







tesis

QK 495 .G74 N3 2014



1100093238  
Characterization and mode of action of phytotoxic compounds  
isolated from Pennisetum purpureum (Napier Grass) /  
Norhafizah Md Zain.

PUSAT PEMBELAJARAN DIGITAL SULTANAH NUR ZAHIRAH  
UNIVERSITI MALAYSIA TERENGGANU (UMT)  
21030 KUALA TERENGGANU

1100093238


Lihat Sebelah

**HAK MILIK**  
PUSAT PEMBELAJARAN DIGITAL SULTANAH NUR ZAHIRAH



**CHARACTERIZATION AND MODE OF ACTION OF  
PHYTOTOXIC COMPOUNDS ISOLATED FROM  
*Pennisetum purpureum* (NAPIER GRASS)**

**NORHAFIZAH BINTI MD ZAIN**

**Thesis Submitted in Fulfillment of the Requirement for the  
Degree of Doctor of Philosophy in the School of Food  
Science and Technology  
Universiti Malaysia Terengganu**

**April 2014**



Abstract of thesis presented to the Senate of Universiti Malaysia Terengganu in fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy

**CHARACTERIZATION AND MODE OF ACTION OF PHYTOTOXIC COMPOUNDS ISOLATED FROM *Pennisetum purpureum* (NAPIER GRASS)**

**NORHAFIZAH BINTI MD ZAIN**

**April 2014**

**Supervisor : Associate Professor Dr Chuah Tse Seng, Ph.D.**

**School/ Institute/ Centre : Food Science and Technology**

The intensive use of synthetic herbicide has been the cause for the evolution of herbicide-resistant weeds, besides having a serious threat to human health and the environment. The need for new and more environmental friendly herbicides becomes obvious to solve the dilemma of the continued demand for herbicides. Hence, this study was conducted to examine the herbicidal activity of compounds isolated and identified from *Pennisetum purpureum* as well as to elucidate its mechanism of action. Phytotoxicity tests such as seed germination, leaf disc discoloration and seedling growth revealed that culm plus leaf tissue of *P. purpureum* extract was more phytotoxic than its root tissue after being examined with grassy weed of *Leptochloa chinensis* and broadleaved weed of *Hedyotis verticillata*. The culm plus leaf tissue was subsequently selected to determine its herbicidal potential using four different solvents ranging from low to high polarity; with the greatest inhibitory effect was exerted by ethyl acetate extract. The isolation of the ethyl acetate extract further yielded nine fractions where the highest suppressive ability was exerted by fraction five, indicating that the compounds responsible for the phytotoxic effect reside within this fraction. Re-fractionation of the fraction five also yielded nine fractions where fraction nine gave the highest inhibitory effect on the root growth of *L. chinensis* (>74% inhibition) besides degrading leaf pigment of *H. verticillata*.



Three major compounds: 2,4-di-tert-butylphenol (2,4-DTBP), *cis*-9-octadecenoic methyl ester (methyl oleate) and phthalic acid, mono-(2-ethylhexyl) ester (MEHP) were identified from the fraction nine. Of the three, 2,4-DTBP was the most potent where it completely inhibited the germination of *L. chinensis* and diminished the green colour of *H. verticillata* leaf disc at 500 $\mu$ g mL<sup>-1</sup>. Soil bioassay further demonstrated that 2,4-DTBP is a strong root inhibitor which completely prevented root growth of *L. chinensis* at an application rate of 0.60kg a.i ha<sup>-1</sup>. Under aerobic conditions, 2,4-DTBP at 2.4kg a.i ha<sup>-1</sup> reduced the emergence and shoot fresh weight of *L. chinensis* by >60%, with negligible effect on the growth of aerobic rice seedlings starting from 6 day after sowing (DAS) and onwards. On the biochemical and physiological basis, 2,4-DTBP caused significant increased levels of malondialdehyde, excessive ion leakage as well as increased activities of antioxidant enzymes in both leaf and root tissues of bioassay species. However, 2,4-DTBP treatment caused great reduction in chlorophyll content, thereby declining chlorophyll fluorescence, transpiration and net photosynthetic rate in the leaf tissues. These results imply that 2,4-DTBP acts by inducing oxidative stress through the generation of reactive oxygen species which cause lipid peroxidation and membrane damage in root tissues and chloroplast in leaf tissues, thus leading to increased levels of antioxidant enzymes.



Abstrak tesis yang dikemukakan kepada Senat Universiti Malaysia Terengganu sebagai memenuhi keperluan untuk Ijazah Doktor Falsafah

**PENCIRIAN DAN MOD TINDAKAN SEBATIAN FITOTOKSIK DIPENCIL DARIPADA *Pennisetum purpureum* (RUMPUT GAJAH)**

**NORHAFIZAH BINTI MD ZAIN**

**April 2014**

**Penyelia : Profesor Madya Dr Chuah Tse Seng, Ph.D.**

**Pusat Pengajian / Institut/ Pusat : Sains dan Teknologi Makanan**

Penggunaan racun herba sintetik secara intensif telah menyebabkan evolusi kerintangan rumpai selain memberi ancaman serius terhadap kesihatan manusia dan alam sekitar. Penghasilan racun herba baru dan lebih mesra alam adalah perlu untuk memenuhi permintaannya yang berterusan. Oleh itu, kajian ini bertujuan untuk melihat aktiviti fitotoksik daripada sebatian yang telah dipencilkan dan dikenalpasti daripada *Pennisetum purpureum* serta untuk menjelaskan mekanisma tindakannya. Ujian fitotoksik seperti percambahan biji benih, pertumbuhan anak pokok dan penyahwarnaan cakera daun membuktikan bahawa ekstrak tisu batang dan daun daripada *P. purpureum* adalah lebih fitotoksik berbanding tisu akar setelah diuji dengan rumpai berdaun tirus, *Leptochloa chinensis* dan rumpai berdaun lebar, *Hedyotis verticillata*. Tisu batang dan daun kemudiannya dipilih untuk menentukan potensi aktiviti fitotoksik dengan menggunakan empat pelarut berbeza yang mempunyai julat kepolaran rendah hingga ke kepolaran tinggi; dan perbandingan keputusan bioasai menunjukkan ekstrak etil asetat ialah ekstrak yang paling fitotoksik. Pemencilan ekstrak etil asetat seterusnya menghasilkan sembilan fraksi di mana fraksi ke 5 mempunyai kesan perencatan yang tertinggi. Hasil kajian ini menunjukkan bahawa sebatian yang bertanggungjawab untuk aktiviti fitotoksik berada di dalam fraksi ini. Pemisahan semula fraksi ke 5 turut menghasilkan



sembilan fraksi di mana fraksi ke 9 mempunyai kesan perencatan yang paling tinggi ke atas pertumbuhan akar *L. chinensis* (> 74% perencatan) selain menguraikan pigmen daun *H. verticillata*.

Tiga sebatian utama: 2,4-di-tert-butilfenol (2,4-DTBP), *cis*-9-oktadekenoik metil ester (metil oleat) dan asid fitalik, mono-(2-etilheksil) ester (MEHP) telah dikenalpasti daripada fraksi ke 9. Di antara tiga sebatian tersebut, 2,4-DTBP adalah paling kuat yang mana menghalang percambahan *L. chinensis* sepenuhnya dan menghilangkan warna hijau cakera daun *H. verticillata* pada kepekatan  $500\mu\text{g mL}^{-1}$ . Bioasai tanah seterusnya menunjukkan bahawa 2,4-DTBP ialah perencat akar yang kuat di mana sebatian ini mampu menghalang sepenuhnya pertumbuhan akar *L. chinensis* pada kadar  $0.60\text{kg ai ha}^{-1}$ . Dalam keadaan aerobik, 2,4-DTBP pada kadar  $2.4\text{kg ai ha}^{-1}$  mengurangkan kemunculan dan berat basah dedaun *L. chinensis* >60% tanpa memberi kesan pada pertumbuhan anak pokok padi aerobik bermula dari hari ke 6 selepas ditabur dan ke atas. Dari segi aktiviti biokimia dan fisiologi, 2,4-DTBP mengakibatkan peningkatan ketara ke atas paras malondialdehid, kebocoran ion yang berlebihan dan juga peningkatan aktiviti enzim antioksidan dalam kedua-dua tisu daun dan akar spesies bioasai. Namun, rawatan 2,4-DTBP menyebabkan pengurangan yang besar dalam kandungan klorofil, yang seterusnya mengakibatkan pendarfluor klorofil, transpirasi dan kadar fotosintesis bersih menurun dalam tisu daun. Hasil kajian ini membayangkan bahawa 2,4-DTBP bertindak dengan mencetuskan kepayahan oksidatif melalui penghasilan spesies oksigen reaktif yang menyebabkan pengoksidaan lipid dan kerosakan membran dalam tisu akar dan kloroplas dalam tisu daun, seterusnya membawa kepada peningkatan paras enzim antioksida.