

**ANALISIS OTENTIKASI DAN FITOKIMIA TUMBUHAN BROTOWALI ASAL  
SABU RAIJUA**

**SKEMA PENELITIAN PENELITIAN UNGGULAN FAKULTAS**



**Oleh:**

**MELLISSA E.S LEDO, S.Si, M.Biotech (3046761662230223)**

**ANGGREINI RUPIDARA, M,Si, PhD ( 7157746647230103)**

**APRILIANA BALLO, S.Si, M.Si (6736761662237132)**

**SONYA T. NGE, S.Si, M.Si (2138764665230303)**

**FAKULTAS  
UNIVERSITAS KRISTEN ARTHA WACANA  
KUPANG  
2024**

I. HALAMAN PENGESAHAN

PENELITIAN INTERNAL  
(SKEMA PENELITIAN UNGGULAN FAKULTAS)  
UNIVERSITAS KRISTEN ARTHA WACANA

Judul Penelitian : Analisis Otentikasi dan Fitokimia Tumbuhan Brotowali Asal Sabu Raijan

Ketua :

- a. Nama Lengkap : Mellissa E.S Ledo, S.Si, M.Biotech
- b. NIDN : 0814078301
- c. SINTA ID : 6647653
- d. Jabatan Fungsional : Lektor
- e. Program Studi : Pendidikan Biologi
- f. Nomor HP : 081228363004
- g. Alamat surel (e-mail): mellissa.ukaw@gmail.com

Anggota (1) :

- a. Nama Lengkap : Anggreini D.N Rupidarn, PhD, M.Si
- b. NIDN : 6166310
- c. SINTA ID : 0825086801
- d. Program Studi : Pendidikan Biologi

Anggota (2) :

- e. Nama Lengkap : Apriliana Ballo, S.Si, M.Sc
- f. NIDN : 0804048302
- g. SINTA ID : 6661417
- h. Program Studi : Pendidikan Biologi

Anggota (3) :

- i. Nama Lengkap : Sonya T.M Nge, S.Si, M.Si
- j. NIDN : 0806088601
- k. SINTA ID : 6664539
- l. Program Studi : Pendidikan Biologi

Lama kegiatan : 3 bulan  
Biaya penelitian : 10.000.000

Kupang, 13 Januari 2025

 <p>Mengetujui Dean Fakultas KUPANG Anggreini D.N Rupidarn PhD NIDN : 6166310</p>	 <p>Mengetujui Kepala Lembaga Penelitian UKAW Alfred G.G. Kase, SPT, MSi PhD NIDN : 0827056901</p>	<p>Ketua Tim Peneliti,  (Mellissa E.S Ledo, S.Si, M.Biotech) NIDN : 0814078301</p>
--	---	--

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kami panjatkan ke Hadirat Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat dan perkenananNYA Laporan Akhir Penelitian Unggulan Fakultas, Universitas Kristen Artha Wacana tahun 2024 dengan Judul **Analisis Otentikasi dan Fitokimia Tumbuhan Brotowali Asal Sabu Raijua** dapat diselesaikan. Penelitian ini memberikan informasi tentang dua tumbuhan jenis brotowali (*Tinospora*) yang memiliki khasiat obat dan telah digunakan oleh masyarakat kabupaten Sabu Raijua di kecamatan Sabu Barat, Sabu Tengah, Hawu Mehara, Liae dan Sabu Timur untuk mengobati penyakit iritasi, luka, maag, kanker, dan tulang yang patah. Pengobatan dilakukan dengan cara tradisional dengan berbagai cara pengolahan. Informasi tentang otentitas kedua tumbuhan ini melalui determinasi dan biomolekuler (penanda DNA ITS2) dan uji kandungan fitokimia dalam hal ini senyawa flavanoid (kuersetin) yang memiliki fungsi sebagai anti alergi, anti inflamasi, anti kanker, pelindung kardiovaskular, anti tumor, anti virus, anti diabetes, meningkatkan imun, anti hipertensi, dan melindungi sistem pencernaan. Penelitian ini diharapkan akan berkontribusi dalam pengembangan obat herbal berbasis kearifan lokal masyarakat Sabu Raijua, Nusa Tenggara Timur.

Kupang, 25 Januari 2025

Tim Peneliti



UNIVERSITAS KRISTEN ARTHA WACANA  
PENELITIAN INTERNAL UNGGULAN FAKULTAS

**Analisis Otentikasi dan Fitokimia Tumbuhan Brotowali Asal Sabu Raijua**

**ABSTRAK**

Tumbuhan brotowali diketahui memiliki khasiat obat, Batangnya dapat dimanfaatkan untuk rematik, memar, demam, merangsang, nafsu makan, sakit kuning, cacingan, dan batuk. Air rebusan daun brotowali sering dimanfaatkan untuk mencuci luka pada kulit atau gatal- gatal. Sedangkan rebusan daun dan batang brotowali dipergunakan untuk penyakit kencing manis. Terdapat 2 jenis tumbuhan berkhasiat obat di sabu raijua yang memiliki kemiripan morfologi dengan tumbuhan brotowali, yaitu tumbuhan yang memiliki nama daerah *Puri raho* dan *Loro wawi eddu*. DNA *barcode* sangat berharga dalam hal identifikasi spesies tumbuhan obat dibandingkan dengan identifikasi morfologi tradisional untuk konservasi dan pemanfaatan tumbuhan lebih lanjut. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi spesies tumbuhan *Puri raho* dan *Loro wawi eddu* dan menganalisis kandungan fitokimianya untuk mengembangkan obat herbal berbasis kearifan lokal masyarakat sabu raijua. Penelitian ini terdiri atas 2 tahap yaitu analisis DNA *barcode* menggunakan ITS2 dan identifikasi kandungan fitokimia (kuersetin) pada batang tumbuhan brotowali asal Sabu Raijua menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dan metode spektrofotometri. Otentikasi tumbuhan *Puri raho* dan *Loro wawi eddu* menggunakan buku kunci determinasi menunjukkan bahwa kedua tumbuhan ini termasuk dalam ordo *Ranunculales*, 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 kemiripan DNA ITS2 sebesar 100% dengan *Tinospora crispa voucher Chen ZD s.n. (PE) Sequence ID: KY365661.1*, sedangkan *Loro wawi eddu* menunjukkan kemiripan 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  $R_f$  0,91 pada 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*.

Kata kunci; *Tinospora*, DNA *barcode*, Kuersetin, *Loro wawi eddu*, *Puri raho*, Sabu Raijua

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	I
HALAMAN PENGESAHAN.....	II
KATA PENGANTAR.....	III
ABSTRAK.....	IV
DAFTAR ISI.....	V
DAFTAR TABEL.....	V
DAFTAR GAMBAR.....	V
DAFTAR LAMPIRAN.....	V
PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	2
C. Tujuan dan Manfaat.....	3
D. Metode Penelitian .....	3
KAJIAN PUSTAKA.....	4
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	20
PENUTUP.....	33
A. Kesimpulan.....	33
B. Saran.....	33
DAFTAR PUSTAKA.....	35
LAMPIRAN.....	40

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Rf ekstrak batang <i>Puri raho</i> dan <i>Loro wawi eddu</i> .....	29
Tabel 2. Absorbansi larutan standar kuersetin .....	30
Tabel 3. Konsentrasi kuersetin pada ekstrak batang <i>Puri raho</i> dan <i>Loro wawi eddu</i> .....	31

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Tanaman Brotowali.....	4
Gambar 2.1. <i>Tinospora cordifolia</i> .....	6
Gambar 2.2. <i>Tinospora crispa</i> .....	8
Gambar 2.3. <i>Tinospora merriliana</i> .....	9
Gambar 2.4. <i>Tinospora sinensis</i> .....	10
Gambar 2.5. <i>Tinospora macrocarpa</i> .....	11
Gambar 2.6. <i>Tinospora subcordata</i> .....	12
Gambar 2.7. <i>Tinospora tenera</i> .....	13
Gambar 2.8. <i>Tinospora baenzigeri</i> .....	14
Gambar 2.9. <i>Tinospora sagittata</i> .....	15
Gambar 2.10. <i>Tinospora bakis</i> .....	16
Gambar 2.11. <i>Tinospora smilacina</i> .....	18
Gambar 3. Tumbuhan <i>Puriraho</i> .....	21
Gambar 4. Hasil penyejajaran sekuen DNA ITS2 sampel <i>Puri raho</i> .....	22
Gambar 5. Konstruksi filogenetik sekuen ITS2 .....	23
Gambar 6. Tumbuhan <i>Loro wawi eddu</i> .....	24
Gambar 7. Hasil penyejajaran sekuen DNA ITS2 sampel <i>Loro wawi eddu</i> .....	25
Gambar 8. Konstruksi filogenetik sekuen ITS2 <i>Loro wawi eddu</i> .....	27
Gambar 9. KLT ekstrak batang <i>Puri raho</i> (P), <i>Loro wawi eddu</i> (L) .....	28
Gambar 10. Kurva Regresi Linear larutan standar kuersetin .....	31

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Ekstraksi batang <i>Puri raho</i> .....	35
Lampiran 2 Ekstraksi batang <i>Loro wawi eddu</i> .....	36
Lampiran 3 Hasil Uji Spektrofometri Kandungan Kuersetin.....	36
Lampiran 4 Hasil Uji DNA Barcode ITS2 .....	42

## PENDAHULUAN

### A. LATAR BELAKANG

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 (2019), dalam bukunya terdapat 11 jenis tumbuhan pangan pokok yang terdapat di Kabupaten Sabu Raijua diantaranya Walur (*Amorphophalus paeniifolius*), 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 krispura*, *Tinospora dissitiflora* (Sanjay *et al*, 2021). *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).

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 di masa depan.

## **B. RUMUSAN MASALAH**

1. Beberapa spesies tumbuhan obat di Sabu Raijua belum teridentifikasi secara jelas taksonominya diantaranya tumbuhan *Puri raho* dan *Loro wawi eddu*
2. Masyarakat telah menggunakan batang tumbuhan *Puri raho* dan *Loro wawi eddu* untuk mengobati penyakit malaria, iritasi, tulang yang patah dan kanker, namun penelitian ilmiah yang berkaitan dengan kandungan fitokimia khususnya kandungan flavanoid (kuersetin) belum dilakukan.

## **C. TUJUAN DAN MANFAAT**

1. Menganalisis otentitas tumbuhan *Puri raho* dan *Loro wawi eddu* menggunakan deskripsi morfologi dan uji biomolekuler (Penanda DNA ITS2)
2. Menentukan kandungan flavanoid (kuersetin) pada batang *Puri raho* dan *Loro wawi eddu* menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Spektrofotometri

## D. METODE

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen, terdiri atas 2 tahap penelitian yaitu uji DNA barcode menggunakan penanda DNA ITS2 di Laboratorium Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta dan uji fitokimia (senyawa kuersetin) pada 2 tumbuhan brotowali asal Sabu Raijua di Laboratorium Terpadu UNDANA dan Laboratorium Biologi, UKAW. Adapun prosedur kedua tahapan tersebut sebagai berikut :

1. Uji DNA *barcode* yang terdiri atas isolasi DNA dari jaringan tumbuhan, uji kualitas dan kuantitas DNA tumbuhan, PCR, dan sekuensing.
  2. Uji Fitokimia yang terdiri atas uji kualitatif kandungan kuersetin menggunakan plat KLT dan uji spektrofotometri
  3. Konstruksi pohon filogenetik menggunakan aplikasi MEGA
- Analisis data DNA *barcode* menggunakan NCBI, sedangkan analisis data kandungan kuersetin dengan menghitung nilai Rf menggunakan rumus:

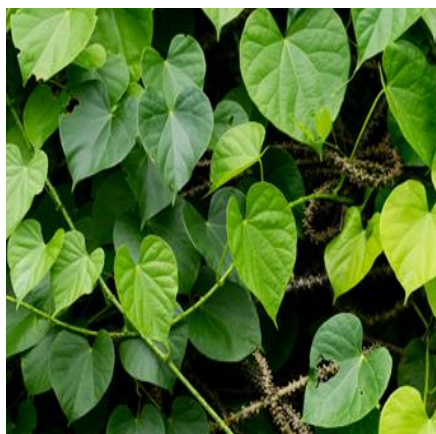
$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh komponen}}{\text{Jarak total yang ditempuh oleh eluen}}$$

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)

## KAJIAN PUSTAKA

Tumbuhan brotowali merupakan jenis tumbuhan anggota famili *Menispermaceae*, tumbuhan ini tersebar merata di seluruh wilayah Indonesia. Deskripsi morfologi batang tumbuhan ini adalah batangnya berbentuk bulat tipis dan memanjang, memiliki banyak tonjolan serta warnanya coklat gelap atau kehitaman (Maylina, 2019)

Brotowali mempunyai ciri khas yang unik berbeda dengan tumbuhan-tumbuhan lainnya. Batangnya berbintik-bintik rapat, dan bila disimpan dalam waktu yang cukup lama keadaan batang tidak berubah. Batang brotowali berukuran kecil rata-rata sebesar jari kelingking panjangnya bisa mencapai 2 meter bahkan lebih. Batang dari brotowali banyak mengandung air. Daun brotowali sangat unik bentuknya seperti jantung. Agak membundar dan berujung lancip. Daunnya berwarna hijau muda yang memiliki lebar antara 6 hingga 12 cm. Daun brotowali juga termasuk jenis daun tunggal.



Gambar 1. Tumbuhan Brotowali

Brotowali memiliki bunga yang tidak sempurna karena tidak memiliki bagian-bagian bunga yang lengkap. Bunga brotowali berukuran kecil. Berwarna hijau muda memiliki mahkota enam. Bunga ini juga merupakan tunas, warnanya kemudian berubah menjadi merah dan putih. Buah pada tumbuhan brotowali berada di batang dan berkumpul, buahnya berwarna merah muda. Brotowali adalah tumbuhan obat tradisional Indonesia yang biasa di tanam di pekarangan rumah, di ladang dan tumbuhan ini juga tumbuh liar di hutan, biasanya hidup di tempat terbuka yang

terkena sinar matahari langsung sehingga dapat tumbuh di daerah hutan atau semak belukar didaerah tropis seperti di Indonesia (Lakhanpal, 2007).

Tumbuhan jenis brotowali berasal dari famili *Menispermaceae* yang umumnya digunakan sebagai bahan obat herbal, tumbuhan ini memiliki keanekaragaman spesies yang relatif tinggi, di Indonesia terdapat 79 spesies brotowali yang termasuk dalam genus *Tinospora* (Plantamor, 2024). Beberapa deskripsi spesies *Tinospora sp* yang dianggap memiliki kemiripan dengan *Puri raho* dan *Loro wawi eddu* adalah :

#### 1. *Tinospora cordifolia*

*Tinospora cordifolia* merupakan semak besar berdaun merambat yang ditemukan di seluruh India, terutama di daerah tropis yang tingginya mencapai 300 m. dan juga di beberapa bagian Tiongkok. Tanaman ini sangat kaku dan dapat tumbuh di hampir semua iklim tetapi lebih menyukai iklim hangat. Penanaman biasanya dilakukan pada musim hujan (Juli – Agustus). *Tinospora cordifolia* lebih menyukai tanah berwarna hitam atau merah sedang untuk budidayanya (Sharma *et al*, 2019).

*Tinospora cordifolia* adalah pokok renek besar yang merambat dan menyebar luas dengan sejumlah cabang melingkar. Batang tanaman ini agak sukulen dengan sifat panjang, berserabut, berdaging dan memanjat. Akar udara muncul dari dahan. Kulit batangnya berwarna putih krem hingga abu-abu dan berbentuk spiral ke kiri, ada akar arial, akar udara ini dicirikan oleh struktur primer tetra hingga penta-lengkungan. Namun, korteks akar terbagi menjadi parenkim bagian luar yang berinding tebal dan bagian dalam.

Daun tanaman ini sederhana, berseling, berbintik-bintik, panjang tangkai daun kurang lebih 15 cm. Bunganya berkelamin tunggal, recemes, warnanya kuning kehijauan, muncul pada tanaman yang daunnya sedikit. Bunga jantan bergerombol dan bunga betina terdapat dalam bunga tunggal. Sepal ada 6 dalam 2 seri masing-masing 3. Sepal bagian luar lebih kecil dari sepal bagian dalam, kelopaknya juga ada 6, lebih kecil dari sepal, bebas dan berselaput. Pembungaan terjadi pada bulan Maret hingga Juni. Warnanya oranye-merah, berdaging, agregat 1-3 dan bulat telur, halus, buah berbiji pada tangkai tebal dengan bekas luka model sub terminal. Buah berkembang selama musim dingin. Benih melengkung telah dilaporkan pada spesies ini. Oleh karena itu keluarga ini dinamakan keluarga *moonseed* Juga. Ketika benih berbentuk melengkung, embrio juga otomatis berubah bentuk. Selain itu, endokarp mempunyai ornamen yang beragam dan memberikan karakter taksonomi yang penting.



Gambar 2.1 a). Pohon *Tinospora cordifolia* b). Daun *Tinospora cordifolia* c). Batang *Tinospora cordifolia* d). Bunga *Tinospora cordifolia* (Sharma *et al*, 2019).

## 2. *Tinospora crispa*

*Tinospora crispa* merupakan jenis tanaman yang mudah dalam perawatan penanamannya. Tanaman ini tumbuh liar di ladang dan hutan atau ditanam di pekarangan yang banyak dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Pada umumnya *Tinospora crispa* memiliki tinggi mencapai 2.5 m. Batang tanaman ini lunak dan memiliki duri semu seperti bintil-bintil. Daunnya berkaki tunggal, yang memiliki bentuk mirip jantung atau agak bulat dan ujungnya runcing. Bunganya berukuran kecil, berwarna hijau dan bertandan semu. Buah brotowali terdiri dari tandan dan 8 berwarna merah muda (Katib *et al*, 2019).

*Tinospora crispa* mempunyai buah yang saling berkumpul pada tandan dan termasuk ke dalam jenis buah batu. Buahnya berwarna merah muda dan hijau. *Tinospora crispa* memiliki daun tunggal tanpa spitula yang berbentuk jantung dengan ujung daun runcing dengan tepi rata. Mempunyai tulang daun yang menjari sebanyak 5-7 buah, helai daun berukuran sekitar 6-13 cm x 7-14 cm, helai daun berwarna hijau muda serta memiliki tekstur yang halus.

*Tinospora crispa* memiliki batang atau ranting berbentuk spiral dengan batang bulat, berkayu, permukaan berbenjol-benjol, bercabang dan berwarna hijau-cokelat. Batang tanaman brotowali yang sudah tua memiliki benjolan-benjolan (*tuberculatum*) dan memiliki akar gantung dari batang yang tumbuh mencapai tanah. Bentuk bunga tanaman brotowali (*Tinospora crispa*) yaitu aktinomorfi, uniseksual berukuran kecil yang berwarna hijau muda atau putih kehijauan. Brotowali mempunyai mahkota bunga berwarna putih dengan kelopak bunga agak menyatu dan hanya memiliki putik saja. Bunga brotowali termasuk ke dalam jenis bunga yang tidak sempurna, karena tidak mempunyai bagian bunga yang tidak lengkap dan termasuk ke dalam salah satu bunga majemuk tandan semu yang menggantung. Pada bunga jantan, bunganya memiliki tangkai pendek dan terdapat mahkota yang jumlahnya tiga helai dan terdapat enam kelopak, sedangkan pada bunga betina jarang ditemukan.



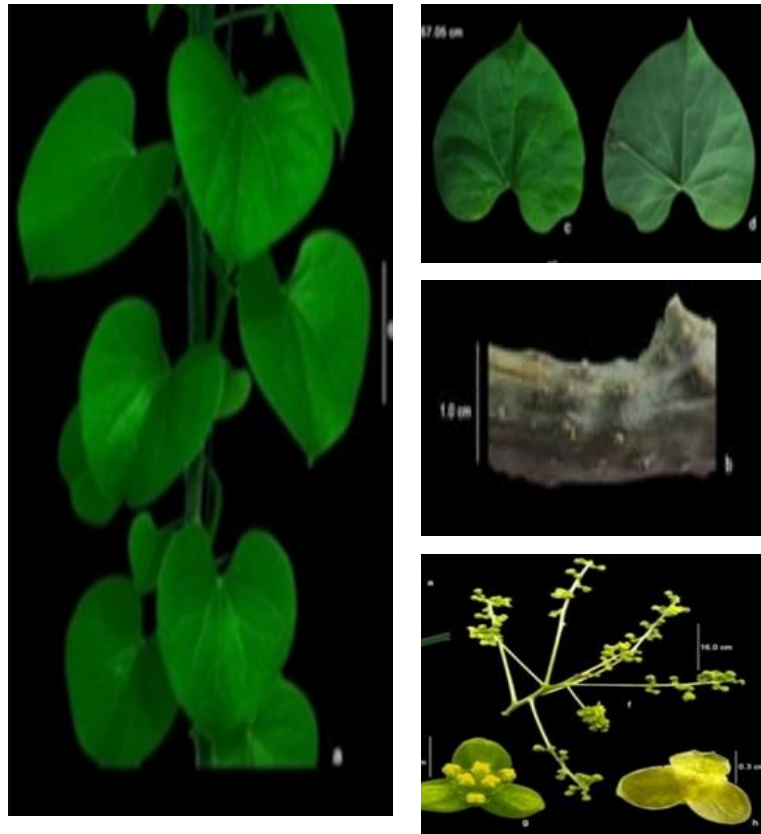
Gambar 2.2 a). Pohon *Tinospora crispa* b). Daun *Tinospora crispa* c). Batang *Tinospora crispa* d). Bunga *Tinospora crispa* (Katib *et al*, 2017).

### 3. *Tinospora merrilliana*

*Tinospora merrilliana* merupakan spesies endemik Malaysia Tengah yang kurang dikenal dan dilaporkan untuk pertama kalinya sebagai rekor baru flora India. Tanaman ini memiliki ciri-ciri yang ramping, berkayu, pemanjat *dioecious* dengan getah encer berlendir saat dipotong, kulit kayu kasar, lurik mengering. Batang berdiameter hingga 1 cm, batang muda berdiameter 1,5–3 mm, batang yang lebih tua ditutupi dengan lentisel gabus yang menonjol. Daun dengan tangkai daun sepanjang 4–9 cm. Perbungaan jantan di ketiak daun atau timbul dari batang tua, panjang 6–16 cm, cabang tunggal atau beberapa timbul bersamaan, sebagian besar tanpa bunga di bagian bawah setiap cabang (Sanjay *et al*, 2021).

Bunga jantan dengan tangkai sepanjang 2–5 mm, hijau pucat, sangat tipis, bagian luar 3 bulat telur, panjang 1–1,5 mm, bagian dalam 3 bulat telur hingga panjang 2–3 mm. Bunga betina dengan panjang tangkai 4–7 mm dan kelopak sama seperti pada jantan.

Buah berbiji berwarna kehijauan pada tahap belum matang, berwarna putih kehijauan saat matang dengan diameter 1–2 mm. pada tangkai, panjang 4–6 mm. Berbunga dari bulan Oktober hingga Desember dan berbuah dari bulan Januari hingga Mei. Spesies ini tumbuh di tanah lempung bersama pagar tanaman di sekitar lahan budidaya pada ketinggian 318 m dpl. Begitu pula dengan buah berbiji *Tinospora merrilliana* berwarna kehijauan saat muda dan kemudian menjadi putih kehijauan.



Gambar 2.3 a). Pohon *Tinospora merriliana* b). Daun *Tinospora merriliana* c). Batang *Tinospora merriliana* d). Bunga *Tinospora merriliana* (Sanjay *et al*, 2021).

#### 4. *Tinospora sinensis*

*Tinospora sinensis* berasal dari Asia Selatan dan Tenggara, Nepal, Srilanka dan Bengal. Di India terjadi di Assam, Bihar, Orissa, Maharashtra, Andhra Pradesh, Karnataka, Kelala dan Tamilnadu. Batang dewasa *Tinospora sinensis* telah digunakan untuk mengobati demam, penyakit kuning dan sensasi terbakar. Di Cina, daun dan batang segar digunakan dalam pengobatan rematik kronis, untuk pengobatan wasir dan luka borok. Studi validasi ilmiah pada *Tinospora sinensis* dilaporkan memiliki aktivitas anti-inflamasi dan anti-diabetes namun tidak ada laporan mengenai potensi hepatoprotektifnya (Bhagyashri, 2013).

*Tinospora sinensis* adalah semak merambat yang meranggas dengan batang yang menonjol dan memiliki lentisel yang tersebar. Sekarang dianggap sebagai tanaman yang terancam. Kulit batangnya tipis, berwarna putih keabu-abuan. Cabang-cabang yang lembut memiliki rambut putih yang berbeda. Daun berseling, bulat telur lebar 7-17 x 4-13 cm, pangkal berbentuk hati,

ujung runcing panjang, sedikit beludru di permukaan atas dan padat beludru di permukaan bawah, syaraf basal 5-7 tangkai daun panjangnya mencapai 10 cm, bunga berbulu terbentuk dalam bentuk tandan dari ketiak daun yang gugur dan juga pada batang tua, kuning kehijauan, banyak, lebar 5 mm. bunga jantan dan betina terlihat terpisah pada tanaman yang sama. Buah berbentuk bulat muncul dalam kelopak 1-3 buah, lebarnya sekitar 1,5 cm, berubah warna menjadi orange-merah ketika sudah matang (Wangchuk, 2018).

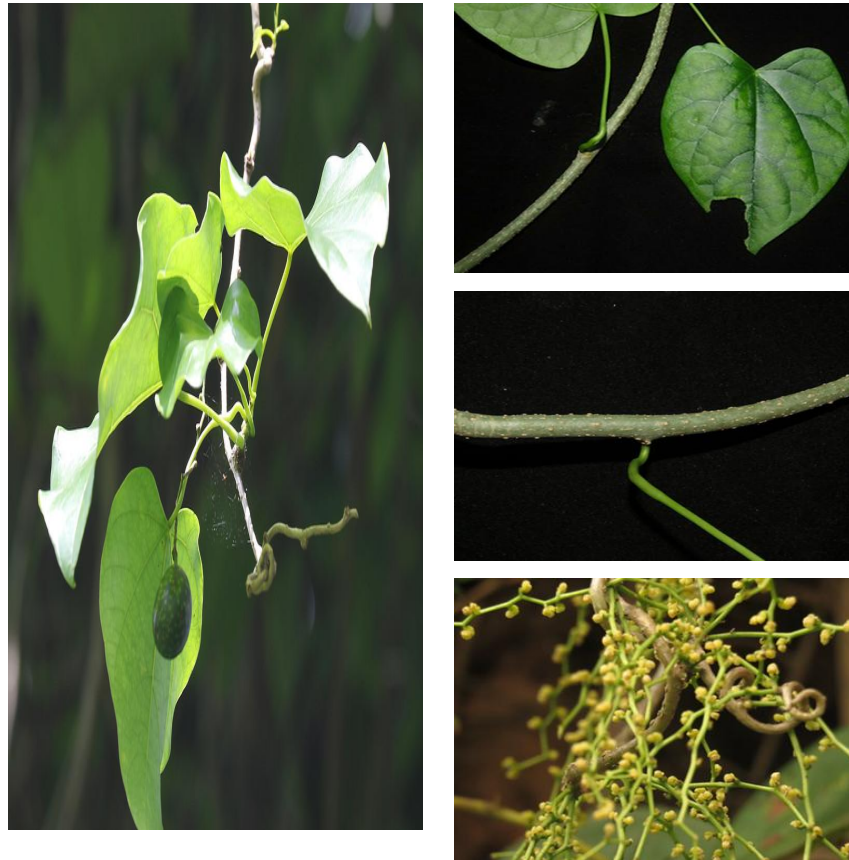


Gambar 2.4 a). Pohon *Tinospora sinensis* b). Daun *Tinospora sinensis* c). Batang *Tinospora sinensis* d). Buah *Tinospora sinensis* (Wangchuk, 2018).

##### 5. *Tinospora macrocarpa*

*Tinospora macrocarpa* memiliki batang muda berwarna coklat pucat, daunnya berselaput dan berbentuk hati. Bunga jantan tumbuh secara berkelompok pada batang tua. *Tinospora macrocarpa* memiliki batang yang tidak bercabang dan ramping. Panjang pembungaan sampai 25 cm, tangkai buah 5-13 mm dengan tebal 2-3 mm, buah berbiji 1-3 per tandan sebagian besar 1 berbentuk bulat telur dengan ukuran 4×1,5 cm berwarna hijau dengan

bintik-bintik pucat saat belum matang, berwarna orange ketika sudah matang dan hitam kusam ketika mengering (Turner, 2023).

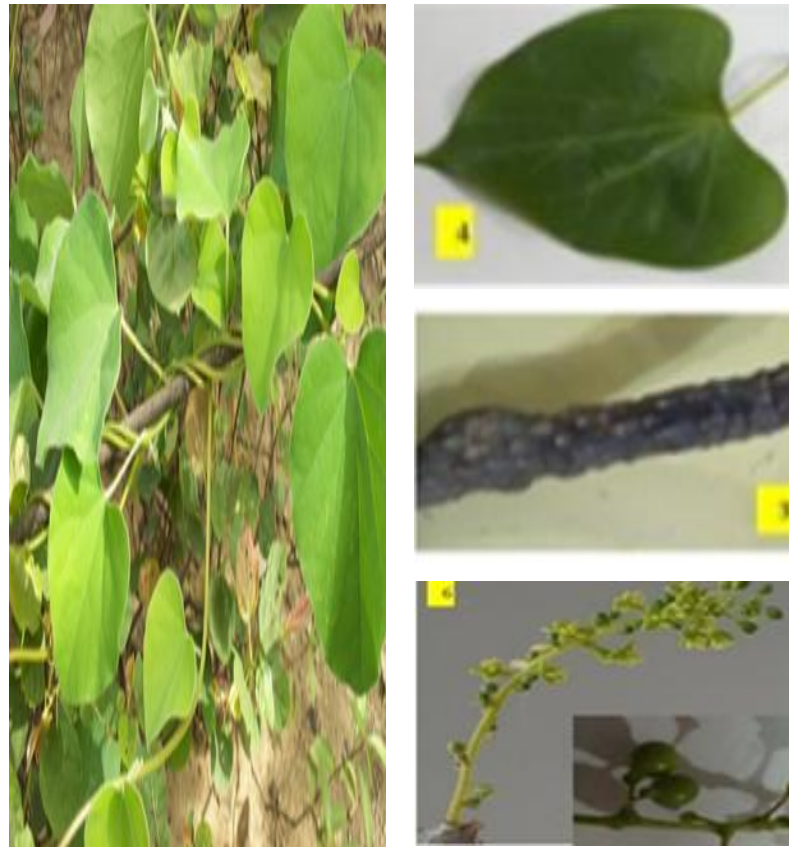


Gambar 2.5 a). Pohon *Tinospora macrocarpa* b). Daun *Tinospora macrocarpa* c). Batang *Tinospora macrocarpa* d). Bunga *Tinospora macrocarpa* (Reuben, 2020).

#### 6. *Tinospora subcordata*

*Tinospora subcordata* adalah spesies yang tumbuh ditanah lempung dengan pagar tanaman di ladang pertanian pada ketinggian 318 m, tumbuhan ini sangat langka dan jarang ditemukan di daerah-daerah setempat. *Tinospora subcordata* berbunga dan berbuah dari Januari hingga Mei. Tanaman ini ditemukan di kawasan hutan Awalaya, Madhya Pradesh India.

*Tinospora subcordata* memiliki batang berkayu kecil, dengan daun berbentuk hati 2,5-8 cm. tumbuhan ini memiliki buah berwarna merah dan bunga jantan dengan tangkai bunga 4-5 mm, sedangkan bunga betina muncul tersendiri pada tangkai dengan panjang 4-6 mm, sepal dan kelopak mirip dengan bunga jantan tetapi sedikit lebih kecil dan kelopak bunga tipis (Mishra, 2020).



Gambar 2.6 a). Pohon *Tinospora subcordata* b). Daun *Tinospora subcordata* c). Batang *Tinospora subcordata* d). Bunga *Tinospora subcordata* (Mishra, 2020).

#### 7. *Tinospora tenera*

*Tinospora tenera* dengan cabang gundul berwarna kuning kecokelatan. Daun dengan tangkai daun gundul 2–3,5 cm. bilahnya berbentuk bulat telur hingga suborbikular, berbentuk hati atau tumpul di pangkal, runcing, apikulat dan kadang-kadang bermukronulat di puncak, 4–7 cm. panjang, 2,5–6 cm. lebar, gundul di kedua sisi, tipis, hijau pucat; saraf 5, palmate. Perbungaan jantan 10–35 cm. panjang; gagang bunga 2–3 mm. panjang bunga jantan dengan sepal luar 0,5–1 mm. panjang betina 0,4–0,7 mm. lebar; sepal bagian dalam 1–1,5 mm. Perbungaan betina dan buah tidak diketahui (Lian, 2019).

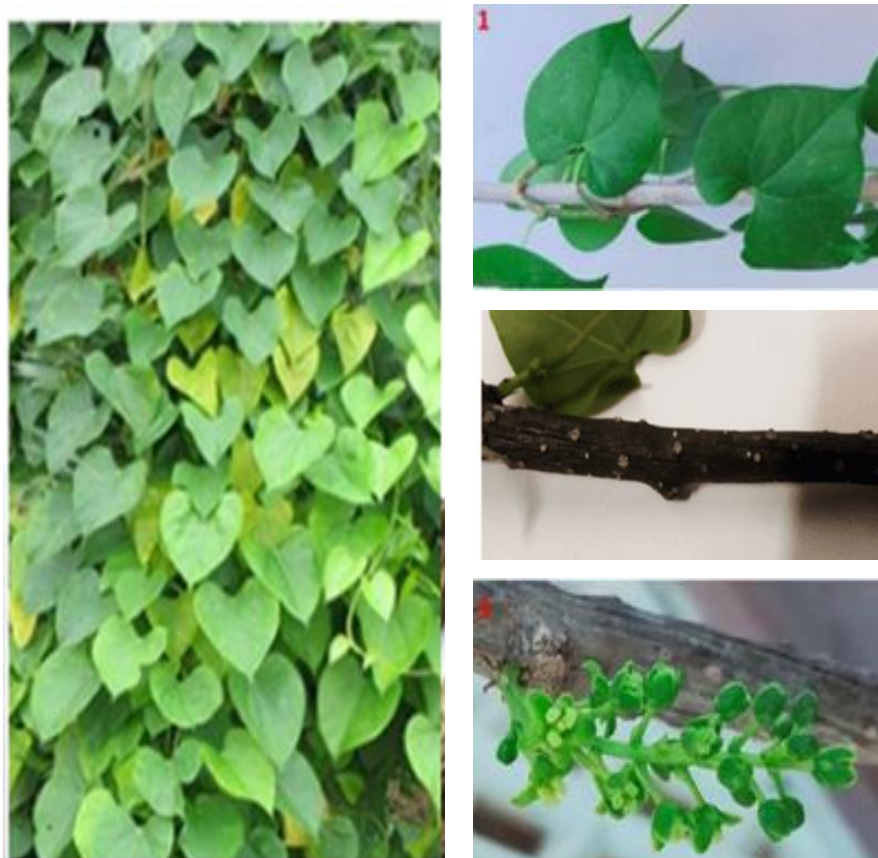


Gambar 2.7 a). Pohon *Tinospora tenera* b). Daun *Tinospora tenera* c). Batang *Tinospora tenera* d). Bunga *Tinospora tenera* (Lian, 2019).

#### 8. *Tinospora baenzigeri*

*Tinospora baenzigeri* merupakan tanaman merambat daun semak asli anak benua India tropis dan umumnya ditemukan dipagar tanaman. Tanaman ini tersebar luas digunakan dalam sistem pengobatan untuk anti-inflamasi, anti-reumatik, anti alergi, anti malaria, dan anti diabetes (Katib *et al*, 2017).

Tangkai kurang menonjol, daun berbentuk hati, puncak berekor, berselang-seling, pangkal berbentuk hati, panjang tangkai daun 5-7 cm dan dua ruas muncul di pangkal daun. Perbungaannya berduri, kelopaknya 3 dan warnanya kuning kehijauan. Buahnya berwarna kuning tua dengan panjang 1-1,5 cm.



Gambar 2.8 a). Pohon *Tinospora baenzigeri* b). Daun *Tinospora baenzigeri* c). Batang *Tinospora baenzigeri* d). Bunga *Tinospora baenzigeri* (Katib et al, 2017).

#### 9. *Tinospora sagittata*

*Tinospora sagittata* adalah tanaman merambat yang terutama ditemukan di lembah Sungai Yangtze dan Sungai Pear, dan akar umbinya dikenal sebagai “Jingguolan” dalam pengobatan etno tradisional masyarakat (Xu et al, 2021).



Gambar 2.10 a). Pohon *Tinospora sagittata* b). Daun *Tinospora sagittata*  
 c). Batang *Tinospora sagittata* d). Buah *Tinospora sagittata*  
 (Xu *et al*, 2021).

#### 10. *Tinospora bakis*

*Tinospora bakis* adalah tanaman pemanjat daun, tumbuh liar di Afrika. Struktur semua senyawa dijelaskan berdasarkan berbagai bukti spektroskopi, seperti NMR, MS, UV, IR, dan ECD. Seluruh bagian tanaman seperti akar sampai daunnya telah digunakan untuk mengobati sakit kepala, rematik, dan diabetes. Meskipun memiliki kepentingan terapeutik, fitokimia *Tinospora bakis* belum pernah diteliti, kecuali komponen utamanya, columbin. Meskipun ekstrak dari akar atau seluruh tanaman *Tinospora bakis* telah dipelajari melalui pendekatan farmakologis *in vivo*, menunjukkan efek antipiretik, antidiabetik, dan imunomodulator, sebagian besar komponen aktif dalam *Tinospora bakis* masih belum diketahui (Diallo, 2022).



Gambar 2.11 a). pohon *Tinospora bakis* b). Daun *Tinospora bakis* c). Batang *Tinospora bakis* d). Bunga *Tinospora bakis* (Diallo, 2022).

### 11. *Tinospora smilacina*

*Tinospora smilacina* atau *Snake vine* merupakan tumbuhan pemanjat dengan akar tunggang berkayu. Masyarakat Aborigin Kimberley memanfaatkan batang dan daun serta tanaman mudanya untuk tujuan pengobatan. Daun yang dihaluskan dihangatkan dan dioleskan langsung pada luka dan batangnya digunakan untuk mengikat atau membuat tali. (Haque *et al*, 2017).

Tanaman ini ditemukan di dalam dan di sepanjang perbatasan hutan hujan kering dan hutan eukaliptus kering di Queensland, Northern Territory, Australia Barat, dan NSW bagian utara (Bentham, 1861). 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.

Bunga jantan: Sepal enam, dalam dua lingkaran tiga. Sepal luar panjangnya sekitar 0,5 mm, jauh lebih kecil dibandingkan sepal dalam yang panjangnya sekitar 3-5 mm. Kelopak enam, seperti kelenjar, panjang sekitar 2 mm, jauh lebih kecil daripada sepal di lingkaran bagian dalam, kelopak setengah menyelimuti filamen staminal. Benang sari enam, panjang sekitar 5-7 mm. Serbuk sari berwarna kuning. Bunga betina: Bunga berdiameter sekitar 4-6 mm. Sepal enam, dalam dua lingkaran tiga, sepal luar panjangnya sekitar 2 mm, sepal dalam petaloid, panjangnya sekitar 4,5 mm. Kelopak enam, bulat telur, panjang sekitar 1-2 mm. Staminode tiga sampai enam, berlawanan dengan kelopak, panjang sekitar 1,6 mm. Ovariumnya tiga, bertumpu pada kolom di tengah bunga. Masing-masing ovarium panjangnya sekitar 1,5-2 mm, kepala putik tidak bertangkai (Bentham, 1861).

Buah berbentuk bulat hingga ellipsoidal, berukuran sekitar 6-10 x 6-9 mm, sisa gaya tetap ada di puncak buah. Permukaan 'biji' (endocarp) bergerigi kasar. Bijinya sekitar 6-7 x 4-5 mm. Kotiledon rata, menyebar, berukuran sekitar 4 x 1,5 mm. Radikel sekitar 1,5-0,5 mm.



Gambar 2.11 a). Pohon *Tinospora smilacina* b). Daun *Tinospora smilacina* c). Batang *Tinospora smilacina* d). Buah *Tinospora smilacina* (Bentham, 1861).

Brotowali mengandung banyak senyawa kimia yang dapat mengobati berbagai macam penyakit. Masyarakat biasanya menggunakan tanaman ini untuk pengobatan berbagai penyakit. Batangnya digunakan untuk pengobatan rematik, memar, demam, sakit kuning, cacingan dan batuk. Air rebusan daun brotowali dimanfaatkan untuk mencuci luka atau penyakit kulit seperti kudis dan gatal-gatal, sedangkan air rebusan daun dan batangnya untuk penyakit kencing manis. Seluruh bagian tanaman ini digunakan untuk penyakit kolera.

Tanaman brotowali juga memiliki aktivitas biologis seperti antimalaria, antidiabetes, antipieretik (penurun panas) dan antihiperqlikemik (penurun kadar gula yang tinggi) (Maylina, 2019).

Senyawa kimia pada brotowali terdapat pada akar, batang, dan daun. tumbuhan brotowali mempunyai sifat pahit, sejuk, menghilangkan sakit (analgetik) penurunan panas dan bahan kimia yang terkandung dalam brotowali di antaranya alkaloida, damar lunak, pati, glikosida prikotersid, zat pahit pikroretin, hamber berin, dan

palmatin. Dalam akar brotowali banyak mengandung zat kimia antimikroba beberin kolumbin dan kolumbin (Singh, 2021)

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.

Kuersetin merupakan senyawa flavonoid yang banyak ditemukan pada sayuran dan buah-buahan. Selain memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, kuersetin juga memiliki aktivitas biologi lainnya seperti antivirus, antibakteri, antiinflamasi, dan antikanker. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa kuersetin memiliki aktivitas yang signifikan dalam menghambat beberapa sel kanker seperti kanker payudara, prostat, kolon dan paru-paru.

*DNA barcode* adalah teknologi identifikasi dan klasifikasi molekuler yang sedang berkembang yang telah diterapkan pada tumbuhan obat sejak tahun 2008. Penerapan teknik ini telah sangat menjamin keamanan dan efektivitas bahan obat. Dari penanda DNA berbasis lokus tunggal hingga penanda gabungan hingga tingkat skala genom, *DNA barcode* menyumbangkan lebih banyak informasi genetik. Dengan perkembangan generasi berikutnya *sequencing*, teknologi *metabarcoding* juga telah terbukti berhasil mengidentifikasi spesies dalam sampel campuran (Puspitasari & Herman, 2018). Otentikasi molekuler bahan tanaman herbal seperti berdasarkan pada *sekuens internal transcribed spacer 2* (ITS2) dari nuklear ribosomal DNA (nrDNA) dianggap lebih dapat diandalkan dibandingkan dengan metode biokimia atau histologis lainnya (Safitri, 2018).

## HASIL DAN 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*.

### 1. 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 karakter morfologi tumbuhan *Puri raho* memiliki kemiripan morfologi dengan *Tinospora cordifolia* dan *Tinospora crispa* dengan beberapa persamaan diantaranya batang memiliki banyak tonjolan serta warnanya hijau-coklat gelap. Batangnya yang berbintik-bintik dan berkayu dengan warna hijau-cokelat. Daun *Puri raho* ini juga memiliki bentuk seperti jantung, namun pada tumbuhan *Puri raho* ini tidak memiliki bunga dan buah.



Gambar 3. Tumbuhan *Puri raho*

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 kemiripan 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* (Gambar. 4). Kemiripan sekuen yang dianalisis dengan data sekuen di NCBI dapat dilihat dari nilai *Per. Ident*, *Query Cover*, dan *E-value* (Tindi dkk., 2017).

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Tinospora crispa voucher Chen ZD s.n. (PE) 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed s...	Tinospora crispa	374	374	72%	5e-99	100.00%	563	KY365661.1
Tinospora sinensis voucher D44 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spa...	Tinospora sinensis	451	451	88%	2e-122	99.60%	633	OQ355481.1
Tinospora crispa voucher D10 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed space...	Tinospora crispa	418	418	82%	2e-112	99.56%	618	OQ355457.1
Tinospora crispa internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, c...	Tinospora crispa	412	412	81%	1e-110	99.56%	611	JN800616.1
Tinospora crispa 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequenc...	Tinospora crispa	405	405	79%	2e-108	99.55%	274	OQ220905.1
Tinospora crispa genes for 5.8S rRNA, ITS 2, 28S rRNA, partial and complete sequence, isolate: CHULA-004	Tinospora crispa	405	405	79%	2e-108	99.55%	303	LC435426.1
Tinospora crispa isolate UAS-SEC248 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA ge...	Tinospora crispa	438	438	87%	2e-118	99.18%	590	KR425496.1
Tinospora crispa strain TS7 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, comple...	Tinospora crispa	372	372	75%	2e-98	98.58%	605	KM363391.1
Tinospora crispa strain TS5 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, comple...	Tinospora crispa	359	359	73%	1e-94	98.53%	659	KM363389.1
Tinospora glabra voucher F. Jacques 03 (P) 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed s...	Tinospora glabra	401	401	82%	2e-107	98.25%	591	KY365664.1

Gambar 4. Hasil penyejajaran sekuen DNA ITS2 sampel *Puri raho* dan beberapa spesies *Tinospora* menggunakan BLAST pada website NCBI.

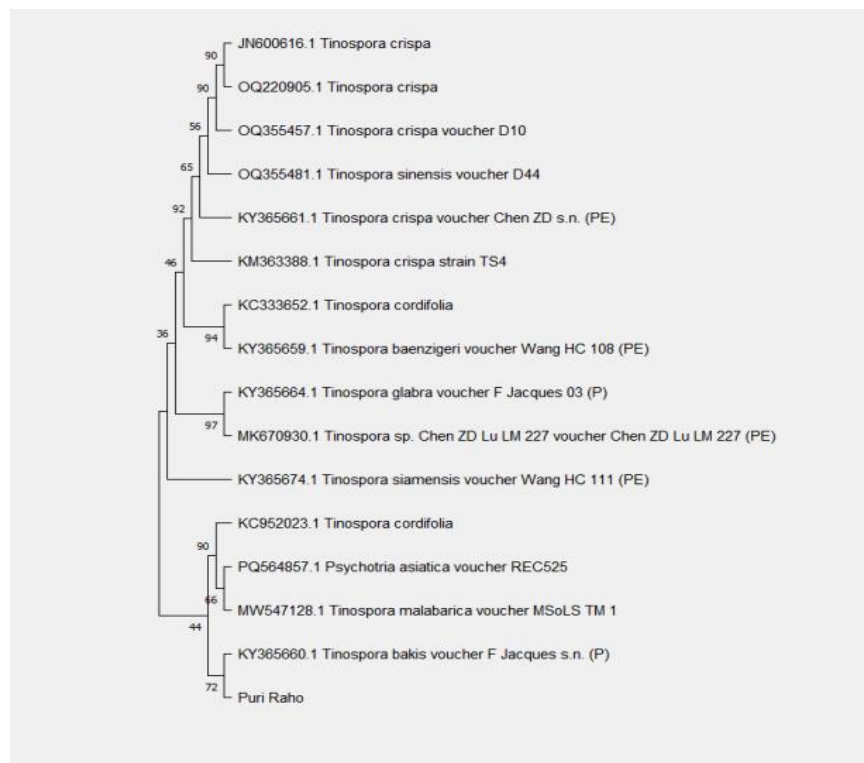
Sekuen ITS dapat membedakan inter dan intra spesies serta penelusuran hubungan kekerabatan dengan melihat perbedaan daerah *conserved* dan melihat similaritas daerah variabel. Ribosomal DNA adalah suatu daerah dalam nuklear DNA yang mengkode ribosom. Ribosom merupakan organel sel yang berperan dalam 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 *et al.*, 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.*, 2019). 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*

Kekerabatan antara tumbuhan *Puri raho* (*Tinospora crispa*) dengan spesies dari genus *Tinospora* yang lain dapat dilihat pada pohon filogeni (Gambar 5)



Gambar 5. Konstruksi filogenetik sekuen ITS2 beberapa spesies dari genus *Tinospora* dan tumbuhan *Puri raho* (*Tinospora crispa*)

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, 2008). 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 dkk. (2015) bahwa nilai bootstrap yang dapat dipercaya dan diterima adalah >25%.

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

Tumbuhan *Loro wawi eddu* memiliki deskripsi morfologi sebagai berikut, 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. Daun bertulang melengkung, yaitu pasangan tulang daun yang paling bawah menuju ke dekat atau sampai pada ujung daun. 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 6. Tumbuhan *Loro wawi eddu*



Gambar 7. Hasil penyejajaran sekuen DNA ITS2 sampel *Loro wawi eddu* dan beberapa spesies *Tinospora* menggunakan BLAST pada website NCBI.

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* (Gambar 6). 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

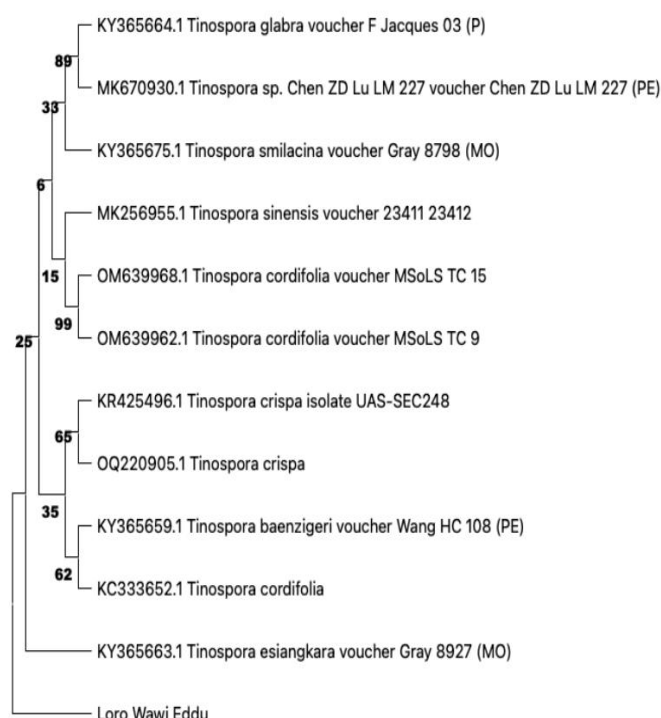
Genus: *Tinospora*

Spesies: *Tinospora smilacina*

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.

Kekerabatan antara tumbuhan *Loro wawi eddu* (*Tinospora smilacina*) dengan spesies dari genus *Tinospora* yang lain dapat dilihat pada pohon filogeni (Gambar 8)



Gambar 8. Konstruksi filogenetik sekuen ITS2 beberapa spesies dari genus *Tinospora* dan tumbuhan *Loro wawi eddu* (*Tinospora smilacina*)

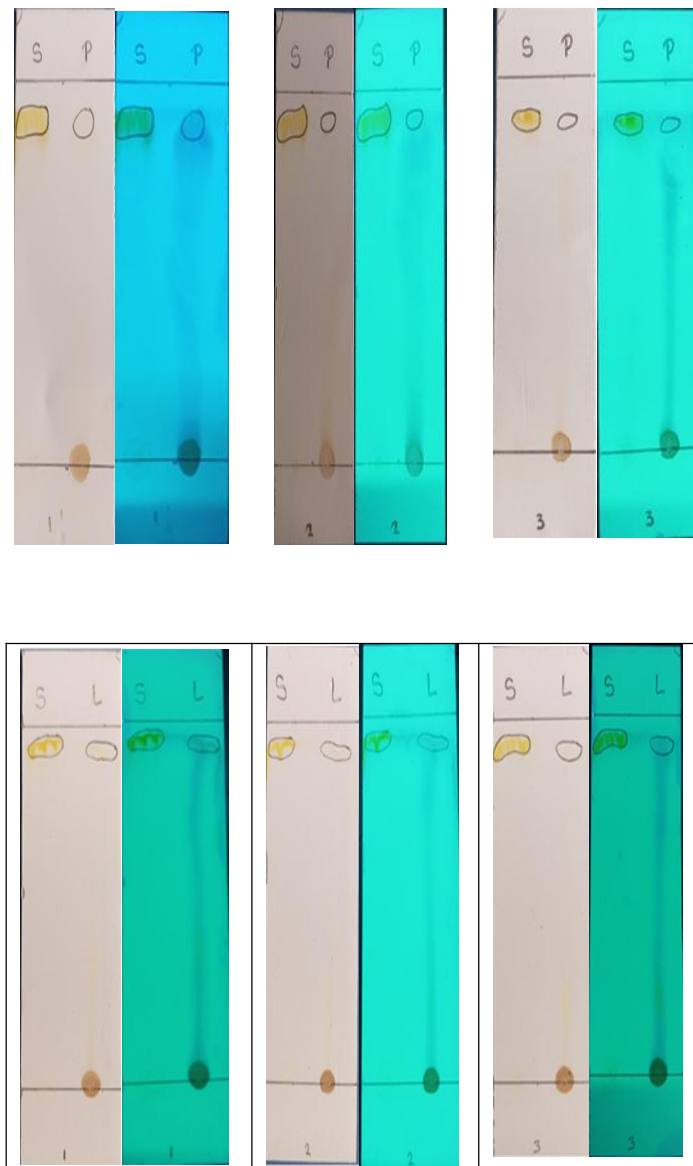
Hasil penelitian menunjukkan bahwa ITS2 *barcode* memiliki kemampuan pembeda yang lebih baik dalam mengidentifikasi tumbuhan *Loro wawi eddu* (*Tinospora smilacina*), konstruksi filogenetik sekuen ITS2 menunjukkan kekerabatan yang jauh antara tumbuhan *Loro wawi eddu* (*Tinospora smilacina*) dengan spesies 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, 2008).

### 3. Fitokimia tumbuhan *Puri raho* dan *Loro wawi eddu*

Uji kualitatif senyawa kuersetin dilakukan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dengan hasil sebagai berikut :



Gambar 9. KLT ekstrak batang *Puri raho* (P), *Loro wawi eddu* (L) dan larutan standar kuersetin (S) menggunakan pelarut aseton : etil asetat dan metanol : etil asetat

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.

Tabel 1. Rf ekstrak batang *Puri raho* dan *Loro wawi eddu*

Pelarut	Rf ekstrak batang <i>Puri raho</i>	Rf ekstrak batang <i>Loro wawi eddu</i>	Rf Kuersetin
Aseton : Etil asetat	0,9	0,92	0,9
Etil asetat : Metanol	0,91	0,91	0,91

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 kursetin yaitu 0.91. Hal ini terlihat dari sifat fase diam silika gel 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 kursetin 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 dkk, 2021).

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

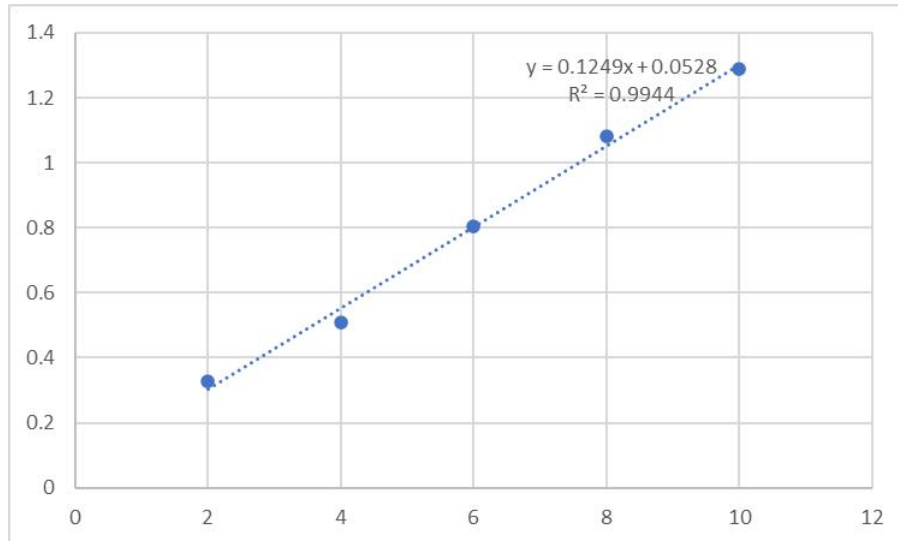
Kandungan senyawa kuersetin pada ekstrak batang *Puri raho* dan *Loro wawi eddu* pada plat KLT dilanjutkan dengan uji kualitatif menggunakan metode spektrofotometri pada panjang gelombang 414 nm. Larutan standar kuersetin menunjukkan nilai absorbansi pada tabel 2 dan persamaan regresi linear pada Gambar 8. Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin dilakukan dengan cara merunning pada panjang gelombang 400-800 nm.

Tabel 2. Absorbansi larutan standar kuersetin

Konsentrasi Kuersetin (ppm)	Absorbansi
2	0,327
4	0,508
6	0,806
8	1,080
10	1,290

Hasil dari running menunjukkan panjang gelombang maksimum larutan kuersetin berada pada panjang gelombang 414 nm. Penetapan panjang gelombang maksimum merupakan faktor penting dalam analisa kimia dengan metode spektrofotometri. Pengukuran pada panjang gelombang maksimum akan memberikan

perubahan absorbansi paling besar untuk setiap satuan kadar, sehingga jika akan dilakukan pengukuran ulang dan replikasi akan meminimalkan terjadinya kesalahan pengukuran (Suharyanti & Prisma, 2020).



Gambar 10. Kurva regresi linear konsentrasi larutan standar kuersetin dan absorbansi

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

Tabel 3. Konsentrasi kuersetin pada ekstrak batang *Puri raho* dan *Loro wawi eddu*

Sampel	Absorbansi (Ulangan 1-3)	Konsentrasi Kuersetin (ppm) (Ulangan 1-3)	Rata-Rata Konsentrasi Kuersetin 20x Pengenceran (ppm)	Konsentrasi Kuersetin (ppm)
Batang <i>Puri raho</i>	0,644	4,949	4,962	99,24
	0,646	4,965		
	0,647	4,973		
Batang <i>Loro wawi eddu</i>	0,516	3,925	3,904	78,08
	0,507	3,853		
	0,517	3,933		

Kandungan kuersetin pada ekstrak batang *Puri raho* cenderung lebih tinggi daripada *Loro wawi eddu* (tabel 3), 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 g Ekstrak. 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 (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 dkk (2018), senyawa kuersetin dipercaya dapat dapat melindungi tubuh dari beberapa jenis penyakit dengan cara menangkap radikal bebas. Kuersetin memiliki aktivitas anti kanker dan memiliki aktivitas induksi kematian sel kan.

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.

## **PENUTUP**

### **A. KESIMPULAN**

Otentikasi tumbuhan *Puri raho* dan *Loro wawi eddu* menggunakan buku kunci determinasi menunjukkan bahwa kedua tumbuhan ini termasuk dalam ordo *Ranunculales*, 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 menunjukan tumbuhan *Puri raho* memiliki persentase kemiripan DNA ITS2 sebesar 100% dengan *Tinospora crispa* voucher *Chen ZD s.n. (PE) Sequence ID: KY365661.1*, sedangkan *Loro wawi eddu* menunjukkan kemiripan 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 untuk ekstrak batang *Loro wawi eddu*.

### **B. SARAN**

1. Optimasi pelarut semi polar, polar dan non polar perlu dilakukan untuk mendapatkan pemisahan senyawa flavanoid yang lebih baik pada plat KLT.
2. Penelitian lanjutan tentang pengembangan obat herbal menggunakan batang *Puri raho* (*Tinospora crispa*) dan *Loro wawi eddu* (*Tinospora smilacina*) asal Sabu Raijua

## DAFTAR PUSTAKA

- Ali, M.A.(2019).Molecular authentication of *Anthemis deserti*Boiss. (*Asteraceae*) based on ITS2 region of nrDNA gene sequence. Saudi Journal of Biological Sciences. p 155–159
- Bachtiar, Armelia Rhaihana.(2023). Penetapan Kadar Flavonoid Total Buah Dengan (*Dillenia serrata*) menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis." *Makassar Natural Product Journal*, Vol. 1, No.2. Universitas Muslim Indonesia Pharmacy Journal System
- Bentham, G. (1861). Journal of the Proceedings of the Linnean Society, Botany 5 20: 52. Type: Queensland, Plains of Promise in Eastern Australia, 29 Aug. 1856, D. Moore, s.n. Holo:K.
- Bhagyashri Nagarkar. (2013). Comparative Hepatoprotective Potential of *Tinospora cordifolia*, *Tinospora sinensis* and Neem-guduchi. British Journal of Pharmaceutical Research, 3(4), 906–916. doi:10.9734/bjpr/2014/4003.
- Diallo aly. (2022). *Tinospora* Bakis. Diakses pada 7 maret 2024, dari [https://identify.Plantnet.org/ab/k-worldflora/spesies/Tinospora%20bakis \(Rich.\)%20Miers/data](https://identify.plantnet.org/ab/k-worldflora/spesies/Tinospora%20bakis(Rich.)%20Miers/data).
- Hidayat, T., D. Kusumawaty, Kusdianti, D. D. Yati, A. A. Muchtar, dan 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):16–21.
- Katib, S., Ruangrunsi, 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), 143-149.
- Kresnady, B. & Tim Lentera (2003). Khasiat dan Manfaat Brotowali Si Pahit Yang Menyembuhkan. AGROMEDIA.
- Kumar, S and Pandey, A.K., 2013, Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview, The Scientific World Journal, 2013:1-16.

- 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 p-ISSN. 2442-115X; e-ISSN. 2477-1821. Vol.10 No.1, Hal. 72-81, 2024. DOI: <https://doi.org/10.51352/jim.v10i1.780>
- Lakhanpal, P, Rai, D.P (2007). Quercetin: A Versatile Flavonoid. Internet Journal of Medical Update, Vol. 2, No. 2.
- 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
- Lian, L., Ortiz, R. D. C., Jabbour, F., Chen, Z. D., & Wang, W. (2019). Re-delimitation of *Tinospora* (*Menispermaceae*): Implications for character evolution and historical biogeography. *Taxon*, 68(5), 905-917.
- Maylina, A. (2019). Studi Katalitik Herbal Pemanfaatan Tanaman Brotowali (*Tinospora cordifolia*) sebagai Obat Penurun Kadar Glukosa Darah (Diabetes Mellitus).
- Mittal, J., Sharma, M. M., & Batra, A. (2014). *Tinospora cordifolia*: a multipurpose medicinal plant-A. *Journal of Medicinal Plants*, 2(2).
- Mishra, S., & Mishra, D. Occurrence of a *Tinospora subcordata* (*Menispermaceae*): a New Record to Flora of India, from Khandwa District, India.
- Mishra S., Khristi S.M. & S. Ray. (2021). *Tinospora merrilliana* (*Menispermaceae*): an addition to the flora of India. *Journal of the Indian Association for Angiosperm Taxonomy*. Vol. 31(2): 62–67.
- Naushafira, N. D., Hanuna, H., Dewi, M. K., & Selius, W. V. N. (2022). Kajian Sistematis: Aktivitas Kuersetin sebagai Inhibitor Kanker Payudara secara In Vitro. *Generics: Journal of Research in Pharmacy*, 2(2), 105-112.
- Natasa, E., Ferdinan, A., & Kurnianto, E. (2021). Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Akar Bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk.). *Jurnal Komunitas Farmasi Nasional*, 1(2), 155-162.

- Puspitasari, L., Rijai, L., & Herman, H. (2018). Identifikasi Golongan Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Brotowali (*Tinospora tuberculata* Beumee). *Sainstech Farma: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 11(1), 18-24.
- 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*, vol. 2, no. 1, 2021, pp. 25-31, doi:10.37013/jf.v2i1.152.
- Safitri, Y. (2018). Pengaruh Campuran Ekstrak Batang Brotowali dan Rimpang Kunyit Terhadap Mortalitas Dan Aktivitas Makan Ulat Krop (*Crocidolomia pavonana* F.) Pada Tanaman Sawi Caisim (*Brassica juncea* L.)
- Suliswinarni. (2019). *Budidaya Dan Khasiat Brotowali*. Semarang: ALPRIN.
- Powo (2024). "Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <https://powo.science.kew.org/>."
- Puspitasari, L., Rijai, L., & Herman, H. (2018). Identifikasi Golongan Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antioksidan Eksstrak Daun Brotowali (*Tinospora tuberculata* Beumee). *Sainstech Farma: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 11(1), 18-24.
- Putra, S. R. (2015). *Buku lengkap kanker payudara*. Laksana.
- Purnamasari, A, Zelviani,S, Fuadi, S.N. (2022). Analisis Nilai Absorbansi Kadar Flavonoid Tanaman Herbal Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. 58\_ *Teknosains: Media Informasi Sains dan Teknologi*, Volume 16, Nomor 1, hlm. 57-64
- Reuben. C. J. Lim. (2020, May 20). *Tinospora Macrocarpa*. Diakses pada 5 maret 2024, dari <https://www.flickr.com/photos/reulim/49915789437>.
- Rosidah I, Zainuddin Z, Mufidah R, Bahua H, Saprudin M. (2017). Optimasi Kondisi Ekstraksi Senyawa Total Fenolik Buah Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) Menggunakan Response Surface Methodology. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*. 15;27(2).
- Roni, A, Kurnia, D, Hafsyah, N.(2022). Penetapan Kadar Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Batang Brotowali (*Tinospora crispa* L.) Dengan

Metode Cuprac, Jurnal Ilmiah Ibnu Sina, 7(1), Maret 2022, 165-173 p-ISSN: 2502-647X; e-ISSN: 2503-1902

Safitri, Y. (2018). Pengaruh Campuran Ekstrak Batang Brotowali dan Rimpang Kunyit Terhadap Mortalitas dan Aktivitas Makan Ulat Krop (*Crocidolomia pavonana* F.) Pada Tanaman Sawi Caisim (*Brassica juncea* L.)

Sampulawa, S., & Bahalwan, F. (2022). Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Alga Coklat (*Hormophysa triquetra*). Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi, 10(1), 212-217.

Sanjay Mishra, Khristi S. M., & Samit K. Ray. (2021). *Tinospora merrilliana* (*Menispermaceae*): an addition to the flora of India. Rheedea, 31(2), 62–67. doi:10.22244/rheedea.2021.31.02.04

Sari, D. Y., Widyasari, R., & Taslima, A. N. (2021). Penentuan kadar flavonoid total ekstrak etanol jamur susu harimau (*Lignosus rhinocerus*). Jurnal Farmasi Udayana, 10(1), 23-30.

Sharma, P., Dwivedee, B. P., Bisht, D., Dash, A. K., & Kumar, D. (2019). The chemical constituents and diverse pharmacological importance of *Tinospora cordifolia*. Heliyon, 5(9).

Suhartati. T. (2017). *Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-VIS dan Spektrofotometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Bandar Lampung: AURA.

Suharyanto, S., & Prima, D. A. N. (2020). Penetapan kadar flavonoid total pada juice daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) yang berpotensi sebagai hepatoprotektor dengan metode spektrofotometri uv-vis. Cendekia Journal of Pharmacy, 4(2), 110-119.

Suliswinarni. (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): 32-38.

Tulung, P.C, Rorong1 , J.A, Pontoh, J.(2017). Analisis Fitokimia Dan Uji Toksisitas Dari Kulit Batang Kersen (*Muntingia calabura*). Chem. Prog. Vol. 10. No. 1

- Turner, I. M. (2023). Revision of *Tinospora* (*Menispermaceae-Chasmantheroideae-Burasaieae*) in Singapore. *European journal of taxonomy*, 900, 180-193.
- Wangchuk, T. (2018, 10 Mey). *Tinospora sinensis*. Diakses pada 5 maret 2024, dari <https://biodiversity.bt/observation/show/59821>.
- Widyasari, E. M., Sriyani, M. E., Daruwati, I., Halimah, I., & Nuraeni, W. (2019). Karakteristik Fisikokimia Senyawa Bertanda <sup>99m</sup>Tc-Kuersetin. *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia (Indonesian Journal of Nuclear Science and Technology)*, 20(1), 9-18.
- Wulandari, N. A. (2018). Isolasi Flavonoid Batang Brotowali (*Tinospora crispa* L. Miers) (Doctoral dissertation, UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta).
- Wulandari, L. (2011). *Kromatografi Lapis Tipis*. Taman Kampus Presindo: Jember.
- Vifta, R. L., dan Advistasari, Y.D. 2018 . Analisis Penurunan Kadar Glukosa Fraksi 1 n- Heksan Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B) secara in vitro dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Indo. J. Chem. Sci.* 7 (3) (2018). <https://journal.unnes.ac.id/sju/ijcs/article/view/25045/11711>
- Xu, D. F., Miao, L., Wang, Y. Y., Zhang, J. S., & Zhang, H. (2021). Chemical constituents from *Tinospora sagittata* and their biological activities. *Fitoterapia*, 153, 104963.
- 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*

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Ekstraksi batang Puri raho



## Lampiran 2. Ekstraksi batang Loro wawi eddu

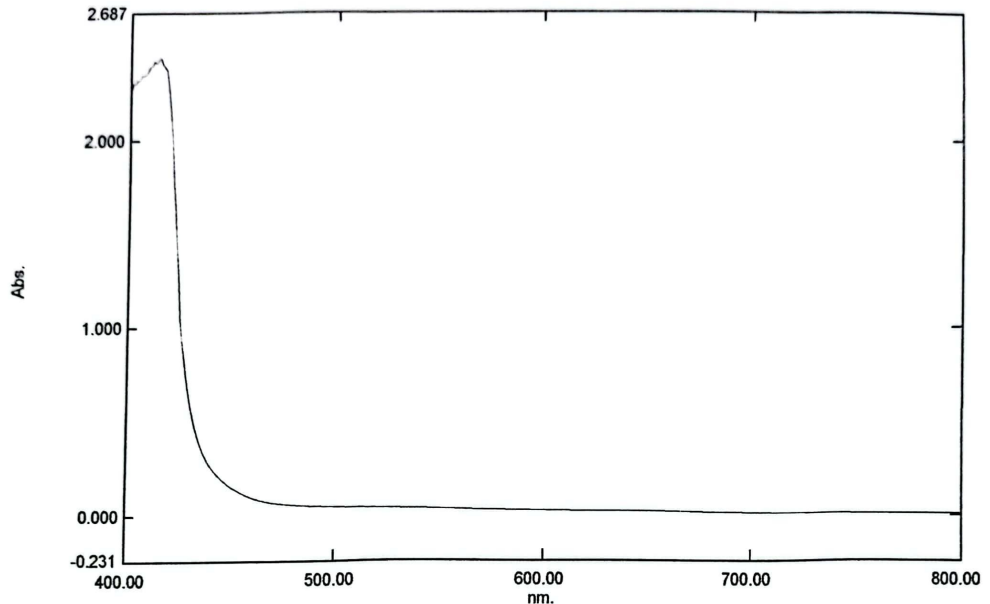


### Lampiran 3. Hasil Uji Spektrofometri Kandungan Kuersetin

UPT Laboratorium Terpadu - UNDANA

07/19/2024 11:28:55AM

Data Set: Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin



[Measurement Properties]  
 Wavelength Range (nm.): 400.00 to 800.00  
 Scan Speed: Medium  
 Sampling Interval: 1.0  
 Auto Sampling Interval: Disabled  
 Scan Mode: Single

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	414.00	2.444	

[Instrument Properties]  
 Instrument Type: UV-1780 Series  
 Measuring Mode: Absorbance  
 Slit Width: 2.0 nm  
 Light Source Change Wavelength: 340.8 nm  
 S/R Exchange: Normal

[Attachment Properties]  
 Attachment: None

[Operation]  
 Threshold: 0.0010000  
 Points: 4  
 InterPolate: Disabled  
 Average: Disabled

[Sample Preparation Properties]  
 Weight:  
 Volume:  
 Dilution:  
 Path Length:  
 Additional Information:



**UPT Laboratorium Terpadu – UNDANA**  
 Data Print Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

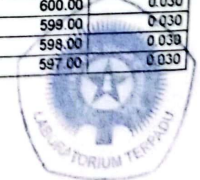
07/19/2024 11:29:40AM

Wavelength nm.	RawData
800.00	0.012
799.00	0.012
798.00	0.012
797.00	0.012
796.00	0.012
795.00	0.012
794.00	0.012
793.00	0.013
792.00	0.013
791.00	0.013
790.00	0.013
789.00	0.013
788.00	0.013
787.00	0.013
786.00	0.013
785.00	0.013
784.00	0.013
783.00	0.013
782.00	0.013
781.00	0.013
780.00	0.013
779.00	0.013
778.00	0.013
777.00	0.013
776.00	0.013
775.00	0.013
774.00	0.013
773.00	0.013
772.00	0.013
771.00	0.013
770.00	0.013
769.00	0.014
768.00	0.014
767.00	0.014
766.00	0.014
765.00	0.014
764.00	0.014
763.00	0.014
762.00	0.014
761.00	0.014
760.00	0.014
759.00	0.014
758.00	0.014
757.00	0.014
756.00	0.014
755.00	0.014
754.00	0.014
753.00	0.014
752.00	0.014
751.00	0.014
750.00	0.014

Wavelength nm.	RawData
749.00	0.014
748.00	0.014
747.00	0.014
746.00	0.014
745.00	0.015
744.00	0.015
743.00	0.015
742.00	0.015
741.00	0.015
740.00	0.015
739.00	0.015
738.00	0.015
737.00	0.015
736.00	0.015
735.00	0.015
734.00	0.015
733.00	0.015
732.00	0.015
731.00	0.015
730.00	0.015
729.00	0.016
728.00	0.016
727.00	0.016
726.00	0.016
725.00	0.016
724.00	0.016
723.00	0.016
722.00	0.016
721.00	0.016
720.00	0.016
719.00	0.016
718.00	0.016
717.00	0.016
716.00	0.017
715.00	0.017
714.00	0.017
713.00	0.017
712.00	0.017
711.00	0.017
710.00	0.017
709.00	0.017
708.00	0.017
707.00	0.017
706.00	0.017
705.00	0.018
704.00	0.018
703.00	0.018
702.00	0.018
701.00	0.018
700.00	0.018
699.00	0.018

Wavelength nm.	RawData
698.00	0.018
697.00	0.018
696.00	0.018
695.00	0.019
694.00	0.019
693.00	0.019
692.00	0.019
691.00	0.019
690.00	0.019
689.00	0.019
688.00	0.019
687.00	0.020
686.00	0.020
685.00	0.020
684.00	0.020
683.00	0.020
682.00	0.020
681.00	0.020
680.00	0.021
679.00	0.021
678.00	0.021
677.00	0.021
676.00	0.021
675.00	0.022
674.00	0.022
673.00	0.022
672.00	0.022
671.00	0.023
670.00	0.023
669.00	0.023
668.00	0.024
667.00	0.024
666.00	0.024
665.00	0.024
664.00	0.024
663.00	0.025
662.00	0.025
661.00	0.025
660.00	0.025
659.00	0.025
658.00	0.026
657.00	0.026
656.00	0.026
655.00	0.026
654.00	0.026
653.00	0.026
652.00	0.026
651.00	0.026
650.00	0.026
649.00	0.026
648.00	0.026

Wavelength nm.	RawData
647.00	0.026
646.00	0.026
645.00	0.026
644.00	0.026
643.00	0.026
642.00	0.026
641.00	0.026
640.00	0.026
639.00	0.026
638.00	0.026
637.00	0.026
636.00	0.026
635.00	0.026
634.00	0.026
633.00	0.026
632.00	0.026
631.00	0.026
630.00	0.026
629.00	0.027
628.00	0.027
627.00	0.027
626.00	0.027
625.00	0.027
624.00	0.027
623.00	0.027
622.00	0.027
621.00	0.027
620.00	0.027
619.00	0.028
618.00	0.027
617.00	0.028
616.00	0.028
615.00	0.028
614.00	0.028
613.00	0.028
612.00	0.028
611.00	0.028
610.00	0.029
609.00	0.029
608.00	0.029
607.00	0.029
606.00	0.029
605.00	0.029
604.00	0.029
603.00	0.029
602.00	0.029
601.00	0.030
600.00	0.030
599.00	0.030
598.00	0.030
597.00	0.030

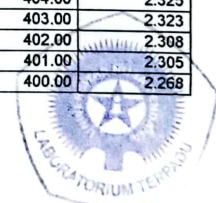


**UPT Laboratorium Terpadu – UNDANA**

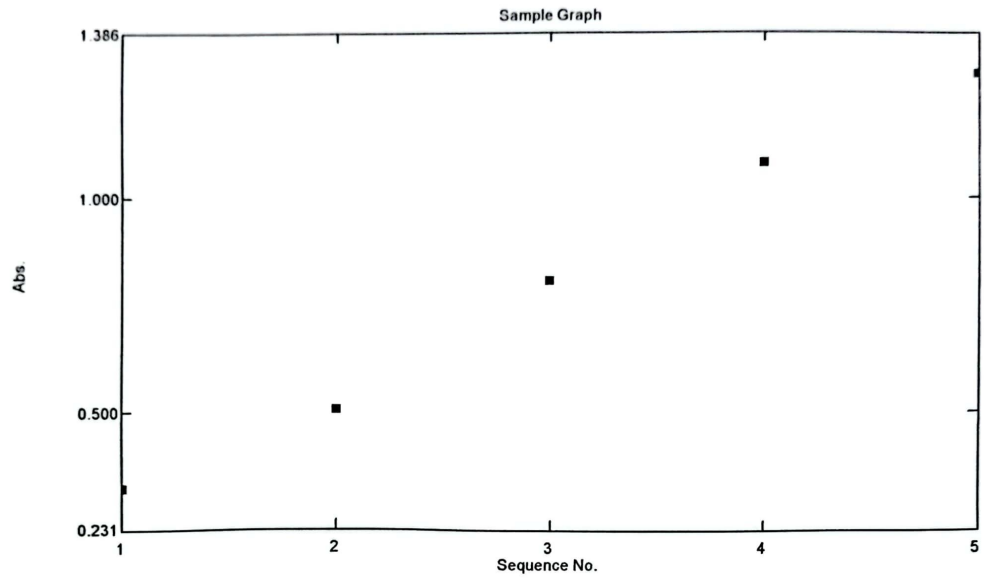
Data Print Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

07/19/2024 11:29:40 AM

Wavelength nm.	RawData	Wavelength nm.	RawData	Wavelength nm.	RawData	Wavelength nm.	RawData
596.00	0.030	545.00	0.039	494.00	0.053	443.00	0.235
595.00	0.031	544.00	0.039	493.00	0.054	442.00	0.248
594.00	0.031	543.00	0.040	492.00	0.054	441.00	0.262
593.00	0.031	542.00	0.040	491.00	0.055	440.00	0.277
592.00	0.031	541.00	0.040	490.00	0.055	439.00	0.294
591.00	0.031	540.00	0.040	489.00	0.056	438.00	0.315
590.00	0.031	539.00	0.041	488.00	0.056	437.00	0.338
589.00	0.031	538.00	0.041	487.00	0.057	436.00	0.366
588.00	0.032	537.00	0.041	486.00	0.057	435.00	0.397
587.00	0.032	536.00	0.041	485.00	0.058	434.00	0.432
586.00	0.032	535.00	0.041	484.00	0.059	433.00	0.469
585.00	0.032	534.00	0.042	483.00	0.060	432.00	0.512
584.00	0.032	533.00	0.042	482.00	0.060	431.00	0.562
583.00	0.032	532.00	0.042	481.00	0.061	430.00	0.618
582.00	0.032	531.00	0.042	480.00	0.062	429.00	0.685
581.00	0.033	530.00	0.043	479.00	0.063	428.00	0.765
580.00	0.033	529.00	0.043	478.00	0.064	427.00	0.854
579.00	0.033	528.00	0.043	477.00	0.065	426.00	0.951
578.00	0.033	527.00	0.043	476.00	0.066	425.00	1.058
577.00	0.033	526.00	0.043	475.00	0.067	424.00	1.295
576.00	0.033	525.00	0.044	474.00	0.069	423.00	1.455
575.00	0.033	524.00	0.044	473.00	0.070	422.00	1.630
574.00	0.034	523.00	0.044	472.00	0.072	421.00	1.809
573.00	0.034	522.00	0.044	471.00	0.074	420.00	2.002
572.00	0.034	521.00	0.045	470.00	0.075	419.00	2.159
571.00	0.034	520.00	0.045	469.00	0.077	418.00	2.290
570.00	0.034	519.00	0.045	468.00	0.079	417.00	2.381
569.00	0.035	518.00	0.045	467.00	0.081	416.00	2.409
568.00	0.035	517.00	0.046	466.00	0.084	415.00	2.410
567.00	0.035	516.00	0.046	465.00	0.087	414.00	2.444
566.00	0.035	515.00	0.046	464.00	0.090	413.00	2.436
565.00	0.035	514.00	0.047	463.00	0.093	412.00	2.417
564.00	0.036	513.00	0.047	462.00	0.096	411.00	2.425
563.00	0.036	512.00	0.047	461.00	0.100	410.00	2.401
562.00	0.036	511.00	0.047	460.00	0.104	409.00	2.395
561.00	0.036	510.00	0.048	459.00	0.108	408.00	2.374
560.00	0.036	509.00	0.048	458.00	0.113	407.00	2.355
559.00	0.036	508.00	0.048	457.00	0.118	406.00	2.349
558.00	0.036	507.00	0.048	456.00	0.124	405.00	2.348
557.00	0.037	506.00	0.049	455.00	0.130	404.00	2.325
556.00	0.037	505.00	0.049	454.00	0.136	403.00	2.323
555.00	0.037	504.00	0.049	453.00	0.143	402.00	2.308
554.00	0.037	503.00	0.050	452.00	0.149	401.00	2.305
553.00	0.038	502.00	0.050	451.00	0.156	400.00	2.268
552.00	0.038	501.00	0.050	450.00	0.164		
551.00	0.038	500.00	0.051	449.00	0.172		
550.00	0.038	499.00	0.051	448.00	0.182		
549.00	0.038	498.00	0.051	447.00	0.191		
548.00	0.039	497.00	0.052	446.00	0.200		
547.00	0.039	496.00	0.052	445.00	0.211		
546.00	0.039	495.00	0.053	444.00	0.222		

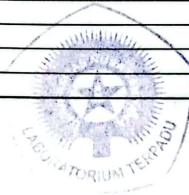


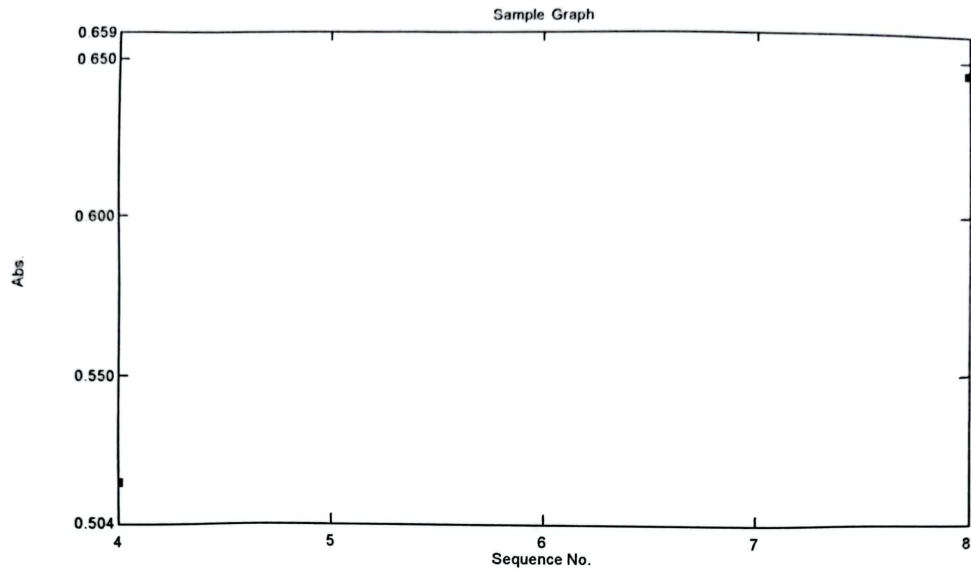
File Name: Standart Kuersetin(2)



Sample Table

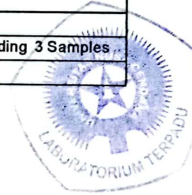
	Sample ID	Type	Ex	WL414.0	Comments
1	2ppm	Unknown		0.327	
2	4ppm	Unknown		0.508	
3	6ppm	Unknown		0.806	
4	8ppm	Unknown		1.080	
5	10ppm	Unknown		1.290	
6					





Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	WL414.0	Comments
1	L	Unk-Repeat		0.516	
2	L-2	Unk-Repeat		0.517	
3	L-3	Unk-Repeat		0.517	
4	L-Avg	Average		0.517	Avg of preceding 3 Samples
5	P	Unk-Repeat		0.644	
6	P-2	Unk-Repeat		0.646	
7	P-3	Unk-Repeat		0.647	
8	P-Avg	Average		0.646	Avg of preceding 3 Samples
9					



## Lampiran 4. Hasil Uji DNA Barcode ITS2



**UNIVERSITAS GADJAH MADA  
PUSAT STUDI BIOTEKNOLOGI**

Jl. Teknika Utara, Berek, Depok, Sleman, Yogyakarta 55281 Telp. +62 274 564305 Fax. +62 274 520842  
<http://biotech.ugm.ac.id>, E-mail: [biotech@ugm.ac.id](mailto:biotech@ugm.ac.id)

### SURAT KETERANGAN

Dengan ini kami menerangkan bahwa sampel:

Jenis : Daun  
Tanggal masuk : 6 Desember 2024  
Asal : Universitas Kristen Artha Wacana Kupang  
Nama Pengirim : Mellissa E.S Ledo, S.Si, M.Biotech.  
No. Telp. : +62 812-2836-3004

Telah diperiksa untuk mengidentifikasi spesies dengan *species barcoding* menggunakan *ITS2* dengan hasil:

1. Sampel daun Puri Raho memiliki kemiripan 100% dengan *Tinospora crispa* voucher Chen ZD s.n. (PE) Sequence ID: KY365661.1 (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), data hasil pengujian terlampir.
2. Sampel daun Loro Wawi Eddu memiliki kemiripan 99,17% dengan *Tinospora smilacina* voucher Gray 8798 (MO) Sequence ID: KY365675.1 (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), data hasil pengujian terlampir.

### LAMPIRAN

#### 1. Metode:

- a. Genomic DNA extraction
- b. PCR amplification using MyTaq HS Red Mix-Bioline
- c. PCR products: species barcoding *ITS2*
- d. Sequencing: Single pass DNA sequencing

#### 2. Sequence result-PCR products

##### a. Puri Raho F:

```
TGAGTTTTGACGCAAGTTGCGCCGAGGCCATTCGGTCGAGGGCACGT  
CTGCCTGGGCGTCACACAAACGCCGCTCTCATCCCCTTGGCGCGAGAG  
CGAACGATGGCCCCCGCGGCTCGGCCGGCGGTCGGCTAAAATAGCTC  
GCCTTCTCGTGCTTCACGACACGATTGATGGTGGTTGACAAAACCTCT  
GTTGCAACGTGATCGGAAGCAGGAGGCGAGCGAACCCCTTTCATCACATG  
CGACCTCAGGTCAGGCGGGGCCACCCGCTGAGTTAAGCATATCAATAA  
GCGGAGGAAAAGAACTTACAAGGATTCCCTTAGTAACGCGGAGCGAAC  
CGGGGAAAGCCAGCTTGGGAATCGAACGGCTTCGTGTCGAATTGTA  
GTCTGGAAGAAGCGTCA
```



**UNIVERSITAS GADJAH MADA  
PUSAT STUDI BIOTEKNOLOGI**

Jl. Teknika Utara, Berek, Depok, Sleman, Yogyakarta 55281 Telp. +62 274 564305 Fax. +62 274 520842  
<http://biotech.ugm.ac.id>, E-mail: [biotech@ugm.ac.id](mailto:biotech@ugm.ac.id)

**b. Puri Raho R:**

CGTTCGATTCCAAGCTGGGCTTCCCGGTTGCTCGCCGTTACTAAGG  
GAATCCTTGTAAGTTTCTTCTCCTCCGCTTATTGATATGCTTAAACTCAGC  
GGGTGGCCCCGCTGACCTGAGGTCGCATGTGATGAAAGGGTTTCGCTC  
GCCTCTGCTTCCGATCACGTTGCAACAGAGGGTTTGTCAACCACCATC  
AATCGTGTCTGAAGCCACGAGAAGGCGAGCTATTTAGCCGACCGCCG  
GCCGAGCCGCGGGGGCCATCGTTCGCTCTCGCGCCAAAGGGGATGAG  
AGCGGCGTTGTGTGACGCCAGGCAGACGTGCCCTCGACCGAATGGC  
CTCGGGCGCAACTTGCCTTCAAAAACCAATGGTTCACGGGATTCTGCAA  
TTCACACCAAGTATCGCATAA

**c. Loro Wawi Eddu F:**

TTGAGTTTTGACGCAAGTTGCGCCCGAGGCCATTCGGTCGAGGGCAGC  
TCTGCCTGGGCGTACGCAAACGCTGCTCTCATCCCCTTTGGCGGGAGA  
GCGAATGTTGGCCCCCGCGGCTTGGCCGGCGGTCGGCTAAAATAGCT  
CGCCTTCTCGTGGTTTACGACACGATTGATGGTGGTTTACAAAACCTC  
TGTGCAACGTGATCAGAAACAGGAGGCGAGCGAACCTTTTCATCACAT  
GCGACCTCAGGTCAGGCGGGGCCACCCGCTGAGTTTAAGCATATCAATA  
AGCGGAGGAGAAGAACTTACAAGGATTCCCTTAGTAACGGCGAGCGAA  
CCGGGGAAAGCCAGCTTGGGAATCGAACGGCTTGTCTGTTGAAATTGT  
AGTCTGGGAGAAAGCGTCA

**d. Loro Wawi Eddu R:**

CTGGGCTTCCCGGTTGCTCGCCGTTACTAAGGGAATCCTTGTAAGTT  
TCTTCTCCTCCGCTTATTGATATGCTTAAACTCAGCGGGTGGCCCCGCCT  
GACCTGAGGTCGCATGTGATGAAAGGGTTCGCTCGCCTCCTGTTTCTGAT  
CACGTTGCAACAGAGGGTTTGTAAACCACCATCAATCGTGTCTGAAAC  
CACGAGAAGGCGAGCTATTTAGCCGACCGCCGGCCAAGCCGCGGGGG  
GCCAACATTCGCTCTCCCGCCAAAGGGGATGAGAGCAGCGTTTGCCTGA  
CGCCAGGCAGACGTGCCCTCGACCGAATGGCCTCGGGCGCAACTTGC  
GTTCAAAAACCAATGGTTACGGGATTCTGCAATTCACACCAAGTATCG  
CATAA

