

Kandungan Fitokimia, Aktiviti Antioksidan, Antihiperглиsemia dan Antikegemukan Ekstrak Daun *Annona muricata* dengan Kekutuban Berbeza

(Phytochemical Content, Antioxidant, Antihyperglycemic, and Antiobesity Activities of *Annona muricata* Leaf Extract with Different Polarities)

CHENG AI NEE¹, NAJIHAH HASSAN NOORHADI¹, NOOR-SOFFALINA SOFIAN-SENG^{1,2}, AHMED MEDIAN³, SENG JOE LIM^{1,2} & HAFEEDZA ABDUL RAHMAN^{1,2,*},

¹Department of Food Sciences, Faculty of Science and Technology, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia

²Innovation Centre for Confectionery Technology (MANIS), Faculty of Science and Technology, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia

³Institute of Systems Biology (INBIOSIS), Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia

Diserahkan: 3 Oktober 2023/Diterima: 13 Jun 2024

ABSTRAK

Annona muricata atau durian belanda adalah sejenis tumbuhan yang berada daripada famili Annonaceae, sering digunakan sebagai ubat tradisi untuk merawat pelbagai penyakit termasuk kanser, artritis dan malaria. Tumbuhan herba ini mengandungi sebatian bioaktif yang berpolar dan tidak berpolar. Penggunaan pelarut yang sesuai amat penting untuk mengekstrak sebatian bioaktif yang diinginkan dan juga mempengaruhi bioaktiviti ekstrak tersebut. Oleh itu, penyelidikan ini dijalankan untuk menentukan kesan pengekstrakan menggunakan pelarut berbeza polariti iaitu 70% metanol, etil asetat dan n-heksana terhadap aktiviti antioksidan, anti-lipase serta perencatan α -glukosidase ekstrak *A. muricata*. Selain itu, sebatian bioaktif yang menyumbang kepada bioaktiviti yang dikaji dikenal pasti menggunakan kromatografi cecair-spektrometer jisim (LC-MS). Dalam kajian ini, penentuan jumlah kandungan fenolik dalam ekstrak daun *A. muricata* dilakukan. Aktiviti antioksidan ekstrak daun *A. muricata* dinilai dengan ujian penyingkiran radikal bebas 2,2-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) manakala aktiviti antihiperглиsemik dan aktiviti anti-lipase dikaji dengan ujian perencatan α -glukosidase dan ujian perencatan lipase pankreas. Sampel yang diekstrak dengan etil asetat menunjukkan nilai IC_{50} terendah secara signifikan ($p < 0.05$) pada aktiviti antioksidan ($35.31 \pm 2.74 \mu\text{g/mL}$), aktiviti anti-hiperглиsemik ($32.11 \pm 4.62 \mu\text{g/mL}$) serta anti-lipase ($215.92 \pm 13.25 \mu\text{g/mL}$) berbanding dengan ekstrak 70% metanol dan n-heksana. Sampel tersebut juga menunjukkan kandungan fenolik yang tinggi iaitu sebanyak $46.40 \pm 1.95 \text{ mg GAE/g}$ ekstrak. Korelasi negatif antara TPC dengan nilai IC_{50} DPPH dan anti-hiperглиsemik menunjukkan sebatian fenolik bertanggungjawab terhadap aktiviti antioksidan dan anti-hiperглиsemik. Sebanyak 13 sebatian bioaktif termasuk kaemferol, kuersetin-3-O-glikosida dan kuersetin telah dikenal pasti melalui analisis LC-MS. Berdasarkan kepada kajian, etil asetat adalah pelarut yang paling baik untuk melarutkan sebatian aktif pada daun *A. muricata* berbanding dengan 70% metanol dan n-heksana. Hasil kajian juga menunjukkan keupayaan daun *A. muricata* untuk dibangunkan sebagai makanan fungsian atau ubat-ubatan bagi mencegah atau mengubati diabetes dan mengawal obesiti.

Kata kunci: *Annona muricata*; anti-lipase; fenolik; makanan fungsian

ABSTRACT

Annona muricata or Soursop is a plant that belongs to the family Annonaceae and used as traditional medicine to treat many diseases such as cancer, arthritis, and malaria. Medicinal plants contain bioactive compounds in polar and non-polar form. The use of suitable solvent in extraction is important to extract the desired bioactive compounds and it also influences the biological activities of the extract. Therefore, this study is carried out to determine the effect of solvent polarity (70% methanol, ethyl acetate and n-hexane) on antioxidant, anti-hyperglycaemic and anti-obesity activities. Besides, the bioactive compounds that contribute to the biological activities are identified using liquid chromatography - mass spectrometer (LC-MS). The phenolic content of *A. muricata* leave extracts is determined in this study using total phenolic content (TPC). The antioxidant activity is determined by DPPH free radical scavenging assay while the anti-hyperglycaemic and anti-lipase activities were conducted by α -glucosidase and pancreatic lipase inhibition assays, respectively. Samples extracted with

ethyl acetate showed the significantly lowest IC_{50} for antioxidant activity ($35.31 \pm 2.74 \mu\text{g/mL}$), anti-hyperglycaemic activity ($32.11 \pm 4.62 \mu\text{g/mL}$) and anti-lipase assay ($215.92 \pm 13.25 \mu\text{g/mL}$). The same extract also exhibited high phenolic content ($46.40 \pm 1.95 \text{ mg GAE/g}$ extracts). The negative correlation between TPC and DPPH and anti-hyperglycaemic activity showed that the phenolic compounds may be responsible for the antioxidant and anti-hyperglycaemic activities. In total, 13 bioactive compounds including kaemferol, quercetin-3-O-glucoside and quercetin were identified using LC-MS. This study showed that ethyl acetate is the best solvent to dissolve the active compounds in *A. muricata* leave extracts. This study also showed that *A. muricata* leave has the potential to become functional food or natural medicine to prevent or cure diabetes and used in the management of obesity.

Keywords: *Annona muricata*; anti-lipase; functional food; phenolic

PENGENALAN

Famili Annonaceae merangkumi lebih daripada 2000 spesies tumbuhan yang berasal daripada 119 genus. Famili ini adalah famili terbesar dalam Magnoliales (Padmanabhan & Paliyath 2016). Genus *Annona* adalah genus kedua terbesar dalam famili Annonaceae selepas *Guatteria*, mengandungi lebih kurang 120 spesies (Khong, Mujibuddin & Boonpisuttinant 2019). *A. muricata* juga dikenali sebagai durian belanda, merupakan spesies yang paling penting dalam genus *Annona* (Moghadamtousi et al. 2015). *A. muricata* merupakan pokok buah tropika yang ditanam secara meluas di kawasan tropika dan subtropika seperti Hindia Barat, Amerika Selatan dan Utara, kawasan tanah rendah di Afrika, Kepulauan Pasifik dan Asia Tenggara (Yajid et al. 2018). Semua bahagian daripada pokok *A. muricata* telah digunakan sebagai ubat semula jadi seperti kulit kayu, daun, akar, biji dan pulpa (Adewole & Caxton-Martins 2006). Daun *A. muricata* telah digunakan sebagai ubat tradisi dalam memerangi hiperglisemia, keradangan dan berfungsi sebagai ubat bagi kekejangan otot. Daun *A. muricata* juga seringkali dikaitkan sebagai pembunuh kanser dan ia digunakan sebagai ubat tradisi dalam rawatan kanser (Yajid et al. 2018). Selain itu, daun *A. muricata* yang kaya dengan asitogenin memiliki sifat anti-proliferasif dan bersifat sitotoksik terhadap sel kanser prostat tanpa memusnahkan sel normal (Asare et al. 2014). Daun *A. muricata* dipercayai boleh merawat sistitis, sakit kepala dan insomnia (Yajid et al. 2018). Daun *A. muricata* yang direbus mempunyai kesan parasitoid, antireumatik dan antineuralgik manakala daun yang dimasak boleh digunakan untuk melawan reumatisme dan abses (Sousa et al. 2010).

Analisis fitokimia yang dijalankan dalam kajian Usunomena dan Paulinus (2015) menunjukkan daun *A. muricata* mengandungi flavonoid (9.67%), saponin (3.50%), alkaloid (1.20%) dan tanin (0.18%). Manakala dalam kajian Uchegebu et al. (2017), keputusan kajian melaporkan kehadiran sebatian bioaktif iaitu alkaloid (1.66%), flavonoid (1.15%), tanin (0.75%), fenol (0.14%) dan saponin (2.15%). Kehadiran sebatian bioaktif tersebut bertanggungjawab terhadap aktiviti pemerangkapan radikal bebas dalam daun *A. muricata*, seterusnya

menyumbang kepada peningkatan aktiviti antioksidan. Sebatian fitokimia dalam ekstrak daun *A. muricata* seperti alkaloid dan asitogenin juga telah menunjukkan aktiviti farmakologi seperti antimikrob, antiprotozoa, antioksidan, insektisid, larvisid, hepatopelindung dan hipoglisemik. Selain itu, kajian Arroyo et al. (2009) telah menunjukkan kawalan glisemik yang baik pada pesakit diabetes jenis 2 yang mengambil *glibenclamide* bersama dengan ekstrak daun *A. muricata* berbanding dengan pesakit yang hanya mengambil *glibenclamide*.

Pengekstrakan menggunakan pelarut merupakan kaedah yang sering digunakan dalam pemencilan sebatian semula jadi daripada tumbuh-tumbuhan (Zhang, Lin & Ye 2018). Pemilihan pelarut untuk pengekstrakan bergantung pada jenis tumbuhan, bahagian tumbuhan yang akan diekstrak, sifat sebatian bioaktif dan kebolehdapatan pelarut. Pelarut polar seperti etanol, metanol, aseton, etil asetat dan air sering digunakan dalam pengekstrakan sebatian bioaktif daripada tumbuh-tumbuhan (Truong et al. 2019). Pelarut yang digunakan dalam pengekstrakan akan mempengaruhi hasil pengekstrakan dan kandungan sebatian bioaktif serta bioaktiviti ekstrak (Ngo et al. 2017).

Oleh itu, penyelidikan ini dijalankan untuk mengkaji penggunaan pelarut yang paling sesuai untuk menghasilkan ekstrak daun *A. muricata* yang mempunyai kandungan fenolik yang tinggi, aktiviti antioksidan, anti-hiperglisemik dan anti-kegemukan yang paling baik untuk dijadikan makanan fungsian atau bahan nutrasetikal yang berkesan dalam membantu mencegah obesiti serta penyakit seperti diabetes. Sebatian bioaktif yang menyumbang kepada aktiviti antioksidan, aktiviti perencatan α -glukosidase dan lipase pankreas akan dikenal pasti melalui kromatografi cecair – spektrometer jisim (LC-MS).

BAHAN DAN KAEDAH

BAHAN KIMIA DAN REAGEN

Bahan kimia yang digunakan dalam kajian ini adalah metanol, reagen *Folin-Ciocalteu*, n-heksana, etil asetat, 7.5% natrium karbonat, 2,2-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), larutan stok porsin pankreatik lipase (PPL), kalium fosfat (pH7.2 dan pH6.0), orlistat, p-nitrofenil-

α -D-glukofiranoside (pNG), fosfat penimbal, larutan α -glukosidase, glisin, 10% metanol dengan 0.1% asid formik dan 70% metanol dengan 0.1% asid formik. Semua bahan kimia yang digunakan adalah bergred analitikal daripada Sigma-Aldrich, USA.

PENYEDIAAN DAN PENERINGAN SAMPEL

Daun *A. muricata* telah diperoleh dari Taman Paku Pakis pada bulan September 2021 di Universiti Kebangsaan Malaysia, Bangi, Selangor. Daun *A. muricata* telah dibersihkan sebelum dikeringkan dengan kaedah pengeringan ketuhar (Mommert 500, USA) pada suhu 40 °C sehingga mencapai berat malar selama 72 jam. Daun kering kemudian dikisar menjadi serbuk dengan pengisar elektrik (Waring, USA) dan diayak menggunakan saiz 60 mesh bagi mendapatkan saiz zarah yang sama. Sampel serbuk kering kemudian disimpan dalam peti sejuk beku pada suhu -20 °C (Wan Nasir et al. 2021).

PENGEKSTRAKAN SAMPEL

Pengestrakan sampel dilakukan berdasarkan kaedah Rahman et al. (2017). Serbuk daun *A. muricata* diekstrak dengan tiga jenis pelarut yang berbeza. Sebanyak 10 g serbuk telah direndam dalam 250 mL pelarut berbeza iaitu 70% metanol, etil asetat dan n-heksana selama 24 jam dengan menggunakan penggoncang orbital pada kelajuan 100 rpm dan seterusnya disonikasi selama 1 jam untuk menghasilkan ekstrak kasar. Campuran tersebut kemudian diempar dengan pengempar (ROTINA 380, USA) pada kelajuan 130 × g selama 30 minit untuk mengasingkan supernatan dan mendakan. Supernatan dikumpul dan kemudian disejatkan dengan penyejat berputar, Laborota 4000 efficient (Heidolph, Jerman) pada suhu 40 °C. Pengeringan sejuk beku (NFD-S1 Freeze Dryer Standard Chamber Table Top) digunakan selama 24 jam untuk menyingkirkan sisa air daripada sampel. Hasil pengekstrakan tersebut disimpan dalam botol gelap pada suhu -20 °C sebelum analisis yang seterusnya. Bacaan peratusan hasil ekstrak bagi setiap sampel dihitung dengan menggunakan formula berikut:

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

PENENTUAN KANDUNGAN FENOL (TPC)

Jumlah kandungan fenol bagi ekstrak daun *A. muricata* telah ditentukan berdasarkan kaedah Li et al. (2022). Sebanyak 5 mL reagen 0.2 N Folin-Ciocalteu, 1 mg ekstrak *A. muricata* yang telah dilarutkan dalam 1 mL pelarut dan 4 mL 7.5% natrium karbonat telah dicampurkan dan dibiarkan pada suhu bilik selama 2 jam dalam keadaan gelap. Kompleks berwarna biru telah dihasilkan dan dibaca pada 765 nm dengan menggunakan Epoch™ Microplate

Spectrophotometer; Bio Tek® Instruments, USA. Lengkung piawai diperoleh dengan menggunakan asid galik (0 – 80 ppm) dan persamaan: $y=0.0113x + 0.0625$, $R^2: 0.9929$. Jumlah kandungan fenol telah dinyatakan sebagai mg kesetaraan asid galik per gram ekstrak (mg GAE/g ekstrak). Kandungan fenol dapat dikira dengan menggunakan formula berikut:

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

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

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

Aktiviti penyingkiran radikal bebas bagi ekstrak daun *A. muricata* ditentukan berdasarkan kaedah oleh Mokhtar et al. (2021) dan Wan Nasir et al. (2021). Aktiviti antioksidan dinyatakan sebagai IC₅₀ (kepekatan *A. muricata* yang diperlukan untuk menyingkirkan 50% radikal bebas). Sebanyak 40 µL ekstrak yang telah dilarutkan dicampur dengan 180 µL DPPH. Campuran tersebut dibiarkan untuk bertindak balas pada suhu bilik di tempat yang gelap selama 30 minit. Bacaan penyerapan sampel diukur pada 517 nm dengan menggunakan Epoch™ Microplate Spectrophotometer, Bio Tek® Instruments, USA. Asid askorbik digunakan sebagai kawalan positif dalam kajian ini. Bacaan pengosong dibandingkan dengan peratusan aktiviti penyingkiran radikal sampel atau kawalan dan pengiraan dibuat berdasarkan pengukuran nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ ditentukan berdasarkan kepekatan *A. muricata* yang diperlukan untuk merencatkan 50% radikal bebas.

Aktiviti penyingkiran radikal bebas (%) = (A kosong - A sampel) / (A kosong) × 100 dengan A ialah daya serapan pada 517 nm.

UJIAN PERENCATAN α -GLUKOSIDASE

Kaedah perencatan α -glukosidase dijalankan berdasarkan Ain Ibrahim et al. (2023). Aktiviti perencatan dinyatakan sebagai IC₅₀ (kepekatan *A. muricata* yang diperlukan untuk merencatkan 50% aktiviti enzim α -glukosidase). Sebanyak 10 mM larutan p-nitrofenil- α -D-glukofiranoside (pNG) disediakan dalam 50 mM fosfat penimbal (pH 6.5). Sebanyak 10 µL sampel ekstrak yang telah dilarutkan, 100 µL daripada 30 mM larutan fosfat penimbal dan 15 µL larutan α -glukosidase (3 U/mL) dipra-inkubasi dalam mikroplat 96 telaga pada suhu 25 °C (sepertutnya seperti ini) selama 5 minit. Seterusnya, 75 µL daripada larutan tersebut dimasukkan ke dalam mikroplat dan diinkubasi selama 15 minit pada 25 °C. Sebanyak 50 µL 2 M glisin (pH 10) ditambah untuk menghentikan tindak balas

enzim. Sampel kosong kemudian disediakan dengan kaedah yang sama seperti sampel uji kaji, tetapi larutan enzim dan substrat yang digunakan dalam penyediaan sampel kosong digantikan dengan 50 µL 30 mM larutan penimbal fosfat manakala glisin pula digantikan dengan 50 µL air suling. Bacaan penyerapan diukur pada 405 nm menggunakan Epoch™ Microplate Spectrophotometer, Bio Tek® Instruments, USA. Kuersetin yang digunakan sebagai kawalan positif. Peratusan perencatan dihitung menggunakan formula berikut:

$$\% \text{ perencatan} = \frac{\Delta A_n - \Delta A_s}{\Delta A_n} \times 100$$

dengan ΔA_n ialah perbezaan antara kawalan negatif (dengan enzim) dengan sampel kosong (tanpa enzim); ΔA_s ialah perbezaan penyerapan antara sampel (dengan enzim) dengan sampel kosong (tanpa enzim).

PERENCATAN LIPASE PANKREAS

Aktiviti perencatan lipase pankreas dijalankan dengan menggunakan p-nitrofenil butirat (p-NPB) sebagai substrat dan lipase pankreas porsin (PPL, jenis II). Kaedah yang digunakan adalah berdasarkan kaedah oleh Arshad et al. (2024). Aktiviti perencatan dinyatakan sebagai IC_{50} (kepekatan *A. muricata* yang diperlukan untuk merencatkan 50% aktiviti enzim lipase pankreas). Larutan stok porsin pankreatik lipase (PPL) (1 mg/mL) disediakan dalam larutan kalium fosfat 0.1 mM (pH 6.0) dan larutan tersebut disimpan pada suhu -20 °C. Bagi menentukan aktiviti perencatan lipase, sebanyak 100 µL ekstrak daun *A. muricata* yang telah dilarutkan dan Orlistat sebagai kawalan positif diinkubasi dengan PPL selama 1 jam dalam larutan penimbal kalium fosfat (0.1 mM, pH 7.2, 0.1% Tween 80) pada suhu 30 °C sebelum menilai aktiviti PPL. Tindak balas dimulakan dengan menambahkan 50 µL p-NPB (10 mM) sebagai substrat. Setelah inkubasi pada suhu 30 °C selama 5 minit, jumlah p-nitrofenol yang dihasilkan dalam tindak balas diukur pada 405 nm menggunakan Spektrofotometer UV Epoch™ Microplate Spectrophotometer, Bio Tek® Instruments, USA. Aktiviti kawalan negatif juga diperiksa dengan perencat dan tanpa perencat. Orlistat digunakan sebagai kawalan positif dalam kajian ini. Aktiviti perencatan dihitung dengan menggunakan formula berikut:

$$\text{Aktiviti perencatan (\%)} = 100 - \left[\left(\frac{B-b}{A-a} \right) \times 100 \right]$$

dengan A ialah aktiviti tanpa perencat; a ialah kawalan negatif tanpa perencat; B ialah aktiviti dengan perencat; b ialah kawalan negatif dengan perencat.

DMSO akan digantikan sebagai kawalan negatif dan aktiviti juga telah diperiksa.

ANALISIS KROMATOGRAFI CECAIR – SPEKTROMETER JISIM (LC-MS)

Analisis LC-MS telah dijalankan berdasarkan kaedah Kasim et al. (2022) menggunakan pam Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 Series RS bersama kolum kompakmen Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 Series TCC-3000RS dan autosampler Thermo Fisher Scientific Ultimate 3000 Series WPS-3000RS yang dikawal oleh Chromeleon 7.2 Software (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA dan Dionex Softron GmbH Part of Thermo Fisher Scientific, Germany). Pemisahan dijalankan melalui ACQUITY UPLC® BEH dengan kolum C18 (2.1 mm × 100 mm; saiz zarah, 1.7 µm) (Waters, Milford, MA, USA) dilengkapi dengan Van Guard BEH pre-kolum C18 (2.1 mm × 5 mm; saiz zarah, 1.7 µm) (Waters, Milford, MA, USA) pada suhu 40 °C. Fasa bergerak A adalah 0.1% asid formik dengan 0.1% air dan fasa bergerak B adalah 0.1% asid formik dengan 0.1% metanol. Sebanyak 5 mg sampel daun *A. muricata* yang diekstrak dengan etil asetat dicampurkan dengan 1 mL metanol dan seterusnya ditapis melalui penapis PTFE (saiz liang 0.22 µm). Analisis bermula dengan larutan B mengikut urutan seperti 10% larutan, 10% - 80% (0 – 3 minit), 80% - 100% (3 – 12 minit), 100% (12 – 16 minit). Resolusi ditetapkan pada 70,000 pada imbasan penuh dan 35,000 pada imbasan MS/MS dengan julat imbasan 100 – 1500 m/z. Lima puncak paling tinggi telah dipilih untuk pemecahan tenaga ternormal berperingkat 15, 30 dan 35 V dalam kedua-dua mod pengionan. Sebatian bioaktif ekstrak daun *A. muricata* dikenal pasti melalui perbandingan antara data yang diperoleh serta rujukan daripada kajian kepustakaan yang terdahulu.

ANALISIS STATISTIK

Perisian Minitab versi 17.0 digunakan untuk analisis data dan semua analisis dijalankan sebanyak 3 kali replikasi (n=3). Semua data yang diperoleh dianalisis melalui Ujian Analisis Varians (ANOVA) dan Ujian Tukey untuk menguji sebarang perbezaan antara sampel pada aras signifikan 95% (p<0.05). Ujian Korelasi Pearson dijalankan untuk menentukan korelasi antara jumlah kandungan dengan aktiviti antioksidan, anti-hiperglisemik serta anti-lipase ekstrak daun *A. muricata*.

HASIL DAN PERBINCANGAN

KESAN PENGGUNAAN PELARUT YANG BERBEZA POLARITI TERHADAP HASIL EKSTRAK DAUN *A. muricata*
Hasil ekstrak bagi ekstrak daun *A. muricata* adalah daripada 8.93 ± 0.90 % hingga 19.30 ± 3.84 %. Hasil ekstrak dengan penggunaan pelarut yang berbeza disusun seperti berikut: 70% metanol > etil asetat > n-heksana. Jadual 1 menunjukkan hasil ekstrak bagi daun *A. muricata* dengan penggunaan pelarut yang berbeza polariti. Berdasarkan

jadual tersebut, hasil ekstrak pelarut 70% metanol adalah lebih tinggi secara signifikan ($p < 0.05$) iaitu $19.30 \pm 3.84\%$ berbanding dengan ekstrak etil asetat ($9.40 \pm 1.51\%$) dan n-heksana ($8.93 \pm 0.90\%$).

Menurut Truong et al. (2019), metanol, etanol, aseton dan air adalah pelarut yang biasa digunakan untuk mengekstrak sebatian bioaktif daripada tumbuh-tumbuhan. Hasil ekstrak bukan sahaja dipengaruhi oleh teknik pengekstrakan malah pelarut yang digunakan. Hasil kajian ini menunjukkan pelarut 70% metanol mempunyai hasil ekstrak yang paling tinggi berbanding dengan pelarut yang lain. Hasil kajian ini disokong oleh kajian Kim et al. (2011) yang menggunakan campuran air dan alkohol sebagai pelarut dapat menghasilkan hasil ekstrak yang maksimum. Hal ini mungkin disebabkan oleh campuran air dan alkohol berupaya melarutkan molekul polar dan molekul tak polar serta berjaya mengekstrak makromolekul yang besar seperti asid organik, protein dan karbohidrat (Gonfa, Teketle & Kiros 2020). Selain itu, kajian yang dilakukan oleh Li et al. (2022) juga menunjukkan peratus pemuliharaan ekstrak rizom langkinang bagi campuran etanol dan air adalah lebih tinggi secara signifikan ($p < 0.05$) berbanding sampel yang diekstrak dengan menggunakan satu jenis pelarut iaitu etanol atau air sahaja.

KESAN PENGGUNAAN PELARUT YANG BERBEZA POLARITI TERHADAP JUMLAH KANDUNGAN FENOLIK (TPC)

Rajah 1 menunjukkan kandungan fenolik bagi ekstrak daun *A. muricata* dengan pelarut yang berbeza kepolaran. Jumlah kandungan fenolik bagi ekstrak daun *A. muricata* adalah dalam lingkungan daripada 16.53 ± 0.42 mg GAE/g ekstrak hingga 53.91 ± 6.49 mg GAE/g ekstrak. Hasil kajian ini menunjukkan bahawa sampel daun yang diekstrak dengan 70% metanol dan etil asetat mempunyai jumlah kandungan fenolik yang lebih tinggi ($p < 0.05$) iaitu 53.91 ± 6.49 mg GAE/g ekstrak dan 46.40 ± 1.95 mg GAE/g manakala sampel daun yang diekstrak dengan pelarut n-heksana menunjukkan jumlah kandungan fenolik yang paling rendah ($p < 0.05$) iaitu 16.53 ± 0.42 mg GAE/g ekstrak. Walaupun ekstrak 70% metanol menunjukkan nilai TPC yang lebih tinggi daripada ekstrak etil asetat, perbezaan tersebut adalah tidak signifikan ($p > 0.05$). Hasil kajian ini membuktikan bahawa penggunaan pelarut 70% metanol adalah pelarut yang terbaik dalam pengekstrakan sebatian fenolik daripada sampel daun *A. muricata*. Hasil ini dapat disokong oleh kajian Fathallah et al. (2014) yang menunjukkan bahawa sampel daun *Terminalia belerica* Roxb. yang diekstrak dengan 70% metanol mempunyai kandungan fenolik yang lebih tinggi berbanding dengan sampel yang diekstrak dengan dietil eter, etil asetat, diklorometana dan butanol. Hasil kajian ini turut disokong oleh kajian Hassali et al. (2022) dan Ling et al. (2020) yang menunjukkan ekstrak metanol mempunyai kandungan

fenolik tertinggi, diikuti oleh ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksana.

Melalui kajian yang dijalankan oleh Cho et al. (2020), sampel yang diekstrak dengan pelarut metanol menunjukkan kandungan fenolik dan aktiviti antioksidan yang tinggi berbanding dengan pelarut etanol. Ianya disokong dengan kajian oleh Ye et al. (2015) yang juga menunjukkan metanol adalah pelarut yang sering digunakan dalam mengekstrak sebatian fenol daripada tumbuh-tumbuhan secara berkesan. Hal ini kerana metanol dapat mengurangkan degenerasi sebatian fenol dalam ekstrak tumbuhan dan dapat mengawal pengoksidaan dalam sebatian fenolik.

KESAN KAEDAH PENERINGAN DAN NISBAH PELARUT YANG BERBEZA TERHADAP AKTIVITI PENYINGKIRAN RADIKAL BEBAS (DPPH), AKTIVITI PERENCATAN α -GLUKOSIDASE DAN LIPASE PANKREAS

Jadual 2 menunjukkan nilai IC_{50} aktiviti penyingkiran radikal bebas DPPH, aktiviti perencatan α -glukosidase dan aktiviti perencatan lipase pankreas ekstrak daun *A. muricata* dengan penggunaan pelarut yang berbeza polariti. Nilai IC_{50} bagi aktiviti penyingkiran radikal bebas DPPH ekstrak daun *A. muricata* dengan penggunaan pelarut yang berbeza adalah daripada 35.31 ± 2.74 μ g/mL hingga 1622.10 ± 23.10 μ g/mL. Asid askorbik dalam kajian ini mempunyai nilai IC_{50} sebanyak 11.33 ± 1.04 μ g/mL. Nilai IC_{50} untuk aktiviti penyingkiran radikal bebas bagi sampel yang diekstrak dengan pelarut yang berbeza disusun seperti berikut: n-heksana > 70% metanol > etil asetat.

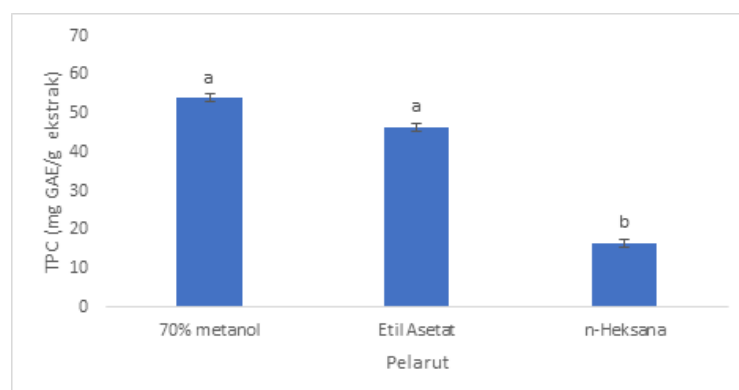
Sampel daun *A. muricata* yang diekstrak dengan pelarut etil asetat menunjukkan nilai IC_{50} yang paling rendah (35.31 ± 2.74 μ g/mL) secara signifikan ($p < 0.05$) diikuti dengan sampel yang diekstrak dengan 70% metanol (345.60 ± 4.40 μ g/mL) dan n-heksana (1622.10 ± 23.10 μ g/mL). Hasil kajian ini disokong oleh kajian Wakeel et al. (2019) yang menunjukkan sampel daun, akar dan bunga *Isatis tinctoria* yang diekstrak dengan etil asetat mempunyai nilai IC_{50} yang lebih rendah berbanding dengan sampel yang diekstrak dengan metanol dan n-heksana. Kajian ini juga menunjukkan sampel dengan nilai IC_{50} yang rendah mempunyai aktiviti antioksidan yang lebih tinggi. Selain itu, ekstrak etil asetat juga adalah tidak berbeza secara signifikan ($p > 0.05$) berbanding asid askorbik. Ini menunjukkan bahawa ekstrak tersebut adalah sangat baik dalam aktiviti penyingkiran radikal bebas setanding dengan kawalan positif yang digunakan.

Jumlah kandungan fenolik yang tinggi dalam sampel dapat menyumbang kepada aktiviti antioksidan yang tinggi (Fathallah et al. 2014; Huyut, Beydemir & Gülçin 2017). Namun begitu, keputusan dalam kajian ini bercanggah dengan kenyataan ini kerana kandungan fenol yang tinggi dalam sampel yang diekstrak dengan 70% metanol tidak menyumbang kepada aktiviti antioksidan yang tinggi. Hal ini mungkin disebabkan oleh sebahagian besar kandungan

JADUAL 1. Hasil ekstrak bagi daun *A. muricata* dengan penggunaan pelarut yang berbeza polariti

Pelarut	Hasil ekstrak (%)
70% metanol	19.30 ± 3.84 ^a
Etil asetat	9.40 ± 1.51 ^b
n-heksana	8.93 ± 0.90 ^b

a-b Min (n=3) dengan abjad yang berbeza menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p < 0.05$)



^{a-b} Min (n=3) dengan abjad yang berbeza menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p < 0.05$)

RAJAH 1. Jumlah kandungan fenolik ekstrak daun *A. muricata* dengan penggunaan pelarut yang berbeza polariti

sebatian bukan fenolik yang wujud dalam ekstrak campuran metanol dan air seperti karbohidrat, asid amino, nukleotida serta polisakarida. Penambahan air sebagai pelarut juga meningkatkan hidrolisis lalu menyebabkan berlaku pengoksidaan di dalam sampel tersebut (Osorio-Tobon 2020). Hasil keputusan kajian ini menunjukkan bahawa sampel daun yang diekstrak dengan etil asetat mempunyai potensi untuk dijadikan sebagai sumber antioksidan semula jadi kerana sampel ekstrak etil asetat menunjukkan aktiviti antioksidan yang tertinggi dengan nilai IC_{50} yang paling rendah.

Enzim α -glukosidase memainkan peranan dalam penukaran karbohidrat kepada glukosa yang akan diserap oleh usus kecil dan menyebabkan peningkatan paras glukosa dalam darah. Oleh itu, perencatan enzim α -glukosidase dapat mengurangkan kadar penyerapan glukosa di usus kecil dan mengawal paras glukosa darah. Jadual 2 menunjukkan nilai IC_{50} perencatan α -glukosidase ekstrak daun *A. muricata* dengan penggunaan pelarut yang berbeza kepolaran. Nilai IC_{50} bagi sampel daun *A. muricata* yang diekstrak dengan pelarut yang berbeza adalah daripada $32.11 \pm 4.62 \mu\text{g/mL}$ hingga $650.00 \pm 56.80 \mu\text{g/mL}$. Kuersetin dalam kajian ini mempunyai nilai IC_{50} sebanyak $46.06 \pm 1.89 \mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} untuk aktiviti perencatan α -glukosidase bagi sampel yang diekstrak dengan pelarut yang berbeza disusun seperti berikut: n-heksana > 70% metanol > etil asetat.

Sampel daun *A. muricata* yang diekstrak dengan pelarut etil asetat menunjukkan nilai IC_{50} yang paling rendah ($32.11 \pm 4.62 \mu\text{g/mL}$) ($p < 0.05$) diikuti dengan sampel yang diekstrak dengan 70% metanol ($171.40 \pm 27.20 \mu\text{g/mL}$) dan n-heksana ($650.00 \pm 56.80 \mu\text{g/mL}$). Selain itu, ekstrak etil asetat juga adalah tidak berbeza secara signifikan ($p > 0.05$) berbanding kuersetin. Ini menunjukkan bahawa ekstrak tersebut adalah sangat baik dalam merencat aktiviti enzim α -glukosidase setanding dengan kawalan positif (kuersetin) yang digunakan. Hasil keputusan kajian ini menunjukkan pelarut etil asetat adalah pelarut yang paling sesuai untuk menghasilkan aktiviti anti-hiperglisemik yang baik berbanding 70% metanol dan n-heksana. Oleh itu, ekstrak daun *A. muricata* dengan pelarut etil asetat mempunyai potensi untuk digunakan sebagai perencat enzim α -glukosidase semula jadi dan dapat mengawal paras gula dalam darah.

Hasil kajian ini disokong oleh kajian Abdel-Hady, Eman dan Morsi (2019) yang menunjukkan penggunaan pelarut etil asetat dapat menghasilkan sampel ekstrak *Commiphora myrrha* dengan nilai IC_{50} yang rendah dan menyumbang kepada aktiviti perencatan α -glukosidase yang baik. Kajian Magaji, Sacan dan Yanardag (2020) juga menunjukkan sampel *Moringa oleifera* yang diekstrak dengan etil asetat mempunyai nilai IC_{50} yang lebih rendah berbanding dengan sampel yang diekstrak dengan n-heksana dan metanol. Berdasarkan kajian Qorina et al.

(2019), sebatian bioaktif seperti flavonoid, steroid, alkaloid dan glikosida telah dikenal pasti dalam sampel daun *A. muricata* yang diekstrak dengan etil asetat. Kehadiran rutin yang berasal daripada flavonoid menunjukkan aktiviti anti-hiperglisemik dengan mengurangkan penyerapan karbohidrat di usus kecil dan komplikasi diabetes (Ghorbani 2017). Hasil kajian ini menunjukkan bahawa penggunaan pelarut dengan kepolaran yang berbeza mempengaruhi aktiviti anti-hiperglisemik ekstrak daun *A. muricata*.

Enzim lipase pankreas memainkan peranan dalam penyerapan lemak dengan memangkinkan hidrolisis trigliserida. Oleh itu, perencatan enzim lipase pankreas dapat mengurangkan keupayaan enzim untuk menguraikan lemak dan mengawal kuantiti lemak yang masuk ke darah. Jadual 2 menunjukkan nilai IC_{50} perencatan lipase pankreas bagi ekstrak daun *A. muricata* dengan menggunakan pelarut yang berbeza kepolaran. Nilai IC_{50} bagi sampel daun *A. muricata* yang diekstrak dengan pelarut yang berbeza adalah daripada $215.92 \pm 13.25 \mu\text{g/mL}$ hingga $816.70 \pm 27.70 \mu\text{g/mL}$. Orlistat dalam kajian ini mempunyai nilai IC_{50} sebanyak $28.16 \pm 4.44 \mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} untuk aktiviti perencatan lipase pankreas bagi sampel yang diekstrak dengan pelarut yang berbeza disusun seperti berikut: 70% metanol > n-heksana > etil asetat.

Sampel daun *A. muricata* yang diekstrak dengan pelarut etil asetat menunjukkan nilai IC_{50} yang paling rendah ($215.92 \pm 13.25 \mu\text{g/mL}$) ($p < 0.05$) diikuti dengan sampel yang diekstrak dengan n-heksana ($284.42 \pm 13.92 \mu\text{g/mL}$) dan 70% metanol ($816.70 \pm 27.70 \mu\text{g/mL}$). Keputusan ini menunjukkan bahawa etil asetat adalah pelarut yang paling sesuai untuk menghasilkan aktiviti anti-lipase yang baik berbanding dengan 70% metanol dan n-heksana. Oleh itu, ekstrak daun *A. muricata* dengan pelarut etil asetat mempunyai potensi untuk digunakan sebagai perencat enzim lipase pankreas semula jadi dan dapat mengawal kuantiti lemak yang masuk ke dalam badan dengan mengurangkan penyerapan lemak daripada makanan.

Hasil kajian ini dapat disokong oleh kajian Justino et al. (2018) yang telah menunjukkan sampel yang diekstrak dengan etil asetat mempunyai nilai IC_{50} yang paling rendah berbanding dengan butanol dan air. Kajian Abdel-Hady, Eman dan Morsi (2019) juga menunjukkan sampel yang diekstrak dengan etil asetat mempunyai aktiviti perencatan lipase pankreas yang baik berbanding dengan sampel yang diekstrak dengan metanol. Kajian ini juga melaporkan bahawa kehadiran sebatian polifenol berkemungkinan bertanggungjawab terhadap aktiviti anti-lipase. Berdasarkan kajian Ugochi, Oluwasanmi dan Adesayo (2019), sebatian bioaktif seperti saponin, steroid, alkaloid, glikosida dan terpenoid telah dikenal pasti dalam sampel daun *A. muricata* yang diekstrak dengan etil asetat. Kehadiran kuersetin dan kaemferol yang berasal daripada flavonoid telah menunjukkan kesan anti-obesiti dengan menghalang pengaktifan protein kinase B (AKT) (Boadi & Lo 2018) dan merencatkan aktiviti enzim lipase pankreas.

Hasil kajian ini menunjukkan bahawa penggunaan pelarut dengan polariti yang berbeza mempengaruhi aktiviti anti-lipase ekstrak daun *A. muricata*.

KORELASI ANTARA JUMLAH KANDUNGAN FENOLIK DENGAN AKTIVITI ANTIOKSIDAN, ANTI-HIPERGLISEMIK SERTA ANTI-LIPASE DALAM PENGGUNAAN PELARUT YANG BERBEZA POLARITI

Jadual 3 menunjukkan korelasi antara TPC dengan DPPH, perencatan α -glukosidase dan lipase pankreas bagi setiap pelarut yang digunakan dalam kajian ini. Bagi pelarut 70% metanol, korelasi negatif yang signifikan telah ditunjukkan antara TPC dengan DPPH ($r = -0.959$, $p < 0.001$) dan perencatan α -glukosidase ($r = -0.923$, $p < 0.01$) manakala korelasi positif yang signifikan telah ditunjukkan antara TPC dengan perencatan lipase pankreas ($r = 0.850$, $p < 0.05$). Bagi pelarut etil asetat, korelasi negatif yang signifikan juga ditunjukkan antara TPC dengan DPPH ($r = -0.986$, $p < 0.001$) dan perencatan α -glukosidase ($r = -0.981$, $p < 0.001$) manakala korelasi positif yang signifikan telah ditunjukkan antara TPC dengan perencatan lipase pankreas ($r = 0.869$, $p < 0.01$). Bagi pelarut n-heksana, korelasi negatif yang signifikan telah ditunjukkan antara TPC dengan DPPH ($r = -0.926$, $p < 0.01$) dan perencatan α -glukosidase ($r = -0.893$, $p < 0.05$) manakala korelasi positif yang signifikan telah ditunjukkan antara TPC dengan perencatan lipase pankreas ($r = 0.768$, $p < 0.05$). Korelasi negatif yang wujud antara TPC dengan DPPH dan perencatan α -glukosidase adalah disebabkan oleh nilai IC_{50} yang diguna dalam kajian. Nilai IC_{50} yang rendah menyumbang kepada aktiviti penyingkiran radikal bebas yang baik. Keputusan ini menunjukkan kandungan fenolik yang tinggi menyumbangkan aktiviti antioksidan dan anti-hiperglisemik ekstrak daun *A. muricata*.

SEBATIAN BIOAKTIF EKSTRAK DAUN *A. muricata*

Kandungan sebatian bioaktif ekstrak daun *A. muricata* telah ditentukan dengan menggunakan kromatografi cecair - spektrometer jisim (LC-MS). Jadual 4 menunjukkan kandungan sebatian bioaktif daun *A. muricata* yang diekstrak dengan pelarut etil asetat daripada analisis LC-MS. Sebanyak 13 sebatian bioaktif dalam ekstrak daun *A. muricata* telah dikenal pasti melalui kaedah LC-MS dengan mod pengionan positif dan negatif. Keputusan ini menunjukkan corak fragmentasi lebih cenderung untuk dihasilkan dengan mod pengionan negatif.

Sebatian kuersetin-3-O-glikosida, kuersetin dan kaemferol adalah sebatian bioaktif yang berasal daripada kelas flavonoid telah dikenal pasti dalam ekstrak daun *A. muricata*. Flavonoid adalah sebatian polifenol yang mempunyai dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga atom karbon sehingga membentuk cincin heterosiklik yang mengandungi atom oksigen (Wang et al. 2018). Kajian Oliveira et al. (2017) dan Yang et al. (2015) telah

mengenal pasti sebatian polifenol seperti kuersetin-3-O-glikosida, kuersetin, rutin dan kaemferol dalam daun *A. muricata*. Aktiviti penyingkiran radikal bebas yang baik dan keupayaan bertindak sebagai penderma elektron telah mendorong sebatian tersebut berfungsi sebagai antioksidan yang baik (Justino et al. 2018). Bukan itu sahaja, kajian Li et al. (2009) dan McDougall dan Stewart (2005) menunjukkan sebatian fenol seperti rutin dan kuersetin dapat dijadikan sebagai perencat α -glukosidase kerana keupayaannya untuk membentuk ikatan dengan protein. Oleh itu, sebatian yang dikenal pasti pada ekstrak daun *A. muricata* ini menyumbang kepada aktiviti antioksidan dan aktiviti perencatan α -glukosidase yang dapat mengawal paras glukosa dalam darah.

Sebatian asid 3-O-Caffeoylquinic dan asid galik adalah sebatian bioaktif yang berasal daripada kelas asid fenol. Asid fenol adalah sebatian fenol utama dalam tumbuh-tumbuhan yang mengandungi cincin fenol dan kumpulan berfungsi karboksil (Kumar & Goel 2019). Hasil keputusan ini dapat disokong oleh kajian Carmona et al. (2020) dan Du et al. (2021) yang menunjukkan kehadiran sebatian asid 3-O-Caffeoylquinic dan asid

galik dalam ekstrak *A. muricata*. Berdasarkan kajian Oboh et al. (2015), asid 3-O-Caffeoylquinic atau dikenali sebagai asid klorogenik dapat menyekat hiperglisemia paskaprandial dengan merencat enzim α -glukosidase. Pengambilan makanan yang kaya dengan asid klorogenik dapat meningkatkan keupayaan untuk merencat enzim α -glukosidase. Berdasarkan kajian Biba et al. (2014), asid galik telah dilaporkan sebagai sebatian fenol yang bertanggungjawab terhadap kapasiti antioksidan dalam *A. muricata*.

Sebatian *anomuricine* dan *anomurine* yang berasal daripada kelas alkaloid telah dikenal pasti. Hasil keputusan kajian ini disokong oleh kajian Sulaiman et al. (2012) yang menunjukkan kehadiran *anomuricine* dan *anomurine* dalam daun *A. muricata*. Alkaloid adalah sebatian kimia semula jadi yang mengandungi atom nitrogen dan sering digunakan untuk merawat pelbagai penyakit dalam manusia dan haiwan (Hellal et al. 2021). Alkaloid daripada tumbuh-tumbuhan memiliki pelbagai aktiviti biologi yang bermanfaat kepada manusia seperti antikanser, antiradang, antidiabetik dan aktiviti antioksidan (Tran, Pham & Le 2020).

JADUAL 2. Nilai IC_{50} aktiviti penyingkiran radikal bebas DPPH, aktiviti perencatan α -glukosidase dan aktiviti perencatan lipase pankreas ekstrak daun *A. muricata* dengan penggunaan pelarut yang berbeza polariti

Pelarut	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)		
	DPPH	α -glukosidase	Lipase pankreas
70% metanol	345.60 \pm 4.40 ^b	171.40 \pm 27.20 ^b	816.70 \pm 27.70 ^a
Etil asetat	35.31 \pm 2.74 ^c	32.11 \pm 4.62 ^c	215.92 \pm 13.25 ^c
n-heksana	1622.10 \pm 23.10 ^a	650.00 \pm 56.80 ^a	284.42 \pm 13.92 ^b
Asid askorbik	11.33 \pm 1.04 ^c	TD	TD
Kuersetin	TD	46.06 \pm 1.89 ^c	TD
Orlistat	TD	TD	28.16 \pm 4.44 ^d

Nilai menunjukkan min \pm sisihan piawaian. Min (n=3) dengan abjad yang berbeza menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p < 0.05$) dengan menggunakan minitab versi 17.0. ^{a-d}: menunjukkan perbandingan antara pelarut yang berbeza. TD = Tidak dikesan

JADUAL 3. Korelasi antara jumlah kandungan fenolik dengan aktiviti antioksidan, anti-hiperglisemik dan anti-lipase dalam pelarut yang berbeza polariti

Pelarut	TPC		
	DPPH	α -glukosidase	Lipase pankreas
70% metanol	-0.959***	-0.923**	0.850*
Etil asetat	-0.986***	-0.981***	0.869**
n-heksana	-0.926**	-0.893*	0.768*

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

JADUAL 4. Sebatian bioaktif daun *A. muricata* yang diekstrak dengan pelarut etil asetat daripada analisis kromatografi cecair – spektrometer jisim (LC-MS)

Nama	Struktur kimia	Nilai masa penahanan, RT (min)	Ion negatif	Ion positif	Berat Molekul	Fragmentasi	Rujukan
Isocorydine	$C_{20}H_{23}NO_4$	5.02	340.1624	342.1624	341.1624	342.1697	Dantas et al. (2020)
Reticuline	$C_{17}H_{23}NO_4$	4.94	328.16	330.16	329.16	148.08 115.05 143.05	Moghadamtousi et al. (2015)
Asid 3-O-Caffeoylquinic	$C_{16}H_{18}O_9$	1.96	353.10	355.10	354.10	180.80 209.00 217.10 259.20	Du et al. (2021)
Asid galik	$C_7H_6O_5$	0.78	169.02	171.02	170.02	125.02 127.04	Carmona et al. (2020)
Muricatacin	$C_{17}H_{32}O_3$	0.50	283.24	285.24	284.24	109.10 143.07	Moghadamtousi et al. (2015)
Anomuricine	$C_{19}H_{23}NO_{14}$	4.90	328.16	330.16	329.16	298.14 109.07	Moghadamtousi et al. (2015)
Anomurine	$C_{20}H_{25}NO_4$	5.90	342.17	344.17	343.17	107.05 222.11 270.11	Wahab et al. (2018)
Katekin	$C_{15}H_{14}O_6$	0.43	289.08	291.08	290.08	161.05 187.03	de Moraes et al. (2020)
Rutin	$C_{27}H_{30}O_{16}$	8.45	609.15	611.15	610.15	211.04 303.05 465.11	Yang et al. (2015)
Kuersetin	$C_{15}H_{10}O_7$	4.17	301.04	303.04	302.04	179.00 271.02	Justino et al. (2018)
Kuersetin-3-O-glikosida	$C_{21}H_{20}O_{12}$	8.51	463.10	465.10	464.10	303.05 359.70	Moghadamtousi et al. (2015)
Kaemferol	$C_{15}H_{10}O_6$	4.43	285.05	287.05	286.05	154.04 157.04 161.02	Novaes et al. (2018)
Epikatekin	$C_{15}H_{14}O_6$	0.50	289.08	291.08	290.08	109.03 202.06	Nawwar et al. (2012)

KESIMPULAN

Kajian ini menunjukkan bahawa pelarut yang berbeza kepolaran memainkan peranan penting terhadap kandungan fenol, aktiviti antioksidan, anti-hiperglisemik dan anti-obesiti pada ekstrak daun, terutamanya daripada ekstrak etil asetat. Korelasi Pearson menunjukkan kandungan fenolik bertanggungjawab terhadap aktiviti antioksidan dan anti-hiperglisemik ekstrak daun *A. muricata*. Sebatian bioaktif yang berasal daripada kelas flavonoid, asid fenol dan alkaloid seperti kaempferol, kuersetin, kuersetin-3-O-glikosida, *anomurine* telah dikenal pasti dalam ekstrak daun *A. muricata*.

PENGHARGAAN

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

RUJUKAN

- Abdel-Hady, H., Eman, A.E. & Morsi, E.A. 2019. Characterization of ethyl acetate and methanol extracts of *Commiphora myrrha* and evaluating *in vitro* anti-diabetic and anti-obesiti activities. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 9(9): 38-44.
- Abdul Wahab, S.M., Jantan, I., Haque, M.A. & Arshad, L. 2018. Exploring the leaves of *Annona muricata* L. as a source of potential anti-inflammatory and anticancer agents. *Frontiers in pharmacology* 9: 661.
- Adewole, S.O. & Caxton-Martins, E.A. 2006. Morphological changes and hypoglycemic effects of *Annona muricata* Linn. (Annonaceae) leaf aqueous extract on pancreatic B-cells of streptozotocin-treated diabetic rats. *African Journal of Biomedical Research* 9: 173-187.
- Ain Ibrahim, N.N., Kamal, N., Mediani, A., Sajak, A.A.B., Lee, S.Y., Shaari, K. & Rahman, H.A. 2023. ¹H NMR-based metabolomics approach revealing metabolite variation of black turmeric (*Curcuma caesia*) extracts and correlation with its antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities. *Food Technology and Biotechnology* 61(1): 104-117.
- Arroyo, J., Jaime, M., Ronceros Gerardo, R.P. & Aníbal, V. 2009. Hypoglycemic effect adjuvant extract ethanolic leaf *Annona muricata* (guanábana), in patients with diabetes type 2 in treatment of glibenclamide. *Anales de la Facultad de Medicina* 70: 163-167.
- Arshad, Z., Sofian-Seng, N.S., Afzan, A., Misnan, N.M., Alias, N., Kamal, N., Mediani, A. & Rahman, H.A. 2024. Anti-obesity potential of *Polygonum minus* Huds.: *in vitro* and *in vivo* evaluation. *International Journal of Food Science & Technology* <https://doi.org/10.1111/ijfs.17090>
- Asare, G.A., Afriyie, D., Ngala, R.A., Abutiye, H., Doku, D., Mahmood, S.A. & Rahman, H. 2014. Antiproliferative activity of aqueous leaf extract of *Annona muricata* L. on the prostate, BPH-1 cells, and some target genes. *Integrative Cancer Therapies* 14(1): 65-74.
- Biba, V.S., Amily, A., Sangeetha, S. & Remani, P. 2014. Anticancer, antioxidant and antimicrobial activity of Annonaceae family. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 3(3): 1595-1604.
- Boadi, W.Y. & Lo, A. 2018. Effects of quercetin, kaempferol and exogenous glutathione on phospho- and total-AKT in 3T3-L1 preadipocytes. *Journal of Diet Supplementary* 159(6): 814-826.
- Carmona, A.P., Silva-Beltran, N.P., Galvez-Ruiz, J., Ruiz-Cruz, S., Chaidez-Quiroz, C. & Moran-Palacio, E.F. 2020. Antiviral, antioxidant, and antihermolytic effect of *Annona muricata* L. leaves extracts. *Plants (Basel)* 9(12): 1650.
- Cho, W.Y., Kim, D.H., Lee, H.J., Yeon, S.J. & Lee, C.H. 2020. Evaluation of effect of extraction solvent on selected properties of olive leaf extract. *Journal of Food Quality* 2020: 3013649.
- Dantas, E.P., Monteiro, J., Medeiros, L.S.D., Romanelli, M.M., Amaral, M., Tempone, A.G., Lago, J.H.G., Soares, M.G. & Sartorelli, P. 2020. Dereplication of aporphine alkaloids by UHPLC-HR-ESI-MS/MS and NMR from *Duguetia lanceolata* St.-Hil (Annonaceae) and antiparasitic activity evaluation. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 31(9): 1908-1916.
- de Moraes, M.R., Godoy, H.T., Ryan, S.M. & Thomas, A.L. 2020. Phenolics compounds and metals in some edible annonaceae fruits. *Biological Trace Element Research* 197: 676-682.
- Du, J., Zhong, B., Subbiah, V., Barrow, C.J., Dunshea, F.R. & Suleria, H.A.R. 2021. LC-ESI-QTOF-MS/MS profiling and antioxidant activity of phenolics from custard apple fruit and by-products. *Separations* 8(5): 62.
- Fathallah, A.A., Hanem, M.A., El-Kousy, S.M., Khaled, N.R. & Al-Sayed, N.H. 2014. Phytochemical and biological investigations of *Terminalia bellerica* Roxb. leaves. *Journal of Pharmacy Research* 8(4): 500-510.
- Ghorbani, A. 2017. Mechanisms of antidiabetic effects of flavonoid rutin. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 96: 305-312.
- Gonfa, T., Teketle, S. & Kiros, T. 2020. Effect of extraction solvent on qualitative and quantitative analysis of major phyto-constituents and *in-vitro* antioxidant activity evaluation of *Cadaba rotundifolia* Forssk leaf extracts. *Cogent Food & Agriculture* 6(1): 1853867.
- Hassali, H.A., Gomathi, C., Bahrin, W.H.W., Adam, Z., Arapoc, D.J., Razali, R., Aziz, A.H. & Awang, K. 2022. Phytochemical evaluation and cytotoxic activities of stem bark and leaf extracts of *Mesua assamica*. *Sains Malaysiana* 51(10): 3237-3250.
- Hellal, K., Ahmed, M., Ismail, I.S., Tan, C.P. & Faridah, A. 2021. ¹H-NMR-based metabolomics and UHPLC-ESI-MS/MS for the investigation of bioactive compounds from *Lupinus albus* fractions. *Food Research International* 140: 110046.

- Huyut, Z., Beydemir, S. & Gülçin, İ. 2017. Antioxidant and antiradical properties of selected flavonoids and phenolic compounds. *Biochemistry Research International* 2017: 7616791.
- Justino, A.B., Miranda, N.C., Franco, R.R., Martins, M.M., da Silva, N.M. & Espindola, F.S. 2018. *Annona muricata* Linn. leaf as a source of antioxidant compounds with *in vitro* antidiabetic and inhibitory potential against α -amylase, α -glucosidase, lipase, non-enzymatic glycation and lipid peroxidation. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 100: 83-92.
- Kasim, N., Afzan, A., Mediani, A., Low, K.H., Ali, A.M., Mat, N., Wolfender, J.L. & Ismail, N.H. 2022. Correlation of chemical profiles obtained from ¹H-NMR and LC-MS metabolomics with α -glucosidase inhibition activity for varietal selections of *Ficus deltoidea*. *Phytochemical Analysis* 33(8): 1235-1245.
- Khong, H.Y., Mujibuddin, B.M. & Boonpisuttinant, K. 2019. Chemical analysis and biological activities of *Annona muricata* leaves extract from Sarawak. *Journal of Engineering and Applied Sciences* 14(3): 6042-6051.
- Kim, I., Yang, M., Lee, O. & Kang, S. 2011. Antioxidant activities of hot water extracts from various spices. *International Journal of Molecular Science* 12(6): 4120-4131.
- Kumar, N. & Goel, N. 2019. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports (Amst)* 24: 370.
- Li, L.C., Rahman, H.A., Arshad, Z., Noorhadi, N.H., Razali, N.S.M., Lim, S.J. & Sofian-seng, N.S. 2022. Kesan kaedah pengeringan dan pelarut yang berbeza terhadap kandungan fenol, aktiviti antioksidan dan antihiperlipisemik ekstrak rizom halia hutan (*Alpinia mutica* Roxb.). *Sains Malaysiana* 51(4): 1045-1059.
- Li, Q.Y., Zhou, F.C., Gao, F., Bian, J.S. & Shan, F. 2009. Comparative evaluation of quercetin, isoquercetin and rutin as inhibitors of alpha-glucosidase. *Food Chemistry* 57(24): 11463-11468.
- Ling, J.W.A., Chang, L.S., Mohd Khalid, R., Wan Mustapha, W.A., Sofian Seng, N.S., Mohd Razali, N.S., Rahman, H.A. Mohd Zaini, N.A. & Lim, S.J. 2020. Sequential extraction of red button ginger (*Costus woodsonii*): Phytochemical screening and antioxidative activities. *Journal of Food Processing and Preservation* 44(10): 1-11.
- Magaji, U.F., Sacan, O. & Yanardag, R. 2020. Alpha amylase, alpha glucosidase and glycation inhibitory activity of *Moringa oleifera* extracts. *South African Journal of Botany* 128: 225-230.
- McDougall, G.J. & Stewart, D. 2005. The inhibitory effects of berry polyphenols on digestive enzymes. *Biofactors* 23(4): 189-195.
- Moghadamtousi, S.Z., Dadaeinasab, M., Nikzad, S., Mohan, G., Mohd Ali, H. & Abdul Kadir, H. 2015. *Annona muricata* (Annonaceae): A review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities. *International Journal of Molecular Sciences* 16(7): 15625-15658.
- Mokhtar, N., Chang, L.S., Soon, Y., Mustapha, W.A.W., Sofian-Seng, N.S., Rahman, H.A., Razali, N.S.M., Shuib, S., Hamid, A.A. & Lim, S.J. 2021. Harvesting *Aurantiochytrium* sp. SW1 using organic flocculants and characteristics of the extracted oil. *Algal Research* 54: 102211.
- Nawwar, M., Ayoub, N., Hussein, S., Hashim, A., El-sharawy, R., Wende, K., Harms, M. & Lindequist, U. 2012. Flavonol triglycoside and investigation of the antioxidant and cell stimulating activities of *Annona muricata* Linn. *Archives of pharmacological research* 35: 761-767.
- Ngo, T.V., Scarlett, C.J., Bowyer, M.C., Ngo, P.D. & Vuong, Q.V. 2017. Impact on different extraction solvents on bioactive compounds and antioxidant capacity from the root of *Salacia chinensis* L. *Journal of Food Quality* <https://doi.org/10.1155/2017/9305047>
- Novaes, P., Ferreira, M.J.P. & Santos, D.Y.A. 2018. Flavonols from *Annona coriacea* Mart. (Annonaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* 78: 77-80
- Oboh, G., Agunloye, O.M., Adefegha, S.A., Akinyemi, A.J. & Ademiluyi, A.O. 2015. Caffeic and chlorogenic acid inhibit key enzymes linked to type 2 diabetes (*in vitro*): A comparative study. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* 26(2): 165-170.
- Oliveira, A.P., Sa, I., Pereira, D.M., Goncalves, R.F., Andrale, P.B. & Valentao, P. 2017. Exploratory studies on the *in vitro* anti-inflammatory potential of two herbal teas (*Annona muricata* L. and *Jasminum grandiflorum* L.) and relation with their phenolic composition. *Chem. Biodivers* 14(6). doi: 10.1002/cbdv.201700002
- Osorio-Tobon, J.F. 2020. Recent advances and comparisons of conventional and alternative extraction techniques of phenolic compounds. *Journal of Food Science Technology* 57: 4299-4315.
- Padmanabhan, P. & Paliyath, G. 2016. Annonaceous fruits. *Encyclopedia of Food and Health*. pp. 169-173.
- Qorina, F., Arsianti, A., Fithrotunnisa, Q. & Tejaputri, N.A. 2019. Phytochemistry and antioxidant activity of soursop (*Annona muricata*) leaves. *International Journal of Applied Pharmaceutics* 11(6): 1-6.
- Rahman, H.A., Saari, N., Abas, F., Ismail, A., Mumtaz, M.W. & Abdul Hamid, A. 2017. Anti-obesity and antioxidant activities of selected medicinal plants and phytochemical profiling of bioactive compounds. *International Journal of Food Properties* 20(11): 2616-2629.
- Sousa, O.V., Vieira, G.D., Yamamoto, C.H. & Alves, M.S. 2010. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the ethanol extract of *Annona muricata* L. leaves in animal models. *International Journal of Molecular Sciences* 11(5): 2067-2078.
- Sulaiman, H., Roslida, A.H., Fezah, O., Tan, K.L., Tor, Y.S. & Tan, C.I. 2012. Chemopreventive potential of *Annona muricata* L. leaves on chemically-induced skin papillomagenesis in mice. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 13(6): 2533-2539.

- Tran, N., Pham, B. & Le, L. 2020. Bioactive compounds in anti-diabetic plants: From herbal medicine to modern drug discovery. *Biology* 9: 252.
- Truong, D., Nguyen, D.H., Anh, N.T., 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* <https://doi.org/10.1155/2019/8178294>
- Uchegbu, R.I., Ukpai, K.U., Iwu, I.C. & Akalazu, J.N. 2017. Evaluation of the antimicrobial activity and chemical composition of the leaf extract of *Annona muricata* Linn (Soursop) grown in Eastern Nigeria. *Archives of Current Research International* 7(1): 1-7.
- Ugochi, N.I., Oluwasanmi, L.I. & Adesayo, A.S. 2019. Qualitative and quantitative phytochemical evaluation and mineral contents of the leaf of *Annona muricata*. *Journal of Medical Pharmaceutical and Allied Sciences* 8(1): 2045-2051.
- Usunomena, U. & Paulinus, O.N. 2015. Phytochemical analysis and mineral composition of *Annona muricata* leaves. *International Journal of Research and Current Development* 1(1): 38-42.
- Wakeel, A., Sohail, S.J., Ullah, I., Shinwari, Z.K. & Xu, M. 2019. Solvent polarity mediates phytochemical yield and antioxidant capacity of *Isatis tinctoria*. *PeerJ* 7: 7857.
- Wang, L., Xing, C., Xu, L. & Liu, G. 2018. Solubility of 2-chloro-3-(trifluoromethyl) pyridine and correlation with the polarity in organic solvents at 273-303K. *Russian Journal of Physical Chemistry* 92: 2204-2209.
- Wan Nasir, W.N.H., Ibrahim, N.N.A., Hao, W.K., Sofian-seng, N.S., Mustapha, W.A.W., Rahman, H.A. & Sajak, A.A.B. 2021. Effects of different drying methods and solvents on biological activities of *Curcuma aeruginosa* leaves extract. *Sains Malaysiana* 50(8): 2207-2218.
- Yajid, A.I., Ab Rahman, H.S., Wong, M.P.K. & Wan Zain, W.Z. 2018. Potential benefits of *Annona muricata* in combating cancer: A review. *Malaysian Journal of Medical Science* 25(1): 5-15.
- Yang, C.H., Gundala, S.R., Mukkavilli, R., Vangala, S., Reid, M.D. & Aneja, R. 2015. Synergistic interactions among flavonoids and acetogenins in *Graviola (Annona muricata)* leaves confer protection against prostate cancer. *Carcinogenesis* 36(6): 656-665.
- Ye, F., Liang, Q., Li, H. & Zhao, G. 2015. Solvent effects on phenolic content, composition, and antioxidant activity of extracts from florets of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Industrial Crops and Products* 76: 574-581.
- Zhang, Q.W., Lin, L.G. & Ye, W.C. 2018. Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine* 13(1): 1-26.

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