasa

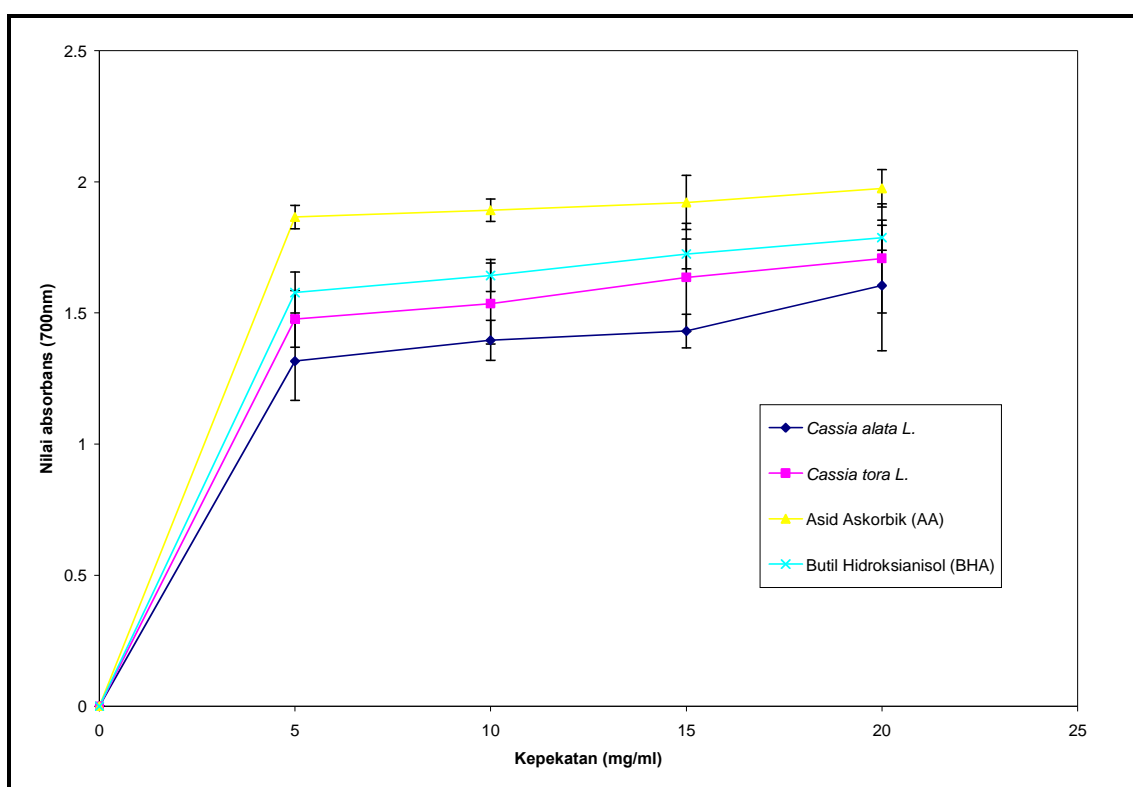
Asai ini dijalankan ke atas ekstrak metanol daun *Cassia alata* L. dan *Cassia tora* L. Asid askorbik dan BHA dijadikan sebagai bahan rujukan positif dalam asai ini kerana aktiviti antioksidannya yang tinggi. Ekstrak sampel dan bahan rujukan diuji pada kepekatan 5,10,15 dan 20 mg/ml. Keputusan ditunjukkan dalam Jadual 3.21 (a), (b) dan graf diplotkan seperti Rajah 3.21.

Jadual 3.21 (a) : Pengurangan kuasa oleh Asid askorbik dan BHA

Bahan Rujukan	Kepekatan (mg/ml)	Nilai absorbans (700nm)			Min ± SD
		1	2	3	
Asid askorbik	5	1.953	1.843	1.803	1.866±0.08
	10	1.962	1.852	1.861	1.892±0.06
	15	1.982	1.870	1.910	1.921±0.06
	20	2.028	1.935	1.962	1.975±0.05
Butil Hidroksianisol (BHA)	5	1.557	1.548	1.630	1.578±0.04
	10	1.680	1.596	1.654	1.643±0.04
	15	1.683	1.650	1.843	1.725±0.10
	20	1.724	1.772	1.864	1.787±0.07

Jadual 3.21 (b) : Pengurangan kuasa oleh ekstrak metanol *Cassia alata* L. dan *Cassia tora* L.

Sampel	Kepekatan (mg/ml)	Nilai absorbans (700nm)			Min ± SD
		1	2	3	
<i>Cassia alata</i> L.	5	1.459	1.334	1.159	1.317±0.15
	10	1.476	1.388	1.324	1.396±0.08
	15	1.503	1.410	1.380	1.431±0.06
	20	1.890	1.431	1.494	1.605±0.25
<i>Cassia tora</i> L.	5	1.602	1.412	1.417	1.477±0.11
	10	1.713	1.437	1.457	1.536±0.15
	15	1.872	1.546	1.491	1.636±0.21
	20	1.944	1.553	1.626	1.708±0.21



Rajah 3.21: Graf menunjukkan pengurangan kuasa oleh ekstrak sampel dan bahan rujukan positif. Min peratus ± SD (n=3).

3.3.3 Asai Pelunturan β -Karatena

Aktiviti antioksidan ekstrak metanol daun *Cassia alata* L. dan *Cassia tora* L. ditentukan dengan model sistem β -karotena-asid linoleik. Ekstrak sampel diuji pada kepekatan 4, 8, 16 dan 20 mg/ml seperti yang telah dijelaskan dalam Bab 2 (lihat 2.6.3). Butil hidroksianisol (BHA) adalah antioksidan sintetik yang digunakan sebagai kawalan dalam asai ini. Kadar pelunturan β -karotena (R) dikira mengikut persamaan berikut : -

$$R = \frac{\ln (a/b)}{t}$$

ln = log

a = nilai absorbans pada masa 0

b = nilai absorbans pada masa t

t = minit 20, 40, 60, 80, 100 dan 120

Aktiviti antioksidan (AA) di kira dalam peratus rencatan dengan persamaan berikut : -

$$AA (\%) = \left[\frac{(R \text{ kawalan} - R \text{ sampel})}{R \text{ kawalan}} \right] \times 100$$

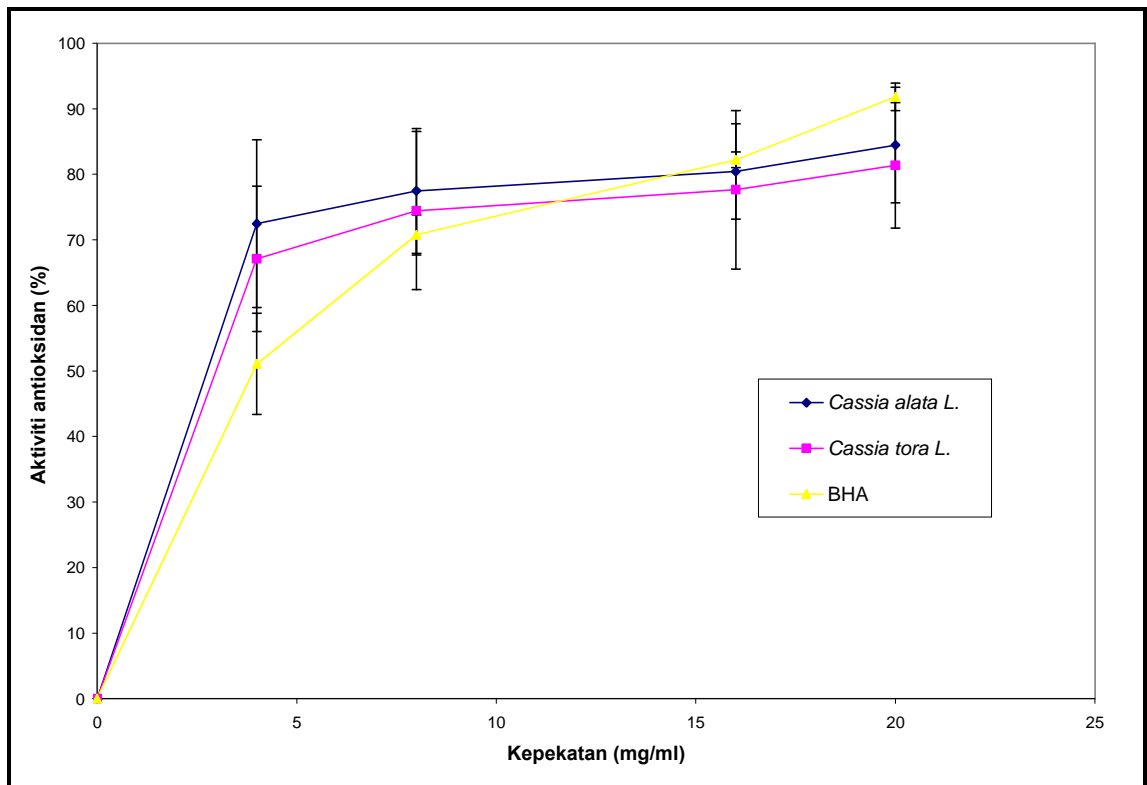
Keputusan yang diperolehi seperti dalam Jadual 3.22 (a), (b) dan graf diplotkan seperti Rajah 3.22.

Jadual 3.22 (a) : Aktiviti antioksidan (%) ekstrak metanol *Cassia alata* L dan *Cassia tora* L dengan Asai Pelunturan β -karotena.

Sampel	Kepekatan (mg/ml)	Aktiviti antioksidan (%)			Min \pm SD
		1	2	3	
<i>Cassia alata</i> L.	4	66.10	64.08	87.19	72.46 \pm 12.80
	8	70.04	74.18	88.19	77.47 \pm 9.51
	16	76.75	75.72	88.83	80.42 \pm 7.29
	20	79.12	79.61	94.63	84.45 \pm 8.82
<i>Cassia tora</i> L.	4	64.83	57.32	79.12	67.09 \pm 11.07
	8	66.48	68.55	88.35	74.46 \pm 12.07
	16	71.24	70.13	91.59	77.65 \pm 12.08
	20	77.52	74.33	92.25	81.37 \pm 9.56

Jadual 3.22 (b) : Aktiviti antioksidan (%) Butil Hidroksianisol (BHA) dengan Asai Pelunturan β -karotena.

Sampel	Kepekatan (mg/ml)	Aktiviti antioksidan (%)			Min \pm SD
		1	2	3	
Butil Hidrosianisol (BHA)	4	45.61	47.73	59.94	51.09 \pm 7.73
	8	69.41	68.57	74.24	70.74 \pm 3.06
	16	83.42	81.05	82.17	82.21 \pm 1.19
	20	93.68	89.53	92.21	91.81 \pm 2.10



Rajah 3.22: Graf menunjukkan aktiviti antioksidan (%) ekstrak metanol daun *Cassia alata L.*, *Cassia tora L.* dan BHA dengan asai pelunturan β -karotena. Min peratus \pm SD (n=3).

3.3.4 Penentuan Jumlah Sebatian Fenolik

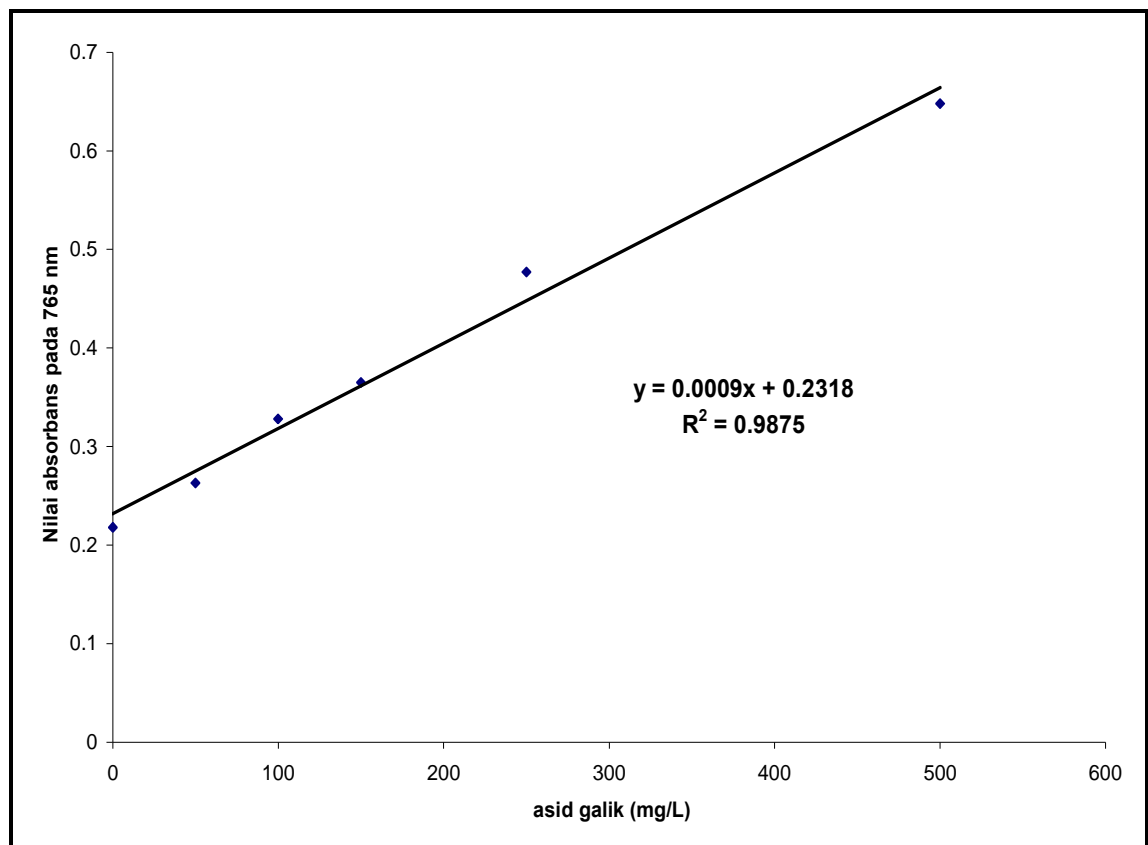
Jumlah kandungan sebatian kimia fenolik dalam ekstrak metanol daun *Cassia alata* L. dan *Cassia tora* L. ditentukan dengan menggunakan kaedah Folin-Ciocalteu. Bacaan absorbans asid galik diambil pada panjang gelombang 765 nm dengan beberapa siri kepekatan. Keputusan yang diperolehi ditunjukkan dalam Jadual 3.23. Bacaan absorbans ekstrak metanol daun *Cassia alata* L. dan *Cassia tora* L. pada kepekatan 20 mg/ml diambil dengan panjang gelombang 765 nm dan ditunjukkan dalam Jadual 3.24. Keluk piawai ditentukan dengan menggunakan asid gallik dan diplotkan seperti Rajah 3.23.

Jadual 3.23 : Nilai absorbans asid gallik pada beberapa siri kepekatan dengan ujian Folin-Ciocalteu

Sampel	Kepekatan (mg/ml)	Bacaan absorbans pada 765 nm			Min
		1	2	3	
Asid gallik	0	0.210	0.210	0.235	0.218
	50	0.293	0.281	0.279	0.263
	100	0.309	0.329	0.347	0.328
	150	0.347	0.358	0.390	0.365
	250	0.466	0.458	0.509	0.477
	500	0.628	0.619	0.698	0.648

Jadual 3.24 : Nilai absorbans ekstrak *Cassia alata* L. dan *Cassia tora* L. dengan ujian Folin-Ciocalteu

Ekstrak (20 mg/ml)	Bacaan absorbans pada 765 nm			Min
	1	2	3	
<i>Cassia alata</i> L.	0.837	0.842	0.886	0.855
<i>Cassia tora</i> L.	0.945	0.912	0.920	0.926



Rajah 3.23 : Keluk piawai asid galik

Dari keluk piawai asid galik yang diperolehi, kandungan sebatian kimia fenolik pada 1 mg ekstrak *Cassia alata* L. dan *Cassia tora* L. dinyatakan sebagai mg GAE (sama amaun asid gallik)/L dan ditunjukkan dalam Jadual 3.25.

Jadual 3.25 : Jumlah kandungan sebatian kimia fenol pada ekstrak

Ekstrak	Jumlah Kandungan Fenol (mg GA/L)			Min ± SD
	1	2	3	
<i>Cassia alata</i> L.	46.49	46.77	49.21	47.49±1.50
<i>Cassia tora</i> L.	52.49	51.10	50.66	51.43±0.96

3.3.5 Ujian Antioksidan Secara Kuantitatif

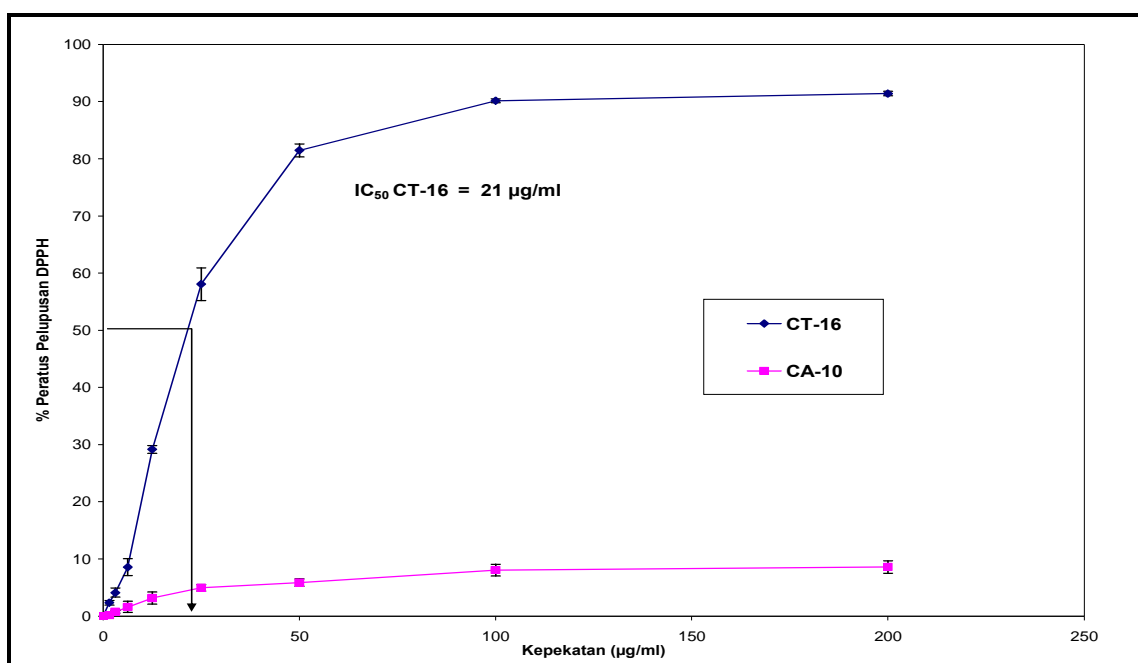
Sebatian kimia CA-10 dan CT-16 yang berjaya dipencilkan dari ekstrak sampel daun *Cassia alata* L. dan *Cassia tora* L. dijalankan ujian antioksidan dengan menggunakan kaedah Asai Pelupusan DPPH seperti yang dijelaskan pada 2.6.1. Keputusan ditunjukkan dalam Jadual 3.26 (a) dan (b). Nilai Kepekatan Rencatan 50 (IC₅₀) bagi kedua-dua sebatian kimia CA-10 dan CT-16 ditentukan dengan memplotkan graf dan keputusan ditunjukkan seperti Rajah 3.24.

Jadual 3.26 (a) : Pelupusan (I%) radikal bebas DPPH oleh CA-10.

Kepekatan CA-10 (µg/ml)	Nilai absorbans (D.O)			Peratus rencatan (I %)			Min ± SD
	1	2	3	1	2	3	
200.00	1.776	1.779	1.765	7.40	8.86	9.53	8.60± 1.09
100.00	1.785	1.791	1.776	6.93	8.25	8.97	8.05± 1.03
50.00	1.815	1.841	1.822	5.37	5.69	6.61	5.89± 0.65
25.00	1.822	1.867	1.844	5.01	4.35	5.48	4.95± 0.57
12.50	1.855	1.912	1.870	3.28	2.05	4.15	3.16± 1.06
6.25	1.865	1.932	1.930	2.76	1.02	1.08	1.62± 0.99
3.12	1.908	1.933	1.935	0.52	0.97	0.82	0.77± 0.23
1.56	1.912	1.950	1.948	0.31	0.10	0.15	0.19± 0.11
Kawalan	1.918	1.952	1.951	-	-	-	-

Jadual 3.26 (b) : Pelupusan (I%) radikal bebas DPPH oleh CT-16.

Kepekatan CT-16 (µg/ml)	Nilai absorbans (D.O)			Peratus rencatan (I %)			
	1	2	3	1	2	3	Min ± SD
200.00	0.16	0.167	0.173	91.68	91.60	90.95	91.41± 0.40
100.00	0.192	0.188	0.193	90.02	90.54	89.90	90.15± 0.34
50.00	0.382	0.355	0.342	80.14	82.13	82.10	81.46± 1.15
25.00	0.745	0.850	0.846	61.26	57.22	55.73	58.07± 2.86
12.50	1.367	1.392	1.364	28.91	29.94	28.62	29.16± 0.69
6.25	0.745	0.85	0.846	9.00	9.81	6.96	8.59± 1.47
3.12	0.382	0.355	0.342	4.94	4.13	3.35	4.14± 0.80
1.56	0.192	0.188	0.193	2.76	1.91	2.35	2.34± 0.42
Kawalan	1.923	1.987	1.911	-	-	-	-



Rajah 3.24: Graf menunjukkan aktiviti pelupusan (%) radikal DPPH oleh CA-10 dan CT-16. Min peratus ± SD (n=3).