MASALIQ
Jurnal Pendidikan dan Sains

e-ISSN: 2808-8115
p-ISSN: 2809-1051

Terindeks: Sinta 5, Copernicus, Dimensions, Scilit, Lens, Crossref, Garuda, Google Scholar, Base, etc

https://doi.org/10.58578/masaliq.v6i6.12649

Identifikasi Golongan Metabolit Sekunder Daun *Ruellia tuberosa* L. Hasil Ekstraksi Menggunakan Pelarut *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES)

Identification of Secondary Metabolite Classes Extracted from Ruellia tuberosa L. Leaves Using a Natural Deep Eutectic Solvent (NADES)

Irmayanti & Minda Azhar
Universitas Negeri Padang
irmayanti5204@gmail.com; minda@fmipa.unp.ac.id

Submitted:	Revised:	Accepted:	Published:
Oct 9, 2026	Nov 7, 2026	Nov 18, 2026	Nov 23, 2026

Abstract

The leaves of *kencana ungu* (*Ruellia tuberosa* L.) contain a range of secondary metabolites with potential biological activity. Information on the classes of metabolites that can be extracted from these leaves using a natural deep eutectic solvent (NADES) based on choline chloride and glycerol remains limited. This study aimed to identify the classes of secondary metabolites in the extract through phytochemical screening. Ultrasound-assisted extraction was performed using a NADES with a choline chloride-to-glycerol molar ratio of 1:2 and 20% (v/v) added water. Qualitative screening tested for alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, steroids, and triterpenoids based on color reactions and the formation of precipitates and foam. The screening results indicated the presence of alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, and triterpenoids in the extract. These findings indicate that a choline chloride–glycerol NADES can be used to obtain a leaf extract of *R. tuberosa* containing several classes of secondary metabolites. This preliminary phytochemical profile can provide a basis for further compound characterization and biological activity testing.

Keywords: *Ruellia tuberosa* L.; Phytochemical Screening; Secondary Metabolites; NADES; Choline Chloride–Glycerol

Abstrak: Daun kencana ungu (*Ruellia tuberosa* L.) mengandung berbagai metabolit sekunder yang berpotensi memiliki aktivitas biologis. Informasi mengenai golongan metabolit yang dapat diekstraksi dari daun ini menggunakan *natural deep eutectic solvent* (NADES) berbasis kolin klorida dan gliserol

Masaliq Journal is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International License

masih terbatas. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi golongan metabolit sekunder dalam ekstrak tersebut melalui skrining fitokimia. Ekstraksi berbantuan ultrasonik dilakukan menggunakan NADES dengan rasio molar kolin klorida terhadap gliserol 1:2 dan penambahan air sebesar 20% (v/v). Skrining kualitatif mencakup pengujian alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, serta steroid dan triterpenoid berdasarkan reaksi warna, pembentukan endapan, dan pembentukan busa. Hasil skrining menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid dalam ekstrak. Temuan ini menunjukkan bahwa NADES berbasis kolin klorida dan gliserol dapat digunakan untuk memperoleh ekstrak daun *R. tuberosa* yang mengandung beragam golongan metabolit sekunder. Profil fitokimia awal ini dapat menjadi dasar bagi karakterisasi senyawa dan pengujian aktivitas biologis lebih lanjut.

Kata Kunci: *Ruellia tuberosa* L.; Skrining Fitokimia; Metabolit Sekunder; NADES; Kolin Klorida–Gliserol

PENDAHULUAN

Bagian Tumbuhan merupakan sumber alami berbagai senyawa metabolit sekunder yang memiliki struktur kimia dan aktivitas biologis beragam. Senyawa-senyawa tersebut meliputi alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin, saponin, terpenoid, dan steroid yang banyak dikaji karena potensinya dalam bidang farmasi, pangan, dan kesehatan (Twaij *et al.*, 2022). Identifikasi kandungan metabolit sekunder merupakan tahap awal yang penting dalam penelitian bahan alam untuk memperoleh gambaran mengenai komposisi kimia suatu tumbuhan serta menjadi dasar bagi penelitian lanjutan terkait karakterisasi senyawa dan aktivitas biologisnya. Namun, keberhasilan identifikasi senyawa dalam bahan alam juga dipengaruhi oleh metode ekstraksi dan karakteristik pelarut yang digunakan. Pemilihan pelarut yang tepat diperlukan agar senyawa target dapat terlarut dan terekstraksi dari matriks tumbuhan secara optimal *(Dai et al.*, 2013).

Salah satu tumbuhan yang berpotensi menjadi sumber metabolit sekunder adalah kencana ungu (*Ruellia tuberosa* L.), yang termasuk dalam famili Acanthaceae. Tumbuhan ini telah dimanfaatkan secara tradisional dan dilaporkan memiliki berbagai aktivitas biologis, antara lain antiinflamasi, antimikroba, antioksidan, antidiabetes, dan penyembuhan luka. (Nhat *et al.*, 2022; Khachitpongpanit *et al.*, 2016).

Penelitian mengenai kandungan fitokimia *R. tuberosa* telah dilakukan menggunakan berbagai pendekatan ekstraksi dan analisis seperti yang telah dilakukan Melk *et al.*, (2024) analisis profil fitokimia *R. tuberosa* menggunakan LC-MS/MS dan HPLC berhasil mengidentifikasi berbagai metabolit, termasuk katekin, asam galat, dan asam elagat.. Hasil penelitian tersebut memperkuat informasi bahwa daun dan bagian tumbuhan *R. tuberosa*

mengandung beragam senyawa metabolit sekunder yang dapat dikaji lebih lanjut melalui pendekatan ekstraksi dan identifikasi yang berbeda.

Seiring berkembangnya penelitian bahan alam, penggunaan pelarut alternatif yang lebih ramah lingkungan mulai mendapat perhatian, salah satunya adalah *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES). NADES merupakan sistem pelarut yang terbentuk melalui interaksi antarkomponen donor ikatan hidrogen (*hydrogen bond donor*/HBD) dan akseptor ikatan hidrogen (*hydrogen bond acceptor*/HBA), sehingga menghasilkan campuran dengan titik leleh lebih rendah dibandingkan komponen penyusunnya (Khajeh *et al.*, 2025) . Salah satu sistem yang banyak digunakan adalah kombinasi kolin klorida sebagai HBA dan gliserol sebagai HBD. Karakteristik NADES, seperti volatilitas rendah, kemampuan membentuk interaksi ikatan hidrogen, serta polaritas yang dapat disesuaikan berdasarkan komposisinya, menjadikannya berpotensi digunakan untuk mengekstraksi berbagai senyawa bioaktif tumbuhan (Liu *et al.*, 2019). Meskipun demikian, karakteristik seperti viskositas dan kadar air juga dapat memengaruhi perpindahan massa serta kemampuan pelarut dalam melarutkan senyawa target (Dai *et al.*, 2013).

Penggunaan NADES dalam ekstraksi metabolit tumbuhan telah dilaporkan dalam berbagai penelitian. NADES berbasis kolin klorida diketahui berpotensi digunakan untuk mengekstraksi senyawa fenolik dan berbagai metabolit bioaktif dari bahan alam. Penambahan air pada sistem NADES juga dapat membantu menurunkan viskositas pelarut sehingga mendukung proses perpindahan massa selama ekstraksi. Selain itu, penggunaan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) dapat membantu proses ekstraksi melalui fenomena kavitasi yang menyebabkan gangguan pada struktur sel tumbuhan dan meningkatkan pelepasan senyawa dari matriks bahan. Kombinasi karakteristik pelarut NADES dan bantuan gelombang ultrasonik menjadi pendekatan yang menarik untuk diterapkan dalam ekstraksi metabolit sekunder tumbuhan (Torres *et al.*, 2021)

Meskipun penelitian mengenai kandungan fitokimia *R. tuberosa* dan pemanfaatan NADES sebagai pelarut ekstraksi telah berkembang, kajian yang secara khusus mengidentifikasi golongan metabolit sekunder daun *R. tuberosa* hasil ekstraksi menggunakan NADES berbasis kolin klorida dan gliserol masih perlu dikembangkan. Informasi tersebut penting untuk mengetahui golongan senyawa yang dapat terdeteksi dalam ekstrak yang diperoleh menggunakan sistem pelarut tersebut. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi golongan metabolit sekunder pada daun *R. tuberosa* yang diekstraksi

menggunakan NADES berbasis kolin klorida dan gliserol dengan metode UAE. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi awal mengenai kandungan fitokimia ekstrak NADES daun *R. tuberosa* serta menjadi dasar bagi penelitian lanjutan mengenai karakterisasi senyawa dan potensi aktivitas biologisnya.

METODE

1. Preparasi NADES

Preparasi pelarut NADES dilakukan dengan metode pengadukan dan pemanasan berdasarkan Alfaleh *et al*., (2024) dengan sedikit modifikasi, dua senyawa HBA (*Choline Chloride*) dan HBD (*glycerol*) dikombinasikan dengan perbandingan molar 1:2 yang kemudian di aduk dan panaskan pada suhu 80°C hingga campuran menjadi homogen dan jernih. Selanjutnya NADES dilarutkan dengan air 20% (v/v) dan disimpan dalam wadah tertutup pada suhu (-20°C).

2. Ekstraksi menggunakan UAE

Ekstraksi dengan metode UAE dilakukan berdasarkan Alfaleh *et al*., (2024). Sebanyak 5 gram serbuk daun bunga kencana ungu yang telah dikeringkan dicampurkan ke dalam 50 mL NADES, kemudian campuran dihomogenkan. Selanjutnya, dimasukkan kedalam ultrasonikator selama 30 menit pada kondisi frekuensi 40 kHz dan suhu 40°C. Hasil ektraksi selanjutnya disentrifugasi selama 15 menit pada kecepatan 6000 rpm. Selanjutnya dilakukan penyaringan, lalu filtrat atau ekstrak NADES daun *R. tuberosa* disimpan pada suhu -20°C hingga digunakan untuk analisis lebih lanjut.

3. Uji Fitokimia

a. Uji Alkaloid

Uji Alkaloid dilakukan berdasarkan penelitian oleh (Sudira *et al*., 2024) yang menggunakan metode Mayer, Wegner dan Dragendof. Sebanyak 3 tetes ekstrak nades *R.tuberosa* diteteskan pada plat tetes masing-masing ditambahkan pereaksi Mayer, Wegner dan Dragendrof. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna merah kecoklatan pada pereaksi wegner, endapan putih kekuningan pada pereaksi mayer serta endapan berwarna orange pada pereaksi dragendorf. Terbentuknya endapan-endapan tersebut membuktikan terdapatnya alkaloid pada sampel tanaman yang diuji.

b. Uji Saponin atau Uji Busa

Uji saponin dilakukan berdasarkan penelitian oleh Sudira *et al.*, (2024). Pada uji saponin, masing-masing ekstrak NADES daun *R. tuberosa* diambil sebanyak 3 mL, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, ditambahkan 10 mL air panas, selanjutnya campuran dikocok secara kuat selama kurang lebih beberapa detik dan didiamkan selama 10 menit. Hasil positif saponin ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil dan tidak segera menghilang setelah didiamkan.

c. Uji Triterpenoid/Steroid

Prosedur pengujian triterpenoid dan steroid dalam penelitian ini merujuk pada metode *Liebermann–Burchard* (LB) yang dilaporkan oleh Sudira *et al.*, (2024). Pengujian dilakukan dengan memasukkan 1 mL masing-masing ekstrak yang telah dihomogenkan ke dalam tabung reaksi, kemudian menambahkan 5 mL kloroform, 2 mL asam sulfat pekat, dan 2 mL asam asetat anhidrat. Campuran didiamkan selama 5 menit sebelum dilakukan pengamatan terhadap perubahan warna. Terbentuknya warna merah, merah keunguan, ungu, atau merah kecokelatan menandakan adanya Triterpenoid sedangkan terbentuknya warna hijau, hijau kebiruan, atau biru.

d. Uji Flavonoid

1) Uji Flavonoid dengan Pereaksi Wilstätter

Pengujian flavonoid dilakukan menggunakan pereaksi Wilstätter dengan mengacu pada metode yang dilaporkan oleh Asmorowati *et al.*, (2019) dengan penyesuaian pada jumlah sampel dan wadah reaksi yang digunakan. Beberapa tetes ekstrak NADES *R. tuberosa* diletakkan pada plat tetes, kemudian ditambahkan HCl pekat dan sedikit serbuk magnesium (Mg). Hasil positif ditandai dengan terbentuknya perubahan warna menjadi merah jingga pada sampel ekstrak.

2) Uji Flavonoid dengan Reagen Alkalin

Pengujian flavonoid dilakukan menggunakan metode alkaline reagent test dengan mengacu pada prosedur yang dilaporkan oleh Amusan *et al.*, (2025) Beberapa tetes ekstrak NADES daun *R. tuberosa* diteteskan pada plat tetes, kemudian ditambahkan larutan natrium hidroksida (NaOH) 10%. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna kuning pada sampel ekstrak.

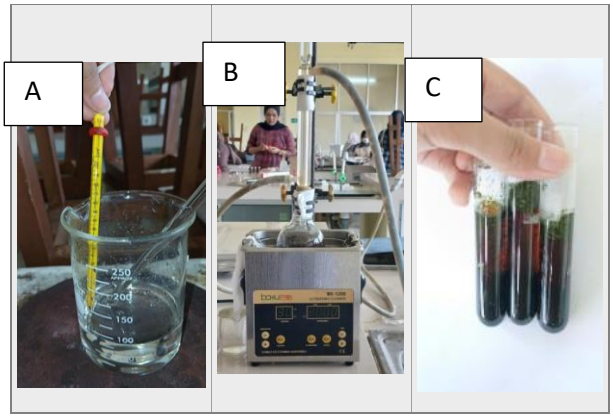
e. Uji Tannin

Prosedur pengujian tanin mengacu pada metode yang dilaporkan oleh Sudira *et al.*, (2024). Sebanyak 1 mL masing-masing ekstrak yang telah dihomogenkan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1–2 tetes pereaksi timbal(II) asetat ($Pb(CH_3COO)_2$). Hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan pada sampel ekstrak.

HASIL

Hasil Ekstraksi Daun Kencana Ungu (*Ruellia tuberosa* L.) menggunakan NADES

Pelarut *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) yang dibuat dari kombinasi kolin klorida dan gliserol dengan perbandingan molar 1:2 serta penambahan air sebanyak 20% (v/v) menghasilkan campuran pelarut yang homogen dan jernih. Karakteristik fisik pelarut NADES yang diperoleh tersebut ditampilkan pada Gambar 1(A), yang memperlihatkan campuran kolin klorida dan gliserol setelah proses preparasi. NADES yang telah dibuat selanjutnya digunakan dalam proses ekstraksi daun *R. tuberosa* menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE). Tahapan ekstraksi menggunakan metode tersebut diperlihatkan pada Gambar 1(B), yang menunjukkan proses penggunaan alat ultrasonikator selama ekstraksi berlangsung. Setelah proses ekstraksi selesai, campuran hasil ekstraksi selanjutnya dipisahkan dari residu simplisia melalui sentrifugasi dan penyaringan. Hasil pemisahan tersebut berupa filtrat cair berwarna hijau hingga kecokelatan sebagaimana ditampilkan pada Gambar 1(C). Gambar tersebut memperlihatkan hasil ekstraksi NADES daun *R. tuberosa* setelah melalui tahapan pemisahan, dengan karakteristik filtrat yang berbeda dari warna pelarut NADES sebelum digunakan dalam proses ekstraksi. Secara keseluruhan, Gambar 1 memperlihatkan hasil preparasi NADES, tahapan ekstraksi daun *R. tuberosa* menggunakan UAE, serta hasil ekstrak yang diperoleh setelah proses ekstraksi menggunakan UAE..



Gambar 1. (A)NADES Kolin kloride-gliserol; (B)Ekstraksi menggunakan Ultrasound-Assisted Extraction (UAE); (C)Hasil Ekstraksi NADES daun R. tuberosa menggunakan Ultrasound-Assisted Extraction (UAE)

Filtrat yang diperoleh dari ekstraksi merupakan ekstrak NADES daun *R. tuberosa* yang masih mengandung komponen penyusun pelarut, yaitu kolin klorida dan gliserol. Setelah tahap pemisahan, diperoleh dua bagian, yaitu filtrat sebagai hasil ekstraksi dan residu simplisia yang tertinggal setelah proses penyaringan. Filtrat menunjukkan karakteristik berupa cairan berwarna hijau hingga kecokelatan, sedangkan residu berupa ampas simplisia yang terpisah dari fase cair. Perbedaan bentuk dan karakteristik fisik antara kedua bagian tersebut menunjukkan hasil pemisahan campuran setelah proses ekstraksi. Filtrat yang diperoleh selanjutnya digunakan sebagai sampel dalam analisis kualitatif golongan metabolit sekunder.

Hasil Skrining fitokimia Daun Kencana Ungu (*Ruellia tuberosa* L.) menggunakan NADES

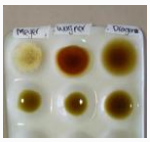
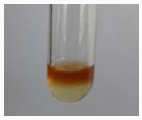
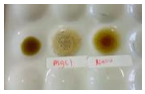
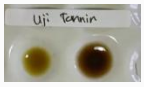
Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi golongan metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak NADES daun *R. tuberosa.* Identifikasi dilakukan berdasarkan karakteristik reaksi yang terbentuk setelah penambahan pereaksi spesifik, Parameter pengamatan meliputi perubahan warna, pembentukan endapan, dan pembentukan busa. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak NADES daun *R. tuberosa* positif mengandung lima golongan metabolit sekunder, yaitu alkaloid, saponin, triterpenoid, flavonoid, dan tannin Rangkuman hasil identifikasi tersebut disajikan pada Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak NADES Daun Kencana Ungu (*Ruellia tuberosa* L.), yang memuat jenis pengujian, pereaksi yang digunakan, karakteristik hasil pengamatan, serta interpretasi dari setiap pengujian.

Pada pengujian alkaloid, identifikasi dilakukan menggunakan tiga pereaksi, yaitu Mayer, Wagner, dan Dragendorff. Penambahan masing-masing pereaksi menghasilkan karakteristik endapan yang berbeda. Pereaksi Mayer menghasilkan endapan berwarna putih kekuningan, pereaksi Wagner menghasilkan endapan merah kecokelatan, sedangkan pereaksi Dragendorff menghasilkan endapan berwarna jingga kecoklatan. Perbedaan warna endapan yang terbentuk pada ketiga pengujian tersebut menunjukkan adanya respons positif terhadap identifikasi alkaloid. Hasil pengujian saponin juga menunjukkan respons positif yang ditandai dengan terbentuknya busa setelah ekstrak ditambahkan air panas dan dikocok. Busa yang terbentuk tetap bertahan setelah didiamkan selama 10 menit, sehingga memenuhi karakteristik pengamatan positif pada pengujian saponin.

Selanjutnya, pengujian golongan triterpenoid dan steroid dilakukan menggunakan pereaksi *Liebermann–Burchard*. Hasil pengamatan menunjukkan perubahan warna menjadi merah kecokelatan. Warna yang terbentuk tersebut menunjukkan hasil positif terhadap golongan triterpenoid. Sementara itu Identifikasi flavonoid dilakukan menggunakan dua jenis pengujian, yaitu pereaksi Wilstätter dan pereaksi alkalin. Pengujian dengan pereaksi Wilstätter melalui penambahan serbuk magnesium dan HCl menghasilkan perubahan warna menjadi merah jingga, sedangkan penambahan pereaksi alkalin berupa NaOH 10% menghasilkan warna kuning. Kedua pengujian tersebut menunjukkan respons positif terhadap keberadaan flavonoid dalam ekstrak NADES daun *R. tuberosa*.

Identifikasi tanin dilakukan dengan menambahkan pereaksi timbal(II) asetat [$Pb(CH_3COO)_2$] ke dalam ekstrak. Hasil pengujian ditandai dengan terbentuknya endapan setelah penambahan pereaksi, yang menunjukkan respons positif terhadap keberadaan tanin. Dengan demikian, hasil pengamatan pada setiap pengujian memperlihatkan karakteristik reaksi yang menjadi dasar identifikasi masing-masing golongan metabolit sekunder. Rincian jenis pengujian, pereaksi yang digunakan, karakteristik hasil pengamatan, dan interpretasi hasil skrining fitokimia ekstrak NADES daun *R. tuberosa* disajikan pada Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak NADES Daun Kencana Ungu (*Ruellia tuberosa* L.).

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia ekstrak NADES daun kencana ungu (*Ruellia tuberosa* L.)

No	Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil	Keterangan
1.	Alkaloid	Mayer, Wegner, Dragendorf	Terbentuk endapan putih kekuningan, merah kecoklatan, dan jingga kecoklatan	 (+)
2.	Saponin	Aquades	Terbentuk busa stabil	 (+)
3.	Triterpenoid/ Steroid	Lieberman-Burchad	Perubahan warna menjadi merah kecoklatan (Triterpenoid)	 (+)
4.	Flavonoid	Serbuk Mg + HCL NaOH	Terbentuk endapan merah jingga Warna kuning	 (+)
5.	Tannin	Pb Asetat	Terbentuk endapan	 (+)

Hasil skrining fitokimia ini memberikan gambaran mengenai komposisi golongan metabolit sekunder yang terdeteksi pada ekstrak NADES daun *R. tuberosa*. Temuan ini memberikan informasi awal mengenai kandungan kimia ekstrak daun kencana ungu dan dapat menjadi landasan untuk kajian lebih lanjut terhadap komponen senyawa yang terkandung di dalamnya**.**

PEMBAHASAN

Ekstraksi daun *R. tuberosa* menggunakan NADES berbasis kolin klorida-gliserol dengan rasio molar 1:2 dan penambahan air 20% (v/v) dilakukan menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE). Gelombang ultrasonik membantu pelepasan senyawa dari jaringan tanaman melalui fenomena kavitasi, sehingga mendukung perpindahan senyawa ke dalam pelarut (Putu *et al.*, 2021). Setelah proses ekstraksi dan pemindahan residu simplisia,

diperoleh ekstrak yang masih mengandung NADES. Hal ini disebabkan oleh karakteristik NADES yang memiliki volatilitas sangat rendah sehingga tidak dapat dipisahkan secara efektif melalui penguapan menggunakan rotary evaporator maupun metode freeze drying (Zhang *et al.*, 2022).

Keberadaan NADES dalam ekstrak menyebabkan massa ekstrak yang diperoleh tidak sepenuhnya merepresentasikan massa senyawa hasil ekstraksi dari simplisia, karena masih mencakup komponen pelarut. Oleh karena itu, rendemen ekstrak kering tidak ditentukan dalam penelitian ini karena massa metabolit hasil ekstraksi tidak dapat dipisahkan dari pelarutnya.

Hasil skrining fitokimia secara kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak NADES daun *R. tuberosa* positif mengandung lima golongan metabolit sekunder, yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid. Hasil pengujian fitokimia tersebut disajikan pada Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak NADES Daun Kencana Ungu (*Ruellia tuberosa* L.). Identifikasi masing-masing golongan metabolit sekunder dilakukan berdasarkan perubahan yang terjadi setelah penambahan pereaksi spesifik. Perubahan tersebut dapat berupa terbentuknya endapan, perubahan warna, maupun pembentukan busa yang menjadi indikator adanya golongan senyawa tertentu dalam ekstrak. Setiap golongan metabolit sekunder memiliki karakteristik reaksi yang berbeda sesuai dengan prinsip pengujian yang digunakan.

Berdasarkan Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak NADES Daun Kencana Ungu (*Ruellia tuberosa* L.). Pengujian alkaloid didasarkan pada pembentukan senyawa kompleks atau ionik antara alkaloid yang telah terprotonasi dengan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorff. Reaksi tersebut ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih atau krem (Mayer), merah kecokelatan (Wagner), dan jingga hingga jingga kecokelatan (Dragendorff) sebagai indikator keberadaan alkaloid dalam ekstrak (Godlewska *et al.,* 2022). Berdasarkan hasil pengamatan, ekstrak NADES daun *R. tuberosa* menunjukkan hasil positif terhadap pengujian alkaloid, yang ditandai dengan terbentuknya endapan sebagai indikator keberadaan senyawa tersebut.

Pengujian saponin dilakukan berdasarkan kemampuan senyawa saponin dalam menurunkan tegangan permukaan air sehingga dapat membentuk busa yang stabil ketika dikocok. Keberadaan saponin ditandai dengan terbentuknya busa yang relatif stabil dan tidak mudah menghilang setelah penambahan air panas maupun pendiaman selama beberapa waktu. Hal ini berkaitan dengan struktur saponin yang tersusun atas gugus hidrofilik (glikon)

dan hidrofobik (aglikon), sehingga memiliki sifat seperti surfaktan yang memungkinkan terbentuknya busa (Bottcher *et al.*, 2017). Terbentuknya busa selama pengujian mengindikasikan bahwa ekstrak NADES daun *R. tuberosa* mengandung senyawa saponin.

Uji triterpenoid dan steroid dilakukan menggunakan pereaksi Liebermann–Burchard. Hasil pengujian menunjukkan terbentuknya warna merah kecokelatan yang mengindikasikan keberadaan senyawa triterpenoid. Pembentukan warna tersebut berkaitan dengan reaksi kerangka triterpenoid dengan pereaksi Liebermann–Burchard dalam suasana asam, yang melibatkan proses dehidrasi dan pembentukan struktur terkonjugasi sehingga menghasilkan senyawa berwarna. Intensitas dan karakter warna yang terbentuk dipengaruhi oleh struktur senyawa yang bereaksi. Warna merah hingga merah kecokelatan berarti reaksi positif triterpenoid, sedangkan warna biru hingga hijau untuk steroid. Dengan demikian, hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak NADES daun *R. tuberosa* positif mengandung triterpenoid.

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan menggunakan dua pereaksi, yaitu serbuk Mg yang ditambahkan HCl dan NaOH. Pada pengujian Mg-HCl, terbentuk endapan berwarna merah jingga yang mengindikasikan keberadaan flavonoid melalui reaksi reduksi dalam suasana asam. Sementara itu, penambahan NaOH menghasilkan warna kuning yang berkaitan dengan pembentukan ion fenolat akibat ionisasi gugus hidroksil pada struktur flavonoid(Abdullah *et al.*, 2021). Berdasarkan kedua hasil pengujian tersebut, ekstrak NADES daun *R. tuberosa* menunjukkan hasil positif mengandung flavonoid.

Pengujian tanin dilakukan menggunakan pereaksi timbal(II) asetat [$Pb(CH_3COO)_2$]. Hasil pengujian menunjukkan terbentuknya endapan yang mengindikasikan keberadaan senyawa tanin dalam ekstrak. Pembentukan endapan tersebut berkaitan dengan interaksi gugus hidroksil fenolik pada struktur tanin dengan ion Pb^{2+}, yang menghasilkan kompleks atau senyawa timbal-tanat yang sukar larut dalam larutan(Rohani *et al.*, 2025). Tanin memiliki banyak gugus hidroksil fenolik yang memungkinkan terjadinya interaksi dengan ion logam sehingga membentuk endapan(Zeng *et al.*, 2019). Pembentukan endapan ini menjadi indikator positif keberadaan tanin pada ekstrak NADES daun *R. tuberosa.*

Hasil identifikasi flavonoid dan tanin menunjukkan keberadaan kedua golongan senyawa polifenol dalam ekstrak NADES daun *R. tuberosa.* Keberadaan golongan senyawa tersebut sejalan dengan penelitian terdahulu yang melaporkan adanya senyawa flavonoid pada daun *R. tuberosa.* Rajanna *et al.*, (2017) melaporkan keberhasilan isolasi senyawa

flavonoid dari daun tanaman tersebut serta aktivitas antioksidannya. Selain itu, Ahmad *et al.,* (2017) juga melaporkan aktivitas biologis sejumlah senyawa polifenol, termasuk kuersetin dan kaempferol. Temuan ini memberikan dukungan terhadap keberadaan golongan senyawa fenolik pada daun *R. tuberosa* yang berhasil teridentifikasi dalam penelitian ini.

Secara keseluruhan, skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak NADES kolin klorida-gliserol daun *R. tuberosa* mengandung lima golongan metabolit sekunder, yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid. Hasil ini menunjukkan bahwa penggunaan NADES sebagai pelarut ekstraksi menghasilkan ekstrak yang mengandung beragam golongan metabolit sekunder. Temuan tersebut memberikan informasi awal mengenai komposisi golongan metabolit sekunder daun *R. tuberosa* hasil ekstraksi menggunakan NADES.

KESIMPULAN

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak NADES daun Ruellia tuberosa L. yang diperoleh melalui metode Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) positif mengandung lima golongan metabolit sekunder, yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid. Temuan ini memberikan informasi ilmiah mengenai profil fitokimia daun R. tuberosa yang diekstraksi menggunakan NADES berbasis kolin klorida-gliserol. Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan identifikasi dan karakterisasi senyawa secara lebih spesifik menggunakan metode analisis seperti LC-MS/MS atau HPLC, serta mengevaluasi kontribusi senyawa yang teridentifikasi terhadap aktivitas biologisnya.

DAFTAR PUSTAKA

Abdullah, F., Fazira Mohd Salleh, N. A., & Luqman Selahuddeen, M. (2021). Phytochemical and toxicity analysis of *Leucas zeylanica* crude extracts. *Environmental and Toxicology Management, 1*(2), 1–8. https://doi.org/10.33086/etm.v1i2.2072

Ahmad, A. R., Elya, B., & Mun'im, A. (2017). Antioxidant activity and isolation of xanthine oxidase inhibitor from *Ruellia tuberosa* L. leaves. *Pharmacognosy Journal, 9*(5), 607–610. https://doi.org/10.5530/pj.2017.5.96

Alfaleh, A. A., & Sindi, H. A. (2024). Systematic study on date palm seeds (*Phoenix dactylifera* L.) extraction optimisation using natural deep eutectic solvents and ultrasound technique. *Scientific Reports, 14*, Article 16622.

Amusan, T. O., Ogunbiyi, O. J., Shoge, M., Jemkur, M., & Joseph, P. S. (2024). Evaluation of phytochemical compounds and proximate analysis of doum palm fruit (*Hyphaene thebaica*) blend with turmeric powder (*Curcuma longa*). *BMC Chemistry, 18*, Article 140. https://doi.org/10.1186/s13065-024-01256-6

Asmorowati, H., & Lindawati, N. Y. (2019). Penetapan Kadar Flavonoid Total Buah Alpukat Biasa (*Persea americana* Mill.) dan Alpukat Mentega (*Persea americana* Mill.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmiah Farmasi, 15*(2), 51–63.

Böttcher, S., & Drusch, S. (2017). Saponins—Self-assembly and behavior at aqueous interfaces. *Advances in Colloid and Interface Science, 243*, 105–113.

Dai, Y., Witkamp, G.-J., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2013). Natural deep eutectic solvents as a new extraction media for phenolic metabolites in *Carthamus tinctorius* L. *Analytical Chemistry, 85*(13), 6272–6278.

Godlewska, K., Pacyga, P., Szumny, A., Szymczycha-Madeja, A., Wełna, M., & Michalak, I. (2022). Methods for rapid screening of biologically active compounds present in plant-based extracts. *Molecules, 27*(20), Article 7094. https://doi.org/10.3390/molecules27207094

Hikmawanti, N. P. E., Ramadon, D., Jantan, I., & Mun'im, A. (2021). Natural deep eutectic solvents (NADES): Phytochemical extraction performance enhancer for pharmaceutical and nutraceutical product development. *Plants, 10*(10), Article 2091. https://doi.org/10.3390/plants10102091

Khachitpongpanit, S., Singhatong, S., Sastraruji, T., & Jaikang, C. (2016). Phytochemical study of *Ruellia tuberosa* chloroform extract: Antioxidant and anticholinesterase activities. *Der Pharmacia Lettre, 8*(6), 238–244. https://www.scholarsresearchlibrary.com/abstract/phytochemical-study-of-ruellia-tuberosa-chloroform-extract-antioxidant-andrnanticholinesterase-activities-2994.html

Khajeh, M., Ghaffari-Moghaddam, M., Piri, J., Barkhordar, A., & Saloglu, D. (2025). Green extraction of bioactive compounds from orange peel waste using NADES and microwave-assisted technique: A CatBoost-GMDH ensemble optimized by mantis search algorithm. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 49*, Article 100668.

Liu, Y., Friesen, J. B., McAlpine, J. B., Lankin, D. C., Chen, S.-N., & Pauli, G. F. (2018). Natural deep eutectic solvents: Properties, applications, and perspectives. *Journal of Natural Products, 81*(3), 679–690.

Melk, M. M., & El-Sayed, A. F. (2024). Phytochemical profiling, antiviral activities, molecular docking, and dynamic simulations of selected *Ruellia* species extracts. *Scientific Reports, 14*, Article 15381.

Pham, T. N. T., Nguyen, T. T., Nguyen, T. L. T., Tran, A. M. N., Nguyen, T. N., Tong, D. T., & Le, D. T. (2022). Antioxidant and anti-inflammatory activities of phytochemicals from *Ruellia tuberosa*. *Journal of Chemistry, 2022*(1), Article 4644641. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2022/4644641

Rajanna, L., Raju, R., & Shailaja Sharma, G. S. (2017). Preliminary phytochemical analysis and haemolytic activity assay of tuber extract of *Ruellia tuberosa* L. *Research & Reviews: A Journal of Life Sciences, 7*(3), 23–27. https://sciencejournals.stmjournals.in/index.php/RRJoLS/article/view/14

Rohani, S., Martha, F. R., Astri, Y., & Putria, S. J. L. (2025). Identification of chemical constituents in ethanolic extract of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces (roselle) by FTIR and GC-MS: Preliminary phytochemical screening. *Sriwijaya Journal of Medicine, 8*(3), 264–275. https://doi.org/10.32539/sjm.v8i3.360

Socas-Rodríguez, B., Torres-Cornejo, M. V., Álvarez-Rivera, G., & Mendiola, J. A. (2021). Deep eutectic solvents for the extraction of bioactive compounds from natural sources and agricultural by-products. *Applied Sciences, 11*(11), Article 4897. https://doi.org/10.3390/app11114897

Sudira, I. W., Samsuri, Sudisma, I. G. N., & Diana, K. L. M. (2024). Uji Fitokimia terhadap Ekstrak Etanol 70% dan Ekstrak Air Bunga Kecubung (*Datura metel* L.) yang Berpotensi sebagai Bahan Anestesi [Phytochemical tests of 70% ethanol extract and amethyst water extract (*Datura metel* L.) which has potential as anesthetics]. *Jurnal Sain Veteriner, 42*(3), 380–388. https://doi.org/10.22146/jsv.74161

Twaij, B. M., & Hasan, M. N. (2022). Bioactive secondary metabolites from plant sources: Types, synthesis, and their therapeutic uses. *International Journal of Plant Biology, 13*(1), 4–14. https://doi.org/10.3390/ijpb13010003

Zeng, X., Du, Z., Sheng, Z., & Jiang, W. (2019). Characterization of the interactions between banana condensed tannins and biologically important metal ions (Cu2+, Zn2+ and Fe2+). *Food Research International, 123*, 518–528.

Zhang, Y., Bian, S., Hu, J., Liu, G., Peng, S., Chen, H., Jiang, Z., Wang, T., Ye, Q., & Zhu, H. (2022). Natural deep eutectic solvent-based microwave-assisted extraction of total flavonoid compounds from spent sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves: Optimization and antioxidant and bacteriostatic activity. *Molecules, 27*(18), Article 5985. https://doi.org/10.3390/molecules27185985