

## Kesan Pengekstrakan Terhadap Kandungan Polifenol, Aktiviti Antipengoksida dan pH Ekstrak Pegaga (*Centella asiatica*)

(Effect of Extraction on Polyphenol Content, Antioxidant Activity and pH in Pegaga (*Centella asiatica*) Extract)

ONG HOOI YUNG, MOHAMAD YUSOF MASKAT\*  
& WAN AIDA WAN MUSTAPHA

### ABSTRAK

*Kajian ini telah dijalankan untuk menentukan kesan suhu (50, 70 dan 90°C) dan masa didihan (15, 30 dan 90 minit) semasa pengekstrakan pegaga serta membandingkan kesan pengekstrakan dengan kaedah haba dan tanpa haba. Parameter yang diukur adalah kandungan polifenol jumlah, aktiviti antipengoksida dan pH. Hasil menunjukkan bahawa dengan peningkatan suhu dan masa pendidihan, kandungan jumlah polifenol dan aktiviti antipengoksida meningkat secara ketara melainkan pada suhu pengekstrakan 90°C untuk aktiviti antipengoksida. Kandungan jumlah polifenol dan aktiviti antipengoksida dalam sampel pegaga yang terhasil tanpa haba adalah lebih rendah berbanding sampel yang terhasil dengan melibatkan haba. pH ekstrak pegaga meningkat dengan peningkatan suhu pengekstrakan. Sebaliknya, pH ekstrak pegaga semakin menurun dengan peningkatan masa pengekstrakan.*

*Kata kunci: Masa didihan; pegaga; pengekstrakan; kesan suhu; tanpa haba*

### ABSTRACT

*This study was carried out to determine the effect of temperature (50, 70 and 90°C) and heating time (15, 30 and 90 minutes) during the extraction of pegaga and also to compare the effect of extraction using heat and non-heat methods. Parameters measured were total polyphenol content, antioxidant activity and pH. Results showed that with an increase in boiling temperature and time, total polyphenol content and antioxidant activity increased significantly except for extraction temperature of 90°C for antioxidant activity. The total polyphenol content and antioxidant activity from samples prepared without heat treatment were significantly lower than extracts prepared using heat treatment. The pH of pegaga extract increased with increase in extraction temperature. However, pH of pegaga extract decreased with the increase in extraction time.*

*Keywords: Effect of temperature; extraction; heating time; non-heat; pegaga*

### PENGENALAN

Pegaga atau nama saintifiknya *Centella asiatica* merupakan sejenis tumbuhan herba yang mempunyai daun hijau berbentuk seperti buah pinggang, tangkai yang lembut dan licin serta buah yang bergugus. Pegaga tumbuh liar secara menjalar di tepi sungai, tanah berpasir dan di kawasan lapang yang redup dan lembab. Pegaga boleh dijumpai di negara seperti Sri Lanka, Madagascar, Afrika Selatan, China dan Malaysia (Abdul Hamid et al. 2002).

Laporan daripada sumber yang berbeza telah menyatakan bahawa pegaga digunakan untuk penyembuhan luka, penguatan ingatan, perawatan keletihan mental (Goh et al. 1995), bronkitis, asthma, disenteri, masalah ginjal dan *urethritis* (Jaganath & Ng 2002), sebagai antialergi dan antikanser, menyembuhkan *leucorrhea* dan demam (Kan 1986). Di samping itu, pegaga juga telah dijadikan bubur untuk dibekalkan kepada kanak-kanak pra-sekolah di Sri Lanka untuk mengatasi masalah kekurangan pemakanan (Cox et al. 1993). Walaupun terdapat banyak permintaan

terhadap tumbuhan herba yang bernilai ini, namun mekanisme terpendam yang melibatkan kesan fisiologi belum ditentukan lagi (Zainol et al. 2003).

Penggunaan sesetengah antipengoksida sintetik dalam makanan agak terhad setelah beberapa kajian menunjukkan sifat karsinogeniknya (Madavi & Salunkhe 1995). Oleh itu, selaras dengan peningkatan kesedaran pengguna terhadap keselamatan bahan tambah dalam makanan, kos pembuatan yang semakin meningkat dan keberkesanan antipengoksida semula jadi, maka adalah perlu untuk mencari sumber alternatif antipengoksida yang semula jadi dan lebih selamat (Wanasundara & Shahidi 1998). Dengan itu, kajian terhadap antipengoksida semula jadi daripada sumber tumbuhan telah meningkat pada tahun kebelakangan ini, contohnya biji-bijirin, kekacang, daun, kulit kayu, akar, rempah, buah-buahan dan sayur-sayuran (Chen et al. 1996).

Polifenol merupakan antipengoksida semula jadi yang terdapat dalam *Centella asiatica*. Polifenol mewakili satu

kumpulan komponen yang hadir dalam banyak produk semula jadi yang memberikan perisa dan warna (Rice-Evans et al. 1997). Polifenol semula jadi terdiri daripada molekul ringkas seperti asid fenolik sehingga komponen besar dan berpolimer seperti tanin. Polifenol semakin mendapat perhatian disebabkan oleh kesan positifnya terhadap penyakit tertentu, terutamanya sesetengah bentuk kanser dan penyakit jantung koronari. Polifenol bertindak sebagai pengikat radikal bebas untuk meneutralkan spesis oksigen reaktif yang berbahaya dan ion pengkelat logam, iaitu sebagai antipengoksida. Polifenol juga dikenali sebagai agen anti-mikrob dan anti-keradangan (Brantner et al. 1996). Walau bagaimanapun, perlakuan haba boleh membawa kesan negatif terhadap kandungan antipengoksida dalam buah-buahan dan sayur-sayuran (Jonsson 1991).

Oleh sebab amalan biasa penghasilan ekstrak pegaga adalah melalui kaedah pendidihan, kajian ini telah dijalankan untuk menentukan kesan suhu dan masa pemanasan semasa pengekstrakan terhadap aktiviti antipengoksida, kandungan polifenol jumlah dan pH ekstrak daun pegaga. Selain itu, kesan kaedah pengekstrakan dengan haba dan tanpa haba terhadap aktiviti antipengoksida, kandungan polifenol jumlah dan pH ekstrak daun pegaga juga dianalisis.

## BAHAN DAN KAEDAH

### BAHAN DAN PENYEDIAAN SAMPEL

Sampel pegaga telah dibeli dari pasar Kajang, Selangor, dicuci dan ditoskan pada suhu bilik. Sebanyak 100 g sampel pegaga termasuk daun, batang dan akar dipotong kecil dan digunakan untuk pengekstrakan haba manakala 200 g sampel digunakan untuk pengekstrakan tanpa haba. Perbezaan berat sampel yang digunakan di antara kaedah yang menggunakan haba dan tanpa haba adalah disebabkan perbezaan saiz alatan yang digunakan.

### PENGEKSTRAKAN

Pengekstrakan pegaga menggunakan haba telah dilakukan dengan menggunakan bekas pemanasan berjaket. Pemanasan dihasilkan dengan mengalirkan air yang dipanaskan ke dalam ruangan antara dinding tersebut. Dua faktor pengekstrakan telah dikaji iaitu suhu dan masa pemanasan. Bagi kedua-dua suhu dan masa, 3 tahap telah digunakan iaitu 50, 70 dan 90°C serta 15, 30 dan 45 minit. Sebanyak 100 g sampel pegaga dididihkan di dalam 1 liter air suling dalam bekas pemanas. Proses pengekstrakan dilakukan untuk 9 kombinasi suhu dan masa yang berbeza iaitu 50°C/15 min, 50°C/30 min, 50°C/45 min, 70°C/15 min, 70°C/30 min, 70°C/45 min, 90°C/15 min, 90°C/30 min dan 90°C/45 min secara rawak.

Pengekstrakan tanpa haba dijalankan menggunakan mesin pemerah skru, dengan 200 g sampel dicampurkan dengan 2 liter air suling, lalu dimasukkan ke dalam mesin pemerah skru. Analisis hasil telah dijalankan di dalam 2 langkah. Pada langkah pertama, analisis berkenaan kesan

masa dan suhu pengekstrakan semasa pengekstrakan haba telah dijalankan. Ini diikuti dengan perbandingan antara pengekstrakan haba dan tanpa haba pada langkah kedua. Perbandingan antara pengekstrakan haba dan tanpa haba dilakukan dengan mengambil 2 kombinasi suhu dan masa terbaik untuk mewakili pengekstrakan haba. Hasil ekstrak pegaga disimpan pada suhu 4°C untuk dianalisis.

### KANDUNGAN POLIFENOL JUMLAH

Penentuan kandungan polifenol jumlah dijalankan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu (Singlenton & Rossi 1965) yang melibatkan penyediaan larutan stok piawai epikatekin. Sebanyak 1 mL larutan piawai pada kepekatan yang berbeza ditambahkan dengan 0.5 mL reagen Folin-Ciocalteu dan dibiarkan untuk 3 minit. Selepas itu, 1.0 mL larutan tepu natrium karbonat dimasukkan dan digoncang lalu isipadu dijadikan 10 mL dengan air suling. Campuran dibiarkan dalam keadaan gelap untuk kira-kira 1 jam. Daya serapan campuran diukur pada jarak gelombang 725 nm dengan menggunakan spektrofotometer ultra violet (Model UNICAM; England). Bagi sampel, 1 mL larutan piawai digantikan dengan 1 mL ekstrak sampel. Langkah seterusnya diulangi seperti di atas. Pengiraan kandungan jumlah polifenol adalah seperti berikut:

$$\text{Jumlah polifenol } (\mu\text{g/g}) = R \times D/10,$$

dengan  $R$  ialah bacaan dari lengkung piawai epikatekin;  $D$  ialah faktor pencairan (= 1 kerana pencairan sampel tidak perlu dilakukan)

### UJIAN KUASA PENURUNAN FERIK

Kuasa penurunan ferik sampel jus pegaga yang terhasil ditentukan mengikut kaedah Oyaizu (1986). Kedah ini menentukan peranan bahan antipengoksida sebagai agen penurunan, dengan  $\text{Fe}^{3+}$  diturunkan menjadi  $\text{Fe}^{2+}$ . Sampel (1 mL) dicampurkan dengan 1.0 mL penimbal fosfat (0.2 M, pH 6.6 yang terdiri daripada campuran  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  dan  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) dan 1.0 mL kalium ferik sianida (10 mg/mL). Campuran dieramkan dalam inkubator pada suhu 50°C selama 20 min. Kemudian, 1.0 mL asid trikloroasetik (100 mg/mL) ditambahkan dalam campuran dan keseluruhan campuran diempar pada 3000 rpm selama 10 min.

Seterusnya, 1.0 mL supernatan dicampurkan dengan 1.0 ml air suling dan 0.1 mL ferik klorida,  $\text{FeCl}_3$  (1.0 mg/mL). Pada masa yang sama, pengosong juga disediakan. Daya serapan campuran diukur pada jarak gelombang 700 nm dengan menggunakan spektrotometer (Model UNICAM, England). Penurunan ferik digunakan sebagai penunjuk aktiviti penderma elektron yang merupakan mekanisme penting bagi tindakan antipengoksida fenolik (Yildirim et al. 2001).

### PENGUKURAN pH

pH diukur dengan alat pH meter (WTW pH 422; pH 1-14) yang dikalibrasikan dengan penimbal pH 4 dan

7. Sebanyak 40 mL sampel dimasukkan ke dalam bikar dan dikacau sebelum pengukuran dilakukan pada suhu bilik.

#### ANALISIS STATISTIK

Eksperimen telah dilakukan menggunakan 3 replikasi dan dianalisis dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) melalui program Statistical Analysis System (SAS). Analisis data adalah mengikut Montgomery (1991) iaitu pertamanya adalah menentukan ketekalan interaksi antara suhu dan masa. Jika interaksi adalah signifikan ( $p < 0.05$ ), maka analisis data dilakukan secara kombinasi suhu dan masa. Sebaliknya, jika interaksi antara suhu dan masa adalah tidak signifikan ( $p > 0.05$ ), maka analisis setiap faktor (suhu dan masa) dilakukan berasingan. Ujian *Duncan Multiple Range* (DMRT) digunakan untuk membandingkan perbezaan min di antara perlakuan. Aras signifikan ditetapkan pada  $p < 0.05$ .

#### HASIL DAN PERBINCANGAN

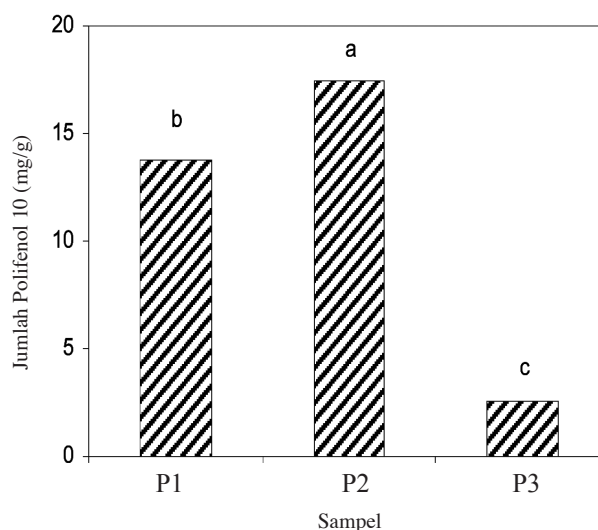
##### KANDUNGAN POLIFENOL JUMLAH

Faktor suhu dan masa pemanasan untuk kandungan polifenol jumlah dalam ekstrak pegaga didapati mempunyai interaksi yang signifikan ( $p < 0.05$ ). Justeru itu, analisis data telah dilakukan secara kombinasi suhu dan masa pemanasan seperti yang ditunjukkan dalam Jadual 1. Keputusan menunjukkan pada setiap aras suhu yang dikaji iaitu 50, 70 dan 90°C, pemanasan selama 45 minit menghasilkan kandungan polifenol jumlah yang lebih tinggi secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding pemanasan selama 15 minit. Pada setiap aras masa yang dikaji pula, peningkatan suhu pemanasan menghasilkan peningkatan kandungan polifenol jumlah yang signifikan ( $p < 0.05$ ). Interaksi antara faktor suhu dan masa yang signifikan ( $p < 0.05$ ) menghasilkan kandungan polifenol jumlah yang tinggi apabila kedua-dua suhu dan masa pemanasan ditingkatkan.

Perbandingan di antara dua kombinasi suhu dan masa pengekstrakan (90°C untuk 30 min dan 90°C untuk 45 min) dengan pengekstrakan tanpa haba telah dijalankan. Dua kombinasi ini dipilih kerana mempunyai purata kandungan polifenol jumlah yang tinggi di antara sampel yang diekstrak dengan pengekstrakan haba. Rajah 1 menunjukkan

perbandingan antara purata kandungan jumlah polifenol bagi sampel yang dipanaskan pada 90°C/30 min, 90°C/45 min dan sampel yang disediakan dengan penggunaan mesin pemerah skru. Didapati bahawa terdapat perbezaan yang signifikan ( $p < 0.05$ ) di antara ketiga-tiga sampel ini. Sampel P1 (90°C/30 min) dan P2 (90°C/45 min) mempunyai min kandungan polifenol jumlah yang lebih tinggi secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding sampel P3 yang disediakan dengan pemerah skru.

Menurut Velioglu et al. (1998), penyumbang utama kepada aktiviti antipengoksida dalam makanan tumbuhan adalah sebatian polifenol dalam makanan. Secara keseluruhan, kandungan polifenol jumlah ekstrak pegaga bertambah dengan peningkatan suhu dan masa pemanasan. Dengan ini, boleh dikatakan bahawa perlakuan haba mungkin menghasilkan peningkatan keupayaan pengekstrakan polifenol jumlah akibat pemusnahan dinding sel tumbuhan. Maka, sebatian polifenol dilepaskan dengan mudah (Peleg et al. 1991). Perlakuan haba juga telah dilaporkan boleh menukarkan sebatian fenolik tak larut kepada sebatian fenolik larut, tetapi tidak dapat memisahkan sebatian fenolik yang diikat secara kovalen



RAJAH 1. Kandungan polifenol jumlah dalam pegaga yang diekstrak dengan haba pada suhu 90°C selama 30 min (P1), 90°C selama 45 min (P2) dan pengekstrakan tanpa haba (P3)

\* : Abjad yang berlainan pada histogram menunjukkan terdapat perbezaan yang signifikan ( $p < 0.05$ )

JADUAL 1. Kandungan polifenol jumlah (mg/g) dalam ekstrak pegaga yang dipanaskan pada suhu 50°C, 70°C, 90°C untuk masa 15, 30 dan 45 min

Suhu (°C)	Masa (min)		
	15	30	45
50	0.49 ± 0.19 <sup>f</sup>	1.10 ± 0.16 <sup>f</sup>	4.20 ± 0.09 <sup>e</sup>
70	4.47 ± 0.90 <sup>e</sup>	5.86 ± 0.94 <sup>d</sup>	6.68 ± 0.61 <sup>d</sup>
90	9.61 ± 1.23 <sup>c</sup>	13.75 ± 2.01 <sup>b</sup>	17.41 ± 0.59 <sup>a</sup>

<sup>a-f</sup> Abjad yang berlainan pada mana-mana baris atau lajur menunjukkan terdapat perbezaan yang signifikan. ( $p < 0.05$ )

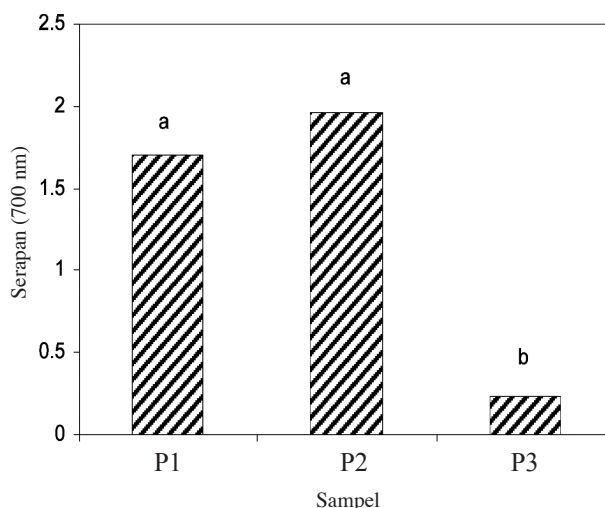
(Lee et al. 2003). Justeru itu, keputusan mencadangkan pengekstrakan menggunakan haba adalah lebih baik berbanding pengekstrakan tanpa haba di dalam lingkungan julat faktor yang dijalankan.

#### KUASA PENURUNAN FERIK

Aktiviti antipengoksida bagi sampel yang diperlakukan dengan haba pada suhu dan masa berlainan telah ditentukan dengan ujian kuasa penurunan ferik seperti dalam Jadual 2. Analisis statistik menunjukkan terdapat interaksi yang signifikan ( $p < 0.05$ ) antara kesan suhu dan masa yang dikaji terhadap kuasa penurunan ferik bagi ekstrak pegaga. Pada setiap aras suhu yang dikaji, peningkatan tempoh masa pemanasan dari 15 kepada 45 min telah menghasilkan peningkatan kuasa penurunan ferik secara signifikan ( $p < 0.05$ ) melainkan pada suhu pemanasan  $90^{\circ}\text{C}$ . Selain itu, pada setiap aras masa yang dikaji, peningkatan suhu pemanasan turut meningkatkan kuasa penurunan ferik ekstrak pegaga secara signifikan ( $p < 0.05$ ).

Rajah 2 menunjukkan kuasa penurunan ferik dalam sampel P1 ( $90^{\circ}\text{C}/30$  min) dan P2 ( $90^{\circ}\text{C}/45$  min) yang disediakan secara pendidihan dan sampel P3 yang disediakan dengan penggunaan mesin pemerah skru. Didapati bahawa terdapat perbezaan yang signifikan ( $p < 0.05$ ) di antara sampel P1 dan P2 dengan sampel P3. Sampel P1 dan P2 mempunyai kuasa penurunan ferik yang jauh lebih tinggi (1.70 dan 1.96) daripada sampel P3 (0.23).

Daya serapan yang tinggi menunjukkan kuasa penurunan yang tinggi dan aktiviti antipengoksida yang tinggi. Kuasa sesetengah antipengoksida dikaitkan dengan kuasa penurunannya (Jayaprakasha et al. 2001). Hasil kajian ini melaporkan bahawa semakin tinggi suhu dan masa pemanasan, aktiviti antipengoksida keseluruhan bagi ekstrak pegaga meningkat secara signifikan ( $p < 0.05$ ) melainkan pada suhu  $90^{\circ}\text{C}$ . Perlakuan haba mungkin memusnahkan dinding sel dan melepaskan sebatian antipengoksida yang terikat dengan bahan tidak larut dalam pegaga. Keputusan aktiviti antipengoksida (berdasarkan ujian penurunan ferik) menunjukkan pola yang agak serupa dengan keputusan kandungan polifenol jumlah. Ini adalah kerana sebatian polifenol juga menyumbang kepada aktiviti antipengoksida.



RAJAH 2. Kuasa penurunan ferik dalam pegaga yang diekstrak haba pada suhu  $90^{\circ}\text{C}$  selama 30 min (P1),  $90^{\circ}\text{C}$  selama 45 min (P2) dan pengekstrakan tanpa haba (P3)

<sup>ab</sup> : Abjad yang berlainan pada histogram menunjukkan terdapat perbezaan yang signifikan. ( $p < 0.05$ )

#### NILAI pH

Daripada hasil analisis, didapati bahawa kedua-dua faktor suhu dan masa tidak mempunyai interaksi secara signifikan terhadap pH ekstrak pegaga. Maka, kesan perlakuan haba telah dianalisis secara berasingan. Jadual 3 menunjukkan kesan suhu dan masa pengekstrakan terhadap pH jus pegaga. Nilai pH bagi ekstrak pegaga pada suhu  $70$  dan  $90^{\circ}\text{C}$  didapati lebih tinggi secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding apabila dijalankan pengekstrakan pada suhu  $50^{\circ}\text{C}$ . Walau bagaimanapun peningkatan suhu pemanasan dari  $70$  ke  $90^{\circ}\text{C}$  tidak menunjukkan perbezaan signifikan ( $p < 0.05$ ) antara satu sama lain. Rivas et al. (2006) juga melaporkan bahawa terdapat peningkatan pH dalam sampel jus campuran oren dan lobak merah bagi perlakuan pempasteuran haba. Hal ini mungkin disebabkan oleh pembebasan sebatian alkaloid selepas dinding sel pegaga dimusnah oleh perlakuan pemanasan. pH ekstrak pegaga didapati semakin menurun dengan peningkatan masa pengekstrakan. Peningkatan masa pemanasan dari 15 min ke 45 min memberikan penurunan nilai pH ekstrak pegaga yang signifikan ( $p < 0.05$ ) dari

JADUAL 2. Kuasa penurunan ferik (serapan pada 700 nm) dalam ekstrak pegaga yang dipanaskan pada suhu  $50^{\circ}\text{C}$ ,  $70^{\circ}\text{C}$ ,  $90^{\circ}\text{C}$  untuk masa 15, 30 dan 45 min

Suhu ( $^{\circ}\text{C}$ )	Masa (min)		
	15	30	45
50	$0.08 \pm 0.02^c$	$0.16 \pm 0.02^c$	$0.75 \pm 0.05^d$
70	$0.87 \pm 0.21^d$	$1.14 \pm 0.11^c$	$1.22 \pm 0.15^c$
90	$1.74 \pm 0.11^{ab}$	$1.70 \pm 0.25^b$	$1.96 \pm 0.01^a$

<sup>ac</sup> Abjad yang berlainan pada mana-mana baris atau lajur menunjukkan terdapat perbezaan yang signifikan. ( $p < 0.05$ )

JADUAL 3. Kesan suhu (50, 70 dan 90°C) dan masa (15, 30 dan 45 min) terhadap pH ekstrak pegaga

Kesan faktor	pH
Kesan suhu	
50°C	5.81 ± 0.09 <sup>b</sup>
70°C	6.07 ± 0.04 <sup>a</sup>
90°C	6.05 ± 0.08 <sup>a</sup>
Kesan masa	
15 minit	6.02 ± 0.11 <sup>a</sup>
30 minit	5.96 ± 0.17 <sup>ab</sup>
45 minit	5.95 ± 0.13 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> : Abjad yang berlainan untuk setiap kesan faktor menunjukkan terdapat perbezaan yang signifikan. (p<0.05)

6.02 ke 5.95. Keputusan ini bertentangan dengan yang didapati apabila suhu pengekstrakan ditingkatkan. Justeru itu, kajian lanjut perlu dijalankan untuk memahami pemerhatian ini.

#### KESIMPULAN

Pengekstrakan pegaga dengan perlakuan haba pada kombinasi suhu dan masa yang semakin meningkat telah meningkatkan kandungan polifenol jumlah. Kesan suhu dan masa pemanasan juga menunjukkan peningkatan terhadap aktiviti antioksidan melainkan pada suhu pengekstrakan 90°C. Faktor suhu dan masa tidak menunjukkan interaksi yang signifikan bagi kesan terhadap pH ekstrak pegaga. pH didapati semakin meningkat dengan peningkatan suhu pengekstrakan, tetapi sebaliknya semakin menurun dengan peningkatan masa pengekstrakan. Kandungan polifenol jumlah dan aktiviti antipengoksida ekstrak pegaga yang diekstrak menggunakan haba adalah lebih tinggi berbanding ekstrak pegaga tanpa melibatkan haba.

#### PENGHARGAAN

Penyelidik ingin menyatakan penghargaan kepada Kementerian Sains, Teknologi dan Inovasi Malaysia di atas bantuan kewangan untuk penyelidikan ini di bawah geran 06-01-02-SF0182.

#### RUJUKAN

- Abdul Hamid, A., Md. Shah, Z., Muse, R. & Mohamed, S. 2002. Characterisation of antioxidative activities of various extracts of *Centella asiatica* (L) Urban. *Food Chemistry* 77: 465-469.
- Brantner, A., Males, Z., Pepeljnjak, S. & Antolic, A. 1996. Antimicrobial activity of *Paliurus spina-christi* mill. *Journal of Ethnopharmacol.* 52: 119-122.
- Chen, H.M., Muramoto, K., Yamauchi, F. & Nokihara, K. 1996. Antioxidant activity of design peptides based on antioxidative peptide isolated from digest of a soybean protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 2619-2623.

- Cox, D.N., Rajasuriya, S., Soysa, P.E., Gladwin, J. & Ashworth, A. 1993. Problems encountered in the community based production of leaf concentrate as a supplement for pre-school children in Sri Lanka. *International Journal of Food Science and Nutrition* 44: 123-132.
- Goh, S.H., Chuah, G.H., Mok, J.S.L. & Soepadmo, E. 1995. *Malaysian Medicinal Plants for the Treatment of Cardiovascular Diseases*. Kuala Lumpur: Pelanduk.
- Jaganath, I.B. & Ng, L.T. 2002. *Herbs: The Green Pharmacy of Malaysia*. Kuala Lumpur: Vinpress.
- Jayaprakasha, G.K., Singh, R.P. & Sakariah, K.K. 2001. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models *in vitro*. *Journal of Food Science* 73: 285-290.
- Jonsson, L. 1991. Thermal degradation of carotenoids and influence on their physiological functions. Dlm. *Nutritional and Toxicological Consequences of Food Processing*, disunting oleh M. Friedman. New York: Plenum Press.
- Kan, W.S. 1986. *Pharmaceutical Botany*. Taiwan: National Research Institute of Chinese Medicine.
- Lee, S.C., Kim, J.H., Jeong, S.M., Kim, D.R., Ha, J.U. & Nam, K.C. 2003. Effect of far-infrared radiation on the antioxidant activity of rice hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 4400-4403.
- Madavi, D.L. & Salunkhe, D.K. 1995. Toxicological aspects of food antioxidant. Dlm. *Food Antioxidants*, disunting oleh Madhavi, D.L., Deshpande, S.S. & Salunkhe, D.K. New York: Marcel Dekker.
- Montgomery, D.C. 1991. *Design and Analysis of Experiments*. 3<sup>rd</sup> Edition. Pp. 201-210. New York: John Wiley & Sons.
- Oyaizu, M. 1986. Studies on products of browning reaction: Antioxidative activity of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Journal of Nutrition* 44: 307-315.
- Peleg, H., Naim, M., Rouseff, R.L. & Zehavi, U. 1991. Distribution of bound and free polyphenolic acids in oranges (*Citrus sinensis*) and grapefruits (*Citrus paradise*). *Journal of the Science Food and Agricultural* 57: 417-426.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. & Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science* 2(4): 152-159.
- Rivas, A., Rodrigo, D., Martinez, A., Barbosa-Canovas, G.V. & Rodrigo, M. 2006. Effect of PEF and heat pasteurization of physical-chemical characteristics of blended orange and carrot juices. *LWT-Food Science and Technology* 39: 1163-1170.
- Singlenton, V.L. & Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic phosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology Viticulture* 16: 144-158.
- Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L. & Oomah, B.D. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 4113-4117.
- Wanasundara, U.N. & Shahidi, F. 1998. Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extract in marine oils. *Food Chemistry* 63: 335-342.
- Yildirim, A., Mavi, A. & Kara, A.A. 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumaxs crispus* L. extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 4083-4089.

Zainol, M.K., Abd-Hamid, A., Yusof S. & Muse, R. 2003. Antioxidative activity and total phenolic compounds of leaf, root and petiole of four accessions of *Centella asiatica* (L.) Urban. *Food Chemistry* 81: 575-581.

\*Pengarang untuk surat-menyurat; email: maskatmy@yahoo.com

Diserahkan: 29 Julai 2008

Diterima: 23 Mac 2010

Program Sains Makanan  
Pusat Pengajian Sains Kimia dan Teknologi Makanan  
Fakulti Sains dan Teknologi  
Universiti Kebangsaan Malaysia  
43600 Bangi, Selangor D.E.  
Malaysia