

## Content of Chlorophyll, Antioxidants, and Metabolite Compounds in the Leaf Development Stage of *Murraya koenigii* (L.) Spreng

Juswardi<sup>1\*</sup> & Salsabila Ulya<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program study of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University, Indonesia;

### Article History

Received : March 23<sup>th</sup>, 2023

Revised : May 20<sup>th</sup>, 2023

Accepted : June 11<sup>th</sup>, 2023

\*Corresponding Author:

**Juswardi,**

Program study of Biology,  
Faculty of Mathematics and  
Natural Sciences, Sriwijaya  
University, Indonesia;

Email: [juswardi@yahoo.co.id](mailto:juswardi@yahoo.co.id)

**Abstract:** *Murraya koenigii* (L.) Spreng is often known as Temurui or Curry as a local name in Indonesia, and has long been used in medicine and has as a potential as a multi-medicinal plant. Temurui as a producer of bioactivity has the antioxidant properties. This is due to the presence of metabolite compounds contained in the leaves of the Temurui plant. Leaves are organs that are always growing where chemical components such as chlorophyll in the leaves will also develop thereby affecting leaf metabolism in plants. This study aims to determine the contents of chlorophyll, contents of antioxidants and metabolite compounds in Temurui leaves at the level of leaf development. Different leaf extractions are also used to measure the antioxidant, chlorophyll content and metabolite compounds found in Temurui leaves. The research results obtained on young, and old Temurui leaves obtained a total of 3 groups of dominant compounds, terpenoids, organic acids and esters, and mature leaves not find ester compound. The level of leaf development affects the contents of antioxidants and chlorophyll contents. Chlorophyll content in mature leaves was 44.60ug/ml, young leaves were 41.28ug/ml and old leaves were 30.27ug/ml while antioxidant contents in young leaves were 8.949ppm, mature leaves were 8.85ppm and old leaves were 8.429ppm.

**Keywords:** antioxidant, chlorophyll, *Murraya koenigii* (L.) spreng, metabolite.

### Pendahuluan

*Murraya koenigii* (L.) Spreng dikenal dengan sebutan Temurui atau Kari nama lokal. Temurui belum banyak dimanfaatkan di Indonesia namun negara di kawasan Asia Selatan sudah memanfaatkan tumbuhan ini. Masyarakat India sejak lama menggunakan Temurui untuk pengobatan merupakan tumbuhan obat multi potensial (Chauhan *et al.*, 2017). Temurui sebagai tumbuhan obat mengandung beragam senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif tersebut berfungsi sebagai antitumor, antioksidan, antimutagen, anti inflamasi, antidiabetes, antidisentri, stimulan dan antibakteri (Tan *et al.*, 2017). Kandungan senyawa metabolit yang ada pada tumbuhan dapat mempengaruhi bioaktivitas.

Senyawa metabolit pada ekstrak etanol daun Temurui antara lain alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan steroid. Hasil skrining fitokimia pada ekstrak metanol daun Temurui ditemukan senyawa terpenoid (Sukma *et al.*,

2018). Senyawa metabolit dari suatu tumbuhan dipengaruhi oleh pertumbuhan dan perkembangan. Daun tumbuhan mengalami perkembangan dengan ditandai adanya perubahan bentuk dan perubahan warna dengan adanya pigmen klorofil. Kadar klorofil akan meningkat seiring bertambahnya umur sampai daun berkembang penuh dan kemudian kadar klorofil menurun ketika daun semakin tua (Setiawati, 2016). Komponen biokimia lain dalam organ daun selalu berkembang. Jaringan parenkim palisade dan parenkim spons bagian daun pada tumbuhan tingkat tinggi mengandung kloroplas (Sumenda, 2011).

Kandungan senyawa klorofil di daun akan mempengaruhi kemampuan tumbuhan untuk melakukan fotosintesis, yang mana juga akan mempengaruhi metabolisme daun pada tumbuhan. Metabolisme mengacu pada sejumlah reaksi yang terjadi diseluruh tubuh dalam setiap sel, yang mengubah suatu metabolit menjadi metabolit lain. Metabolit

terbentuk dari proses molekul sederhana dibiosintesis menjadi molekul yang lebih kompleks berfungsi sebagai bahan struktural untuk pertumbuhan, perkembangan, dan reproduksi. Metabolit suatu tumbuhan dapat diketahui dengan cara melakukan pendekatan metabolomika. Melalui metabolomika dapat diidentifikasi sejumlah besar metabolit (Ellis *et al.*, 2007) dan berbagai kelas metabolit (Fienh *et al.*, 2000; Dunn *et al.*, 2005).

Jumlah klorofil daun bervariasi pada berbagai fase pertumbuhan daun. Daun mangga memiliki jumlah klorofil yang berbeda pada pucuknya, daun muda dan tua (Sumenda, 2011). Hasil penelitian Khafid *et al.*, (2021), Seiring bertambahnya usia daun salam, proporsi karotenoid, pigmen klorofil-a dan klorofil-b serta klorofil total meningkat. Di sisi lain, begitu daun mencapai puncak kematangannya, proporsi kandungan klorofil dan karotenoid menurun. Kemudian, Pujaningsih *et al.*, (2018) melaporkan bahwa jumlah flavonoid pada daun kersen tua lebih tinggi dibandingkan daun kersen muda.

Komponen biokimia dalam organ daun selalu berkembang, hal tersebut dapat mempengaruhi jumlah kandungan senyawa metabolit pada tumbuhan. Apakah ada perbedaan kandungan metabolit dominan, serta kadar klorofil dan antioksidan pada tingkatan perkembangan daun Temurui? Sehingga dilakukan penelitian dengan tujuan mengetahui kadar klorofil, antioksidan dan metabolit pada tingkat perkembangan daun Temurui.

## Bahan dan Metode

### Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan dari bulan September sampai Desember 2022. Sampel daun Temurui diambil di Komplek Perumahan PT GPI 1, Sekayu, Sumatera Selatan. Kandungan klorofil, antioksidan dan metabolit dilakukan di laboratorium Fisiologi dan Perkembangan, laboratorium Genetika dan Bioteknologi Jurusan Biologi, dan laboratorium Analisa Kimia Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengatahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

### Alat dan Bahan

Perlengkapan alat yang digunakan dalam penelitian seperti belender, kuvet, mortar,

mikropipet, timbangan analitik, *Rotary Evaporator*, spektrofotometer UV-Vis, *GC-MS Trace™1311ISQ*. Selain itu, penelitian membutuhkan bahan antara lain aseton, daun Temurui, etanol, akuades, asam askorbat dan kit DPPH.

### Preparasi sampel daun temurui

Sampel dari daun Temurui yang dipilih berdasarkan perkembangan yaitu daun muda (pucuk), dewasa dan tua. Daun yang masih segar digunakan untuk penentuan kadar klorofil, sedangkan penentuan kadar antioksidan dan metabolit digunakan ekstrak etanol dari masing-masing tingkat perkembangan daun.

### Ekstraksi daun temurui

Serbuk simplisia diekstraksi setelah dimaserasi selama tiga hari dengan etanol 96%. Setelah 3 hari diambil filtrat daun kemudian diuapkan dengan evaporator. Ekstrak kental sampel daun yang telah didapat atau rendemen ekstrak dilanjutkan untuk mengukur kadar antioksidan dan metabolitnya.

### Penentuan metabolit

Analisis rendemen daun Temurui dengan GC-MS untuk mengetahui golongan metabolit. Protokol kerja sesuai dengan metode instrument GC-MS Trace™ 1310ISQ

### Penentuan kadar klorofil

Ekstraksi klorofil dengan menggunakan pelarut aseton, lalu diukur absorbansi panjang gelombang 663 nm dan 645 nm. Perhitungan kadar klorofil menggunakan persamaan 1 sampai 3.

$$\text{Kadar klorofil a} = (12,5 \times OD_{663}) - (2,69 \times OD_{645}) \quad (1)$$

$$\text{Kadar klorofil b} = (22,9 \times OD_{645}) - (4,60 \times OD_{663}) \quad (2)$$

$$\text{Kadar klorofil total} = \text{klorofil a} + \text{klorofil b} \quad (3)$$

### Penentuan kadar antioksidan

Metode KIT DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil) digunakan untuk menghitung kadar antioksidan mengacu standar asam askorbat. Selanjutnya, mengukur absorbansi dengan spektrofotometer uv-vis panjang gelombang 517 nm. Kadar antioksidan dihitung dengan rumus (Ao, 2019) pada persamaan 4.

$$\text{Kadar antioksidan} = \frac{OD_{\text{sampel}}}{OD_{\text{standar}}} \times \text{xantosinin standar} \quad (4)$$

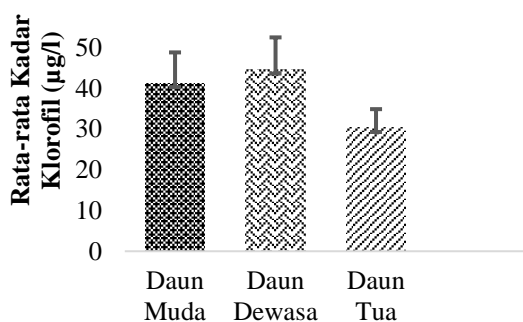
## Analisis data

Identifikasi senyawa dari kromatogram menggunakan website *PubChem*, *KEGG*, *Spectrabase PlantCyc*, dan *ChEBI* dan selanjutnya dikelompokkan berdasarkan golongan senyawa. Data kadar klorofil dan antioksidan dianalisis dengan pemusatan data rata-rata dan standar devisiasi.

## Hasil dan Pembahasan

### Kadar klorofil daun temurui

Kandungan klorofil pada daun temurui berhubungan dengan kandungan klorofil total, yang ditentukan oleh berbagai tahap perkembangan daun disajikan pada Gambar 1. Hasil penelitian membuktikan bahwa pada berbagai tahap perkembangan, daun temurui memiliki kadar klorofil total yang bervariasi (Gambar 1). Kadar klorofil total yang lebih tinggi didapatkan pada daun dewasa dengan rata-rata  $44,60 \pm 7,88 \mu\text{g/ml}$ , lalu diikuti daun muda dengan kadar  $41,28 \pm 7,52 \mu\text{g/ml}$  dan kadar klorofil total yang rendah terdapat tua dengan rata-ratanya  $30,27 \pm 4,60 \mu\text{g/ml}$ . Hal ini dikarenakan jumlah klorofil pada setiap jenis tumbuhan akan berubah seiring waktu.



**Gambar 1.** Kadar klorofil total daun Temurui (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) pada tingkat perkembangan daun

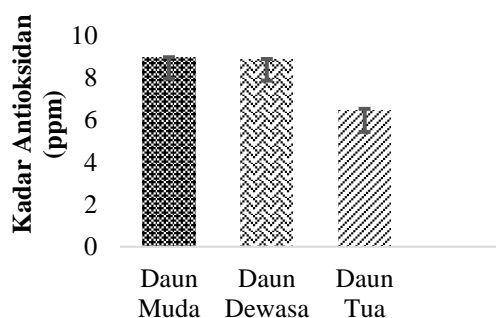
Perkembangan protokloroplas pada saat daun belum dewasa sampai perkembangan kloroplas berfungsi daun dewasa diikuti oleh jumlah pigmen klorofilnya. Selanjutnya, Eko (2007) dan Solikhah (2019) menyatakan bahwa kemampuan daun untuk berfotosintesis juga meningkat seiring dengan perubahan kadar klorofil hingga daun berkembang sempurna, di mana perlahan-lahan mulai menurun. Kerusakan klorofil dan hilangnya fungsi kloroplas terjadi

pada daun tua yang hampir mati menjadi kuning dan tidak dapat berfotosintesis.

Klorofil adalah pigmen pemberi warna hijau pada daun. Hal ini terlihat pada morfologi daun muda Temurui yang berwarna hijau muda saat muda dan hijau tua saat tua, dan daun tua memiliki warna hijau kekuningan sampai kecoklatan. Warna daun bervariasi tergantung pada sebaran klorofil di dalamnya. Jumlah klorofil dalam tanaman lebih tinggi ketika daun lebih hijau (Dharmadewi, 2020). Kadar pigmen lain yang lebih dominan atau faktor adaptasi pada suatu tumbuhan menjadi penyebab perbedaan kadar klorofil yang terdapat pada daun.

### Kadar antioksidan daun Temurui

Kadar senyawa antioksidan daun Temurui pada tingkat perkembangan daun disajikan pada Gambar 2. Kadar antioksidan pada daun muda, daun tua dan daun tua menunjukkan kadar yang berbeda. Jumlah kadar antioksidan yang lebih tinggi diperoleh daun muda sebesar  $8,95 \pm 0,01$  ppm. Selanjutnya, diikuti daun dewasa dengan kadar  $8,86 \pm 0,02$  ppm dan kadar antioksidan yang lebih rendah terdapat pada daun tua dengan rata-rata  $6,429 \pm 0,09$  ppm. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat perkembangan daun berpengaruh terhadap kadar antioksidan yang terdapat pada daun.



**Gambar 2.** Kadar senyawa antioksidan daun Temurui (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) pada tingkat perkembangan daun

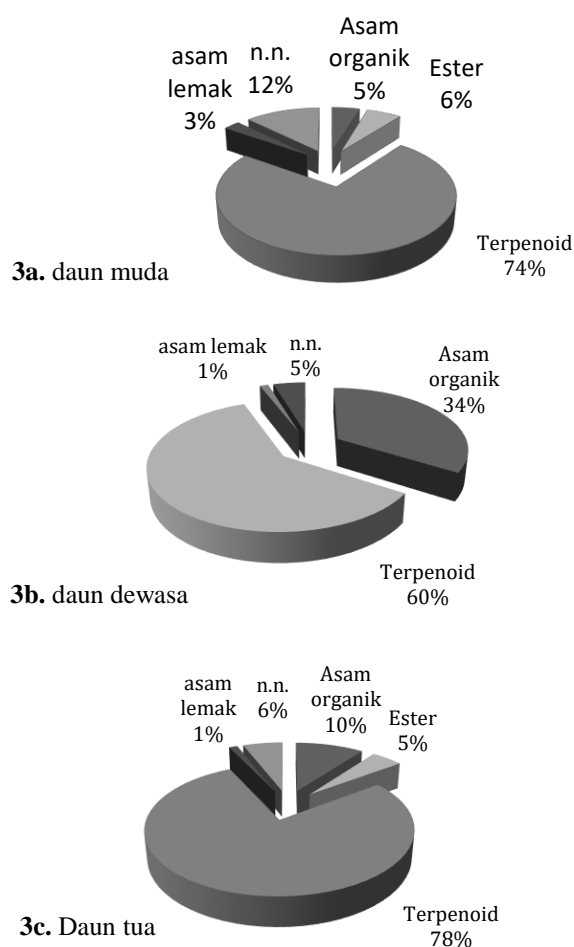
Antioksidan lebih banyak terdapat pada daun muda dibandingkan pada daun yang lebih tua. Daun tanaman teh yang lebih muda mengandung kadar antioksidan senyawa polifenol yang lebih tinggi daripada daun yang lebih tua (Izzreen dan Fadzelly, 2013). Usia daun akan mempengaruhi komponen bioaktif,

kandungan nutrisi, serta karakteristik rasa pada daun teh. Perkembangan daun mempengaruhi kadar antioksidan daun Temurui, namun hal ini belum tentu untuk menunjukkan aktivitas antioksidannya. Aktivitas antioksidan dapat diukur menggunakan parameter berupa IC50. Suatu zat dengan aktivitas antioksidan kuat (50-100 ppm), sedang (100-150 ppm), atau lemah (150-200 ppm) jika nilai IC50 kurang dari 50 ppm (Molyneux (2004). Aktivitas antioksidan lebih tinggi ketika nilai IC50 lebih rendah.

Radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) umumnya digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan suatu zat. DPPH adalah ekstrim bebas yang stabil dan bekerja dengan mendelokasikan partikel bebas, sehingga atom elektron tidak dapat menerima seperti atom elektron bebas lainnya. Radikal yang sangat reaktif ini memiliki kemampuan untuk memulai satu reaksi berantai pada satu waktu, menghasilkan senyawa abnormal dan memulai reaksi berantai yang berpotensi merusak sel-sel tubuh yang vital (Badarinath *et al.*, 2010). Radikal bebas dapat diatasi dengan penggunaan antioksidan (Mandal *et al.*, 2009). Salah satu organ tumbuhan yang kaya akan antioksidan adalah daun (Tristantini, 2016).

### Senyawa metabolit daun Temurui

Kromatogram dari daun Temurui terdeteksi dalam ekstrak etanol didapatkan senyawa-senyawa metabolitnya, kemudian senyawa-senyawa tersebut diidentifikasi sehingga didapatkan tiga golongan senyawa dominan yakni terpenoid, asam organik dan ester, Tiga golongan ini didapatkan pada setiap sampel dengan kadar persen yang berbeda-beda, hasil tersebut disajikan pada Gambar 3a, 3b, dan 3c. Daun Temurui muda pada gambar 3a. memiliki kandungan yang lebih tinggi senyawa terpenoid yakni 74% kemudian diikuti dengan ester dan asam organik masing-masing 6% dan 5%. Daun Temurui dewasa pada gambar 3b memiliki kandungan senyawa terpenoid dan asam organik memiliki persen yakni masing-masing 60% dan 34%, dan golongan ester tidak ditemukan pada sampel daun dewasa. Daun Temurui tua pada gambar 3c memiliki kandungan terpenoid lebih tinggi yakni 78% kemudian diikuti dengan asam organik dan ester masing-masing 10% dan 5%.



**Gambar 3a.** Senyawa metabolit pada Daun Temurui Muda, **3b** daun Temurui dewasa, **3c.** daun Temurui Tua

Adanya perbedaan kandungan metabolit ini salah satu penyebabnya adalah adalah klorofil. Kandungan senyawa klorofil yang terdapat pada daun akan mempengaruhi kemampuan tumbuhan untuk melakukan fotosintesis yang mana juga akan mempengaruhi metabolisme daun pada tumbuhan, sehingga menyebabkan kandungan senyawa metabolit juga akan berbeda. Hasil penelitian Pujaningsih *et al.*, (2018) membuktikan bahwa kandungan flavonoid lebih tinggi pada daun Kersen tua dibandingkan daun muda.

Senyawa terpenoid termasuk kelompok senyawa organik hidrokarbon adalah komponen utama dalam minyak atsiri. Minyak atsiri digunakan dalam berbagai aplikasi, termasuk aromaterapi dan wewangian (Julianto, 2019).

Ester adalah senyawa dengan aroma manis dan sering digunakan dalam parfum dan perasa makanan (Soerawidjaja *et al.*, 2005). Senyawa organik dengan gugus karboksil dikenal sebagai asam organik (Theron dan Lues, 2010). Jenis rantai karbon (alifatik, aromatik, heterosiklik, atau alisiklik), saturasi, substitusi, dan jumlah gugus fungsi merupakan faktor-faktor yang dapat digunakan untuk mengklasifikasikan asam organik (Gomis, 2000).

## Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan, bahwa tingkat perkembangan daun berpengaruh terhadap kadar antioksidan serta kadar klorofil. Kadar klorofil yang lebih tinggi didapatkan pada daun dewasa diikuti daun muda dan tua masing-masing 44,60 µg/ml, 41,28 µg/ml dan 30,27 µg/ml. Sedangkan kadar antioksidan lebih tinggi didapatkan pada daun muda yakni 8,95 ppm, daun dewasa 8,86 ppm dan daun tua 6,43 ppm. Pada daun Temurui muda, dan tua teridentifikasi tiga golongan senyawa dominan yaitu terpenoid, asam organik, dan ester sedangkan daun dewasa tidak ditemukan golongan ester.

## Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada Universitas Sriwijaya yang telah membantu dan memberikan dukungan dalam menyelesaikan penelitian ini.

## Referensi

- Ao, K. (2019). Investigation of Antioxidant Activity (*In Vitro*) and Gas Chromatography-Mass Spectrometry Profiling of *Portulaca oleracea* L. And *Portulaca grandiflora* Hook. Extracts. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 12(3), 348-352. DOI: 10.22159/ajpcr.2019.v12i3.30621.
- Badarinath, A., Rao, K., Chetty, C. S., Ramkanth, S., Rajan, T., & Gnanaprakash K. (2010). A Review on *In-vitro* Antioxidant Methods: Comparisons, Correlations, and Considerations. *International Journal of PharmTech Research*. 2(2), 1276-1285.
- Chauhan, B., Dedania, J., & Mashru, R. C. (2017). Review on *Murraya koenigii*: versatile role in management of human health. *World Journal of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*. 6(3), 476-493. DOI: 10.20959/wjpps20172-8740.
- Dharmadewi, A.A.I.M (2020). Analisis Kandungan Klorofil pada Beberapa Jenis Sayuran Hijau sebagai Alternatif Bahan Dasar Food Supplement. *Jurnal Edukasi Matematika dan Sains*. 9(2), 171-176. Doi: 10.5281/zenodo.4299383.
- Dunn, W.B., Bailey, N.J.C. & Johnson, H.E., (2005). Measuring the Metabolome: Current Analytical Technologies. *Analyst*. 5(130), 606-625. DOI: doi.org/10.1039/B418288J.
- Eko. (2007). *Budidaya Tanaman Sayuran Sawi Pakcoy*. Jakarta: Penerbit Swadaya.
- Fiehn, O., Kopka, J., Dormann, P., Altmann, T., Trethewey, R.N., & Willmitzer, L., (2000), Metabolite profiling for plant functional genomics, *Nature Biotechnology*. 18(11), 1157-1161. DOI: 10.1038/84453.
- Gomis, D. B. (2000). HPLC analysis of organic acids. *dalam* : Nollet, L. M. L. (ed). *Food Analysis by HPLC*. CRC Press, New York. Pp. 477-492
- Julianto, T.S. (2019). *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia, Hal. 35-40.
- Khafid., A., Suedy, S.W.A., & Nurchayati, Y. (2021). Kandungan Klorofil dan Karotenoid Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) pada Umur yang Berbeda. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 6(1), 74-80. DOI: 10.14710/baf.6.1.2021.74-80.
- Mandal, S., Yadav, S., & Nema, R.K. (2009). Antioxidants: A Review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 1(1), 102-104.
- Molyneux, P. (2004). The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, Songklanakarin. *J. Sci. Technol*. 26(2), 211-219. <http://rdo.psu.ac.th/sjstweb/index.php>
- Pujaningsih R.I., Sulistyanto B., & Sumarsih S. (2018). Observation of Muntingia

- calabura's Leaf Extract as Feed Additive for Livestock Diet. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, p119.
- Soerawidjaja & Tatang H. (2005), Minyak-lemak dan produk-produk kimia lain dari kelapa, Handout kuliah Proses Industri Kimia, Program Studi Teknik Kimia, Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Setiawati, T., Saragih, I. A., Nurzaman, M. & Mutaqin, A. Z. (2016). Analisis Kadar Klorofil dan Luas Daun Lampeni (*Ardisia humilis Thunbergh*) Pada Tingkat Perkembangan Yang Berbeda di Cagar Alam Pengandaran. *Prosiding Seminar MIPA Peran Penelitian Ilmu Dasar dalam Menunjang Pembangunan Berkelanjutan*. Universitas Padjajaran: Jatinangor.
- Solikhah, R., Purwantoyo, E dan Rudyatmi, E. (2019). Aktivitas Antioksidan Dan Kadar Klorofil Kultivar Singkong Di Daerah Wonosobo. *Life Science*. 8(1), 86-95. doi.org/10.15294/lifesci.v8i1.30001.
- Sukma, F. F., Sahara, D., Ihsan, F. N., Halimatussakdiah, Wahyuningsih, P., & Amna, U. (2018). Skrining fitokimia ekstrak daun “temurui” (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) Kota Langsa, Aceh. *Jurnal Jeumpa*. 5(1), 34-39.
- Sumenda, L. (2011). Analisis Kandungan Klorofil Daun Mangga (*Mangifera indica* L.) pada Tingkat Perkembangan Daun yang Berbeda. *Jurnal Bios Logos*. 1(1): 20-24. DOI: doi.org/10.35799/jbl.1.1.2011.372.
- Theron, M.M., & Lues, J.F.R. (2010). *Organic Acids and Food Preservation* (1st ed.). CRC Press.
- Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., & Jonathan, J. G. (2016). Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH pada daun tanjung (*Mimusops elengi* L). In *Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan* (p. 1).
- Xiao, Q., Mu, X., Liu, J., Li B., Liu H., Zhang B., & Xiaoet, P. (2022). Plant metabolomics: a new strategy and tool for quality evaluation of Chinese medicinal materials. *Chin Med* 17(45). DOI: doi.org/10.1186/s13020-022-00601-y