

Pencirian minyak pati dan aplikasi ekstrak akar lada hutan dalam pembangunan kiub minuman botani

(Characterization of essential oils and application of wild pepper root's extract in development of botanical beverage cube)

Nicholas Daniel, Chua Hun Pin dan Syahida Maarof

Pengenalan

Pelbagai spesies lada (*Piper* spp.) tumbuh di seluruh dunia dan boleh didapati di hutan tropika dan subtropika. Tumbuhan lada digunakan untuk pelbagai aplikasi termasuklah untuk tujuan perubatan. Di Borneo khususnya di negeri Sabah dan Sarawak, selain spesies *Piper nigrum* yang ditanam untuk menghasilkan produk lada hitam dan lada putih, terdapat banyak spesies lada liar yang boleh dijumpai di hutan, antaranya ialah *Piper arborescens* yang turut dikenali sebagai lada hutan dan *Piper caninum* atau dikenali sebagai sirih hutan. Kedua-dua spesies lada ini merupakan tumbuhan jenis menjalar pada pokok saiz kecil dan sederhana. Lada hutan ini boleh diperkenalkan sebagai herba yang berpotensi dan ditanam sebagai tanaman masa hadapan. Penyelidikan yang lebih mendalam perlu dijalankan untuk mendapatkan maklumat yang berkaitan mengenai sifat-sifat dan manfaat kesihatan spesies tumbuhan ini.

Spesies lada hutan ini tidak menghasilkan biji seperti *Piper nigrum*. Penggunaan spesies lada hutan ini adalah pada batang dan rantingnya yang secara umumnya dikenali sebagai 'akar lada hutan'. Akar lada hutan biasanya digunakan sebagai herba dalam masakan ataupun diekstrak menggunakan kaedah rendaman dalam air panas (*decoction*) atau melalui proses penyulingan bagi mendapatkan minyak pati yang akan digunakan untuk pelbagai keperluan. Kajian terperinci ke atas lada hutan ini mampu mengenal pasti komponen aktif serta maklumat penting untuk pembangunan produk makanan mahupun farmaseutikal.

Pengekstrakan minyak pati akar lada hutan

Minyak pati daripada spesies lada hutan *Piper arborescens* dan *Piper caninum* diperolehi melalui proses penyulingan menggunakan air panas atau hidrodistilasi selama lapan jam menggunakan alat penyulingan *Clevenger*. Selepas proses penyulingan selama lapan jam, perangkap minyak di *Clevenger* kemudian disejukkan pada suhu bilik dan lapisan air di bahagian bawah minyak terlebih dahulu dikeluarkan untuk mengasingkannya daripada minyak. Lapisan minyak pati yang dikumpul kemudian dicuci dengan natrium sulfat kontang

yang berfungsi untuk menyerap dan mengeluarkan kelebihan air.

Hasil penyulingan air telah menghasilkan sebanyak 0.40% (daripada berat kering sampel) minyak pati berwarna kekuningan daripada akar lada hutan spesies *Piper arborescens*, manakala sebanyak 0.48% minyak pati berwarna kuning cerah diperoleh daripada akar lada hutan spesies *Piper caninum*.

Komposisi kimia minyak pati akar lada hutan

Komposisi kimia minyak pati akar lada hutan dianalisis melalui kaedah kromatografi dengan menggunakan kromatografi gas yang dilengkapi dengan pengesan pengionan nyala (GC-FID) model Perkin Elmer Clarus 680, dilengkapi dengan kolum kapilari HP-5 (5% phenylmethylpolysiloxane fasa pegun) dengan panjang 30 m, 0.25 μm ketebalan filem dan diameter dalaman 0.25 mm. Suhu untuk penyuntik dan pengesan ditetapkan pada suhu 260 $^{\circ}\text{C}$ dan 280 $^{\circ}\text{C}$. Suhu ketuhar GC-FID ditetapkan pada 60 $^{\circ}\text{C}$ selama dua minit, kemudian ditingkatkan sebanyak 5 $^{\circ}\text{C}$ setiap minit hingga 300 $^{\circ}\text{C}$ dan ketetapan pegun pada suhu akhir 300 $^{\circ}\text{C}$ selama lima minit. Gas pembawa yang digunakan ialah gas hidrogen dengan kadar aliran 1 mL/minit. Sebelum analisis kromatografi dijalankan, sebanyak 1.0 μL minyak pati akar lada hutan dicairkan dengan 199 μL diklorometana dan kemudian sebanyak 1 μL daripada sampel minyak pati berkenaan disuntik ke dalam mesin kromatografi GC-FID untuk dianalisis.

Komposisi kimia minyak pati dikenal pasti berdasarkan kiraan indeks Kovat (KI) untuk setiap isyarat puncak pada spektrum GC-FID dengan membandingkan spektrum jisim sampel yang dikaji dengan spektrum jisim piawaian jenis n-alkana untuk piawaian karbon 9 hingga karbon 32 (C9 hingga C32).

Analisis minyak pati melalui kromatografi telah mengenal pasti sejumlah 54 sebatian kimia di dalam minyak pati akar lada hutan *Piper arborescens*. Tiga sebatian utama dalam spesies ini dikenal pasti sebagai *pentadecanal* (18.88%), *guaiol* (11.19%) dan β -*guaiene* (11.12%). Sebatian lain dikenal pasti sebagai δ -*dodecalactone* (6.71%), *erucin* (6.01%), (*E*)- α -*bergamotene* (5.89%), *tetradecanol* (4.38%), *bicyclogermacrene* (3.38%), (*Z*)-*oak-lactone* (2.75%), (*E*)-2-*dodecen-1-ol* (2.30%), β -*selinene* (2.14%), α -*cadinol* (2.02%), *dill apiol* (1.85%), α -*curcumene* (1.81%), α -*ionone* (1.71%), *tridecanal* (1.63%), *butyl decanoate* (1.46%), *metil eugenol* (1.06%), β -*ionone* (1.04%) dan beberapa sebatian lain yang masing-masing kurang daripada 1%.

Analisis kromatografi turut mengenal pasti sejumlah 57 sebatian kimia di dalam minyak pati akar lada hutan spesies *Piper caninum*. Kajian menunjukkan empat sebatian utama yang dikenal pasti dalam sampel ini iaitu *isocaryophyllene* (20.60%), (*E*)- α -*bergamotene* (13.74%), (*E*)-*isoeugenol* (13.46%) dan (*E,Z*)-3,6-*nonadien-1-ol* (9.35%). Sebatian kimia lain yang

turut dikenal pasti dalam minyak pati *Piper caninum* ialah *isopropyl palmitate* (6.81%), (*E,E*)-*farnesylacetone* (4.26%), β -*selinene* (3.57%), *etil salicylate* (3.05%), β -*caryophyllene* (3.01%), *palmitaldehyde* (2.91%), *etil dihydrocinnamate* (2.34%), *bornyl isovalerate* (1.61%), *6-methoxyeugenol* (1.23%), (*E*)-*isoelemicin* (1.13%) dan beberapa sebatian lain yang masing-masing kurang daripada 1%.

Kajian menunjukkan kedua-dua minyak pati akar lada hutan spesies *Piper arborescens* dan *Piper caninum* mengandungi sejumlah 25 sebatian yang sama iaitu *isocaryophyllene*, *metil eugenol*, *wain lactone*, *metil laurate*, *myristicin*, γ -*dodecalactone*, (*E*)-2-*dodecen-1-ol*, β -*bourbonene*, (*E*)- α -*bergamotene*, β -*selinene*, β -*guaiene*, α -*farnesene*, *bicyclogermacrene*, α -*muurolene*, γ -*cadinene*, β -*sesquiphellandrene*, *guaiol*, β -*caryophyllene alcohol*, α -*bisabolol*, δ -*cadinol*, α -*cadinol*, *isopropyl palmitate*, *hydroxycalamenene*, (*E,Z*)-3,6-*nonadien-1-ol* dan *acetovanillone*.

Beberapa sebatian kimia dikenal pasti hadir pada kuantiti yang hampir sama seperti γ -*cadinene* (0.20% dalam *Piper arborescens*, 0.29% dalam *Piper caninum*), *metil laurate* (0.99% dalam *Piper arborescens*, 0.88% dalam *Piper caninum*) dan β -*bourbonene* (0.05% dalam *Piper arborescens*, 0.03% dalam *Piper caninum*).

Kapasiti antioksidasi minyak pati akar lada hutan

Kapasiti antioksidasi pada sampel minyak pati akar lada hutan *Piper arborescens* dan *Piper caninum* ditentukan melalui kaedah kajian radikal bebas melalui kaedah 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl DPPH. Melalui kaedah ini, sampel minyak pati sebanyak 10 μ L dicairkan ke dalam 10 mL metanol bagi menghasilkan kepekatan 1,000 μ g/mL. Tiga kepekatan lain turut disediakan iaitu kepekatan 10, 50, 100 μ g/mL dan 5,000 μ g/mL.

Sebanyak 3 mL daripada larutan 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) dalam 0.1 mM metanol, masing-masing ditambah kepada lima siri kepekatan yang disediakan (1 mL setiap sampel minyak pati berkepekatan 10, 50, 100, 1,000 dan 5,000 μ g/mL). Analisis dilakukan secara triplikat. Setiap campuran dibiarkan selama 30 minit dalam keadaan gelap dan selepas itu kadar penyerapan radikal bebas diukur dengan menggunakan spektrofotometer *ultra violet* (UV) model Jasco V-630 pada bacaan gelombang 517 nm. Metanol digunakan sebagai sampel kosong (*blank*) dan sampel kawalan (*negative control*) ialah 1 mL metanol yang dicampur dengan 3 mL DPPH, manakala asid askorbik (vitamin C) sebagai piawai. Kapasiti antioksidasi sampel minyak pati akar lada hutan ditentukan daripada nilai EC_{50} yang ditentukan secara statistik melalui program PRISM iaitu berdasarkan kepekatan sampel yang diperlukan untuk bertindak balas terhadap 50% radikal bebas DPPH.

Kajian menunjukkan kapasiti antioksidasi pada minyak pati akar lada hutan spesies *Piper arborescens* dan *Piper caninum* terhadap DPPH adalah rendah dengan nilai EC₅₀ masing-masing pada 249.30 µg/mL dan 238.70 µg/mL seperti yang ditunjukkan dalam *Jadual 1*. Sebagai perbandingan, nilai EC₅₀ asid askorbik yang dikaji sebagai sampel kawalan ialah 2.72 µg/mL. Keputusan menunjukkan bahawa dalam bentuk minyak pati, kapasiti antioksidasi pada ekstrak sampel akar lada hutan *Piper arborescens* dan *Piper caninum* adalah rendah. Kajian terdahulu yang dijalankan terhadap minyak pati spesies lada lain khususnya lada hitam dari negara yang berbeza turut mendapati kapasiti antioksidasi yang rendah.

Sitotoksiti minyak pati akar lada hutan

Jadual 1. Penyerapan pada kepekatan sampel yang berbeza dan kapasiti antioksidasi (EC₅₀) terhadap radikal bebas DPPH oleh minyak pati akar lada hutan

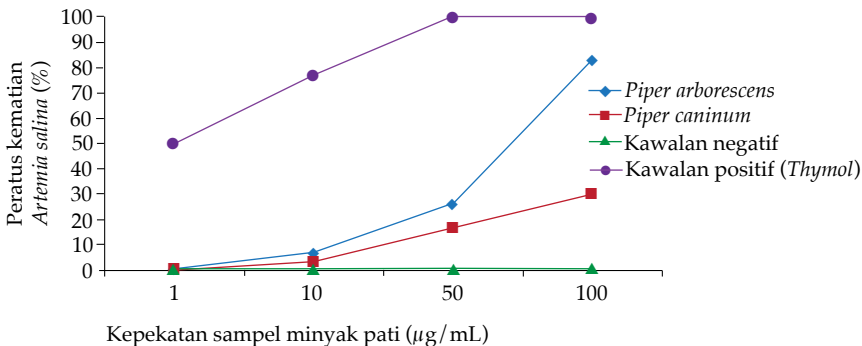
Sampel	Penyerapan pada kepekatan sampel yang berbeza					Kapasiti antioksidasi EC ₅₀ (µg/mL)
	10 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	1000 µg/mL	5000 µg/mL	
Minyak pati <i>Piper arborescens</i>	0.5804 ± 0.01	0.5576 ± 0.00	0.5926 ± 0.00	0.5488 ± 0.00	0.5027 ± 0.01	249.30
Minyak pati <i>Piper caninum</i>	0.3985 ± 0.00	0.4056 ± 0.00	0.4047 ± 0.00	0.3871 ± 0.00	0.3718 ± 0.00	238.70
Asid askorbik	0.5906 ± 0.01	0.0866 ± 0.00	0.0873 ± 0.00	0.0896 ± 0.00	0.0950 ± 0.00	2.72

Tahap sitotoksiti minyak pati akar lada hutan spesies *Piper arborescens* dan *Piper caninum* ditentukan dengan menggunakan kaedah tindak balas terhadap anak udang air tawar *Artemia salina*. Sebanyak 3 mg sampel minyak pati dicairkan ke dalam 3 mL metanol. Daripada sampel larutan ini, 500 µL, 250 µL, 50 µL dan 5 µL sampel dipindahkan ke petri NUNC dalam bilangan triplikat dan dibiarkan semalaman di bawah kabinet laminar bagi membolehkan pengewapan semua larutan metanol daripada sampel. Sebanyak 4.8 mL air laut dan 0.2 mL larutan dimetilsulfoksida (DMSO) kemudian diletakkan pada setiap sampel yang terdapat pada petri NUNC untuk menjadikan kepekatan akhir sampel pada 100, 50, 10 dan 1 µg/mL. Sepuluh anak udang *Artemia salina* diletakkan ke dalam setiap petri NUNC dan diperhatikan setiap enam jam selama 24 jam. *Thymol* digunakan sebagai kawalan positif, manakala 0.2 mL DMSO dan 4.8 mL air laut digunakan sebagai kawalan negatif. Jumlah *Artemia salina* yang mati dikira dalam tempoh 24 jam. Data yang diperolehi kemudian dianalisis untuk menentukan kepekatan sampel yang diperlukan untuk membunuh 50% udang *Artemia salina* dalam tempoh 24 jam atau dikenali sebagai nilai LC₅₀. Sitotoksiti sampel minyak pati akar lada hutan ditunjukkan melalui nilai LC₅₀ ini yang

dikira dan ditentukan dengan melakukan analisis Probit dalam perisian statistik SPSS IBM.

Purata kematian udang air garam *Artemia salina* dalam kepekatan minyak pati akar lada hutan *Piper arborescens* dan *Piper caninum* yang berbeza selepas 24 jam ditunjukkan seperti dalam *Jadual 2*, manakala peratusan kematian *Artemia salina* berkenaan ditunjukkan seperti dalam *Rajah 1*. Ujian bioassei yang dilakukan ini telah menunjukkan minyak pati akar lada hutan *Piper arborescens* memberikan tahap sitotoksiti yang lebih kuat dengan nilai LC_{50} 57.95 $\mu\text{g}/\text{mL}$, berbanding dengan minyak pati akar lada hutan *Piper caninum* dengan tahap sitotoksiti pada nilai LC_{50} 249.74 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (*Jadual 2*).

Menurut kajian terdahulu, sampel ujian yang menunjukkan LC_{50} bawah 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dikategorikan sebagai bahan yang mempunyai sitotoksiti tahap tinggi dan berpotensi dijadikan sebagai bahan antitumor dan antikanser, manakala sampel yang mempunyai LC_{50} lebih daripada 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dianggap sebagai sampel yang kurang ciri sitotoksik. Dengan garis panduan ini, minyak pati *Piper arborescens*



Rajah 1. Peratus kematian udang air garam *Artemia salina* pada kepekatan minyak pati yang berbeza bagi sampel akar lada hutan

Jadual 2. Purata kematian *Artemia salina* pada kepekatan minyak pati yang berbeza dan tahap sitotoksiti (LC_{50}) sampel akar lada hutan

Sampel	Purata kematian <i>Artemia salina</i> pada kepekatan minyak pati yang berbeza				Tahap sitotoksiti LC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
	1 $\mu\text{g}/\text{mL}$	10 $\mu\text{g}/\text{mL}$	50 $\mu\text{g}/\text{mL}$	100 $\mu\text{g}/\text{mL}$	
Minyak pati <i>Piper arborescens</i>	0	1 ± 0.57	3 ± 0.57	8 ± 0.57	57.95
Minyak pati <i>Piper caninum</i>	0	0	2 ± 0.57	3 ± 0.00	249.74
Kawalan negatif (DMSO, air laut)	0	0	0	0	–
Kawalan positif (Thymol)	5 ± 0.57	7 ± 0.57	10 ± 0.00	10 ± 0.00	1.15

(nilai LC_{50} 57.95 $\mu\text{g}/\text{mL}$) boleh dikategorikan sebagai sampel sumber semula jadi yang mempunyai potensi sebagai bahan antitumor dan antikanser. Tahap sitotoksiti yang tinggi pada minyak pati akar lada hutan *Piper arborescens* menunjukkan kehadiran komponen sitotoksik yang kuat dalam sampel tumbuhan ini. Kehadiran tiga sebatian kimia utama iaitu *pentadecanal*, *guaiol* dan β -*guaiene* dalam minyak pati *Piper arborescens* dipercayai menyumbang kepada sifat-sifat sitotoksik berkenaan. Sebagai rujukan, kajian terdahulu yang dilakukan ke atas *Piper arborescens* telah berjaya mengenal pasti sebatian tertentu yang menunjukkan sifat sitotoksiti yang signifikan terhadap pelbagai sel kanser. Ini menunjukkan bahawa sampel akar lada hutan khususnya spesies *Piper arborescens* merupakan sumber semula jadi yang berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan antikanser.

Produk minuman botani akar lada hutan

Minyak pati yang diperolehi daripada proses penyulingan sampel akar lada hutan boleh digunakan sebagai produk makanan tambahan, bahan mentah dalam produk makanan atau sebagai produk farmaseutikal untuk tujuan rawatan



Gambar 1. Akar lada hutan spesies *Piper arborescens*

atau pencegahan. Selain minyak pati, pembangunan produk daripada akar lada hutan spesies *Piper arborescens* telah berjaya menghasilkan produk kiub minuman botani yang dihasilkan menggunakan ekstrak akar lada hutan yang diperolehi melalui proses rendaman dalam air panas (*decoction*). Inovasi pembangunan produk ini melibatkan kawalan parameter pemprosesan iaitu; 1. kaedah pengekstrakan, 2. perlakuan bahan mentah, 3. suhu pemprosesan, dan 4 pH produk akhir.



Gambar 2. Produk kiub minuman botani daripada akar lada hutan yang hanya perlu dibancuh dengan air untuk menikmatinya

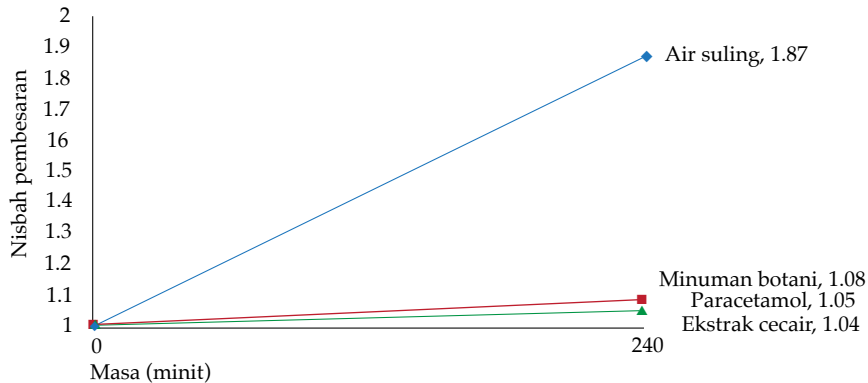
Sampel akar lada hutan (Gambar 1) dibersihkan dan diikuti dengan proses pemanasan selama dua jam. Dalam proses ini, sampel akar lada hutan dimasak di dalam air bersama gula pasir dan jus halia sehingga mendidih. Serbuk bikarbonat kemudian ditambah ke dalam campuran berkenaan dan digaul sehingga membentuk buih. Campuran kemudian dituang ke dalam acuan dan dibiarkan sejuk bagi proses pembentukan. Campuran yang telah keras kemudian dipotong menjadi bentuk kiub bagi menghasilkan

produk yang dikenali sebagai kiub minuman botani. Produk kiub botani akar lada hutan (*Gambar 2*), merupakan produk hasilan semula jadi sebagai alternatif kepada bahan atau dadah sintetik bagi merawat masalah kesihatan.

Ekstrak akar lada hutan diproses menjadi bentuk kiub kering kerana ia lebih baik berbanding dengan ekstrak dalam bentuk cecair. Produk akar lada hutan dalam bentuk kiub kering mempunyai aroma yang lebih baik, kos pemprosesan yang lebih rendah (tanpa melibatkan proses pempasteuran dan pembotolan untuk produk cecair), lebih mudah dikendalikan terutamanya semasa pengangkutan dan penyimpanan, serta jangka hayat produk kering yang lebih lama dan tidak memerlukan pengawet. Kajian jangka hayat ke atas produk kiub botani akar lada hutan mendapati produk yang disimpan pada suhu bilik selama tiga bulan masih memberi bacaan mikrobiologi yang selamat dan penerimaan rasa yang baik. Pengguna hanya perlu membancuh kiub ini bersama air untuk menikmatinya.

Fungsi antiradang

Hasil ujian antiradang menunjukkan bahawa kiub minuman botani akar lada hutan mempunyai aktiviti antiradang yang tinggi setanding dengan ubat komersial paracetamol. Tikus diberikan suntikan karagenan di bahagian tapak kaki untuk mendapatkan kesan keradangan iaitu pembengkakan akibat edema. *Rajah 2* menunjukkan graf normaliti untuk nisbah pembesaran edema pada tikus setelah diberi sampel yang berlainan iaitu masing-masing ekstrak akar lada hutan dalam bentuk cecair, minuman botani akar lada hutan, larutan paracetamol dan sampel kawalan iaitu air suling. Sebagai rujukan, nisbah 1 iaitu (1 cm : 1 cm) menunjukkan tiada kesan pembesaran edema manakala nisbah 2 iaitu (1 cm : 2 cm) menunjukkan pembesaran edema sebanyak satu kali ganda daripada saiz asal. Keputusan menunjukkan nisbah



*Nisbah pembesaran: 1 = Tiada pembesaran; 2 = Pembesaran sebanyak satu kali ganda

Rajah 2. Normaliti nisbah pembesaran edema pada tikus yang diberi sampel yang berlainan

pembesaran edema pada tikus yang diberikan ekstrak akar lada hutan dalam bentuk cecair (nisbah 1.04), minuman botani akar lada hutan (nisbah 1.08) dan larutan paracetamol (nisbah 1.05) adalah hampir sama yang menunjukkan aktiviti antiradang yang baik. Sebagai perbandingan, tikus yang diberi sampel kawalan iaitu air suling bagi menunjukkan tiada kesan antiradang telah menunjukkan pembesaran edema hampir sekali ganda daripada saiz asal iaitu dengan nisbah 1.87. Kedua-dua sampel ujian iaitu ekstrak dalam bentuk cecair dan minuman botani akar lada hutan telah menunjukkan potensi aktiviti antiradang yang setanding dengan ubat komersial. Hasil ujian ini telah menunjukkan bahawa akar lada hutan adalah sumber semula jadi yang berpotensi untuk menghalang atau mengawal keradangan dalam perubatan tradisional.

Kesimpulan

Kajian kromatografi ke atas sampel minyak pati akar lada hutan spesies *Piper arborescens* telah mengenal pasti tiga sebatian utama iaitu *pentadecanal* (18.88%), *guaiol* (11.19%) dan β -*guaiene* (11.12%), manakala empat sebatian utama telah dikenal pasti dalam sampel minyak pati akar lada hutan spesies *Piper caninum* iaitu *isocaryophyllene* (20.60%), (*E*)- α -*bergamotene* (13.74%), (*E*)-*isoeugenol* (13.46%) dan (*E,Z*)-*3,6-nonadien-1-ol* (9.35%). Kapasiti atau sifat antioksidasi pada minyak pati akar lada hutan adalah rendah dengan nilai EC_{50} untuk *Piper arborescens* dan *Piper caninum* masing-masing 249.30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan 238.70 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Tahap sitotoksiti untuk minyak pati akar lada hutan spesies *Piper arborescens* adalah tinggi dengan nilai LC_{50} 57.95 $\mu\text{g}/\text{mL}$ yang menunjukkan kehadiran komponen sitotoksik yang berpotensi sebagai bahan antitumor atau antikanser. Pembangunan produk akar lada hutan telah dihasilkan daripada kajian ini iaitu kiub minuman botani. Produk ini mempunyai fungsi sebagai antiradang dan berpotensi sebagai ubat alternatif bagi merawat masalah keradangan.

Penghargaan

Setinggi-tinggi penghargaan ditujukan kepada Kementerian Pelajaran Malaysia atas pembiayaan geran penyelidikan FRGS GL(F07)/MARDI/2014(12) dan FRGS/1/2014/SG03/ MOA/02/1. Kerjasama penyelidikan antara MARDI dan Universiti Malaysia Sarawak (UNIMAS) dalam projek penyelidikan ini adalah sangat dihargai.

Bibliografi

- Elumba, Z.S., Teves, F.G. dan Madamba, M.R.S.B. (2013). DNA-binding and cytotoxic activities of supercritical-CO₂ extracts of *Ganoderma lucidum* (Curt.:Fr.) P. Karst. collected from the wild of Bukidnon province, Philippines. *International Research Journal of Biological Sciences* 2(3): 62 – 68
- Fasihuddin, B.A. dan Ibrahim, J. (2003). Chemical constituents of the essential oils of *Goniothalamus uvarioides* King. *Flavour and Fragrance Journal* 18(2): 128 – 130
- Fouziah, A., Assim, Z.B., Ismail, J. dan Fasihuddin, B.A. (2012). Chemical constituents of essential oils from resin and bark of *Agathis bornensis*. *Borneo Journal of Resources Science and Technology UNIMAS* 2(1): 28 – 32
- Hakimi, W.M.N., Farediah, A., Khong, H.Y. dan Hasnah, M.S. (2011). Chemical compositions, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils of *Piper caninum* Blume. *International Journal of Molecular Sciences* 12(11): 7,720 – 7,731
- Magdalene, M., Del, S., Clifford, P.B. dan Charity, M.L.D. (2014). Cytotoxic effects of Betel vine, *Piper betle* Linn. leaf extracts using *Artemia salina* leach (brine shrimp lethality assay). *Journal of Multidisciplinary Studies* 3(1): 100 – 111
- McLaughlin, J.L. (1991). Grown gall tumours on potato disc and brine shrimp lethality: two simple bioassay for higher plants screening and fractionation. *Assay for Bioactivity*, Academic Press, San Diego 2 – 32
- Pattamapan, L., Kittisak, S., Phanida, P., Worawan, K., Krit, T. dan Nuntavan, B. (2015). *In vitro* biological activities of black pepper essential oil and its major components relevant to the prevention of Alzheimer's disease. *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences* 39(3): 94 – 101
- Tawan, C.S., Ipor, I.B., Fasihuddin, B.A. dan Sani, H. (2002). A brief account on the wild *Piper* (Piperaceae) of the crocker range, Sabah. *ASEAN Review of Biodiversity and Environmental Conservation (ARBEK)*: 1 – 11
- Tsai, I.L., Lee, F.P., Wu, C.C., Duh, C.Y., Ishikawa, T., Chen, J.J., Chen, Y.C., Seki, H. dan Chen, I.S. (2005). New cytotoxic cyclobutanoid amides, a new furanoid lignan and anti-platelet aggregation constituents from *Piper arborescens*. *Planta Medica* 71: 535 – 542
- Wang, H., Zhao, M., Yang, B., Jiang, Y. dan Rao, G. (2008). Identification of polyphenols in tobacco leaf and their antioxidant and antimicrobial activities. *Food Chemistry* 107: 1,399 – 1,406
- Zhang, L.L. dan Xu, J.G. (2015). Comparative study on antioxidant activity of essential oil from white and black pepper. *European Journal of Food Science and Technology* 3(3): 10 – 16

Ringkasan

Minyak pati akar lada hutan spesies *Piper arborescens* dan *Piper caninum* diekstrak dengan menggunakan kaedah penyulingan *Clevenger* dan dianalisis menggunakan kromatografi gas dengan pengesan pengionan nyala (GC-FID). Sebanyak 54 dan 57 komponen kimia masing-masing dalam minyak pati akar lada hutan *Piper arborescens* dan *Piper caninum* telah dikenal pasti. Tiga sebatian utama dalam minyak pati *Piper arborescens* ialah *pentadecanal* (18.88%), *guaial* (11.19%) dan *β-guaiene* (11.12%), manakala empat sebatian utama dalam minyak pati *Piper caninum* ialah *isocaryophyllene* (20.60%), *(E)-α-bergamotene* (13.74%), *(E)-isoeugenol* (13.46%) dan *(E,Z)-3,6-nonadien-1-ol* (9.35%). Penilaian kapasiti antioksidan menunjukkan nilai EC₅₀ minyak pati *Piper arborescens* dan *Piper caninum* masing-masing ialah 249.30 µg/mL dan 238.70 µg/mL yang menunjukkan aktiviti yang rendah terhadap

ujian DPPH. Ujian sitotoksiti menunjukkan minyak pati akar lada hutan *Piper arborescens* memberikan tahap sitotoksiti yang lebih kuat dengan nilai LC_{50} 57.95 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan boleh dikategorikan sebagai sumber semula jadi yang mempunyai potensi sebagai bahan antitumor dan antikanser, berbanding dengan minyak pati akar lada hutan *Piper caninum* dengan tahap sitotoksiti yang rendah pada nilai LC_{50} 249.74 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Pembangunan produk ke atas sampel akar lada hutan ini telah menghasilkan kiub minuman botani yang mempunyai fungsi khusus sebagai bahan antiradang. Ujian menunjukkan aktiviti antiradang daripada produk kiub akar lada hutan adalah tinggi, setanding dengan aktiviti yang ditunjukkan oleh ubat komersial. Produk ini berpotensi untuk dijadikan sebagai alternatif kepada ubat sintetik bagi merawat masalah keradangan.

Summary

Essential oils of wild pepper's root of *Piper arborescens* and *Piper caninum* species were extracted by using Clevenger's water distillation method, and analysed using gas chromatography-flame ionization detector (GC-FID). A total of 54 and 57 chemical components in the essential oils of *Piper arborescens* and *Piper caninum* have been identified, respectively. The three major compounds in the essential oil of *Piper arborescens* were pentadecanal (18.88%), guaiol (11.19%) and β -guaiene (11.12%), whereas four major compounds in the essential oil of *Piper caninum* were isocaryophyllene (20.60%), (*E*)- α -bergamotene (13.74%), (*E*)-isoeugenol (13.46%) and (*E,Z*)-3,6-nonadien-1-ol (9.35%). Evaluation of antioxidant properties showed that the EC_{50} values of essential oils of *Piper arborescens* and *Piper caninum* were 249.30 and 238.70 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively, indicating low scavenging activity against DPPH. Cytotoxicity assay showed that the essential oil of *Piper arborescens* have a greater cytotoxicity property with LC_{50} value of 57.95 $\mu\text{g}/\text{mL}$, and could be categorised as a potential natural source as antitumor and anticancer, as compared to the essential oil of *Piper caninum* with low cytotoxicity level of LC_{50} 249.74 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Product development on wild pepper of *Piper arborescens* has successfully developed a botanical beverage cube that has a special function as anti-inflammatory. The test showed that the anti-inflammatory activity of the wild pepper cube product was high, comparable to the activity shown by commercial medicine. This product has the potential to be an alternative to synthetic medicine to treat inflammation problems.

Pengarang

Nicholas Daniel

Pusat Penyelidikan Sains dan Teknologi Makanan,
Stesen MARDI Kuching, Lot 411, Blok 14,
Jalan Sultan Tengah, 93055 Petra Jaya, Kuching Sarawak
E-mel: nicholas@mardi.gov.my

Chua Hun Pin

Pusat Penyelidikan Sains dan Teknologi Makanan,
Stesen MARDI Kuching, Lot 411, Blok 14,
Jalan Sultan Tengah, 93055 Petra Jaya, Kuching Sarawak

Syahida Maarof

Pusat Penyelidikan Sains dan Teknologi Makanan,
Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM,
43400 Serdang, Selangor