



UNIVERSITI PUTRA MALAYSIA

**KOMPOSISI NUTRIEN, AKTIVITI ANTIOKSIDAN TOTAL DAN
KESAN ANTIKANSER EKSTRAK TUMBUHAN *AMARANTHUS
GANGETICUS*, *COLEUS BLUMEI* DAN *COLEUS ATROPURPUREUS***

HUZAIMAH BT ABDULLAH SANI

FPSK (M) 2002 8

**KOMPOSISI NUTRIEN, AKTIVITI ANTIOKSIDAN TOTAL DAN KESAN
ANTIKANSER EKSTRAK TUMBUHAN *AMARANTHUS GANGETICUS*,
COLEUS BLUMEI DAN *COLEUS ATROPURPUREUS***

Oleh

HUZAIMAH BT ABDULLAH SANI

**Tesis Ini Dikemukakan Kepada Sekolah Pengajian Siswazah,
Sebagai Memenuhi Keperluan Untuk Ijazah Master Sains,
Universiti Putra Malaysia**

April 2002



Abstrak tesis yang dikemukakan kepada Senat Universiti Putra Malaysia sebagai memenuhi keperluan untuk ijazah Master Sains

KOMPOSISI NUTRIEN, AKTIVITI ANTIOKSIDAN TOTAL DAN KESAN ANTIKANSER EKSTRAK TUMBUHAN *AMARANTHUS GANGETICUS*, *COLEUS BLUMEI* DAN *COLEUS ATROPURPUREUS*

Oleh

HUZAIMAH ABDULLAH SANI

April 2002

Pengerusi : Profesor Madya Asmah Rahmat, Ph.D

Fakulti : Perubatan dan Sains Kesihatan

Kajian ini dijalankan bagi menentukan kandungan nutrien, aktiviti antioksidan serta kesan anti kanser tiga jenis tumbuhan iaitu bayam merah (*Amaranthus gangeticus* Linn), ati-ati (*Coleus blumei* Benth) dan ati-ati merah/ besar (*Coleus atropurpureus* Benth). Pemilihan adalah berdasarkan penggunaannya sebagai makanan dan ubatan tradisional di Malaysia. Bagi analisis proksimat, mineral dan vitamin A, kaedah adalah merujuk kepada AOAC (1984) dan data-data yang diperolehi dibandingkan dengan sawi (*brassica juncea*) dan bayam putih (*Amaranthus viridis*) (Tee et al., 1997). Keputusan menunjukkan *A. gangeticus* mengandungi kandungan protein (2.7%) dan abu (3.1%) yang tinggi. Kandungan karbohidrat (4.6%) dan lemak (6.6%) pula didapati tinggi pada *C. atropurpureus*. Bagi kandungan mineral (AOAC, 1984), didapati *A. gangeticus* mempunyai kandungan mineral yang tinggi terutamanya kalsium iaitu sebanyak 160.98mg/100g dan ferum (88.51mg/100g). Kandungan kalium, natrium dan vitamin A bagi *A. gangeticus*, *C. blumei* dan *C. atropurpureus* pula didapati rendah berbanding sawi dan bayam putih manakala jumlah kandungan serat bagi ketiga-tiga tumbuhan tersebut tidak jauh berbeza dengan jumlah kandungan serat bagi sawi dan bayam putih. Bagi



aktiviti antioksidan pula, kaedah ferik tiosianat (FTC) (Kikuzaki & Nakatani, 1993) dan asid tiobarbiturik (TBA) (Ottolenghi, 1959) digunakan. Keputusan mendapati ekstrak akuas bagi setiap sampel adalah lebih tinggi berbanding ekstrak organik ($p < 0.05$). Secara keseluruhannya aktiviti antioksidan bagi ekstrak akuas *A. gangeticus* adalah lebih tinggi (99.42%) ($p < 0.05$) berbanding sampel-sampel lain termasuk α -tokoferol (94.52%) (antioksidan semulajadi) tetapi lebih rendah ($p < 0.05$) berbanding aktiviti antioksidan BHT (antioksidan sintetik) (99.63%). Bagi kajian *in vitro* pula, asai sitotoksik mikrotitrasi dilakukan dengan menggunakan kit asai 3-(4,5-dimetilthiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida (MTT). Keputusan menunjukkan ekstrak akuas bagi ketiga-tiga tumbuhan tersebut terutamanya *A. gangeticus*, mampu merencat proliferasi sel-sel kanser hepar (HepG2) dan kanser payudara (MCF-7). Bagi sel HepG2, nilai IC_{50} bagi ekstrak akuas *A. gangeticus* adalah $93.8\mu\text{g/ml}$ manakala bagi sel MCF-7 pula, nilai IC_{50} nya pula adalah $98.8\mu\text{g/ml}$. Ekstrak akuas *C. blumei* pula didapati mampu merencat viabiliti sel kanser HepG2 dan MCF-7 sebanyak 50% (IC_{50}) pada dos $103.0\mu\text{g/ml}$ dan $105.2\mu\text{g/ml}$ masing-masing. Bagi ekstrak akuas *C. atropurpureus* pula, didapati turut terdapat kesan perencatan pada sel-sel kanser HepG2 dan MCF-7. Walaubagaimanapun, ianya tidak begitu ketara walaupun dos yang tinggi telah digunakan. Bagi sel kanser kolon (CaCo-2), didapati kesan perencatan bagi ketiga-tiga tumbuhan tersebut adalah kurang berbanding sel HepG2 dan MCF-7 manakala bagi sel normal Chang, tiada kesan perencatan. Di dalam kajian *in vivo* pula, aruhan hepatokarsinogenesis pada tikus dilakukan dengan menggunakan kaedah Solt dan Farber (1976) tanpa hepatektomi separa. Asai enzim petanda tumor iaitu glutathion S-transferase (GST), gama-glutamyl transpeptidase (GGT), uridil difosfoglukuronil transferase (UDPGT) dan alkalin fosfatase (ALP) telah dijalankan bagi menentukan keterukan hepatokarsinogenesis. Secara umum,

hasil kajian mendapati pemberian ekstrak akwas *A. gangeticus* dalam dos 5%, 7.5% dan 10% kepada tikus normal tidak menunjukkan sebarang perubahan yang bererti berbanding normal ($p>0.05$). Pendedahan tikus-tikus pada karsinogen dietilnitrosamin (DEN) dan 2-asetilaminoflouran (AAF) pula menunjukkan peningkatan aktiviti spesifik enzim GGT, GST, UDPGT dan ALP yang bererti berbanding normal ($p<0.05$). Walaubagaimanapun, dengan pemberian ketiga-tiga dos ekstrak akwas *A. gangeticus* kepada tikus-tikus teraruh kanser tersebut terutamanya pada dos 10%, aktiviti spesifik kesemua enzim-enzim petanda ($p<0.05$) dapat diturunkan. Pemberian dadah antikanser glisirhizin pada dos yang dicadangkan (0.005%) pula didapati tidak menyebabkan sebarang penurunan yang bererti berbanding kumpulan teraruh kanser ($p>0.05$). Sebagai kesimpulan, *A. gangeticus* merupakan suatu tumbuhan ubatan yang baik berbanding *C. blumie* dan *C. atropurpureae*. Selain membekalkan makronutrien dan mikronutrien yang diperlukan oleh tubuh badan serta antioksidan yang tinggi, ia juga dapat menurunkan risiko kanser payudara dan juga hepar tanpa mengganggu pertumbuhan sel normal.

Abstract of thesis presented to the Senate of Universiti Putra Malaysia in fulfilment of the requirement for the degree of Master of Science

**NUTRIENT COMPOSITION, TOTAL ANTIOXIDANT ACTIVITY AND ANTI
CANCER EFFECT OF *AMARANTHUS GANGETICUS*, *COLEUS
BLUMEI* AND *COLEUS ATROPURPUREUS* EXTRACTS**

By

HUZAIMAH ABDULLAH SANI

April 2002

Chairman : Associate Professor Asmah Rahmat, Ph.D

Faculty : Medicine and Health Sciences

The objectives of this study were to determine the nutrient composition, total antioxidant activity and anti cancer effects of 3 kinds of plant namely red spinach (*Amaranthus gangeticus* Linn), flame nettle (*Coleus blumei* Benth) and 'ati-ati merah/ besar' (*Coleus atropurpureus* Benth). Selection was based on the usage of these plants as food and traditional medicine in Malaysia. For proximate, mineral and vitamin A analysis, the methods from AOAC (1984) were referred and all the results were compared with mustard leaves (*brassica juncea*) and white spinach (*Amaranthus viridis*) (Tee et al., 1997). The result showed that *A. gangeticus* was high in protein (2.7%) and ash (3.1%). The content of carbohydrate (4.6%) and fat (6.6%) were higher in *C. atropurpureus*. *A. gangeticus* was also found to be particularly high in mineral content especially calcium (160.98mg/100g) and iron (88.51mg/100g). The content of pottassium, sodium and vitamin A were found to be in moderate amount in *A. gangeticus*, *C. blumei* and *C. atropurpureus* compared to mustard leaves and white spinach. For antioxidant activity, the ferric thiocyanate (FTC) (Kikuzaki & Nakatani, 1993) and thiobarbituric acid (TBA) (Ottolenghi, 1959) methods were referred. The



result found that aqueous extracts of each sampel seemed to be higher than the organic extracts ($p < 0.05$). Overall, the antioxidant activity of aqueous extract of *A. gangeticus* was found to be higher (99.42%) ($p < 0.05$) compared to other samples including α -tocopherol (94.52%) (natural antioxidant). However the activity was lower ($p < 0.05$) compared to BHT (99.63%) (synthetic antioxidant). For *in vitro* study, microtitration cytotoxic assay was done using 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) kit assay. Results showed that aqueous extracts of the selected plants especially *A. gangeticus* inhibited the proliferation of liver cancer cell line (HepG2) and breast cancer cell line (MCF-7). The IC_{50} values of *A. gangeticus* extract were 93.8 μ g/ml and 98.8 μ g/ml for HepG2 and MCF-7 respectively. The extract of *C. blumei* was found to inhibit 50% of HepG2 and MCF-7 viability at 103.0 μ g/ml and 105.2 μ g/ml respectively. As for *C. atropurpureus* extract, the inhibitory effect was also observed in HepG2 and MCF-7 cancer cell line but not very well defined. The inhibitory effect was also observed in colon cancer cell line (CaCo-2) for those plants, but at lower percentage compared to HepG2 and MCF-7. For normal cell line Chang, there was no inhibitory effect. In the *in vivo* study, hepatocarcinogenesis was monitored in rats according to Solt and Farber (1976) without partial hepatectomy. Assay of tumour marker enzymes such as glutathione S-transferase (GST), gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), uridyl diphosphoglucuronyl transferase (UDPGT) and alkaline phosphatase (ALP) were carried out to determine the severity of hepatocarcinogenesis. The result found that supplementation of 5%, 7.5% and 10% of *A. gangeticus* aqueous extract to normal rats did not show any significant difference towards normal control ($p > 0.05$). The exposure of the rats to chemical carcinogens diethylnitrosamine (DEN) and 2-acetylaminoflourene (AAF) showed a significant increased in spesific enzyme activity of GGT, GST, UDPGT

and ALP compared to normal control ($p < 0.05$). However, it was found that the supplementation of *A. gangeticus* aqueous extract in 5%, 7.5% and 10% to cancer-induced rats could inhibit the activity of all tumour marker enzymes especially at 10% ($p < 0.05$). Supplementation of anticancer drug glycyrrhizin at suggested dose (0.005%) did not show any suppressive effect towards cancer control ($p > 0.05$). As a conclusion, *A. gangeticus* was found to be a potential medicinal plant compared to *C. blumei* and *C. atropurpureae*. Besides providing macronutrients and micronutrients and also high antioxidant activity for the body, it was found to decrease the risks of breast cancer and liver cancer without disturbing the growth of the normal cell.



PENGHARGAAN

Bismillahirrahmanirrahim

Dengan nama Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang Alhamdulillah, syukur ke hadrat Allah SWT kerana dengan limpah rahmat dan izinNya maka dapatlah saya menyiapkan tesis ini dengan sebaiknya

Di kesempatan ini, ingin saya merakamkan ucapan setinggi-tinggi penghargaan kepada Prof Madya Dr Asmah Rahmat, Prof Madya Dr Maznah Ismail dan Dr Rozita Rosli di atas segala bimbingan dan nasihat sepanjang projek penyelidikan ini dijalankan Tidak lupa juga buat Susie Endrini, pelajar PhD yang juga merangkap sebagai penolong penyelidik siswazah (GRA), di atas segala tunjuk ajar beliau sepanjang saya mengendalikan kerja-kerja makmal terutamanya kultur tisu Ribuan terimakasih juga saya ucapkan buat kakitangan Fakulti Perubatan dan Sains Kesihatan umumnya dan Jabatan Pemakanan dan Sains Kesihatan khususnya terutama buat Pn Siti Muskinah, En Abidin, Pn Maznah, En Simon dan juga kepada seluruh kakitangan sama ada yang terlibat secara langsung mahupun tidak langsung

Buat kedua ibubapa, suami dan keluarga tersayang, terimakasih kerana memahami situasi diri dan terimakasih juga di atas sokongan kalian selama ini Akhirnya, tidak dilupakan rakan-rakan seperjuangan khususnya Susi Endrini, Suherman, Rosnah, Rabeta, Siti Sabariah, Fadhilah, Azlina dan Abdah, galakan dan tunjuk ajar kalian tidak akan saya lupakan Sekian, terimakasih

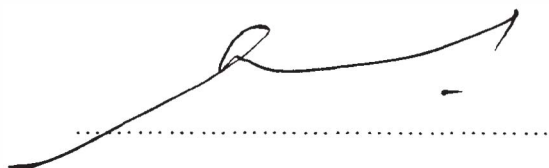
Saya mengesahkan bahawa Jawatankuasa Pemeriksa bagi Huzaimah bt. Abdullah Sani telah mengadakan pemeriksaan akhir pada 12hb April 2001 untuk menilai tesis Master Sains beliau yang bertajuk “Komposisi Nutrien, Aktiviti Antioksidan Total dan Kesan Antikanser Ekstrak Tumbuhan *Amaranthus gangeticus*, *Coleus blumei* dan *Coleus atropurpureus* “ mengikut Akta Universiti Pertanian Malaysia (Ijazah Lanjutan) 1980 dan Peraturan-Peraturan Universiti Pertanian Malaysia (Ijazah Lanjutan) 1981. Jawatankuasa Pemeriksa memperakukan bahawa calon ini layak dianugerahkan ijazah tersebut. Anggota Jawatankuasa Pemeriksa adalah seperti berikut :

Patimah Ismail, Ph.D.
Profesor Madya
Fakulti Perubatan dan Sains Kesihatan,
Universiti Putra Malaysia.
(Pengerusi)

Asmah Rahmat, Ph.D.
Profesor Madya
Fakulti Perubatan dan Sains Kesihatan,
Universiti Putra Malaysia.
(Ahli)

Maznah Ismail, Ph.D.
Profesor Madya
Fakulti Perubatan dan Sains Kesihatan,
Universiti Putra Malaysia.
(Ahli)

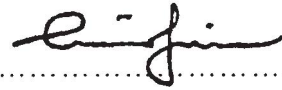
Rozita Rosli, Ph.D.
Fakulti Perubatan dan Sains Kesihatan,
Universiti Putra Malaysia.
(Ahli)



SHAMSHER MOHAMAD RAMADILI, Ph.D.
Profesor / Timbalan Dekan,
Sekolah Pengajian Siswazah,
Universiti Putra Malaysia.

Tarikh : 10 JUN 2002

Tesis ini telah diserahkan kepada Senat Universiti Putra Malaysia dan telah diterima sebagai memenuhi syarat-syarat keperluan untuk Ijazah Master Sains.



AINI IDERIS, Ph.D.
Profesor / Dekan,
Sekolah Pengajian Siswazah,
Universiti Putra Malaysia.

Tarikh: 08 AUG 2002

PENGAKUAN

Saya mengaku bahawa tesis ini adalah hasil kerja saya yang asli melainkan petikan dan sedutan yang telah diberi penghargaan di dalam tesis. Saya juga mengaku bahawa tesis ini tidak dimajukan untuk ijazah-ijazah lain di Universiti Putra Malaysia atau institusi-institusi lain.



.....
HUZAIMAH BT ABDULLAH SANI

Tarikh : 7 JUN 2002

ISI KANDUNGAN

	Mukasurat
ABSTRAK	ii
ABSTRACT	v
PENGHARGAAN	viii
PENGESAHAN	ix
PENGAKUAN	xi
SENARAI JADUAL	xv
SENARAI RAJAH	xviii
SENARAI PLAT	xxi
DAFTAR ISTILAH	xx
 BAB	
 I	
PENGENALAN	1
 II	
KAJIAN PERPUSTAKAAN	
Fitofarmaseutikal	6
<i>Amaranthus gangeticus</i> Linn	7
<i>Coleus atropurpureus</i> Benth	9
<i>Coleus blumei</i> Benth	10
Kanser	14
Epidemiologi Kanser	16
Karsinogenesis	17
Karsinogenesis Kimia	20
Dietilnitrosamin (DEN)	21
2-asetilaminofloren (2-AAF)	22
Tumbuhan Sebagai Agen Antikanser	25
Hipotesis Pencegahan Kanser	28
Nutrien	32
Nutrien Dan Kanser	33
Radikal Bebas	36
Antioksidan	39
Peranan Antioksidan Sebagai Agen Kimopreventif	40
Mekanisme Aktiviti Antikarsinogenik Antioksidan	43
Asai Sitotoksik Mikrotitrasi <i>In Vitro</i>	44
Asai MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida]	45

Peranan Enzim Petanda Tumor Dalam Pengesanan Hepatokarsinogenesis	46
Gama-glutamil Transpeptidase (GGT)	48
Glutation S-transferase (GST)	49
Uridil Difosfoglukuronil Transferase (UDPGT)	51
Alkalin Fosfatase (ALP)	53
Glisirhizin	54

III BAHAN-BAHAN DAN KAEDAH

Sampel	55
Bahan-Bahan dan Peralatan	55
Kaedah Penentuan Kandungan Nutrien	59
Analisis Komposisi Proksimat	59
Penentuan Kandungan Vitamin	59
Penentuan Kandungan Mineral	59
Kaedah Asai Antioksidan Total	60
Kaedah Pengekstrakan	60
Kaedah Ferik Tiosianat (FTC)	61
Kaedah Asid Tiobarbiturik (TBA)	62
Pengiraan Nilai Aktiviti Antioksidan	63
Kaedah Kajian <i>In Vitro</i>	63
Teknik Pengkulturan Sel	64
Pengsubkulturan Sel	64
Penentuan Viabiliti Sel	65
Kaedah Pengekstrakan	65
Kaedah Rawatan	66
Asai MTT [(3(4,5-dimetiltiazol-2-)-2,5-difenil tetrazolium bromida]	66
Kaedah Kajian <i>In Vivo</i>	68
Protokol Projek Penyelidikan Haiwan	68
Penyediaan Ekstrak Akuas <i>A. gangeticus</i>	69
Penyediaan Dietilnitrosamin (DEN)	69
Penyediaan Asetilaminofloren (AAF)	69
Penyediaan Fraksi Mikrosom dan Sitosol	70
Pengasaan Aktiviti Spesifik Gama-glutamil Transpeptidase (GGT)	72
Pengasaan Aktiviti Spesifik Glutation S-transferase (GST)	73
Pengasaan Aktiviti Spesifik Uridil Difosfoglukuronil Transferase (UDPGT)	74
Pengasaan Aktiviti Spesifik Alkalin Fosfatase (ALP)	75
Penentuan Kepekatan Protein	76
Analisa Data	77

IV	HASIL PENYELIDIKAN	
	Komposisi Nutrien <i>A. gangeticus</i> , <i>C. blumei</i> dan <i>C. atropurpureus</i>	78
	Analisis Aktiviti Antioksidan Total	81
	Kajian <i>In Vitro</i>	90
	Kajian <i>In Vivo</i>	96
	Peningkatan Berat Badan	96
	Nisbah Berat Hepar/ Berat Badan	97
	Aktiviti Spesifik Gama-glutamil Transpeptidase (GGT) Mikrosom	98
	Aktiviti Spesifik Gama-glutamil Transpeptidase (GGT) Plasma	100
	Aktiviti Spesifik Glutation S-transferase (GST)	102
	Aktiviti Spesifik Uridil Difosfoglukuronil Transferase (UDPGT)	105
	Aktiviti Spesifik Alkalin Fosfatase (ALP)	107
V	PERBINCANGAN	
	Komposisi Nutrien <i>A. gangeticus</i> , <i>C. blumei</i> dan <i>C. atropurpureus</i>	110
	Analisis Aktiviti Antioksidan Total	115
	Kajian <i>In Vitro</i>	119
	Kajian <i>In Vivo</i>	122
	Peningkatan Berat Badan dan Berat Hepar Serta Nisbahnya	121
	Aktiviti Spesifik Gama-glutamil Transpeptidase (GGT)	124
	Aktiviti Spesifik Glutation S-transferase (GST)	126
	Aktiviti Spesifik Uridil Difosfoglukuronil Transferase (UDPGT)	129
	Aktiviti Spesifik Alkalin Fosfatase (ALP)	130
VI	KESIMPULAN DAN CADANGAN	132
	RUJUKAN	136
	LAMPIRAN	153
	VITA	162

SENARAI JADUAL

Jadual		Mukasurat
1.	Penyebab-penyebab mortaliti kanser.	17
2.	Kesan perencatan beberapa fitokimia dalam buah-buahan dan sayur-sayuran ke atas model haiwan yang teraruh karsinogenesis kimia.	27
3.	Contoh-contoh spesis oksigen reaktif (radikal bebas)	37
4.	Antioksidan eksogenus dan endogenus yang terdapat di dalam kebanyakan sel-sel aerobik.	40
5.	Antioksidan semulajadi fenolik yang mempunyai aktiviti antikarsinogenik dan antimutagenik.	42
6.	Komposisi nutrien <i>A. gangeticus</i> , <i>C. blumei</i> dan <i>C. atropurpureus</i> .	80
7.	Aktiviti antioksidan total bagi setiap sampel berbanding butilated hidroksitoluen (antioksidan sintetik) mengikut kaedah FTC.	85
8.	Aktiviti antioksidan total bagi setiap sampel berbanding α -tokoferol (antioksidan semulajadi) mengikut kaedah FTC.	85
9.	Aktiviti antioksidan total bagi setiap sampel berbanding butilated hidroksitoluen (antioksidan sintetik) mengikut kaedah TBA.	88
10.	Aktiviti antioksidan total bagi setiap sampel berbanding α -tokoferol (antioksidan semulajadi) mengikut kaedah TBA.	88
11.	Nilai kepekatan bagi 50% ketoksikan ekstrak akuas <i>A. gangeticus</i> , <i>C. blumei</i> dan <i>C. atropurpureus</i> ke atas pelbagai titisan sel kanser dan sel normal Chang.	91
12.	Kesan perlakuan ke atas berat badan tikus	96
13.	Kesan perlakuan ke atas nisbah berat hepar/ berat badan tikus.	97

14.	Kesan perlakuan ke atas aktiviti spesifik enzim GGT mikrosom bagi setiap kumpulan tikus berbanding kumpulan normal bagi tempoh 3 bulan.	99
15	Kesan perlakuan ke atas aktiviti spesifik enzim GGT mikrosom bagi setiap kumpulan tikus berbanding kumpulan teraruh kanser hepar bagi tempoh 3 bulan	99
16	Kesan perlakuan ke atas aktiviti spesifik enzim GGT mikrosom bagi setiap kumpulan tikus berbanding kumpulan teraruh kanser hepar + glisirhizin bagi tempoh 3 bulan	100
17	Kesan perlakuan ke atas aktiviti spesifik enzim GGT plasma bagi setiap kumpulan tikus berbanding kumpulan normal bagi tempoh 3 bulan	101
18	Kesan perlakuan ke atas aktiviti spesifik enzim GGT plasma bagi setiap kumpulan tikus berbanding kumpulan teraruh kanser hepar bagi tempoh 3 bulan	101
19	Kesan perlakuan ke atas aktiviti spesifik enzim GGT plasma bagi setiap kumpulan tikus berbanding kumpulan teraruh kanser hepar + glisirhizin bagi tempoh 3 bulan	102
20	Kesan perlakuan ke atas aktiviti spesifik enzim GST bagi setiap kumpulan tikus berbanding kumpulan normal bagi tempoh 3 bulan	103
21	Kesan perlakuan ke atas aktiviti spesifik enzim GST bagi setiap kumpulan tikus berbanding kumpulan teraruh kanser hepar bagi tempoh 3 bulan	104
22	Kesan perlakuan ke atas aktiviti spesifik enzim GST bagi setiap kumpulan tikus berbanding kumpulan teraruh kanser hepar + glisirhizin bagi tempoh 3 bulan	104
23	Kesan perlakuan ke atas aktiviti spesifik enzim UDPGT bagi setiap kumpulan tikus berbanding kumpulan normal bagi tempoh 3 bulan	106
24	Kesan perlakuan ke atas aktiviti spesifik enzim UDPGT bagi setiap kumpulan tikus berbanding kumpulan teraruh kanser hepar bagi tempoh 3 bulan	106
25	Kesan perlakuan ke atas aktiviti spesifik enzim UDPGT bagi setiap kumpulan tikus berbanding kumpulan teraruh kanser hepar + glisirhizin bagi tempoh 3 bulan	107

26.	Kesan perlakuan ke atas aktiviti spesifik enzim ALP bagi setiap kumpulan tikus berbanding kumpulan normal bagi tempoh 3 bulan.	108
27.	Kesan perlakuan ke atas aktiviti spesifik enzim ALP bagi setiap kumpulan tikus berbanding kumpulan teraruh kanser hepar bagi tempoh 3 bulan.	109
28.	Kesan perlakuan ke atas aktiviti spesifik enzim ALP bagi setiap kumpulan tikus berbanding kumpulan teraruh kanser hepar + glisirhizin bagi tempoh 3 bulan.	109

SENARAI RAJAH

Rajah		Mukasurat
1.	Tindakbalas sel terhadap stimulasi persekitaran	15
2.	Hubungkait di antara onkogen sel di dalam pertumbuhan normal dan neoplasia.	19
3.	Gambarajah menunjukkan garis dasar proses karsinogenesis.	23
4.	Model hipotetikal bagi pembentukan tumor oleh karsinogen genotoksik dan epigenetik.	24
5.	Model karsinogenesis berperingkat dan titik di mana agen kimopreventif dicadangkan dapat berfungsi.	29
6.	Garis dasar tapak jalan aktivasi metabolik dan detoksifikasi.	31
7.	Tapak jalan pembentukan sebatian karbonil reaktif daripada proses peroksidasi lipid.	38
8.	Ringkasan protokol kajian <i>in vivo</i> (haiwan)	71
9.	Nilai penyerapan bagi setiap sampel mengikut kaedah FTC.	84
10.	Perbandingan aktiviti antioksidan ekstrak organik dan ekstrak akuas sampel mengikut kaedah FTC.	86
11.	Nilai penyerapan bagi setiap sampel mengikut kaedah TBA.	87
12.	Perbandingan aktiviti antioksidan ekstrak organik dan ekstrak akuas sampel mengikut kaedah TBA.	89
13.	Kesan perencatan ekstrak akuas tumbuhan ke atas proliferasi sel kanser HepG2.	92
14.	Kesan perencatan ekstrak akuas tumbuhan ke atas proliferasi sel kanser MCF-7.	93
15.	Kesan perencatan ekstrak akuas tumbuhan ke atas proliferasi sel kanser CaCo-2.	94
16.	Kesan perencatan ekstrak akuas tumbuhan ke atas proliferasi sel normal Chang.	95

SENARAI PLAT

Plat		Mukasurat
1.	<i>Amaranthus gangeticus</i> Linn.	22
2.	<i>Coleus atropurpureus</i> Benth.	22
3.	<i>Coleus blumei</i> Benth.	23

DAFTAR ISTILAH

AAF	2-asetilaminofloren
AAS	Spektrofotometri penyerapan atom
ALP	Alkalin fosfatase
AOAC	'Association of Official Analytical Chemists'
BSA	Albumin serum lembu
CDNB	1-Kloro-2,4-dinitrobenzen
DEA	Dietanolamin
DEN	Dietilnitrosamin
DNA	Asid deoksiribonukleik
DTNB	Asid ditionitrobenzoik
FTC	Ferik tiosianat
GGT	Gama-glutamil transpeptidase
GST	Glutation S-transferase
HPLC	Kromatografi cecair perlaksanaan tinggi
IBC	Indol-3-karbinol
NNK	4-(metilnitrosamino)-1(3-piridil)-1-butanon
NNL	4-(metilnitrosamino)-1(3-piridil)-1-butanol
TBA	Asid tiobarbiturik
TCA	Asid trikloroasetik
UDPGA	Asid uridil difosfoglukuronik
UDPGT	Uridil difosfoglukuronil transferase

BAB I

PENGENALAN

Kanser merupakan suatu penyakit yang tidak asing lagi bagi masyarakat dunia masa kini dan ia telah menjadi salah satu daripada penyebab utama kematian di dunia. Dianggarkan terdapat kira-kira 9 juta kes-kes terbaru pada setiap tahun, di mana kebanyakannya terdapat di negara-negara maju dan membangun (Sporn, 1996). Contoh-contoh kanser adalah seperti kanser paru-paru, kanser payu dara, kanser rahim dan sebagainya. Kebanyakan insiden kanser adalah disebabkan oleh faktor-faktor persekitaran seperti diet, bahan kimia, radiasi dan agen biologik seperti virus. Selain daripada itu, terdapat juga faktor-faktor yang mengarah kepada kejadian kanser contohnya bangsa, lokasi geografi, peningkatan usia dan genetik (Peto et al. 1981).

Kejadian kanser atau karsinogenesis berlaku akibat daripada keabnormalan atau perubahan yang wujud pada gen-gen yang mengawalatur pertumbuhan dan perkembangan sel-sel di dalam badan seperti gen pro-onkogen dan gen perencat tumor (Heldin et al., 1987) akibat kesan faktor-faktor yang dinyatakan di atas tadi. Keadaan ini akan menyebabkan pertumbuhan sel yang tidak terkawal yang akan



membawa kepada proses invasi (penyusupan) dan seterusnya metastasis (perebakan). Pertumbuhan yang tidak merebak dipanggil tumor benigna dan sekiranya berlaku proses invasi dan metastasis maka tahap ini pula dipanggil tumor malignan atau kanser. Perkembangan kanser adalah suatu proses yang rumit yang melibatkan beberapa langkah iaitu inisiasi, promosi dan progresi. Perubahan sel yang berlaku adalah dari segi struktur dan fungsi iaitu transformasi neoplastik, kegagalan kawalan, perubahan antigen, perubahan kromosom dan perubahan biokimia (McMillan, 1992).

Penyakit kanser sukar diubati. Walaupun terdapat rawatan-rawatan seperti kemoterapi, radioterapi dan ubat-ubatan lain tetapi ia hanyalah bersifat sementara dan perlu diambil secara berterusan dalam jangkamasa yang panjang. Namun begitu, didapati kebanyakan jenis kanser pada manusia boleh dielakkan kerana kebanyakan insiden kanser berpunca daripada diet, budaya hidup dan faktor persekitaran. Menurut Jensen dan Madsen (1988), diet kini telah menjadi tumpuan ramai penyelidik mungkin disebabkan oleh kaitan kanser yang tinggi dengan diet iaitu sebanyak 30%-60%. Maka perubahan diet yang baik boleh melindungi sepertiga kes kanser pada manusia (Jensen & Madsen, 1988). Selain daripada kajian mengenai rawatan kanser, kajian mengenai pencegahan kanser juga turut dijalankan oleh para penyelidik dari serata dunia seperti penggunaan antioksidan seperti vitamin A termasuk beta-karotin, vitamin C dan E (Sies and Stahl, 1995). Menurut Suh et al. (1995) pula, banyak tumbuhan telah diperkenalkan dan dikaji bagi mengenalpasti agen antikanser semulajadi yang terdapat pada tumbuh-tumbuhan. Dengan kata lain, pengambilan vitamin-vitamin dan tumbuh-tumbuhan tertentu di dalam diet boleh menghalang kejadian karsinogenesis.

Kajian ini penting kerana tanpa kita sedari tumbuh-tumbuhan yang terdapat di sekeliling kita juga berpotensi di dalam mencegah dan merawat penyakit kanser walaupun kebanyakannya masih lagi di dalam peringkat kajian. Jika selama ini kita seringkali disogokkan dengan ubat-ubatan komersial moden yang dihasilkan daripada bahan-bahan kimia yang bersifat sintetik, maka tidak ada salahnya sekiranya kita cuba menghasilkan suatu ubatan antikanser semulajadi yang datangnya daripada tumbuh-tumbuhan itu sendiri.

Tumbuh-tumbuhan terutamanya tumbuhan herba telah lama dikenalpasti sebagai sumber pelbagai jenis agen kemoterapeutik yang penting dan daripada khazanah perubatan tradisional bagi setiap tempat di dunia ini, didapati kebanyakannya adalah bersumberkan tumbuh-tumbuhan yang berada di sekitar mereka. Ini adalah kerana secara saintifiknya tumbuh-tumbuhan tersebut mengandungi sebatian atau unsur yang dipanggil fitokimia yang boleh memainkan peranan di dalam mengubati sesuatu penyakit. Maka, apa yang boleh dinyatakan di sini ialah tumbuhan merupakan sumber ubatan semulajadi yang baik bagi menghalang atau mengubat sesuatu penyakit dan hakikatnya, 60% daripada ubat-ubatan yang terdapat di dalam pasaran masa kini adalah datangnya daripada tumbuh-tumbuhan itu sendiri (Zakaria dan Ali Mohd, 1994).

Tumbuh-tumbuhan tertentu yang dipercayai mempunyai nilai aktiviti antioksidan yang tinggi dan yang mengandungi sebatian antikanser semulajadi telah menjadi suatu elemen yang penting di dalam strategi pencegahan dan rawatan kanser (Watson & Mufti, 1995). Atas sebab inilah, sebatian-sebatian semulajadi yang berpotensi di dalam pencegahan penyakit telah menjadi skop yang penting di dalam

bidang penyelidikan Sains Klinikal. Kajian mengenai pemencilan dan pengenalpastian bagi tumbuh-tumbuhan anti-neoplastik telah bermula pada akhir tahun 1940an lagi. Menurut Sneden (1984), beberapa sebatian perencat tumor semulajadi atau turunannya seperti alkaloid vinka dan derivat lignan podofillotoksin telah dibuktikan berguna secara klinikal di dalam perubatan. Kajian mengenai sebatian anti kanser didapati meningkat sejak 25 tahun kebelakangan ini, iaitu apabila wujudnya peningkatan dalam penyelidikan yang menjurus kepada pemencilan tumbuh-tumbuhan spesifik dan penjelasan yang bersifat struktural bagi tumbuh-tumbuhan anti-neoplastik tersebut (Sneden, 1984).

Kajian yang akan dijalankan ini juga berkaitan dengan pencegahan dan perawatan kanser di mana dua jenis pokok ati-ati iaitu *Coleus atropurpureus* dan *Coleus blumei* dan bayam merah (*Amaranthus gangeticus*) yang digunakan, dipercayai boleh bertindak sebagai agen anti-kanser. Selain daripada itu, kajian mengenai aktiviti antioksidan bagi ketiga-tiga sampel itu juga turut dilakukan kerana sebagaimana yang kita sedia maklum, antioksidan memainkan peranan yang penting dalam memerangi radikal bebas yang boleh menyebabkan kerosakan kepada sel. Kerosakan tersebut pula berkait rapat dengan proses penuaan dan penyakit-penyakit degeneratif dan kronik termasuk kanser. Maka objektif khusus bagi kajian yang dijalankan adalah seperti berikut:

1. Menentukan komposisi nutrien *A. gangeticus*, *C. blumei* dan *C. atropurpureus* termasuk kandungan vitamin, mineral, protein, karbohidrat, serat dan lipid serta aktiviti antioksidan total.