

ARTIKEL

ANALISIS OTENTIKASI DAN FITOKIMIA TUMBUHAN BROTOWALI ASAL SABU RAIJUA

[Authentication and Phytochemistry Assay of Bitter Vine from Savu Raijua]

Melissa E.S Ledo*, Anggreini Rupidara, Apriliana Ballo, Sonya T. Nge, Alfandi Ngede

Pendidikan Biologi, FKIP, Universitas Kristen Artha Wacana Kupang, Jln. Adisucipto PO. BOX 147 Oesapa Kupang. NTT.

ABSTRAK

Dua jenis tumbuhan berkhasiat obat dari Sabu Raijua yang memiliki nama daerah Puri raho dan Loro wawi eddu memiliki kemiripan morfologi dengan tumbuhan brotowali, namun belum dilakukan identifikasi taksonomi dan kandungan senyawa fitokimianya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi taksonomi Puri raho dan Loro wawi eddu serta menganalisis kandungan fitokimianya (kuersetin). Penelitian ini terdiri atas 2 tahap yaitu identifikasi morfologi dan analisis penanda DNA ITS2 dilanjutkan dengan identifikasi kandungan fitokimia (kuersetin) pada ekstrak batang menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dan metode spektrofotometri. Identifikasi taksonomi tumbuhan Puri raho dan Loro wawi eddu menggunakan buku kunci determinasi menunjukkan bahwa kedua tumbuhan ini termasuk dalam ordo Ranunculales, selanjutnya perbandingan akar, batang dan daun dengan spesies dari genus *Tinospora* lainnya menunjukkan kemiripan antara Puri Raho dengan *Tinospora cordifolia* dan Loro wawi eddu dengan *Tinospora macrocarpa* namun kedua tumbuhan asal Sabu Raijua ini tidak memiliki bunga, buah dan biji sehingga dilanjutkan dengan identifikasi molekuler menggunakan penanda DNA ITS2 yang menunjukan tumbuhan Puri raho memiliki persentase identitas DNA ITS2 sebesar 100% dengan *Tinospora crispa* voucher Chen ZD s.n. (PE) Sequence ID: KY365661.1, sedangkan Loro wawi eddu menunjukkan persentase identitas DNA ITS2 sebesar 99,17 % dengan *Tinospora smilacina* voucher Gray 8798 (MO) Sequence ID: KY365675.1. Uji kualitatif kandungan kuersetin menunjukkan hasil positif dengan munculnya bercak pada plat KLT dengan Rf 0,91 pada sampel dan larutan standar kuersetin, sedangkan hasil uji spektrofotometri menunjukkan kandungan kuersetin pada ekstrak batang Puri raho sebesar 99,24 ppm dan 78,08 ppm pada ekstrak batang Loro wawi eddu.

Kata kunci: *Tinospora*, Taksonomi, DNA ITS2, Kuersetin, Loro wawi eddu, Puriraho, Sabu Raijua

ABSTRACT

Two medicine plants species from Savu Raijua which have local name Puri raho and Loro wawi eddu have morphology similarities with brotowali, however taxonomy and phytochemistry content still unidentified. The aim of this research is to identify the taxonomy of Puri raho and Loro wawi eddu also to identify the phytochemistry (quercetin) content. Two stages were done, first stage were morphology and DNA barcoding ITS2 identification to determine the taxonomy, second stage were identification of the phytochemistry (quercetin) content in extract of the stem using Thin Layer Chromatography (TLC) and spectrophotometry methods. Taxonomy identification of Puri raho and Loro wawi eddu use determination key book was showed that both plants include Ranunculales order, furthermore comparison between roots, stem and leaves showed that there were similarities between Puri Raho with *Tinospora cordifolia* and Loro wawi eddu with *Tinospora macrocarpa*, but both plants have no flower, fruit and seed so it continues with molecular identification use DNA barcoding ITS2 that showed Puri raho have 100 % DNA ITS2 identity with *Tinospora crispa* voucher Chen ZD s.n. (PE) Sequence ID: KY365661.1, while Loro wawi eddu have 99,17 % DNA ITS2 identity with *Tinospora smilacina* voucher Gray 8798 (MO) Sequence ID: KY365675.1. Qualitative assay for quercetin content were positive showed by the spot in TLC plate with same Rf 0,91 for sample and quercetin, otherwise spectrophotometry assay result for quercetin content in stem extract of Puri raho is 99,24 ppm and 78,08 ppm in stem extract of Loro wawi eddu.

Keywords: *Tinospora*, Taxonomy, DNA ITS2, Quercetin, Loro wawi eddu, Puriraho, Savu Raijua

PENDAHULUAN

Sabu raijua adalah salah satu kabupaten di Nusa Tenggara Timur yang pulaunya terletak diantara pulau Rote, Sumba dan Timor. Masyarakat sabu menggunakan tumbuh-tumbuhan untuk berbagai kebutuhan seperti obat tradisional, bahan baku pangan dan pewarna alami. Menurut Mundita (2013), dalam bukunya terdapat 11 jenis tumbuhan pangan pokok yang terdapat di Kabupaten Sabu Raijua diantaranya Walur (*Amorphophalus paenifolius*), Kacang tanah (*Arachis hypogea*), Lontar (*Borassus flabellifer*), Labu kuning (*Cucurbita moschata*), Uwi aung (*Dioscorea esculenta*), Ubi jalar (*Ipomoea batatas*), Bitok (*Pueraria montanavar*), Jawawut (*Setaria italica*), Sorgum (*Sorghum bicolor*), Kacang merah (*Vigna unguiculata*) dan Jagung (*Zea mays*). Ledo et al (2024) dalam kamus bergambar tumbuhan dari Sabu Raijua mendapatkan 100 tumbuhan dengan berbagai manfaat, diantaranya Kapuk merah (*Ceiba pentandra*), Tarum (*Indigofera esquirolii*), Buah cinta (*Ochrosia borbonica*), Mara (*Macaranga tanarius*), Brotowali (*Tinospora* sp.), Kedondong hutan (*Spondias dulcis*), Jeringau (*Areca catechu*), Massoia (*Cryptocarya massoy*), Ara hutan (*Ficus thonningii*) dan beberapa tumbuhan yang belum teridentifikasi nama ilmiahnya. Tumbuh-tumbuhan ini memiliki kemampuan untuk mengobati kisaran penyakit yang luas seperti kanker, malaria, katarak, tumor, tulang yang patah dan HIV. Pengobatan tradisional dengan menggunakan ramuan tumbuhan hingga saat ini telah dilakukan oleh masyarakat Sabu Raijua, hal ini menunjukkan potensi pengembangan obat herbal di masa depan, namun penelitian berkaitan dengan identifikasi jenis tumbuhan indigenus dari sabu raijua dan kandungan fitokimia sebagai dasar pengembangan obat herbal masih terbatas.

Puri raho dan *Loro wawi eddu* adalah tumbuhan yang memiliki kemiripan morfologi dengan tumbuhan brotowali namun perlu dilakukan identifikasi jenis tumbuhan lanjutan untuk menentukan nama latin spesies tumbuhan tersebut. Tumbuhan *Tinospora* memiliki spesies seperti *Tinospora cordifolia*, *Tinospora crispa*, *Tinospora sinensis*, *Tinospora baenzigeri*, *Tinospora smilacina*, *Tinospora mahajani*, *Tinospora macrocarpa*, *Tinospora formanii*, *Tinospora kripura*, *Tinospora dissitiflora* (Mishra et al., 2021). Kemiripan morfologi organ tumbuhan seringkali menjadi tantangan dalam identifikasi spesies tumbuhan pada tingkatan spesies, selain itu faktor lingkungan seperti pH, kelembapan tanah, dan kandungan nutrisi juga mendukung pertumbuhan optimal suatu tumbuhan terutama untuk perkembangan buah dan biji. Oleh sebab itu identifikasi tumbuhan berdasarkan morfologinya perlu didukung oleh metode yang lebih akurat untuk mendapatkan informasi yang tepat tentang identitas tumbuhan khususnya pada tingkatan spesies. Perkembangan teknologi DNA saat ini memungkinkan identifikasi tumbuhan dengan akurasi yang lebih tinggi, yaitu metode DNA barcode (penanda DNA).

DNA barcode menggunakan penanda seperti ITS2 atau *Matk*. Metode ini digunakan untuk identifikasi jenis dan menjelaskan evolusi tumbuhan, selain itu informasi tentang jenis asam amino dan protein dalam tumbuhan juga dapat ditelusuri menggunakan NCBI, selain itu informasi berkaitan dengan asam amino atau protein yang dihasilkan oleh tumbuhan berkhasiat obat dapat didukung oleh uji fitokimia yang dilakukan terutama pada tumbuhan yang dapat mengobati penyakit yang sulit disembuhkan seperti kanker, tumor atau HIV.

Tumbuhan yang menghasilkan senyawa bioaktif dapat digunakan untuk mengobati berbagai penyakit manusia. senyawa bioaktif yang dapat ditemukan pada tumbuhan adalah flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, steroid, terpenoid dan fenol. Salah satu senyawa bioaktif yang dapat ditemukan pada tumbuhan yaitu senyawa kuersetin. Kuersetin merupakan salah satu senyawa flavonoid yang paling banyak dikonsumsi dan memiliki aktivitas biologis kuat. Senyawa ini umum ditemukan diberbagai bahan alam dan ditemukan dengan kadar yang bervariasi di banyak tumbuhan (Yu *et al.*, 2021).

Kajian etnofarmakologi pada beberapa genus *Tinospora* di India mengidentifikasi flavonoid, alkaloid, dan terpenoid sebagai salah satu komponen utama (Singh, Nathawat dan Sharma, 2021). penelitian tentang kandungan kuersetin dalam *Tinospora* masih terbatas tetapi beberapa hasil penelitian menyatakan ekstrak batang dan daun *Tinospora* kaya akan kandungan flavanoid (Ahmad *et al.*, 2016; Haque *et al.*, 2023). Kuersetin adalah flavonol yang berasal dari tumbuhan dan telah banyak diteliti karena aktivitas antikankernya. Uji *in vitro* pada berbagai jenis sel tumor (kolon, prostat, payudara, leukemia, ovarium, hati, serviks, dll.) (Hashemzaei *et al.*, 2017).

Senyawa kuersetin dipercaya dapat melindungi tubuh dari beberapa jenis penyakit dengan cara menangkap radikal bebas. Kuersetin memiliki aktivitas anti kanker dan memiliki aktivitas induksi kematian sel kanker payudara dengan tingkat selektivitas yang tinggi (Yu *et al.*, 2021). Identifikasi jenis tumbuhan brotowali dan kandungan kuersetin sebagai senyawa anti kanker memberikan informasi untuk pengembangan obat herbal dimasa depan.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang *Puri raho* dan *Loro wawi eddu*, etanol 70%, plat Kromatografi Lapis Tipis (KLT), GP1, GP2 dan GP3 *buffer*, RNase A, *Elution buffer* (pH 7-9), Aquabides, aseton, etis asetat, metanol, kuersetin, AlCl₃, sitroborat.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen, terdiri atas 2 tahap penelitian, yaitu identifikasi morfologi tumbuhan *Puri raho* dan *Loro wawi eddu* menggunakan buku kunci determinasi, sampel herbarium dengan kode voucher PRM1407 dan LWEM1407 disimpan di laboratorium biologi Universitas Kristen Artha Wacana, Kupang, sedangkan uji penanda DNA ITS2 dilakukan di laboratorium bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Tahap kedua adalah uji fitokimia (senyawa kuersetin) pada ekstrak etanol batang *Puri raho* dan *Loro wawi eddu* di Laboratorium Terpadu, Universitas Nusa Cendana, Kupang, adapun prosedur kedua tahapan tersebut sebagai berikut:

Identifikasi Tumbuhan

Identifikasi tumbuhan pada penelitian ini menggunakan buku FLORA cetakan ke-12 (Van Steenis *et al.*, 2008). Determinasi dilakukan dengan cara memperkecil lingkup kelompok tumbuhan yang diidentifikasi. Tumbuhan tersebut dikelompokkan berdasarkan ciri-ciri morfologi, selanjutnya tumbuhan dilakukan perbandingan dengan menggunakan buku acuan, aplikasi plantnet versi: 3.19.3, dan website: <https://www.plantamor.com>. Tumbuhan yang dideskripsikan menggunakan acuan ditulis dalam buku catatan. Catatan disimpan untuk dijadikan sebagai laporan pendukung. (Sampulawa & Bahalwan, 2022).

Isolasi DNA dari jaringan tumbuhan (Geneaid: Genomic DNA Mini Kit (Plant))

Sebanyak 50-100mg sampel dihaluskan menggunakan mortal dengan penambahan nitrogen cair hingga menjadi bubuk. Tambahkan 400 mikroliter GP1 Buffer dan 5 mikroliter RNase A (10 mg/mL) dihomogenkan menggunakan vortex. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 60 derajat Celsius

selama 60 menit dan diinversi setiap 5 menit (pada tahap ini panaskan juga elution buffer). Tambahkan 100 mikroliter GP2 buffer, dihomogenkan dan inkubasi selama 3 menit dalam es. Letakkan filter column pada collection tube, pindahkan campuran (termasuk presipitat) ke dalam kolom kemudian disentrifuge pada kecepatan 1000 xg selama 1 menit. Supernatan dipindahkan pada microtube 1,5 mL baru (debris dipisahkan), samakan volume supernatan yang diambil, lalu tambahkan 1,5 volume GP3 buffer ke dalam sampel kemudian homogenkan selama 5 detik. Letakkan GD column pada collection tube, pindahkan campuran ke dalam kolom, sentrifugasi pada kecepatan 16.000 xg selama 2 menit lalu buang flow-through dan letakkan kembali kolom pada collection tube. Selanjutnya tambahkan 400 mikroliter W1 buffer ke dalam GD column, sentrifugasi pada kecepatan 16.000 xg selama 30 detik kemudian buang flow through. Tambahkan 650 mikroliter wash buffer ke dalam GD column, sentrifugasi pada kecepatan 16.000 xg selama 30 detik kemudian buang flow through, lanjutkan sentrifugasi pada kecepatan 16.000 xg selama 3 menit untuk mengeringkan kolom. Tambahkan 100 mikroliter buffer elusi atau ddH₂O (pH 7.7-9.0) ke membran GD column yang diletakkan pada microtube 1,5 mL, diamkan selama 3 menit dan disentrifugasi pada kecepatan 16.000 xg selama 30 detik untuk meluluskan DNA.

Uji Kualitas dan Kuantitas DNA

Uji konsentrasi dan kemurnian DNA dilakukan dengan pengukuran pada spektrofotometer UV dengan Panjang gelombang 260, 280 dan 230 nm atau menggunakan nanodrop. Analisis kemurnian DNA bisa dilihat dari kriteria dibawah ini:

$A_{260}/A_{280} = 1,8-2 = \text{baik}$
 $\leq 1,8 = \text{kontaminasi protein}$
 $>2 = \text{kontaminasi RNA}$
 $A_{260}/A_{230} \text{ mendekati } 2 = \text{murni}$

PCR DNA Tumbuhan

Primer yang digunakan Adalah primer ITS2 dengan urutan nukleotida. Uji PCR dilakukan dalam 50 mikroliter reaksi campuran (Bioline HS Red Mix). Reaksi PCR dilakukan dalam thermal cycler pada kondisi berikut : predenaturasi 95 derajat celcius selama 2 menit, diikuti denaturasi pada 95 derajat celcius selama 30 detik, extension pada 72 derajat celcius selama 5 menit. Visualisasi hasil PCR menggunakan elektroforesis gel agarose dengan konsentrasi 1%.

Sekuensing dan Analisis Barcoding

Sekuensing dilakukan menggunakan metode Sanger Sequencing dan hasilnya akan dianalisa menggunakan NCBI BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) untuk dibandingkan dengan urutan basa yang telah terdaftar dalam database NCBI.

Pembuatan simplisia

Pengambilan sampel dilakukan dengan memilih sampel batang kayu *puri raho* dan *loro wawi eddu* yang masih segar. Sampel disortir basah dengan memisahkan batang kayu yang diinginkan dari daun maupun ranting kecil. Sampel lalu dibersihkan dengan dicuci dibawah air mengalir. Kemudian sampel dirajang dengan menyerut batang kayu untuk mempercepat proses pengeringan. Dilakukan pengeringan dibawah sinar matahari dengan sampel ditutupi kain hitam sehingga mempercepat proses pemanasan dan pengeringan. Setelah kering sampel dihaluskan dengan lumpang dan diayak untuk memperoleh serbuk halus (Sampulawa & Bahalwan, 2022).

Pembuatan ekstrak

Sampel serbuk *puri raho* dan *loro wawi eddu* ditimbang sebanyak 200 gram. Dilakukan maserasi dengan 75 bagian etanol 70% selama 3 hari. Setelah itu, dilakukan penyaringan dan dilanjutkan dengan remaserasi dengan 25 bagian etanol 70% selama 2 hari. Filtrat hasil maserasi dan remaserasi digabung dan didiamkan semalam untuk mengendapkan pati serbuk. Kemudian filtrat dipisahkan dari pati dan dilanjutkan dengan penguapan pelarut menggunakan Rottary evaporator. Hasil ekstrak cair diuapkan diatas *waterbath* dan didapatkan ekstrak kental (Sampulawa & Bahalwan, 2022).

Uji Kualitatif Kuersetin

Pertama-tama siapkan *chamber* kemudian membuat fase gerak (eluen) menggunakan aseton-etil asetat dengan perbandingan (7:3) dan etil asetat : methanol (3:2). Setelah fase gerak telah disiapkan lalu jenuhkan menggunakan kertas penjenuh, setelah dijenuhkan kemudian masing-masing sampel tanaman *puri raho*, *loro wawi eddu*, dan pembanding kuersetin ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler pada jarak 1,5 cm dari bagian bawah plat, jarak antara noda adalah 1,5 cm dibiarkan beberapa saat hingga mengering.

Plat KLT yang telah mengandung cuplikan dimasukkan ke dalam *chamber* yang terlebih dahulu dijenuhkan dan dibiarkan hingga lempeng terelusi sempurna. Kemudian plat KLT dikeringkan dan disemprot dengan pereaksi $AlCl_3$ dan sitroborat. Hasil positif adanya senyawa kuersetin ditandai dengan spot/bercak berfluoresensi kuning kehijauan pada UV 366. Masing-masing sampel dibuat 3 replikasi, kemudian diukur nilai R_f menggunakan rumus (Bachtiar, 2023).

Uji Kuantitatif Kuersetin

Penetapan larutan standar kuersetin

Pada penetapan larutan standar kuersetin terlebih dahulu ditimbang sebanyak 10 mg baku standar kuersetin dan dilarutkan dalam 10 mL etanol p.a sehingga mendapatkan konsentrasi larutan sebesar 1000 ppm. Larutan stok (1000 ppm) dipipet sebanyak 1 mL lalu dicukupkan volumenya hingga 10 mL dengan etanol p.a sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Dari larutan standar kuersetin 100 ppm, kemudian dibuat lagi beberapa seri konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Dari masing-masing seri konsentrasi larutan standar kuersetin dipipet 0,2 mL (2 ppm), 0,4 mL (4 ppm), 0,6 mL (6 ppm), 0,8 mL (8 ppm), dan 1 mL (10 ppm). Kemudian masing-masing seri konsentrasi ditambahkan 3 mL etanol pa, 0,2 mL $AlCl_3$ 10% dan 0,2 mL kalium asetat, lalu dicukupkan volumenya hingga tanda batas dengan aquabidest menggunakan labu ukur 10 mL. Dibuat larutan blanko menggunakan etanol pa. Setelah itu, diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-VIS (Bachtiar, 2023).

Penentuan panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin dilakukan dengan running larutan kuersetin pada range panjang gelombang 400-800 nm. Panjang gelombang maksimum tersebut yang akan digunakan untuk mengukur serapan dari sampel (Bachtiar, 2023).

Penetapan kadar kuersetin

Pada penetapan kadar kuersetin dilakukan dengan ditimbang sebanyak 10 mg ekstrak kental *puri raho* dan *loro wawi eddu* dilarutkan dalam 10 ml etanol p.a dalam tabung reaksi lalu homogenkan sehingga diperoleh sampel 1000 ppm. Kemudian sebanyak 0,5 mL (500 μ l) masing-masing larutan induk dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL. Setelah masing-masing ekstrak diukur kemudian tambahkan dengan 3 mL etanol p.a; 0,2 mL $AlCl_3$ 10%; 0,2 mL kalium asetat; dan dicukupkan hingga tanda batas menggunakan aquabidest lalu homogenkan. Setelah semua larutan sudah tercampur dengan baik, kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-VIS. Dimana sampel dibuat dalam tiga replikasi untuk setiap analisis sehingga diperoleh nilai rata-rata absorbansi (Bachtiar, 2023).

Analisis Data

Analisis data penanda DNA ITS2 menggunakan perbandingan kemiripan sekuen menggunakan data spesies dari genus *Tinospora* pada website NCBI dan Konstruksi pohon filogenetik menggunakan aplikasi MEGA.

Penetapan Rf pada plat KLT menggunakan rumus :

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditemuh oleh komponen}}{\text{Jarak total yang ditempuh eluen}}$$

Penetapan kadar kuersetin total dilakukan dengan mencari nilai regresi dan perhitungan koefisien variasi regresi linier sehingga bisa menghasilkan rumus $y = a + bx$. dari rumus tersebut, kita bisa menghitung nilai x sebagai kadar kuersetin (Bachtiar, 2023)

HASIL

Otentikasi Tumbuhan *Puri raho* dan *Loro wawi eddu*

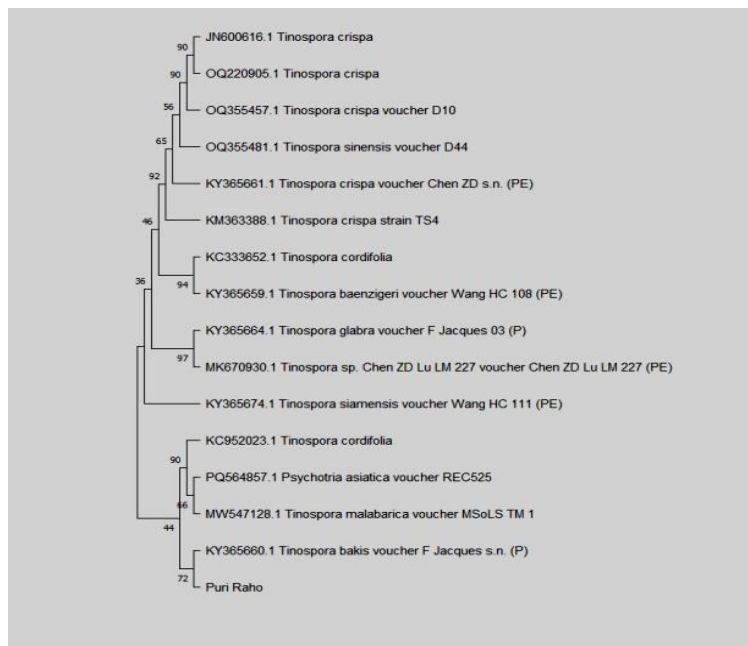
Secara morfologi terdapat kemiripan antara tumbuhan *puri raho* dan *loro wawi eddu* dengan tumbuhan brotowali, terutama pada akar, batang dan daun, kedua tumbuhan ini adalah tumbuhan perdu pemanjat yang biasanya tumbuh di tempat terbuka, tingginya dapat mencapai 2,5 m, batang tanaman agak lunak, bercabang dan berwarna hijau-cokelat, memiliki bintil/benjolan pada permukaan batang (tuberculatum), namun pada tumbuhan *loro wawi eddu* bintil pada permukaan batang tidak terlihat jelas jika dibandingkan dengan bintil pada permukaan batang *puri raho* yang lebih menonjol. Daunnya berbentuk bulat dengan ujung daun yang meruncing sehingga berbentuk jantung. Kedua tumbuhan ini memiliki akar gantung dari batang yang tumbuh mencapai tanah, tidak memiliki bunga dan buah. Identifikasi menggunakan kunci determinasi menunjukkan kedua tumbuhan ini memiliki ordo yang sama dengan tumbuhan brotowali, yaitu ordo *Ranunculales* dan genus *Tinospora*, namun penentuan spesies berdasarkan deskripsi morfologi kedua tumbuhan ini agak sulit karena kedua tumbuhan ini tidak memiliki bunga dan buah seperti beberapa spesies *Tinospora sp* pada umumnya.

Analisis DNA sampel daun spesies *Puri raho* menggunakan penanda DNA ITS2 dan penelusuran menggunakan BLAST menunjukkan tingkat identitas yang relatif tinggi dengan *Tinospora crispa*, *Tinospora sinensis* dan *Tinospora glabra* namun persentase identitas 100% adalah *Tinospora crispa* voucher Chen ZD s.n. (PE) Sequence ID: KY365661.1 (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil penyejajaran sekuen DNA ITS2 sampel *Puri raho* dan beberapa spesies dari genus *Tinospora* menggunakan BLAST pada website NCBI (*DNA ITS2 sequences alignment of Puri raho and some species from Tinospora genera*).

| Nama Spesies (Scientific name) | Persentase penyejajaran sekuen DNA (Query cover) | Nilai E (E value) | Persentase identitas (Percentage Identity) |
|---|---|----------------------|---|
| <i>Tinospora crispa</i> voucher chen zd s.n (PE) | 72 % | 5e-99 | 100% |
| <i>Tinospora sinensis</i> voucher D44 | 88% | 2e-122 | 99,60% |
| <i>Tinospora crispa</i> voucher D10 | 82% | 2e-112 | 99,56% |
| <i>Tinospora crispa</i> 5.8 S | 79% | 2e-108 | 99,55% |
| <i>Tinospora crispa</i> genes 5.8S | 79% | 2e-108 | 99,55% |
| <i>Tinospora crispa</i> isolat UAS-Sec 248 | 87% | 2e-118 | 99,18% |
| <i>Tinospora crispa</i> strain TS7 | 75% | 2e-98 | 98,58% |
| <i>Tinospora crispa</i> strain TS5 | 73% | 1e-94 | 98,53% |
| <i>Tinospora glabra</i> voucher F. Jacques | 82% | 2e-107 | 98,25% |

Kekerabatan antara tumbuhan *Puri raho* (*Tinospora crispa*) dengan spesies dari genus *Tinospora* yang lain dapat dilihat pada pohon filogeni (Gambar 1)



Gambar 1. Konstruksi filogenetik sekuen DNA ITS2 (*Phylogenetic construction of DNA ITS2 sequences of Puri raho*).

Tumbuhan *Loro wawi eddu* yang juga memiliki kemiripan morfologi dengan *Tinospora macrocarpa* ternyata jika mengacu pada hasil analisis menggunakan penanda DNA ITS2 menunjukkan hasil yang berbeda (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil penyejajaran sekuen DNA ITS2 sampel *Loro wawi eddu* dan beberapa spesies dari genus *Tinospora* menggunakan BLAST pada website NCBI (*DNA ITS2 sequences alignment of Loro wawi eddu and some species from Tinospora genera*).

| Nama Spesies (Scientific name) | Persentase penyejajaran sekuen DNA (Query cover) | Nilai E (E value) | Persentase identitas (Percentage identity) |
|--|---|----------------------|--|
| <i>Tinospora smilacina</i> voucher gray 8798 (MO) | 89% | 6e-118 | 99,17% |
| <i>Tinospora glabra</i> voucher F Jaqcues 03 | 89% | 1e-109 | 97, 11% |
| <i>Tinospora</i> sp Chen ZD&Lu LMM 227 | 89% | 5e-109 | 97,10% |
| <i>Tinospora crispa</i> isolate UAS-Sec 248 | 94% | 2e-113 | 96,47% |
| <i>Psychotria asiatica</i> voucher rec 525 | 100% | 1e-119 | 95,94% |
| <i>Tinospora baenzigeri</i> voucher Wang HC 108 | 89% | 1e-104 | 95,87% |
| <i>Tinospora esiangkara</i> voucher gray 8927 | 89% | 1e-104 | 95,87% |
| <i>Tinospora sinensis</i> voucher D44 | 96% | 6e-113 | 95,77% |
| <i>Tinospora baenzigeri</i> | 87% | 1e-100 | 95,74% |

Kekerabatan antara tumbuhan *Loro wawi eddu* (*Tinospora smilacina*) dengan spesies dari genus *Tinospora* yang lain dapat dilihat pada pohon filogeni (Gambar 2).



Gambar 2. Konstruksi filogenetik sekuen DNA ITS2 *Loro wawi eddu* (Phylogenetic construction of DNA ITS2 sequences of *Loro wawi eddu*).

Fitokimia tumbuhan *Puri raho* dan *Loro wawi eddu*

Uji kualitatif senyawa kuersetin dilakukan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dengan perbandingan jarak tempuh (Rf) antara standar kuersetin dan ekstrak batang *Puri raho* dan *Loro wawi eddu* pada plat KLT (Tabel 3).

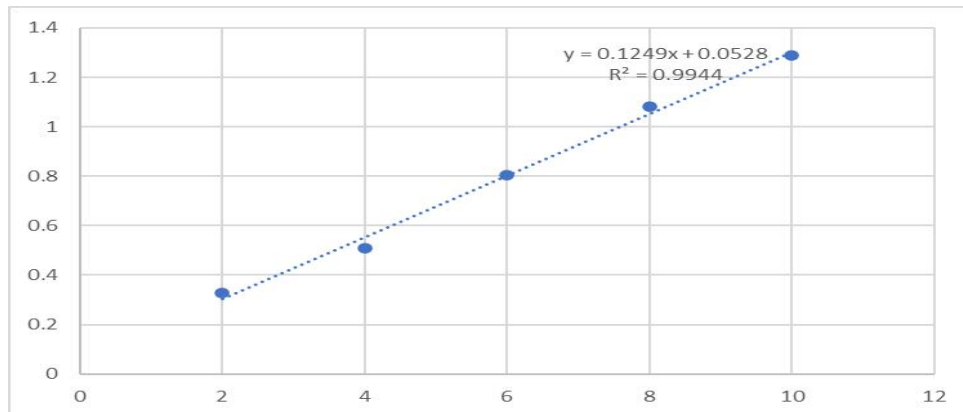
Tabel 3. Nilai Rf ekstrak batang *Puri raho*, *Loro wawi eddu*, dan standar kuersetin (Stem extract Rf value of *Puri raho*, *Loro wawi eddu* and quercetin standard).

| Pelarut (Solvent) | Rf ekstrak batang Puri raho (Rf of <i>Puri Raho</i> Stem Extract) | Rf ekstrak batang Loro wawi eddu (Rf of <i>Loro wawi eddu</i> Extract) | Rf Kuersetin (Rf of Quercetin) |
|-----------------------|---|--|--|
| Aseton: Etil asetat | 0,9 | 0,92 | 0,9 |
| Etil asetat : Metanol | 0,91 | 0,91 | 0,91 |

Kandungan senyawa kuersetin pada ekstrak batang *Puri raho* dan *Loro wawi eddu* pada plat KLT dilanjutkan dengan uji kualitatif menggunakan metode spektrofotometri pada panjang gelombang 414 nm. Larutan standar kuersetin menunjukkan nilai absorbansi pada Tabel 2 dan persamaan regresi linear pada Tabel 3, Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin dilakukan dengan cara merunning pada panjang gelombang 400-800 nm.

Tabel 2. Absorbansi larutan standar kuersetin (*Absorbance of standard solution of quercetin*)

| Konsentrasi Kuersetin (<i>Quercetin Concentration</i>) (ppm) | Absorbansi (<i>Absorbance</i>) |
|--|-------------------------------------|
| 2 | 0,327 |
| 4 | 0,508 |
| 6 | 0,806 |
| 8 | 1,080 |
| 10 | 1,290 |



Gambar 3. Kurva regresi linier larutan standar kuersetin dan absorbansi (*Linear regression of quercetin standard solution and absorbance*).

Linieritas kurva standar kuersetin dilakukan dengan membuat lima macam konsentrasi dari larutan baku induk (ppm) yaitu 2; 4, 6, 8 dan 10 ppm (Gambar 3). Penetapan jumlah kuersetin dilakukan menggunakan spektrofotometer (Tabel 3).

Tabel 4. Konsentrasi kuersetin pada ekstrak batang *Puri raho* dan *Loro wawi eddu* (*Quercetin concentration in stem extract of Puri raho and Loro wawi eddu*).

| Sampel (<i>Sample</i>) | Absorbansi (<i>Absorbance</i>) | Konsentrasi Kuersetin (<i>Quercetin Concentration</i>) (ppm) | Rata-Rata Konsentrasi Kuersetin 20x Pengenceran (<i>Quercetin Concentration Mean 20x dilution</i>) (ppm) | Konsentrasi Kuersetin (<i>Quercetin Concentration</i>) (ppm) |
|--|-------------------------------------|--|---|--|
| Ekstrak batang <i>Puri raho</i> (<i>Puri raho stem extract</i>) | 0,644 | 4,949 | 4,962 | 99,24 |
| | 0,646 | 4,965 | | |
| | 0,647 | 4,973 | | |
| Ekstrak batang <i>Loro wawi eddu</i> (<i>Loro wawi eddu stem extract</i>) | 0,516 | 3,925 | 3,904 | 78,08 |
| | 0,507 | 3,853 | | |
| | 0,517 | 3,933 | | |

PEMBAHASAN

Pemanfaatan tumbuhan obat oleh masyarakat di kabupaten Sabu-Raijua relatif tinggi karena minimnya ketersediaan sarana dan prasarana seperti Rumah Sakit dan Puskesmas. Ledo *et al.* (2024) dalam penelitian tentang pemanfaatan tumbuhan berbasis kearifan lokal masyarakat di Sabu Raijua mendapatkan 106 spesies tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai tumbuhan obat. Tumbuhan *Puri raho* dan *Loro wawi eddu* sebagai tumbuhan obat yang dimanfaatkan untuk mengobati penyakit, batang *Puri raho* digunakan untuk mengobati batuk, sakit perut, demam, maag, dan keracunan, sedangkan batang *Loro wawi eddu* digunakan untuk mengobati luka, tulang yang patah, kanker rahim dan *massage*. Secara morfologi terdapat kemiripan antara kedua tumbuhan ini dengan tumbuhan brotowali, terutama pada akar, batang dan daun, identifikasi menggunakan kunci determinasi menunjukkan kedua tumbuhan ini memiliki ordo yang sama dengan tumbuhan brotowali yaitu ordo *Ranunculales*.

Otentikasi tumbuhan *Puri raho* menggunakan identifikasi morfologi dan penanda DNA ITS2

Puri raho merupakan tumbuh-tumbuhan yang tidak memiliki bunga sejati, tumbuh-tumbuhan memanjat atau membelit. Daun bertulang melengkung, yaitu pasangan tulang daun yang paling bawah menuju ke dekat atau sampai pada ujung daun. Daun genus *Tinospora* sangat unik bentuknya seperti jantung, agak membundar dan berujung lancip. Menurut Suliswinarni (2019), bahwa genus *Tinospora* mempunyai ciri khas yang unik berbeda dengan tumbuhan-tumbuhan yaitu batangnya berbintik-bintik rapat dan bila disimpan dalam waktu cukup lama keadaan batang tidak berubah.. Berdasarkan ciri morfologi, tumbuhan *Puri raho* memiliki kemiripan morfologi dengan *Tinospora cordifolia* dan *Tinospora crispa* dengan beberapa persamaan diantaranya Daun *Puri raho* ini juga memiliki bentuk seperti jantung, batang memiliki banyak tonjolan serta warnanya hijau-coklat gelap. Batangnya yang berbintik-bintik dan berkayu dengan warna hijau cokelat. namun pada tumbuhan *Puri raho* tidak memiliki bunga dan buah.



Gambar 4. Tumbuhan *Puri raho* (*Puri raho plant*)

Tumbuhan *Puri raho* memiliki cita rasa yang pahit ketika dikonsumsi hal ini menunjukkan persamaan dengan genus *Tinospora* pada umumnya. Tumbuhan ini juga tumbuh dipekarangan rumah dan sangat menyukai tempat terbuka yang terpapar sinar matahari langsung, merambat dan menyebar luas dengan sejumlah cabang melingkar. Analisis DNA sampel daun spesies *Puri raho* menggunakan penanda DNA ITS2 dan penelusuran menggunakan BLAST menunjukkan tingkat identitas yang relatif tinggi dengan *Tinospora crispa*, *Tinospora sinensis* dan *Tinospora glabra* namun persentase kemiripan 100% adalah *Tinospora crispa* voucher Chen ZD s.n. (PE) Sequence ID: KY365661.1 (Tabel 1). Kemiripan sekuen yang dianalisis dengan data sekuen di NCBI dapat dilihat dari nilai *Per. Ident*, *Query Cover*, dan *Evalue* (Tindi *et al.*, 2017).

Sekuen ITS dapat membedakan inter dan intra spesies serta penelusuran hubungan kekerabatan dengan melihat perbedaan daerah *conserved* dan melihat similaritas daerah variabel. Ribosomal DNA adalah suatu daerah dalam nukleat DNA yang mengkode ribosom. Ribosom merupakan organel sel yang berperan dalam sintesis protein dan terdiri dari subunit kecil (18S) dan subunit besar (28S). Urutan nukleotida rDNA berisi dua daerah *non-coding* (ITS1 dan ITS2) dan gen 5,8S rDNA. Urutan nukleotida pada gen 5,8S rDNA sangat *conserved*, tetapi dua daerah ITS lainnya tidak ditranslasi menjadi protein dan sangat bervariasi (Articus, 2004).

Deskripsi morfologi tumbuhan *Puri raho* (*Tinospora crispa*) adalah memiliki tinggi mencapai 2.5 m. Batang tanaman ini lunak dan memiliki duri semu seperti bintil-bintil. Daunnya tunggal, yang memiliki bentuk mirip jantung atau agak bulat dan ujungnya runcing (Katib *et al.*, 2017). Tumbuhan *Puri raho* asal Sabu Raijua umumnya tidak memiliki buah, hal ini dapat disebabkan oleh berbagai faktor, baik yang berasal dari dalam tanaman itu sendiri maupun yang berasal dari luar tanaman. Faktor yang berasal dari dalam tanaman dikenal sebagai faktor genetik, sedangkan yang berasal dari luar tanaman dikenal sebagai faktor lingkungan. Bagi tumbuhan, faktor lingkungan yang terpenting meliputi temperatur, suplai air, sinar matahari, susunan atmosfer, komposisi udara (gas) dalam tanah, reaksi tanah (pH), suplai unsur hara, dan faktor biotik (Gardner *et al.*, 1991).

Taksonomi tumbuhan *Puri raho* (*Tinospora crispa*) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
 Subkingdom : Tracheobionta
 Superdivisi : Spermatophyta
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Subkelas : Magnoliidae
 Ordo : Ranunculales
 Famili : Menispermaceae
 Genus : *Tinospora*
 Spesies : *Tinospora crispa*
 (Katib *et al.*, 2017)

Hasil konstruksi filogenetik tumbuhan *Puri raho* (*Tinospora crispa*) berdasarkan sekuen ITS2 membentuk satu klaster dengan *Tinospora bakis voucher* F. jacques s.n (P) yang menunjukkan keduanya berkerabat dekat, hal ini sesuai dengan pernyataan bahwa anggota dalam kelompok klaster yang sama memiliki kekerabatan dekat dan diperkirakan turunan dari satu nenek moyang yang sama (Hidayat & Pancoro, 2016). Nilai bootstrap yang dihasilkan sebesar 72% menunjukkan adanya rekonstruksi cabang dalam 1000 kali pengulangan. Nilai tersebut tergolong kuat. Hal ini didasarkan pada nilai bootstrap menurut Pangestika *et al.*, (2015) bahwa nilai bootstrap yang dapat dipercaya dan diterima adalah >25%.

Otentikasi tumbuhan *Loro wawi eddu* menggunakan identifikasi morfologi dan penanda DNA ITS2

Tumbuhan *Loro wawi eddu* memiliki deskripsi morfologi sebagai berikut, Daun bertulang melengkung, yaitu pasangan tulang daun yang paling bawah menuju ke dekat atau sampai pada ujung daun. batang berkayu berwarna hijau-cokelat dengan bintik-bintik pada bagian batang namun tidak terlalu menonjol pada bagian batang dan daunnya berbentuk seperti jantung, tumbuh-tumbuhan memanjat atau membelit. Berdasarkan ciri-ciri morfologi *Loro wawi eddu* tumbuhan ini memiliki kemiripan dengan *Tinospora macrocarpa* dan *Tinospora smilacina* pada bagian batang, dan daun namun pada *Loro wawi eddu* tidak memiliki bunga dan buah.



Gambar 5. Tumbuhan *Loro wawi eddu* (*Loro wawi eddu plant*).

Pada umumnya pertumbuhan tanaman dipengaruhi oleh berbagai faktor, baik yang berasal dari dalam tanaman itu sendiri maupun yang berasal dari luar tanaman. Faktor yang berasal dari dalam tanaman dikenal sebagai faktor genetik, sedangkan yang berasal dari luar tanaman dikenal sebagai faktor lingkungan. Bagi tumbuhan, faktor lingkungan yang terpenting meliputi temperatur, suplai air, sinar matahari, susunan atmosfer, komposisi udara (gas) dalam tanah, reaksi tanah (pH), suplai unsur hara, dan faktor biotik (Gardner *et al.*, 1991).

Tinospora crispa memiliki beberapa sinonim yaitu *Chasmanthera crispa* (L.) Baill, *Cocculus bantamensis* Blume, *Cocculus crispus* (L.) DC., *Cocculus rimosus* Blume, *Cocculus verrucosus* (Roxb.) Wall, *Menispermum bantamense* (Blume) Spreng, *Menispermum crispum* L, *Menispermum rimosum* (Blume) Spreng, *Menispermum tuberculatum* Lam, *Menispermum verrucosum* Roxb, *Nephroia bantamensis* (Blume) Miers, *Tinospora gibbericaulis* Hand.-Mazz, *Tinospora mastersii* Diels, *Tinospora rumphii* Boerl, *Tinospora thorelii* Gagnep, *Tinospora tuberculata* (Lam.) Beumée ex K.Heyne dan *Tinospora verrucosa* (Roxb.) W.Theob (Wulandari, 2018).

Tumbuhan *Loro wawi eddu* yang juga memiliki kemiripan morfologi dengan *Tinospora macrocarpa* ternyata jika mengacu pada hasil analisis menggunakan penanda DNA ITS2 menunjukkan hasil yang berbeda (Tabel 2). Identifikasi spesies berdasarkan karakter morfologis memiliki beberapa kendala, yaitu pada beberapa takson hanya bisa dilakukan untuk tumbuhan dewasa (berbunga), sehingga memerlukan waktu yang lama untuk pengambilan sampel dan pengamatan harus menunggu masa berbunga atau berbuah (Virgilio *et al.*, 2012).

Analisis DNA sampel daun spesies *Loro wawi eddu* menggunakan penanda DNA ITS2 dan penelusuran menggunakan BLAST menunjukkan tingkat kemiripan yang relatif tinggi dengan *Tinospora smilacina*, *Tinospora crispa*, *Tinospora sinensis*, *Tinospora asiatica*, *Tinospora glabra* dan beberapa spesies *Tinospora* yang lain namun persentase kemiripan tertinggi yaitu 99,17 % adalah *Tinospora smilacina* voucher Gray 8798 (MO) Sequence ID: KY365675.1 (Tabel 2). Identifikasi dengan marka molekular melalui *DNA barcode* memberikan alternatif identifikasi yang cepat, akurat, dan tepat. Analisis molekular diperlukan untuk memperkuat dan mendukung identifikasi spesies secara morfologi. Hal ini dikarenakan karakter molekular lebih stabil terhadap pengaruh lingkungan. Identifikasi dengan menggunakan sekuen DNA barcode telah meningkat pesat dan telah dilakukan pada semua tingkatan takson, misalnya famili, genus, dan spesies.

Deskripsi morfologi tumbuhan *Loro wawi eddu* (*Tinospora smilacina*) adalah Diameter batang tanaman merambat dicatat hingga 7 cm. Helaian daun sekitar 4-5-12 x 4-11 cm, panjang tangkai daun sekitar 2,5-9 cm, kadang lebih panjang dari helaian daun. Lima urat, termasuk pelepah,

memancar dari pangkal helaian daun. Domatia (cekungan dangkal atau foveoles) hanya terdapat di pangkal helaian daun (Bentham, 1861). Tumbuhan *Loro wawi eddu* (*Tinospora smilacina*) asal Sabu Raijua tidak memiliki bunga dan buah seperti *Tinospora smilacina* pada umumnya, faktor lingkungan dan nutrisi tanah diduga menjadi penyebab pertumbuhan yang kurang optimal.

Taksonomi tumbuhan *Loro wawi eddu* (*Tinospora smilacina*) adalah:

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Superdivisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Subkelas : Magnoliidae
Ordo : Ranunculales
Famili : Menispermaceae
Genus : *Tinospora*
Spesies : *Tinospora smilacina*
(Bentham, 1861)

Sinonim tumbuhan *Tinospora smilacina* adalah *Tinospora berneyi* F.M.Bailey, *Tinospora smilacina* var. *berneyi* (F.M.Bailey) Domin, *Tinospora walcottii* F.Muell. ex Benth. Beberapa keunggulan Identifikasi dengan *DNA barcode*, yaitu memerlukan jumlah sampel yang sedikit, dapat diambil dari semua organ baik tumbuhan atau hewan, tidak tergantung umur dewasa atau muda, dapat mengidentifikasi dan menunjukkan variasi yang tidak dapat dilakukan dengan pengamatan morfologi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ITS2 *barcode* memiliki kemampuan pembeda yang lebih baik dalam mengidentifikasi tumbuhan *Loro wawi eddu* (*Tinospora smilacina*), konstruksi filogenetik sekuen ITS2 menunjukkan kekerabatan yang jauh antara tumbuhan *Loro wawi eddu* (*Tinospora smilacina*) dengan spesies dari genus *Tinospora* yang lain.

Kecepatan evolusi ITS2 berpengaruh pada variasi intraspesifik suatu spesies (Hidayat *et al.*, 2008). Sekuen ITS2 tidak hanya mampu membedakan spesies dari tingkat famili melainkan hingga tingkat genus dan spesies (Chen *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2019). Adanya perubahan basa yang terdapat pada sekuen DNA menunjukkan terjadinya proses evolusi pada organisme tertentu. Hubungan evolusi antar spesies dapat direkonstruksi dengan filogenetik (Hidayat & Pancoro, 2016).

Fitokimia tumbuhan *Puri raho* dan *Loro wawi eddu*

Metode KLT merupakan salah satu metode untuk mengetahui konsentrasi dari skrining fitokimia berupa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan steroid, secara kualitatif maupun kuantitatif (Vifta & Yustisia. 2018), yaitu metabolit sekunder dengan menggunakan pelarut yang berbeda kepolarannya terdiri dari dua fase yaitu fase diam dan fase gerak (eluen). Perbandingan jarak tempuh (Rf) antara standar kuersetin dan ekstrak batang *Puri raho* dan *Loro wawi eddu* pada plat KLT menunjukkan nilai Rf pada Tabel 1.

Senyawa kuersetin merupakan salah satu turunan dari flavonoid. Pada penelitian ini warna senyawa kuersetin (flavonoid) yang dihasilkan pada KLT adalah kuning. Dari dua pelarut yang digunakan yaitu Aseton: Etil asetat diperoleh bahwa nilai Rf pada tanaman *Puri raho* yaitu 0.9 dan *Loro wawi eddu* yaitu 0.92 dibandingkan dengan Rf senyawa kuersetin 0,9. Hasil ini dapat dikatakan bahwa nilai Rf pada *Puri raho* lebih tepat dibandingkan dengan *Loro wawi eddu*. Pada pelarut methanol : etil asetat diperoleh nilai Rf pada kedua tanaman sama dengan senyawa standar kuersetin yaitu 0.91. Hal ini terlihat dari sifat fase diam silikagel yang bersifat polar dan fase gerak yang bersifat non polar, sehingga masing-masing bercak akan bergerak sesuai dengan kepolarannya masing-masing.

Semakin besar nilai Rf maka semakin non polar senyawa flavonoid yang dihasilkan. Fase gerak yang baik dapat memberikan hasil elusi yang optimal, yakni dapat memisahkan senyawa dalam jumlah banyak yang ditandai dengan penampakan noda, tidak berekor, serta jarak elusi (Rf) dapat

diamati dengan jelas (Harborne,1987). Pada penelitian Pratiwi *et al.* (2021) menemukan bahwa senyawa kuersetin pada bunga papaya jantan memiliki nilai Rf sebesar 0,94.

Nilai Rf ekstrak batang *Puri raho* dan *Loro wawi eddu* jika dibandingkan dengan nilai Rf kuersetin relatif sama, hal ini menunjukkan bahwa di dalam ekstrak batang kedua tumbuhan ini mengandung senyawa kuersetin. Perbedaan nilai Rf yang dihasilkan kemungkinan besar disebabkan dari pelarut yang digunakan pada diam dan fase gerak yang digunakan. Nilai Rf dapat dijadikan bukti dalam mengidentifikasi suatu senyawa, dimana senyawa-senyawa dengan nilai Rf yang sama atau hampir sama dapat menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki karakteristik yang sama atau mirip (Natasa *et al.*, 2021).

Uji spektrofotometri kuersetin *Puri raho* dan *Loro wawi eddu*

Kandungan kuersetin pada ekstrak batang *Puri raho* cenderung lebih tinggi dari pada *Loro wawi eddu* (Tabel 4), penelitian yang dilakukan oleh Roni *et al.* (2022) pada ekstrak batang brotowali (*Tinospora crispa*) dengan pelarut n-heksana memiliki kadar flavonoid (kuersetin) $9,937 \pm 0,009$ gQE/100 gEkstrak. Proses ekstraksi batang *Puri raho* dan *Loro wawi eddu* menunjukkan hasil yang kurang optimal, rendemen yang didapatkan kurang memuaskan yaitu 6,25 %. Pemilihan pelarut etanol 70% didasarkan pada fakta bahwa senyawa flavonoid biasanya ada dalam bentuk glikosida, yang memiliki sifat polar sehingga memerlukan pelarut polar untuk pelarutannya. Hasil dari proses ekstraksi menghasilkan ekstrak yang pekat. Ekstrak yang dihasilkan kemudian dinilai persentase hasilnya. Hasil adalah ukuran kuantitatif yang membandingkan berat zat yang diekstraksi dengan berat sampel asli. Rendemen dianggap memuaskan jika melebihi 10%. Oleh karena itu, rendemen ekstrak yang dihasilkan dinilai kurang memuaskan karena rendemennya kurang dari 10%. Jumlah simplisia, ukuran partikel, pelarut, dan waktu ekstraksi mempengaruhi rendemen ekstrak (Rosidah *et al.*, 2017).

Kurniawati *et al.* (2024) mendapatkan kandungan kuersetin pada ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum*) sebesar 32,4 ppm, sedangkan Purnamasari *et al.* (2022) mendapatkan kandungan kuersetin pada daun kapuk, daun kembang sepatu, dan daun sirih merah berturut-turut adalah 36,26 ppm, 28,89 ppm dan 25,97 ppm. Tulung *et al.* (2017) mendapatkan kandungan kuersetin pada ekstrak kulit batang kersen (*Muntingia calabura*) sebesar 10,822 ppm, sedangkan Erwin *et al.* (2022) melakukan uji kandungan kuersetin pada ekstrak daun, kulit batang, dan batang tumbuhan afrika (*Vernonia amygdalina* Del) dan mendapatkan kandungan kuersetin berturut-turut 55,97 ppm, 3,93 ppm dan 83,53 ppm.

Flavonoid adalah salah satu jenis senyawa fenolik tumbuhan yang paling umum dan tersebar secara luas, terdapat hampir di semua bagian tumbuhan, terutama sel tumbuhan yang berfotosintesis (tumbuhan yang mengandung klorofil). Flavonoid adalah komponen pewarnaan utama tumbuhan berbunga. flavonoid merupakan bagian integral dari makanan manusia di mana banyak terdapat dalam buah-buahan ataupun sayur-sayuran (Kumar and Pandey, 2013).

Priyanka dan Raju (2021) menyatakan beberapa manfaat kuersetin sebagai salah satu flavanoid yang dihasilkan sebagai metabolit sekunder dan berperan untuk melindungi tumbuhan dari serangan serangga, herbivora, dan mikroba. Kuersetin juga terdapat pada bawang merah dan daun teh, memiliki peran sebagai anti oksidan, memiliki manfaat dalam pengobatan yaitu sebagai anti alergi, anti inflamasi, anti kanker, pelindung kardiovaskular, anti tumor, anti virus, anti diabetes, meningkatkan imun, anti hipertensi, dan melindungi sistem pencernaan (Lakhanpal dan Rai, 2007). Menurut Rustanti dan Lathifah (2018), senyawa kuersetin dipercaya dapat melindungi tubuh dari beberapa jenis penyakit dengan cara menangkap radikal bebas. Kuersetin memiliki aktivitas anti kanker dan memiliki aktivitas induksi kematian sel.

Inovasi produk *Virgin Coconut Oil* (VCO) penambahan batang *Loro wawi eddu* telah dilakukan oleh Sodakain *et al.* (2024) sebagai produk anti nyamuk, namun dengan kandungan kuersetin pada batang *Loro wawi eddu* dan *Puri raho* yang telah diketahui dalam penelitian ini, sangat memungkinkan untuk mengembangkan produk VCO *Loro wawi eddu* untuk mengobati jenis penyakit yang lain.

KESIMPULAN

Otentikasi tumbuhan *Puri raho* dan *Loro wawi eddu* menggunakan buku kunci determinasi menunjukkan bahwa kedua tumbuhan ini termasuk dalam *ordo Ranunculales*, dan genus *Tinospora* perbandingan akar, batang dan daun dengan spesies *Tinospora* lainnya menunjukkan kemiripan antara *Puri raho* dengan *Tinospora cordifolia* dan *Loro wawi eddu* dengan *Tinospora macrocarpa* namun kedua tumbuhan asal Sabu Raijua ini tidak memiliki bunga, buah dan biji sehingga dilanjutkan dengan analisis molekuler menggunakan penanda DNA ITS2 yang menunjukkan tumbuhan *Puri raho* memiliki persentase identitas DNA ITS2 sebesar 100% dengan *Tinospora crispa* voucher *Chen ZD s.n. (PE) Sequence ID: KY365661.1*, sedangkan *Loro wawi eddu* menunjukkan persentase identitas DNA ITS2 sebesar 99,17 % dengan *Tinospora smilacina* voucher *Gray 8798 (MO) Sequence ID: KY365675.1*.

Uji kualitatif kandungan kuersetin sebagai salah satu jenis flavanoid yang memiliki peran penting dalam pengobatan berbagai penyakit menunjukkan hasil positif dengan munculnya pita pada plat KLT dengan Rf 0,91 pada kedua sampel dan larutan standar kuersetin, sedangkan uji spektrofotometri pada panjang gelombang maksimum 414 nm menunjukkan kandungan kuersetin pada ekstrak batang *Puri raho* sebesar 99,24 ppm dan 78,08 ppm pada ekstrak batang *Loro wawi eddu*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian Universitas Kristen Artha Wacana Kupang yang telah mendanai penelitian ini.

KONTRIBUSI PENULIS

MESL: mengumpulkan data penelitian, membuat draf artikel, merevisi naskah akhir; ADN: Membuat konsep penelitian, merevisi naskah; AB, STN, AN: Membuat konsep penelitian, membuat draf artikel.

REFERENSI

- Ahmad, W., Jantan, I., Bukhari, S. N. A. 2016. *Tinospora crispa* (L.) Hook. f. & Thomson: A review of its ethnobotanical, phytochemical, and pharmacological aspects. *Frontiers in Pharmacology*, 7, pp.1–19.
- Articus, K. 2004. Neuropogon and the Phylogeny of Usnea s.l. (*Parmeliaceae*, Lichenized *Ascomycetes*). *Taxon*, 53, p.925.
- Bachtiar, A.R. 2023. *Penetapan Kadar Flavonoid Total Buah Dengan (Dillenia serrata) menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis*. Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar.
- Bentham, G. 1861. Type: Queensland, Plains of Promise in Eastern Australia. *Journal of the Proceedings of the Linnean Society, Botany*, 5(20), p.52.
- Chen, S., Yao, H., Han, J., Liu, C., Song, J., Shi, L. 2010. Validation of the ITS2 Region as a Novel DNA Barcode for Identifying Medicinal Plant Species. *PloS one*, 5(1), p.e8613.
- Erwin, Rahmadani, I.A., Alimuddin, Ridhay, A. 2022. Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun, Kulit Batang, dan Batang Tumbuhan Afrika (*Vernonia amygdalina* Del). *J Hut Trop* 2, pp.197-203.
- Gardner, 1991. Fisiologi Tanaman Budidaya. UI Press: Jakarta.
- Haque, E., Bari, M. S., Khandokar, L., Anjum, J., Jantan, I., Seidel, V., Haque, M. A. 2023. An updated and comprehensive review on the ethnomedicinal uses, phytochemistry, pharmacological activity and toxicological profile of *Tinospora crispa* (L.) Hook. f. & Thomson. *Phytochemistry reviews: proceedings of the Phytochemical Society of Europe*, 22(1), pp.211–273.
- Hashemzaei, M., Delarami Far, A., Yari, A., Heravi, R. E., Tabrizian, K., Taghdisi, S. M., Sadegh, S. E., Tsarouhas, K., Kouretas, D., Tzanakakis, G., Nikitovic, D., Anisimov, N. Y.,

- Spandidos, D. A., Tsatsakis, A. M., Rezaee, R. 2017. Anticancer and apoptosis-inducing effects of quercetin in vitro and in vivo. *Oncology reports*, 38(2), pp.819–828.
- Hidayat, T., Pancoro, A. 2016. ULasan Kajian Filogenetika Molekuler dan Peranannya dalam Menyediakan Informasi Dasar untuk Meningkatkan Kualitas Sumber Genetik Anggrek. *Jurnal AgroBiogen*, 4, p.35.
- Hidayat, T., D. Kusumawaty, Kusdianti, D. D. Yati, A. A. Muchtar, D. Mariana. 2008. Analisis filogenetik molekuler pada *Phyllanthus niruri* l. (*Euphorbiaceae*) menggunakan urutan basa DNA daerah *Internal Transcribed Spacer* (ITS). *Jurnal Matematika dan Sains*, 13(1), pp.16–21.
- Katib, S., Ruangrungsi, N., Palanuvej, C., Chareonsap, P. P., Rungsihirunrat, K. 2017. Macroscopic-microscopic characteristics and AFLP marker for identification of *Tinospora crispa* and *Tinospora baenzigeri* endemic to Thailand. *Journal of Health Research*, 31(2), pp.143-149.
- Kumar, S., Pandey, A.K. 2013. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview, *The Scientific World Journal*, 2013, pp.1-16.
- Kurniawati, E, Lestari, T.P, Pertiwi, K.K. 2024. Validasi Metode Analisis Kuersetin Dari Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum* L) Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Ilmiah Manuntung: Sains Farmasi dan Kesehatan*, 10(1), pp.72-81.
- Lakhanpal, P., Rai, D.P. 2007. Quercetin: A Versatile Flavonoid. *Internet Journal of Medical Update*, 2(2), pp. 20-35.
- Ledo, M.E.S., Ngginak, J., Ballo, A., Heke, M.J., Ndun, Y., Ngede, A., Ame, J.A., Saad, G. 2024. *Kamus bergambar tumbuhan dari Hawu Raijua berbasis kearifan lokal Do Hawu*, Yayasan Taman Pustaka Kristen, Yogyakarta.
- Liu Z, Zeng X, Yang D, Ren G, Chu G, Yuan Z.2012. Identification of medicinal vines by ITS2 using complementary discrimination methods. *J Ethnopharmacol* 141(1), pp.242–249.
- Mundita, I.W. 2013. Pemetaan Pangan Lokal di Pulau Sabu Raijua, Rote Ndao, Lembata, dan Daratan Timor Barat (Kab. Kupang & TTS). Perkumpulan PIKUL Kupang.
- Natasa, E., Ferdinan, A., Kurnianto, E. 2021. Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Akar Bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk.). *Jurnal Komunitas Farmasi Nasional*, 1(2), pp.155-162.
- Pratiwi, Dilla, N., Utami, N., dan Pratimasari, D. 2021. Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Ekstrak, Fraksi Polar, Semi Polar Serta Non Polar Bunga Pepaya Jantan (*Carica papaya* L.). *Jurnal Farmasi*, 2(1), pp.25-31.
- Priyanka, B.J., Raju, M.S.V.S.B. 2021 Machine Learning Approach for Prediction of Cervical Cancer. *Turkish Journal of Computer and Mathematics Education*, 12, pp.3050-3058.
- Roni, A., Kurnia, D., Hafsyah, N. 2022. Penetapan Kadar Flavonoid dan Aktivitas Antioksi dan Pada Ekstrak Batang Brotowali (*Tinospora crispa* L.) Dengan Metode Cuprac. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 7(1), pp. 165-173.
- Rosidah, I., Zainuddin, Z., Mufidah, R., Bahua, H., Saprudin, M. 2017. Optimasi Kondisi Ekstraksi Senyawa Total Fenolik Buah Labu Siam (*Sechiumedule* (Jacq.) Sw.) Menggunakan Response Surface Methodology. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, 27(2). pp.79-88.
- Rustanti, E., Lathifah, Q.A. 2018. Identifikasi senyawa kuersetin dari fraksi etil asetat ekstrak daun alpukat (*Persea americana* mill.). *Alchemy: Journal of Chemistry*, 6(2), pp.38-42.
- Sampulawa, S., Bahalwan, F. 2022. Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Alga Coklat (*Hormophysa triquetra*). *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 10(1), pp.212-217.
- Mishra S., Khristi S.M., Ray, S. 2021. *Tinospora merrilliana* (*Menispermaceae*): an addition to the flora of India. *Rheede*, 31(2), pp. 62–67.
- Sodakain, F, Ledo, M.E.S, Ballo, A. 2024. Pengaruh Variasi Ekstrak Batang Loro Wawi Eddu (*Tinospora* sp) dalam Produk VCO Terhadap Kemampuan Repellent Dan Kualitas Organoleptik. Skripsi. Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Kristen Artha Wacana.

- Suiswinarni. (2019). *Budidaya Dan Khasiat Brotowali*. Semarang: ALPRIN.
- Tindi, M., Mamangkey, N. G. F., Wullur, S. 2017. The DNA barcode and molecular phylogenetic analysis several Bivalve species from North Sulawesi Waters based on COI gene. *J.Pesisir dan Laut Trop.*, 1(2), pp.32-38.
- Tulung, P.C, Rorong, J.A, Pontoh, J .2017. Analisis Fitokimia dan Uji Toksisitas dari Kulit Batang Kersen (*Muntingia Calabura*). *Chem.Prog.*, 10(1), pp.14-18.
- Vifta, R.L., Advistasari, Y.D. 2018. Analisis Penurunan Kadar Glukosa Fraksi1 n- Heksan Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B) secara in vitro dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Indo. J. Chem. Sci.*, 7(3), pp.249-253.
- Virgilio, M., Jordaens, K., Breman, F. C., Backeljau, T., de Meyer, M. 2012. Identifying insects with incomplete DNA barcode libraries, African fruit flies (Diptera: Tephritidae) as a test case. *PLoS ONE*, 7(2), p.e31581.
- Wulandari, N. A. 2018. *Isolasi Flavonoid Batang Brotowali (Tinospora crispa* L. Miers). Doctoral dissertation, UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
- Yu, J., Wu, X., Liu, C., Newmaster, S., Ragupathy, S., Kress, W. J. 2021. Progress in the use of DNA barcodes in the identification and classification of medicinal plants. *Ecotoxicology and environmental safety*, 208, p.111691.