

PENYARIAN ZEAXANTHIN DARI SAYUR-SAYURAN TEMPATAN :
PERBANDINGAN KAEDAH PENYARIAN DAN KESAN PARAMETER
PROSES TERHADAP HASIL SARIAN ZEAXANTHIN

MARMY ROSHAIDAH BINTI MOHD SALLEH

Tesis ini dikemukakan
sebagai memenuhi syarat penganugerahan
ijazah Sarjana Kejuruteraan (Kimia)

Fakulti Kejuruteraan Kimia dan Kejuruteraan Sumber Asli
Universiti Teknologi Malaysia

APRIL 2005

Untuk Taufik, Irdina dan keluarga tersayang

PENGHARGAAN

Saya ingin merakamkan penghargaan dan terima kasih kepada penyelia saya, Prof. Madya Dr. Rosli Mohd Yunus di atas segala ilmu, tunjuk ajar, bimbingan, nasihat dan dorongan yang diberikan sepanjang tempoh penyelidikan ini dijalankan.

Penghargaan ini juga saya tujukan buat semua staf Loji Pandu Kejuruteraan Kimia yang banyak membantu saya bagi menjalankan penyelidikan ini. Ucapan terima kasih yang tidak terhingga ditujukan buat rakan-rakan yang telah banyak memberi sokongan dari segi ilmu dan moral iaitu Yumi Zuhanis, Naqiah, Fima, Amizah, Rafizan, Amer dan Abdul Rahman.

Jutaan terima kasih yang tidak terhingga dikirinkan buat ibu tersayang Jamilah Binti Adom yang sentiasa memberikan galakan, mendoakan kejayaan dan kebahagiaan saya dalam usaha untuk menyiapkan projek penyelidikan ini. Penghargaan ini juga buat suami tercinta Taufik Bin Abdul Rahman yang tidak pernah jemu memberi dorongan dan motivasi, ibu mertua, kakak-kakak dan adik-adik yang sentiasa memberikan semangat serta kiriman doa. Terima kasih atas perhatian kalian.

Akhir sekali, penghargaan dan ucapan terima kasih buat semua pihak yang terlibat secara langsung ataupun tidak langsung semasa saya menjalankan penyelidikan dan menulis tesis ini.

ABSTRAK

Kajian adalah dijalankan bagi menilai kaedah penyarian yang terbaik untuk penghasilan zeaxanthin dari sayur-sayuran hijau. Tiga kaedah penyarian yang terlibat adalah kaedah rendaman, kaedah *soxhlet* dan kaedah ultrasonik. Peringkat permulaan kajian adalah penentuan sampel sayur yang terbaik untuk digunakan bagi penyelidikan ini, iaitu melalui proses penyaringan. Kesan parameter proses terhadap hasil sarian zeaxanthin turut dikaji dalam penyelidikan ini. Rekabentuk kajian yang dikenali sebagai rekabentuk pecahan faktorial telah dijalankan untuk mengkaji kesan parameter proses terhadap hasil sarian zeaxanthin. Parameter proses yang dikaji adalah masa penyarian, jenis pelarut, nisbah jisim sampel terhadap isipadu pelarut dan isipadu air di dalam takung rendaman (kaedah ultrasonik). Kesan utama parameter proses terhadap hasil sarian zeaxanthin serta interaksi di antara parameter ditentukan berdasarkan analisis terhadap kaedah tindak balas permukaan (*response surface methodology*), jadual varians, carta pareto dan jadual anova. Kadar penyarian dan pemalar kadar penyarian dikira bagi menilai kecekapan proses penyarian. Daripada kajian yang telah dilakukan, sayur cekur manis dikenalpasti sebagai sampel yang terbaik untuk digunakan di dalam kajian ini berdasarkan kandungan zeaxanthin yang terbanyak hasil dari pemerhatian kepekatan zeaxanthin yang diekstrak dari ketiga-tiga kaedah penyarian. Melalui rekabentuk pecahan faktorial, hasil sarian zeaxanthin tertinggi dihasilkan daripada sayur cekur manis adalah 93.22% melalui kaedah ultrasonik pada masa 35 minit. Pelarut aseton dengan nisbah jisim sampel terhadap isipadu pelarut 32g:200ml dikenalpasti sebagai keadaan operasi yang terbaik bagi penyarian ini. Berdasarkan nilai kadar penyarian dan pemalar kadar penyarian yang tertinggi iaitu masing-masing 1.15 mg/min dan 0.0329 min⁻¹, adalah disimpulkan bahawa kaedah penyarian ultrasonik merupakan kaedah yang terbaik untuk mengekstrak zeaxanthin dari sayur cekur manis.

ABSTRACT

A research was conducted to evaluate the best extraction method for the production of zeaxanthin from green vegetables. Three extraction methods involved in the evaluation, namely the soaking method, soxhlet method, and ultrasonic extraction method. The first stage of research was to select the best sample to be used in the research, via screening process. The effect of processing parameters on the yield of zeaxanthin were investigated in this research. Fractional factorial design method was used as the research design to study the effects of processing parameters on the yield of zeaxanthin. The processing parameters studied were time of extraction, types of solvent, ratio of mass of sample to volume of solvent, and volume of water in ultrasonic bath (ultrasonic method). The main effect of processing parameters on the yield of zeaxanthin and the interaction between parameters were determined via analysis of response surface methodology, varians table, pareto chart and anova table. The rate of extraction and the extraction rate constant were estimated to evaluate the extraction process efficiency. From the research, cekur manis was identified as the best sample to be used in the research based on the highest content of zeaxanthin extracted from the three extraction methods adopted in the study. Based on the fractional factorial design, the highest yield of zeaxanthin from cekur manis was 93.22% using ultrasonic extraction method within 35 minutes of extraction time. Solvent of acetone, with sample to solvent ratio of 32g:200ml were identified as the best operating condition for the extraction. Based on the highest value of extraction rate and the extraction rate constant 1.15 mg/min and 0.0329 min^{-1} respectively, it was concluded that the ultrasonic extraction method appeared to be the best extraction method for the extraction of zeaxanthin from cekur manis.

KANDUNGAN

BAB	PERKARA	MUKA SURAT
	TAJUK	i
	PENGAKUAN	ii
	DEDIKASI	iii
	PENGHARGAAN	iv
	ABSTRAK	v
	ABSTRACT	vi
	KANDUNGAN	vii
	SENARAI JADUAL	xiii
	SENARAI RAJAH	xv
	SENARAI SIMBOL / SINGKATAN	xviii
	SENARAI LAMPIRAN	xix
1	Pengenalan	
	1.1 Latar Belakang Kajian	1
	1.2 Penyelidikan Zeaxanthin	2
	1.3 Pernyataan Masalah	5
	1.4 Objektif Kajian	6
	1.5 Skop Kajian	6

2.1	Pendahuluan	8
2.2	Sejarah Penggunaan Ubat Tradisional	8
2.3	Sebatian Hasil Semulajadi	9
2.4	Karotenoid	10
2.5	Zeaxanthin	12
	2.5.1 Ciri-Ciri Zeaxanthin	14
	2.5.2 Stereokimia dan Isomer Zeaxanthin	14
2.6	Antioksidan	15
2.7	Struktur Mata	16
2.8	Penyakit Buta Kekal	
	“Age Related Macular Degeneration” (AMD)	18
2.9	Punca-Punca AMD	20
2.10	Konsep Penyarian Pepejal-Cecair (Pengurusan)	21
2.11	Konsep Pemindahan Jisim Dalam Proses Penyarian Pepejal-Cecair	22
2.12	Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Proses Penyarian	24
	2.12.1 Saiz Bahan	24
	2.12.2 Nisbah Bahan Dengan pelarut	24
	2.12.3 Masa Penyarian	25
	2.12.4 Pelarut	25
	2.12.5 Suhu Proses	27
2.13	Resapan Di Dalam Pepejal Mengikut Hukum Fick	28
2.14	Resapan Dalam Pepejal Berliang Yang Bergantung Kepada Struktur Pepejal	28
2.15	Ultrasonik	30
	2.15.1 Teori Bunyi	31
	2.15.2 Klasifikasi Gelombang Bunyi	32
	2.15.3 Kesan Fizikal Daripada Tenaga Ultrasonik	33
	2.15.4 Teknologi Ultrasonik Dalam proses Pengurusan	34

3

METODOLOGI KAJIAN

3.1	Pendahuluan	36
3.2	Proses Pemilihan	36
3.2.1	Kaedah Rendaman	38
3.2.2	Kaedah <i>Soxhlet</i>	40
3.2.3	Kaedah Ultrasonik	42
3.3	Proses Pengoptimuman Parameter Kajian	43
3.3.1	Rekabentuk eksperimen	44
	3.3.1.1 Pembolehubah tidak bergantung (Bebas)	46
	3.3.1.2 Pembolehubah Bergantung	49
3.4	Penganalisan Data	50
3.4.1	Analisis Zeaxanthin Secara Kualitatif Dengan Menggunakan <i>Thin Layer Chromatography</i> (TLC)	50
	3.4.1.1 Kromatografi Lapisan Nipis (TLC)	51
	3.4.1.2 Fasa Pepejal Untuk TLC	53
	3.4.1.3 Fasa Bergerak Dalam TLC	53
	3.4.1.4 Faktor Perlambatan	54
3.4.2	Analisis Zeaxanthin Secara Kuantitatif Dengan Menggunakan Spektrofotometer	55

4

KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN

4.1	Proses Pemilihan Sampel	57
	4.1.1 Analisis Kualitatif	57
	4.1.2 Analisis Kuantitatif	59
4.2	Proses Pengoptimuman Parameter	61
	4.2.1 Kaedah Rendaman	62
	4.2.1.1 Kesan Parameter Proses Terhadap Hasil Sarian Zeaxanthin	63

4.2.1.2	Peringkat Pengoptimuman	
	Parameter Kajian	64
4.2.1.3	Kesan Penggunaan Pelarut	
	Terhadap Hasil Sarian Zeaxanthin	65
4.2.1.4	Kesan Masa Penyarian Terhadap	
	Hasil Sarian Zeaxanthin	67
4.2.1.5	Kesan Nisbah Jisim Sampel	
	Kepada Isipadu Pelarut Terhadap	
	Hasil Sarian Zeaxanthin	68
4.2.1.6	Model Matematik Bagi	
	Keseluruhan Ujikaji	69
4.2.1.7	Kesan Parameter Proses Dan	
	Interaksi Di antara Parameter	
	Proses Berdasarkan Analisis	
	Statistik	71
4.2.2	Kaedah Soxhlet	74
4.2.2.1	Kesan Parameter Proses Terhadap	
	Hasil Sarian Zeaxanthin	75
4.2.2.2	Kesan Penggunaan Pelarut	
	Terhadap Hasil Sarian	
	Zeaxanthin	77
4.2.2.3	Kesan Masa Penyarian Terhadap	
	Hasil Sarian Zeaxanthin	78
4.2.2.4	Kesan Nisbah Jisim Sampel	
	Kepada Isipadu Pelarut Terhadap	
	Hasil Sarian Zeaxanthin	79
4.2.2.5	Model Matematik Bagi	
	Keseluruhan Ujikaji	80
4.2.2.6	Kesan Parameter Proses Dan	
	Interaksi Di antara Parameter	
	Proses Berdasarkan Analisis	
	Statistik	82
4.2.3	Kaedah Ultrasonik	84

4.2.3.1	Kesan Parameter Proses Terhadap Hasil Sarian Zeaxanthin	85
4.2.3.2	Kesan Penggunaan pelbagai Jenis Pelarut Terhadap Hasil Sarian Zeaxanthin	86
4.2.3.3	Kesan Masa Penyarian Terhadap Hasil Sarian Zeaxanthin	89
4.2.3.4	Kesan Nisbah Jisim Sampel Dengan Isipadu Pelarut Terhadap Hasil Sarian Zeaxanthin	91
4.2.3.5	Kesan Isipadu Air Di dalam Takung Rendaman Terhadap Hasil Sarian Zeaxanthin	92
4.2.3.6	Model Matematik Bagi Keseluruhan Ujikaji	93
4.2.3.7	Kesan Parameter Proses Dan Interaksi Di antara Parameter Proses Berdasarkan Analisis Statistik	96
4.2.4	Perbandingan Di antara Parameter Proses Optimum Bagi Kaedah Rendaman, <i>Soxhlet</i> Dan Ultrasonik	100
4.3	Kadar Penyarian Zeaxanthin	101
4.4	Pemalar Kadar Penyarian	102

5 KESIMPULAN

5.1	Kesimpulan	103
5.2	Cadangan	105

RUJUKAN	107
LAMPIRAN A	115
LAMPIRAN B	126

SENARAI JADUAL

NO JADUAL	TAJUK	MUKA SURAT
2.1	Kandungan zeaxanthin dalam tumbuh-tumbuhan yang terpilih	13
2.2	Ciri-ciri zeaxanthin	13
2.3	Ciri-ciri fizikal bagi pelarut	26
2.4	Urutan pelarut mengikut polariti	27
3.1	Senarai sampel kajian	37
3.2	Parameter kajian yang ditetapkan dalam proses penyarian zeaxanthin	38
3.3	Pembolehubah kajian bagi kaedah rendaman	46
3.4	Pembolehubah kajian bagi kaedah <i>soxhlet</i>	47
3.5	Pembolehubah kajian bagi kaedah ultrasonik	47
3.6	Matriks eksperimen bagi kaedah rendaman dan <i>soxhlet</i>	48
3.7	Matriks eksperimen bagi kaedah ultrasonik	49
4.1	Faktor Penahanan bagi 16 jenis sampel sayur-sayuran	58
4.2	Hasil sarian zeaxanthin bagi 16 jenis sayur-sayuran	61
4.3	Analisis varian terhadap hasil sarian zeaxanthin menggunakan kaedah rendaman	63
4.4	Nilai pekali pembolehubah linear, kuadratik dan interaksi di antara pembolehubah	70
4.5	Jadual anova untuk hasil sarian zeaxanthin	73
4.6	Analisis varian terhadap hasil sarian zeaxanthin menggunakan kaedah <i>soxhlet</i>	75

4.7	Nilai pekali pembolehubah linear, kuadratik dan interaksi di antara pembolehubah	80
4.8	Jadual anova untuk hasil sarian zeaxanthin bagi kaedah <i>soxhlet</i>	84
4.9	Analisis varian terhadap hasil sarian zeaxanthin menggunakan kaedah ultrasonik	85
4.10	Nilai pekali pembolehubah linear, kuadratik dan interaksi di antara pembolehubah	94
4.11	Jadual anova untuk hasil sarian zeaxanthin bagi kaedah ultrasonik	98
4.12	Parameter proses optimum bagi tiga kaedah penyarian	100
4.13	Pemalar kadar penyarian	102

SENARAI RAJAH

NO RAJAH	TAJUK	MUKA SURAT
1.1	Kandungan zeaxanthin dan lutein di dalam mata manusia	4
2.1	Rantai Karbon Zeaxanthin (β , β -Carotene-3,3'diol)	14
2.2	Perbezaan penglihatan di antara penglihatan normal dan penglihatan yang mengalami macular degeneration	19
2.3	Keratan rentas mata manusia	20
2.4	Rajah proses resapan dalam pepejal berongga	29
2.5	Pergerakan gelombang dan partikel	32
3.1	Proses penyarian zeaxanthin menggunakan kaedah rendaman	39
3.2	Carta alir kajian	40
3.3	Alat untuk penyarian zeaxanthin menggunakan kaedah <i>soxhlet</i>	41
3.4	Komponen radas kaedah <i>soxhlet</i>	41
3.5	Gambaran proses penyarian menggunakan kaedah ultrasonik	43
3.6	Gambarajah turutan proses pengoptimuman	44
3.7	Prinsip penggunaan kaedah kromatografi lapisan nipis	51
3.8	Sistem kromatografi lapisan nipis (TLC)	52
3.9	Analisis sampel dengan menggunakan kaedah kromatografi lapisan nipis	54
3.10	Gambarajah proses pemisahan sampel	55
4.1	Perbandingan kandungan zeaxanthin di dalam sampel sayur-sayuran	59

4.2	Kesan penggunaan pelbagai jenis pelarut dan perubahan nisbah jisim sampel kepada isipadu pelarut terhadap hasil sarian zeaxanthin	65
4.3	Kesan penggunaan pelbagai jenis pelarut dan perubahan masa penyarian terhadap hasil sarian zeaxanthin	66
4.4	Kesan perubahan nisbah jisim sampel kepada isipadu pelarut dan perubahan masa penyarian terhadap hasil sarian zeaxanthin	68
4.5	Carta Pareto bagi hasil sarian zeaxanthin dengan menggunakan kaedah rendaman	72
4.6	Kesan penggunaan pelbagai jenis pelarut dan perubahan nisbah jisim sampel kepada isipadu pelarut terhadap hasil sarian zeaxanthin	76
4.7	Kesan penggunaan pelbagai jenis pelarut dan perubahan masa penyarian terhadap hasil sarian zeaxanthin	77
4.8	Kesan perubahan nisbah jisim sampel kepada isipadu pelarut dan perubahan masa penyarian terhadap hasil sarian zeaxanthin	78
4.9	Carta Pareto bagi hasil sarian zeaxanthin dengan menggunakan kaedah <i>soxhlet</i>	82
4.10	Kesan perubahan nisbah jisim sampel kepada isipadu pelarut dan jenis pelarut terhadap hasil sarian zeaxanthin	87
4.11	Kesan perubahan masa penyarian dan jenis pelarut terhadap hasil sarian zeaxanthin	88
4.12	Kesan perubahan isipadu air dan jenis pelarut terhadap hasil sarian zeaxanthin	88
4.13	Kesan perubahan masa penyarian dan nisbah jisim sampel kepada isipadu pelarut terhadap hasil sarian zeaxanthin	90

4.14	Kesan perubahan isipadu air dan nisbah jisim sampel kepada isipadu pelarut terhadap hasil sarian zeaxanthin	90
4.15	Kesan perubahan isipadu air dan masa penyarian terhadap hasil sarian zeaxanthin	91
4.16	Carta Pareto bagi hasil sarian zeaxanthin menggunakan kaedah ultrasonik	96
4.17	Kadar penyarian bagi kaedah rendaman, <i>soxhlet</i> dan ultrasonik	101

SENARAI SIMBOL / SINGKATAN

H_0	-	hipotesis nul
H_1	-	hipotesis alternatif
SST	-	hasil tambah kuasa dua
X_1	-	jenis pelarut
X_2	-	nisbah jisim sampel terhadap isipadu pelarut
X_3	-	masa penyarian
X_4	-	Isipadu air
Y	-	respon (Hasil sarian)
ε	-	keliangan
Z	-	jarak resapan
L	-	linear
R_f	-	faktor penahanan
p	-	had keyakinan
df	-	darjah kebebasan
TLC	-	kromatografi lapisan nipis
K_0	-	pemalar kadar penyarian

SENARAI LAMPIRAN

LAMPIRAN	TAJUK	MUKA SURAT
A	Jadual Taburan F	115
B	Data Eksperimen	121

BAB 1

Pengenalan

1.1 Latar Belakang Kajian

Tumbuh-tumbuhan merupakan sumber makanan yang penting bagi manusia yang mana mengandungi pelbagai nutrien yang diperlukan oleh badan untuk menjalani proses tumbesaran secara sihat dan normal. Di samping itu juga tumbuh-tumbuhan boleh dijadikan sebagai sumber ubatan tradisional. Di Malaysia terdapat banyak tumbuh-tumbuhan yang mempunyai nilai ubatan. Dewasa ini, masyarakat lebih cenderung untuk mencuba sumber ubatan alternatif daripada tumbuh-tumbuhan herba semulajadi bagi menjamin kesihatan keseluruhan sistem di dalam badan. Salah satu daripadanya adalah penghasilan pigmen zeaxanthin daripada sayur-sayuran berdaun hijau. Zeaxanthin dikategorikan dalam kumpulan *xanthophylls* di mana mengandungi kumpulan oksigen di dalam struktur kimianya. Nama kimianya ialah β,β -carotene-3,3'-diol ataupun *dihydroxy-carotene*. Ianya sejenis bahan kimia yang tidak stabil dan sangat mudah teroksida sekiranya terdedah kepada udara ataupun bahan peroksida. Zeaxanthin juga sensitif terhadap cahaya dan haba (Schiedt dan Liaaen-Jensen, 1995). Zeaxanthin bertindak sebagai penapis cahaya ultraungu biru serta berperanan melindungi mata dari mengalami kerosakan yang disebabkan oleh pengoksidaan melalui penstabilan radikal bebas di dalam mata.

Penemuan pigmen zeaxanthin dalam sayur-sayuran merupakan salah satu penemuan yang agak baru yang mana belum dikomersialkan sepenuhnya. Daripada kajian literatur, di dapati pigmen ini penting bagi menjamin kesihatan mata manusia dan mengurangkan risiko mendapat penyakit *Age Related Macular Degeneration (AMD)*. Zeaxanthin boleh diperolehi secara terus dengan pengambilan sayuran berdaun hijau di dalam diet manusia seperti bayam, kobis, sawi dan sayuran berdaun yang lain. Risiko untuk mendapat barah juga dapat dikurangkan dengan pengambilan sayuran dalam makanan seharian manusia (Steinmetz dan Potter, 1991). Proses pengambilan zeaxanthin secara terus daripada sumber sayuran agak sukar untuk memenuhi keperluan zexanthin yang diperlukan oleh seseorang dalam kuantiti yang sepatutnya. Oleh sebab itu, zeaxanthin juga boleh diperolehi dengan pengambilan makanan tambahan dalam bentuk pil sebagai alternatif bagi mengelakkan kekurangan sumber ini dalam mata.

Di Malaysia, penyelidikan tentang zeaxanthin ini masih lagi di peringkat awal di mana kepentingannya dikesan dan dikenal pasti sekitar tahun 90-an. Kajian zeaxanthin secara meluas di Barat dan kepentingannya yang telah diperakui telah menarik minat penyelidik Malaysia agar menjalankan kajian untuk menghasilkan zeaxanthin dengan menggunakan sumber sayur-sayuran tempatan. Laporan ini membentangkan hasil kajian yang telah dijalankan bagi mengenal pasti spesis tumbuhan yang paling sesuai dan kaedah penyarian yang paling sesuai untuk diketengahkan bagi tujuan komersial.

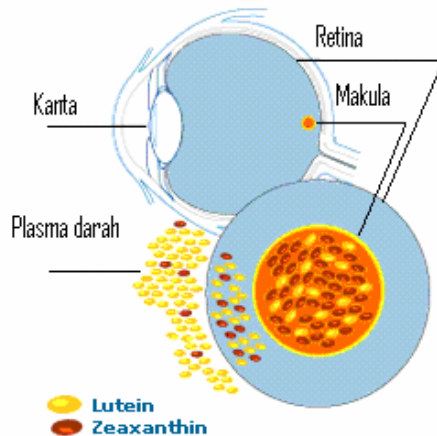
1.2 Penyelidikan Zeaxanthin

Saintis pertama yang menganalisis kandungan karotenoid di dalam tumbuh-tumbuhan ialah Tswett iaitu pada tahun 1906. Di dalam kajiannya, campuran karotenoid yang diperolehi telah dipisahkan dengan menggunakan kolum terbuka (Hodisan *et al.*, 1997). Kajian tentang karotenoid ini turut menarik minat beberapa saintis lain iaitu Zaechmeister, Isler dan Goodwin. Mereka telah melakukan

pembaharuan terhadap kaedah pemisahan yang telah diperkenalkan oleh Tswett. Disamping itu, pengenalan dan kajian struktur karotenoid secara mendalam juga ditekankan (Hodisan *et al.*, 1997).

Terdapat pelbagai jenis karotenoid di dalam tumbuh-tumbuhan. Salah satu jenis karotenoid yang telah dikenal pasti terkandung di dalamnya adalah zeaxanthin. Pernyataan ini dibuat berdasarkan kajian yang telah dijalankan oleh Sommerburg pada tahun 1998 di mana zeaxanthin banyak terkandung di dalam sayur-sayuran dan buah-buahan.

Penemuan zeaxanthin telah dipelopori oleh Wald, seorang saintis yang menggunakan kaedah spektrofotometer bagi menganalisa retina yang telah diekstrak. Zeaxanthin dikesan wujud di dalam retina mata manusia apabila Wald telah menjalankan kajian ke atas lutein. Daripada kajiannya, satu lagi pigmen kuning dikenal pasti terdapat di dalam tisu retina mata di mana mempunyai gelombang penyerapan dan peranan yang sama dengan lutein. Walaubagaimanapun, zeaxanthin dipercayai memainkan peranan yang utama disebabkan keupayaannya sebagai penapis sinaran ultraungu biru dan penstabil radikal bebas di dalam mata adalah dua kali ganda jika dibandingkan dengan lutein (Virgilli *et al.*, 1999). Secara umumnya, kandungan zeaxanthin banyak dikesan wujud di dalam makula mata dan kandungan lutein banyak dikesan wujud di bahagian luar makula mata berdasarkan analisa yang telah dilakukan oleh penyelidik (Bone *et al.*, 1993). Rajah 1.1 di bawah menunjukkan lokasi kedudukan zeaxanthin dan lutein di dalam mata manusia.



Rajah 1.1 : Kandungan zeaxanthin dan lutein di dalam mata manusia
(www.zeavision.com)

Kandungan zeaxanthin yang mencukupi di dalam pancaindera manusia dapat mencegahnya dari menghidapi sejenis penyakit AMD. Zeaxanthin juga berperanan sebagai antioksidan. Antioksidan boleh mencegah kerosakan sel yang disebabkan oleh penghasilan molekul radikal bebas yang tidak stabil semasa selular sedang berfungsi. Secara umumnya, bolehlah dikatakan bahawa amalan pengambilan makanan yang mengandungi karotenoid yang tinggi seperti zeaxanthin boleh mencegah diri dari dijangkiti pelbagai penyakit (Fackelmann, 1994).

Oleh sebab itu, memandangkan keperluan zeaxanthin amat penting bagi menjamin kesihatan mata manusia, maka Courington dan Goodwin telah menjalankan kajian bagi penghasilan zeaxanthin melalui mikrob pula (Garnett *et al.*, 1998). Seterusnya, zeaxanthin dituliskan melalui sel penapai. Cara pengambilannya dipelbagaikan sama ada melalui pil nutrisi mahu pun sebagai bahan tambah dalam makanan.

1.3 Pernyataan Masalah

Berdasarkan kepada kajian literatur, kita didedahkan dengan pelbagai maklumat tentang kepentingan zeaxanthin bagi menjamin kesihatan manusia. Di samping itu juga, statistik buta kekal yang dilihat di Amerika Syarikat memberi kesedaran kepada kita untuk mengambil langkah awal bagi mengurangkan risiko mendapat penyakit AMD.

Dewasa ini, ubat yang dapat menyembuhkan AMD belum lagi ditemui. Walaubagaimanapun, AMD dapat dicegah dengan memakan sayur-sayuran yang mengandungi zeaxanthin. Daripada kajian didapati bahawa zeaxanthin banyak terkandung di dalam sayur-sayuran berdaun hijau. Pemakanan yang seimbang selalu disyorkan oleh pakar pemakanan supaya dapat mengurangkan risiko AMD. Walaubagaimanapun, memandangkan kehidupan moden masa kini serta gaya hidup yang sentiasa sibuk dengan aktiviti harian adalah amat sukar untuk memastikan pemakanan yang seimbang dapat dipraktikkan. Langkah yang terbaik untuk mengatasi pemakanan yang tidak seimbang ini adalah dengan mengambil pil-pil nutrisi atau makanan tambahan yang dihasilkan daripada sayur-sayuran tempatan. Melalui cara ini, aktiviti seharian tidak perlu dikorbankan dan dalam masa yang sama cara hidup sihat dapat diamalkan. Menyedari hakikat ini, banyak kajian telah mula difokuskan dalam menghasilkan zeaxanthin.

Dalam aspek yang sama, kajian untuk penghasilan zeaxanthin daripada sayur-sayuran tempatan telah mula menimbulkan minat pada penyelidik untuk menerokainya. Beberapa kajian tentang zeaxanthin telah dijalankan di Luar Negara tetapi penyelidikan dalam bidang ini masih belum dibuat di Malaysia. Walhal, Malaysia merupakan negara yang terbaik dan sesuai untuk menghasilkan zeaxanthin kerana di sini terdapat banyak sayur-sayuran yang mempunyai kandungan vitamin dan nutrien yang tinggi serta penting untuk kesihatan.

Malaysia berpotensi tinggi bagi mengkomersialkan tumbuhannya untuk dijadikan bahan kajian dalam bidang fitokimia. Dari sudut yang lain, Malaysia dan luar negara mempunyai kualiti tumbuhan yang berbeza. Perbezaan kualiti dan

kuantiti hasil yang diperolehi mungkin dipengaruhi oleh struktur tanah, iklim, musim dan kelembapan. Penyelidikan ini melibatkan sayur-sayuran tempatan yang mana merupakan pemakanan manusia seharian. Pemilihan sampel di ambil kira faktor kesesuaiannya berdasarkan literatur, sayur-sayuran yang boleh dimakan dan mudah diperolehi. Beberapa jenis sayur-sayuran telah dipilih dalam penyelidikan fasa yang pertama di mana fasa pertama merupakan proses pemilihan sayur-sayuran yang berpotensi tinggi sebagai penyumbang pigmen zeaxanthin yang tertinggi berdasarkan kaedah yang ditetapkan. Kandungan zeaxanthin dalam sayur-sayuran luar negara mungkin tidak sama jika di bandingkan dengan sayur-sayuran tempatan. Namun begitu, Malaysia lebih dikenali dengan sumber sayur-sayuran kaya dengan nutrien dan vitamin serta hasil hutan yang juga pelbagai kegunaan dalam menyembuhkan penyakit.

1.4 Objektif Kajian

Berdasarkan kepada keperluan yang telah dijelaskan di atas, Objektif kajian ini adalah bertujuan untuk mengkaji kandungan zeaxanthin di dalam sayur-sayuran tempatan serta mengenal pasti kaedah penyarian yang terbaik bagi memastikan penghasilan zeaxanthin yang maksima.

1.5 Skop kajian

Untuk mencapai objektif kajian seperti yang disarankan di atas, beberapa skop kajian telah dikenal pasti. Sayur-sayuran dipilih sebagai bahan kajian kerana ia merupakan sebahagian daripada menu pemakanan harian manusia serta mudah

diterima oleh masyarakat apabila dikomersialkan kelak. Kajian ini meliputi dua bahagian utama yang dikaji iaitu:

- 1) Mengkaji sayur-sayuran tempatan yang berpotensi sebagai sumber zeaxanthin yang tinggi berdasarkan kajian literatur. Sayur yang mengandungi peratusan zeaxanthin yang tertinggi akan dipilih untuk digunakan di dalam bahagian kedua. Pemilihan akan dibuat berdasarkan keputusan yang diperolehi daripada ujikaji di makmal.
- 2) Mengkaji tiga kaedah penyarian iaitu kaedah rendaman, kaedah *soxhlet* dan kaedah ultrasonik untuk menyari zeaxanthin.

Daripada literatur, terdapat pelbagai kaedah penyarian yang disyorkan tetapi hanya tiga kaedah saja yang dipilih dalam kajian ini. Kaedah yang terbaik akan ditentukan berdasarkan parameter yang akan dikaji. Antara parameter yang terlibat adalah :

- i) Mengkaji kesan keterlarutan dan kekutuban pelarut yang diaplikasikan dalam ketiga-tiga kaedah penyarian.
 - ii) Mengkaji kesan masa yang diaplikasikan dalam ketiga-tiga kaedah penyarian.
 - iii) Mengkaji kesan nisbah sampel terhadap isipadu pelarut yang diaplikasikan dalam ketiga-tiga kaedah penyarian.
 - iv) Mengkaji kesan keamatan gelombang yang diaplikasikan dalam kaedah ultrasonik
- 3) Parameter di atas memberi kesan terhadap hasil penyarian zeaxanthin dan nilai kadar penyarian yang akan diperolehi. Untuk mencapai skop ini, kaedah rekabentuk kajian (*experimental design*) yang dijanakan oleh STATISTICA V5.0 diaplikasikan. Data yang diperolehi dipersembahkan dengan menggunakan kaedah tindakbalas permukaan (*response surface methodology*) untuk mengenal pasti kesan parameter yang dikaji.

RUJUKAN

- A.R. Mangels (1993) "Lutein, Phytonutrient With Burgeoning Utility." *Journal of The American Dietetic Assoc.* **93**. hlm 284-296.
- Azli Sulaiman (Ed). (2000). "Kimia Analisis I." Skudai : Universiti Teknologi Malaysia.
- Bone, R.A., Landrum, J.T, Hime, G.W. dan Cains, A. (1993).
"Stereochemistry of the Human Macular Carotenoids." dlm Kwok-Wai Lam dan But, P. "The Content of Zeaxanthin in Gou Qi Zi, a Potential Health Benefit to Improve Visual Acuity." *Journal of Food Chemistry*. **67**. hlm 173-176.
- Britton, G., Liaaen-Jensen, S. dan Pfander, H. (1995). "Carotenoids Vol 1A: Isolation and Analysis." Birkhauser Verlag, Bassel .
- Britton, G., Liaden-Jensen, S. dan Pfander, H. .(1996). "Carotenoids Vol 2: Synthesis." Birkhauser Verlag, Bassel.
- Brink, S., Wright, A.R dan Newman, R.J. (1994) "Greens over Carrots for Vision." *U.S.News & World Report*. **117**. hlm 97.
- Brubacher, G.,Muller-Mulot, W. dan Southgate, D.A.T. (1985). "Methods for the Determination of Vitamins in Food." Applied Science Publishers, London.

- Collins, J.F., M.D., F.A.C.S. (1995). "Your Eyes an Owner's Guide." Prentice Hall, United States of America.
- Coulson, J.M., Richardson, J.F., Backhurst, J.R. dan Harker, J.H. (1991). "Chemical Engineering vol. 2. 4th Ed. Particle Technology and Separation Processes." Oxford : Pergamon Press.
- Dechow dan Frederick, J. (1989). "Separation and Purification Techniques in Biotechnology." Noyes Publication, New Jersey.
- Devore, J.L dan Farnum, N.R. (1999). "Applied Statistics For Engineers And Scientists." Pacific Grove : Duxbury Press
- Ensminger, D. (1973). "Ultrasonics: The Low and High Intensity Applications." Marcel Dekker Inc, New York.
- Eric, J.M.K. dan Harry, H.S.R. (1997). "Evaluation and Validation of an LC Method for the Analysis of Carotenoids in Vegetables and Fruit." *Journal of Food Chemistry*. **59**. hlm 599-603.
- Fackelmann, K.A. (1994). "Nutrients May Prevent Blinding Disease." *Science News*. **146**. hlm 310.
- Fasihuddin, A. dan Hasmah (1993). "Kimia Hasil Semulajadi dan Tumbuhan Ubatan." Dewan Bahasa dan Pustaka, Kementerian Pendidikan Malaysia, Kuala Lumpur.
- Gaikar, V.G dan Dandekar, D.V. (2001). "Process For Extraction of Curcuminoids From Curcuma Species." (U.S. Patent 6,224,877).
- Garnett, Kevin, M., Gierhart, Dennis, L., Guerra-santos dan Luis, H. (1998). "Zeaxanthin Formulations for Human Ingestion." (U.S Patent: 5,827,652).

- Garnett, Kevin, M., Gierhart, Dennis, L., Guerra-santos dan Luis, H. (1998). "Method of Making Pure 3R-3'R Stereoisomer of Zeaxanthin for Human Ingestion." (U.S Patent: 5,854,015).
- Geankoplis, C.H. (1995). "Transport Processes and Unit Operations." Prentice Hall, Singapura.
- Goodwin T.W. (1980). "The Biochemistry of the Carotenoids Vol 1: Plants." 2nd edition. Chapman and Hall, London.
- Haliwell, B., Aeschbach, R., Lologer, J. dan Aruoma, O.I. (1995). "Natural Antioxidants:An Overview." dlm. F. Shahidi. "Natural Antioxidants:Chemistry Health Effects and Application". *AOCS Press, Zllinois*. hlm 1-11
- Hamilton, S. Dan Hamilton, R. (1987). "Thin Layer Chromatography, Analytical Chemistry by Open Learning." London : John Wiley and Sons.
- Hanspeter, P. (1992). "Carotenoids : an Overview". dlm Packer, L. "Carotenoids: Chemistry, Separation, Quantitation and Antioxidant." Methods in Enzymology Vol 213, Academic Press, United States of America.
- Hasrinah, A. (2001). "Pengoptimum Penurasan Menggunakan Penuras Dedaun Dengan Bantuan Gelombang Ultrasonik Berdasarkan Nisbah Antara Masa Penurasan Terhadap Masa Pengaplikasian Gelombang."Tesis. Universiti Teknologi Malaysia.
- Hills (1989). "Extraction of Anti-Mutagenic Pigments from Algae and Vegetables." (U.S Patent: 4,851,339).
- Hodisan, T., Socaciu, C., Ropan, I. dan Neamtu, G. (1997). "Carotenoid Composition of Rosa canina Fruits Determined by Thin Layer Chromatography and High Performance Liquid Chromatography." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* .16. hlm 521-528.

- Houghton P.J. dan Raman Amala (1998). "Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts." Chapman and Hall, London.
- Indofine Chemical Company, Inc (2001). "Standards For Herbal Extracts Add Nutritional Product." hlm 23.
- JianYong Wu, Lidong Lin dan Foo tim Chau (2001) "Ultrasound Assisted Extraction of Ginseng Saponins from Ginseng Roots and Cultured Ginseng Cells." *Ultrasonic Sonochemistry* .**8**. hlm 347-352.
- Karlsson J. (1997) "Principles of Radical Formation." dlm Karlsson J. "Antioxidant and Exercise." United States: Human kinetics.
- Khachik, F., Beecher, G. R. dan Whittaker, N.F. (1989). "Separation, identification and Quantification of the Major Carotenoids and Chlorophyll Constituents in Extracts of Several Green Vegetables by Liquid Chromatography." *Journal of Agricultural & Food Chemistry*. **34**. hlm 603-616.
- Khachik, F. (2001). "Process for Extraction and Purification of Lutein, Zeaxanthin and Rare Carotenoids from Marigold Flowers and Plants." (U.S. Patent:6,262,284).
- Kikuzaki, H., dan Nakatani, N. (1993). "Antioxidant Effects of Some Ginger Constituents." *Journal of Food Science*. **58**. hlm 1407-1410.
- Kull D. dan Pfander, H. (1995). "Isolation and Identification of carotenoids from the Petals of rape (Brassica Napus)." *Journal of Agricultural & Food Chemistry*. **43**. hlm 10-12.
- Kwok-wai Lam, dan But, P. (1999). "The Content of Zeaxanthin in Qou Qi Zi, a Potential Health Benefit to Improve Visual Acuity." *Journal of Food Chemistry*. **67**. hlm 173-176.

Madley H. Rebecca (2000) "Seeing is Believing" *Nutraceuticals World*, **May/June 2000**.

Majchrzak, D., Frank, U., dan Elmadfa, I. (2000). "Carotenoid Profile and Retinol Content of Baby Food Products." *Eur Food Res Technol.* **210**. hlm 407-413.

Marsin Sanagi (1998). "Teknik Pemisahan Dalam Analisis Kimia." Universiti Teknologi Malaysia.

Mason, T.J. (1990). "Sonochemistry: The Uses of Ultrasound in Chemistry" The Royal Society of Chemistry, Cambridge.

Mason T.J. dan Lorimer, J.P. (1998). "Sonochemistry." Ellis Horwood Ltd.

McClements, D.J. (1995). "Ultrasonic in Food Processing." Elsevier Science B.V., Netherlands

Meloan, C.E. (1999). "Chemical Separations : Principles, Techniques and Experiments" John Wiley and Sons, United States of America.

Muhammad Hisyam Lee (2000). "Jadual Statistik Untuk Kejuruteraan Dan Sains" Universiti Teknologi Malaysia.

Newell, F.W. (1996). " Ophthalmology: Principal and Concepts (8th edition)." Mosby Year Book, United States of America.

Norhalieza, A. (2000). "Ensiklopedia Sains dan Teknologi (Kejuruteraan Kimia dan Sumber Asli) : Penyarian." Dewan Bahasa dan Pustaka, Malaysia. hlm: 557-563.

Packer, L. (1992). "Carotenoids: Chemistry, Separation, Quantitation and Antioxidant." *Methods in Enzymology* Vol 213, Academic Press, United States of America.

- Passwater, R.A. (1998) "All About Antioxidants." New York : Avery Publishing Group.
- Richard, K.H.W (2000) "Eye on Eye Health (Recent research on nutraceuticals for eye health)." *Nutraceuticals World*.3. No.5. hlm: 44-49.
- Robiah, Y. (2000). "Ensiklopedia Sains dan Teknologi (Kejuruteraan Kimia dan Sumber Asli) : Operasi Unit." Dewan Bahasa dan Pustaka, Malaysia. hlm: 339-341.
- Rodziah, A. (1999). "Kamus Kejuruteraan Kimia" Dewan Bahasa dan Pustaka, Kuala Lumpur
- Rohana, A. dan Amir, H.K.(1992) " Kimia Analisis: Kaedah Pemisahan." Dewan Bahasa dan Pustaka, Kuala Lumpur.
- Rosli Mohd Yunus. (1996). "Ultrasound Fields in Crossflow Microfiltration." University of Wales Swansea : Tesis Ph.D.
- Rydberg, J., Musikas, Claude, Choppin dan Gregory, R. (1992) "Principles and Practices of Solvent Extraction." 270 Madison Avenue, New York.
- Sargenti, S.R. dan Vichnewski,W. (2000). "Sonication and Liquid Chromatography as a Rapid Technique for Extraction and Fractionation of Plant Material." *Phytochemical Analysis*.11. hlm 69-73.
- Schiedt, K. Dan Liaaen-Jensen, S. (1995). "Isolation and Analysis". dlm Britton, G., Liaaen-Jensen, S. Dan Pfander, H. (Ed). "Carotenoids. Vol IA : Isolation and Analysis." Basel : Birkhauser Verlag. 107.
- Siong, T. E (1988). "Carotenoids and Retinoids in Human Nutrition." Institute of Medical Research, Kuala Lumpur.

- Sommerburg, O., Keunen, J.E.E., Bird, A.C. dan Kuijk, F.J.G. (1998). "Fruits and Vegetables That are Sources for Lutein and Zeaxanthin: The Macular Pigment in Human Eyes." *British Journal of Ophthalmology*. **82**. hlm 907-910.
- Spiro, M., dan Kandiah, M. (1990). "Discovering Herbs." *J. Food Sci. Technol.* **85**, hlm 1866-1875.
- StatSoft, Inc. (2000). "STATISTICA Version 5.0." Tulsa. Software.
- Steinmetz, K.A. dan Potter, J.D. (1991). "Vegetables, Fruit and Cancer" dlm Erik, J.M. Konings and Harry, H. S. Roomans . "Evaluation and Validation of an LC Method for the Analysis of Carotenoids in Vegetables and Fruit." *Journal of Food Chemistry*. **59**. hlm 599.
- Suhaila, M., dan Azizah, O. (1990). "Seminar on Advances in Food Research III" Universiti Pertanian Malaysia, Malaysia. hlm 188- 216.
- Sulman, M.G., Pirog, D.N., Ankudinova, T.V., Sulman, E.M dan Semagina, N.V. (1997). "The Extraction Process From the Vegetable Raw Material in the Ultrasonic Field." *1st European Congress on Chemical Engineering: Florence, Italy*. **4**. hlm 3017-3018
- Teodor, H., Carmen, S., Ioana, R. dan Gavril, N., (1997). "Carotenoid Composition of Rosa Canina Fruits Determine by Thin Layer Chromatography and High Performance Liquid Chromatography." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **16**. hlm 521-528.
- Thomas, Ronald, L., Deibler, Kathryn Diane, Barmore dan Charles Rice (1998). "Extraction of Pigment from Plant Material." (U.S Patent: 5,830,738).
- Tiwari, K.K. (1995) "Extraction technologies related to food processing." Elsevier Science B.V., Netherlands

Tufts University Diet & Nutrition Letter (1995). "Sighted : Foods for Better Vision."
12. isu 11.

USDA-NCC Carotenoid Database For U.S. Foods (1998). "Zeaxanthin Content of
Selected U.S. Foods." United States of America.

Virgilli, S., Nuria, Martorell, F., Carles, J., De Bloss De Clercq, Mildred, Martin, F.,
dan Juan, A. (1999) "Process for Preparing Carotenoids Pigments." (U.S
Patent: 5,998,678).

Wan Aini dan Zuhaimy (1991). "Statistik untuk Kimia Analisis" Unit Penerbitan
Akademik, Universiti Teknologi Malaysia.

Yates, J. R.W., dan Moore, A. T. (2000) "Genetic Susceptibility to Age Related
Macular Degeneration." *Journal of Medical Genetics*. 37. hlm 83-87.

Young, A. dan Britton, G. (1993). "Carotenoids in photosynthesis" Chapman and
hall, Great Britain. hlm 409-452.

[http : // www. Ama-assn.org](http://www.Ama-assn.org) (5 Oktober 2003)

[http : // www.zeavision.com](http://www.zeavision.com) (13 September 2003)