

APLIKASI FUNGSI *DERIVATIVE ZERO CROSSING* UNTUK MENENTUKAN KADAR QUERCETIN DAN RUTIN PADA ANALISIS FLAVONOID EKSTRAK DAUN KACAPIRING (*Gardenia jasminoides* Ellis)

I.B.K.W. Yoga*, N.P. Diantariani, I.P.P.Darmayuda

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,

Kampus Jimbaran, Bali Indonesia

*anargya696@gmail.com

ABSTRAK: Fungsi *derivative zero crossing* masih minim dimanfaatkan dalam analisis kimia bahan alam, tetapi lebih banyak diaplikasikan untuk deteksi senyawa aktif produk obat, yang umumnya menggunakan HPLC. Metode ini dapat diaplikasikan dalam analisis 2 atau lebih senyawa secara simultan, dengan syarat memiliki spektrum tumpang tindih dan gugus kromofor. Tujuan penelitian adalah menentukan kadar quercetin serta rutin pada analisis flavonoid dengan melakukan validasi metode *derivative* menggunakan pelarut etanol pada fraksi semi polar ekstrak daun kacapiring. Metode yang digunakan adalah melakukan *scanning* (200-1000 nm) pada fraksi semi polar, standar quercetin dan rutin serta membuat kurva regresi masing-masing senyawa dengan fungsi *derivative zero crossing*. Hasil *scanning* panjang gelombang dibuat 5 variasi konsentrasi (4; 8; 12; 16, dan 20 ppm) untuk membuat kurva kalibrasi, dilakukan perhitungan presisi, akurasi dan persen *recovery*. Data pengamatan dianalisis secara statistik deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa panjang gelombang *zero crossing* Quercetin 373 nm dan Rutin 285,5 nm. R^2 kedua standar sangat baik diatas 0,998. Presisi baik dengan %CV (3,49 dan 4,86), lebih rendah dari 0,5 CV Horwitz (8,11 dan 7,5). Kadar quercetin dan rutin pada fraksi semi polar adalah $3,43 \pm 0,16$ dan $5,00 \pm 0,37$ ppm, di atas nilai LoD (0,857 dan 0,964), dan LoQ (2,85 dan 3,021) ppm. Akurasi baik dengan % recovery 93-95%, sehingga metode *zero crossing* menjadi pilihan analisis simultan 2 senyawa bioaktif fraksi semi polar ekstrak daun kacapiring.

Kata kunci: quercetin; kacapiring; rutin; *derivative zero crossing*

ABSTRACT: Derivative zero crossing is still minimally utilized in the chemical analysis of natural materials, but is more widely applied to detect active compounds of drug products, which generally use HPLC. This method can be used to determine 2 or more compounds simultaneously, provided that they have overlapping spectra and chromophore groups. The purpose of this research is to analysis quercetin and rutin compounds on flavonoid determination by validating the derivative method using ethanol solvents on the semi-polar fraction of kacapiring leaf extract. The method used was to scan (200-1000 nm) on the semi-polar fraction, quercetin and rutin standards and create a regression curve for each compound with the derivative zero crossing function. The concentration were made at 5 various concentration (4; 8; 12; 16, and 20 ppm) to create a standard curve, precision, accuracy and percent recovery calculations were carried out. The observation data were analyzed by descriptively statistic. The results showed that the zero crossing wavelength of Quercetin was 373 nm and Rutin 285.5 nm. R^2 of both standards was very good above 0.998. Good precision with % CV (3.49 and 4.86), lower than 0.5 CV Horwitz (8.11 and 7.5). The levels of quercetin and rutin in the semi-polar fraction were 3.43 ± 0.16 and 5.00 ± 0.37 ppm, already above the LoD value (0.857 and 0.964), and LoQ (2.85 and 3.021) ppm. Good accuracy with % recovery of 93-95%, so the zero crossing method is the choice in the

simultaneous analysis of 2 bioactive compounds of the semi-polar fraction of extract of gardenia leaves

Keywords: derivative zero crossing; gardenia; quercetin; rutin

1. PENDAHULUAN

Inovasi penerapan metode fungsi derivatif UV Vis adalah sebuah metode cepat, simple dan praktis, serta murah, dibandingkan menggunakan HPLC maupun LC MS. Hampir setiap laboratorium memiliki UV Vis, fitur fungsi derivative belum dimanfaatkan untuk tujuan praktikum maupun penelitian dibidang komponen bioaktif bahan alam, baik penelitian tugas akhir mahasiswa maupun riset dosen, sehingga sangat berpotensi untuk dikembangkan sebagai sebuah inovasi dengan memanfaatkan instrumen yang ada di laboratorium untuk menghasilkan sebuah temuan dibidang pengembangan metode uji yang tervalidasi dengan analisis secara simultan untuk mendekripsi dua atau lebih senyawa dalam satu kali preparasi.

Aplikasi metode ini sangat luas, dapat memecahkan masalah pada spektrum senyawa tumpang tindih menggunakan turunan pertama atau turunan yang lebih tinggi pada spektrum terhadap panjang gelombang pada analisis multikomponen, dengan spektrum turunan yang spesifik dan keterulangan yang baik. Metode ini sebagai teknik pemrosesan sinyal hasil scanning yang diproses menggunakan algoritma *Savitzky-Golay*, juga dapat dilakukan melalui transformasi Wavelet guna memperoleh spektrum derivative yang lebih halus tanpa melakukan perubahan tendensi sinyal [1]. Prinsip analisisnya adalah titik *zero crossing* senyawa A digunakan untuk mendeterminasi senyawa B, demikian sebaliknya, dimana 2 syarat utama senyawa target yang ingin diketahui adalah harus memiliki kriteria spektrum yang tumpang tindih, serta memiliki gugus kromofor seperti quercetin dan rutin.

Quercetin dan Rutin merupakan senyawa golongan flavonoid, dimana senyawa ini tersebar luas di dalam tanaman yang memiliki potensi fisiologi salah satunya sebagai antioksidan. Quercetin secara biologi sangat kuat aktivitas antioksidannya, lebih besar 4,7 kali dari vitamin C, diyakini mampu melindungi tubuh terhadap beragam penyakit degeneratif melalui mekanisme mencegah proses peroksidasi lemak, dan menunjukkan kemampuannya mencegah oksidasi *Low Density Lipoprotein* melalui penangkapan senyawa radikal dan mengelasi ion logam [2]. Rutin adalah flavonoid alami yang ditemukan pada banyak tanaman. Rutin memiliki peranan dibidang kesehatan yaitu sebagai antioksidan, antimikroba, anti jamur, anti alergi dan obat antikanker, termasuk terapi untuk diabetes dan hipertensi [3].

2. PERCOBAAN

2.1 Bahan dan Peralatan

Ekstrak etanol daun kacapiring, standar quercetin (Sigma) dan standar rutin (Sigma), aquades, AlCl_3 (Merck), NaNO_3 (Merck), NaOH (Merck), Asam asetat (Merck), Etanol (Merck), Metanol (Merck), Spektrofotometer UV Vis (Simadzu 1800), tomabngan analitik (Zhimadzu), mortir-stamper, spatel, dan alat gelas laboratorium (labu takar, beker gelas, corong, pipet tetes, dan batang pengaduk).

2.2. Metode

Ekstraksi Daun Kacapiring

Daun dikeringkan 50°C 24 jam, dihancurkan dan diayak dengan ukuran 40 mesh. Sebanyak 100 g sampel diekstraksi dengan etanol (1:10) 24 jam. Ekstrak disaring dan ampas diremaserasi. Filtrat

digabung dan dievaporasi 40°C, kecepatan 100 rpm dan tekanan 50 mBar.

Penentuan Panjang gelombang *Zero crossing* pada Spektrum Derivative

Standar quercetin dan rutin dibuat pada konsentrasi 100 ppm dengan etanol, kemudian diencerkan menjadi 10 ppm. Dilakukan scanning awal (200-1000 nm) masing-masing standar, untuk menentukan panjang gelombang maksimum dan turunan pertama dengan fungsi derivative untuk menentukan lamda *zero crossing* standar quercetin dan rutin. Kemudian standar direaksikan dengan NaNO₂, AlCl₃, Asam Asetat, NaOH dan diukur spektrumnya pada panjang gelombang 200-800 nm. Ekstrak dilarutkan dalam etanol dan dilakukan pengenceran untuk memperoleh spektrum yang baik.

Pembuatan kurva kalibrasi

Masing-masing standar dibuat beberapa titik konsentrasi (4, 8, 12, 16, 20 ppm) selanjutnya direaksikan dengan NaNO₂, AlCl₃, Asam Asetat, NaOH dan dilakukan pembacaan spektrum pada λ maksimum.

Validasi Metode Spektrofotometri Derivative

Selektivitas ditentukan berdasarkan perbandingan spektrum larutan dari larutan induk. Linieritas ditentukan dengan persamaan kurva kalibrasi dari satu seri larutan campuran dengan berbagai konsentrasi, dengan koefisien korelasi (*r*) diatas >0.997 (bahan aktif obat).

Batas deteksi (BD) dan Batas kuantitasi (BK) dilakukan dengan melakukan pengulangan sebanyak 5 kali, selanjutnya dihitung simpangan baku (S_b). S_b dikalikan faktor 3 untuk memperoleh batas deteksi, dimana nilai *a* adalah arah garis kurva regresi, sedangkan batas kuantitasi dikalikan faktor 10.

$$BD = 3 \times SB/a, \quad BK = 10 \times SB/a$$

Kecermatan atau presisi menunjukkan kedekatan hasil analisis dengan kadar sebenarnya. Diperoleh melalui perolehan kembali (%) sejumlah analit. Pengukuran dilakukan 3 kali. Kecermatan dihitung dengan membandingkan persentase jumlah analit yang diperoleh kembali terhadap nilai sebenarnya dikalikan 100%.

Analisis Data

Perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Data *scanning* dan kurva regresi linier ditampilkan dalam bentuk gambar, tabel dan grafik serta ditampilkan nilai rata-rata dan standar deviasi.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan fraksinasi semi polar

Ekstraksi merupakan proses penarikan senyawa aktif dari sampel yang dilakukan secara maserasi sederhana menggunakan etanol, pada sampel yang telah dikeringkan dan dijadikan bubuk simplisia. Etanol adalah pelarut efektif untuk ekstraksi polar dan beberapa komponen non polar. Etanol lebih baik digunakan untuk proses ekstraksi produk pangan dan obat-obatan, karena etanol memiliki profil toksik yang rendah dengan limit residu menurut FDA 0,5% [4]. Etanol juga memiliki titik didih rendah, sehingga lebih mudah menghilangkan residu dari produk, dilaporkan juga lebih efektif untuk ekstraksi flavonoid dari tanaman [5]. Ekstrak difraksinasi menggunakan etil asetat, hexane dan aquades (Gambar 1).

Hasil fraksinasi terkoleksi pada masing-masing pelarut disajikan pada Tabel 1. Target senyawa adalah senyawa aktif yang terlarut pada fraksi semi polar, yaitu pada etil asetat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa kelompok semi polar lebih dominan terekstrak pada etil asetat. Ekstrak etil asetat dan ekstrak air buah *Terminalia bellirica* [6], mengandung total fenol (360 dan 120 mg CE/g) serta flavonoid (190 dan 127 mg QE/g) lebih tinggi kadarnya pada ekstraksi menggunakan etil asetat dibandingkan



Gambar 1. Ekstraksi dan fraksinasi

Tabel 1. Hasil Fraksinasi Cair-Cair Ekstrak Etanol Daun Kacapiring

Ulangan	Berat Ekstrak (g)	Fraksi Non Polar (g)	Fraksi Semi Polar (g)	Fraksi Polar (g)
1	1,0015	0,1196	0,0439	0,8381
2	1,0013	0,1065	0,0430	0,8517
3	1,0005	0,1005	0,0438	0,8562
Rata-Rata	1,0011	0,1088	0,0436	0,8487
SD	0,0006	0,0098	0,0005	0,0094

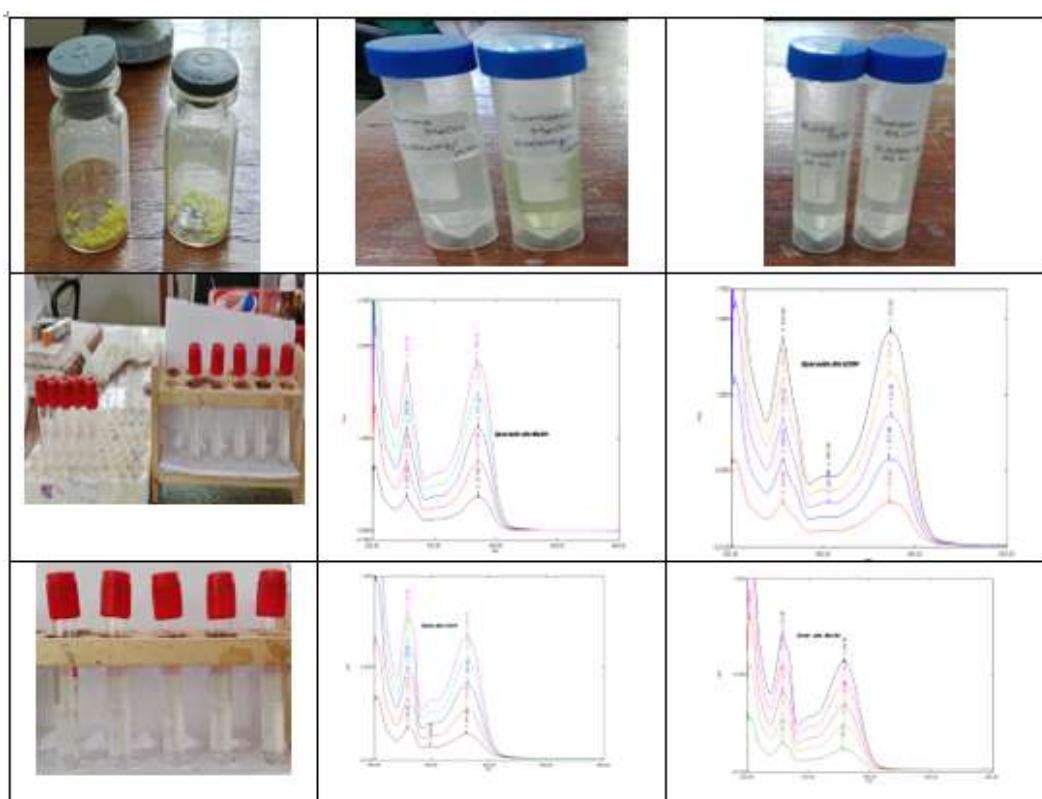
dengan aquades. Huang [7], melaporkan bahwa ekstrak etil asetat daun *persimmon* mengandung flavonoid and triterpenoid yang potensial mengatasi gangguan saraf.

Standar Quercetin dan Rutin dalam Etanol dan Metanol

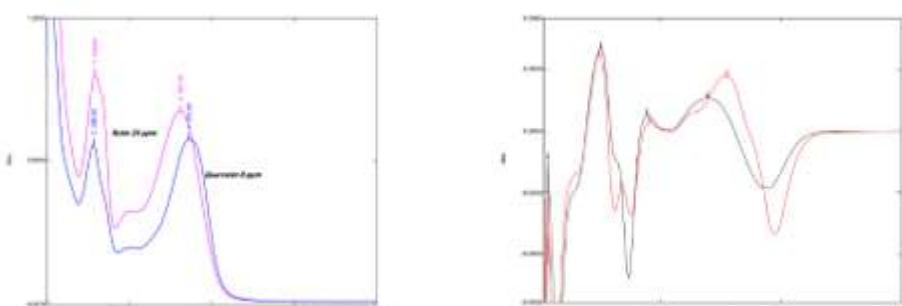
Standar quercetin dan rutin 100 ppm dalam pelarut etanol dan methanol 99,9%, dibuat dengan pengenceran menjadi 4,8,12,16 dan 20 ppm. Hasil spektrum serapan normal pada panjang gelombang 200-1000 nm (Gambar 2). Maruf [8], mendeterminasi quercetin dan asam gentisat pada konsentrasi 2-30 ppm, dalam metanol 70% memberikan titik *zero crossing* pada turunan pertama yaitu di panjang gelombang 271,57 nm dan 396,5 nm. Sedangkan pada penelitian ini terdapat dua panjang gelombang *zero crossing* juga

pada standar quercetin namun dipilih yang mampu memberikan kuva linier dan koefesien korelasi sangat baik yaitu pada 373 nm. Sedangkan pada rutin belum ditemukan pustaka terkait penentuan dengan fungsi turunan ini.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa spektrum senyawa quercetin dan rutin tumpang tindih pada panjang gelombang di bawah 400 nm (Gambar 3). Masing-masing standar diderivative yang dapat dilakukan hingga orde 4 [9], namun hasil spektrum derivative yang memberikan nilai serapan yang baik pada standar quercetin dan rutin adalah pada orde 1, sedangkan orde 2,3,4 semua nilai serapan nol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa panjang Gelombang ZC Quercetin pada 373 nm, sedangkan rutin 258,5 nm, sehingga untuk menentukan kurva regresi



Gambar 2. Standar murni quercetin dan rutin yang dibuat pada 5 titik konsentrasi serta hasil spektrum normalnya menggunakan pelarut etanol dan metanol



Gambar 3. Spektrum normal dan spektrum derivative quercetin dan rutin

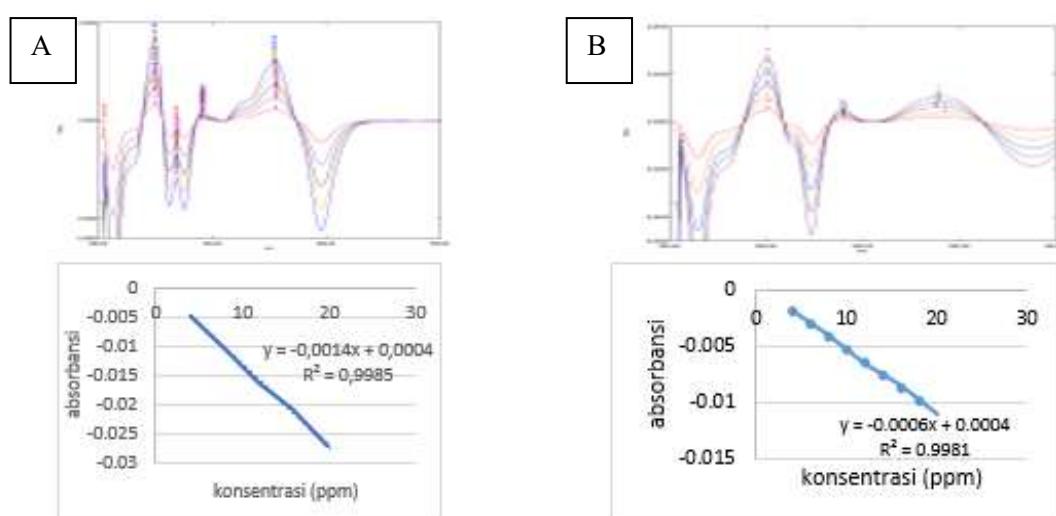
linier senyawa rutin dibaca pada spektrum turunan quercetin, sedangkan senyawa quercetin dibaca pada panjang gelombang *zero crossing* rutin.

Standar quercetin dan rutin dalam NaNO_2 10%, AlCl_3 (10%) dan NaOH (10%).

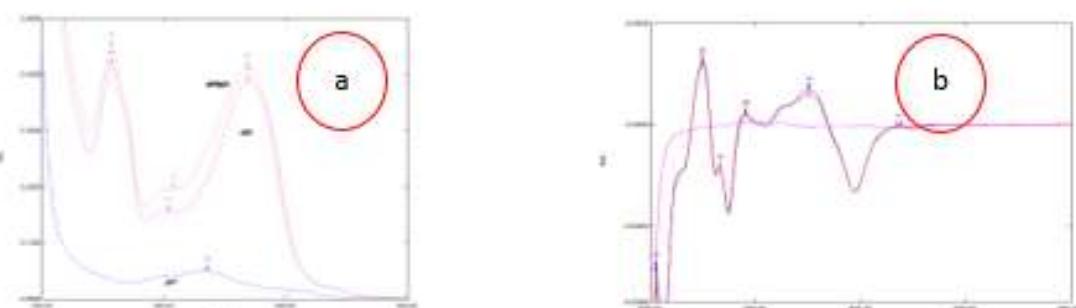
Standar quercetin dan rutin direaksikan dengan beberapa pelarut kimia yang merupakan pereaksi geser dalam pendektsian kualitatif senyawa flavonoid seperti NaNO_2 , AlCl_3 , NaOH , NaOAc , Asam Borat (Markham, 1988). Hasil

penelitian menunjukkan bahwa terbentuk perubahan warna yang berbeda antara standar quercetin dan rutin pada setelah direaksikan dengan NaNO_2 10%, AlCl_3 10% dan NaOH 10%, yaitu quercetin membentuk warna orange, sedangkan rutin membentuk warna merah muda. Perbedaan warna yang dihasilkan menunjukkan bahwa secara kualitatif keberadaan kedua senyawa aktif ini dapat dibedakan secara visual melalui perubahan warna yang terjadi.

Hasil pengamatan terhadap standar quercetin yang dihitung dari titik *zero*



Gambar 4. (A) Spektrum derivative Quercetin pada lamda *zero crossing* Rutin (258,5 nm) dan Kurva kalibrasi senyawa Quercetin (4-20 ppm). (B). Spektrum derivative Rutin pada lamda *zero crossing* Quercetin (373 nm, dan Kurva kalibrasi senyawa Rutin (4-20 ppm)



Gambar 5. Spektrum sampel fraksi semi polar, standar Quercetin dan Rutin (a). Spektrum derivative fraksi semi polar, Quercetin dan Rutin (b)

crossing rutin demikian pula sebaliknya kurva standar rutin pada titik *zero crossing* quercetin dapat dilihat pada Gambar 4. Nilai koefesien regresi menunjukkan hasil yang sangat baik yaitu 0,9981 dan 0,9985, hal ini sudah memenuhi kriteria nilai koefesien pada untuk validasi sebuah metode uji minimum 0,995 [11], yang berarti tingkat *error* yang kecil.

Sampel ekstrak semi polar dilarutkan hingga 250x untuk menghasilkan nilai serapan pada spektrum yang jelas (Gambar 5). Hasil koefesien R^2 kedua standar sangat baik dengan nilai diatas 0,998. Nilai Presisi baik dengan %CV lebih rendah dari 0,5 CV Horwitz. Nilai akurasi baik dengan % recovery 93-95%. Kadar Quercetin dan

Rutin pada fraksi semi polar ekstrak daun kacapiring, yaitu 3,43 ppm Quercetin dan 5,0 ppm Rutin, sudah di atas nilai LoD dan LoQ (Tabel 2 dan 3).

Komponen fraksi semi polar daun kacapiring mengandung flavonoid yaitu quercetin dan rutin. Rutin adalah flavonoid alami yang ditemukan pada banyak tanaman. Rutin juga dikenal dengan nama rutosida, quercetin-3-rutinosida dan sophorin. Rutin larut air dan lebih larut alkohol. Studi ilmiah dan klinis telah mengkonfirmasi bahwa daun murbei mengandung rutin dan memiliki efek hipoglikemik yang baik [12]. Flavon adalah konstituen utama daun murbei sebagai senyawa hipoglikemik. Flavon

Tabel 2. Lamda *zero crossing*, persamaan regresi, R^2 , LoD dan LoQ standar Quercetin dan Rutin

Komponen	Lamda ZC (nm)	Linieritas (ppm)	Persamaan regresi	R^2	LoD	LoQ
Quercetin	372,0	4-20	y= -0,0014x + 0.0004	0,9985	0,857	2,850
Rutin	258,5	4-20	y= -0,0006x +0.0004	0,9981	0,964	3,021

Keterangan : ZC (*zero crossing*), LoD (*limit of detection*), LoQ (*Limit of quantitation*), R (koefesien determinasi)

Tabel 3. Konsentrasi sampel, persen *recovery*, CV dan CV Horwitz

Komponen	Metode Analisis	Konsentrasi Sampel (ppm)	Recovery %	CV (%)	0.5 CV Horwitz (%)
Quercetin	<i>Zero crossing</i> pada 258,5 nm	3,43 ± 0,16	95,36	3,49	8,11
Rutin	<i>Zero crossing</i> pada 373 nm	5,00 ± 0,37	93,33	4,86	7,50

Keterangan : CV (*coefesien of varian*)

terutama mengandung rutin, *quercetin*, *kaempferol-3-O-rutinoside* dan *kaempferol*. Rutin dan quercetin dalam daun murbei meningkatkan aktivitas antioksidan dan menekan hiperglikemia [13]. Senyawa rutin tidak terdeteksi pada fraksi non polar [14]. Kadar rutin pada fraksi air dan diklorometan ekstrak daun pisang berturut-turut 40,6% dan 11,5% berat kering. Rutin adalah sebuah flavonoid dengan ikatan glikosida, oleh karenanya rutin adalah komponen polar. Rutin adalah sebuah rutinosida yang terdiri dari kuersetin dengan posisi grup hidroksil pada C3 tersubstitusi dengan sebagian disakarida (6-rhamnopyranosil-glukopiranosa), seperti senyawa flavonoid pada biji buah kacapiring [15], terdeteksi mengandung rutin dan kuersetin-3-O-β-glukopiranosida. Hussain [16], menyebutkan bahwa senyawa rutin tersebar pada daun, bunga dan biji *buckwheat*. Tujuh flavonoid dari ekstrak etanol daun singkong dengan kadar tertinggi, yaitu rutin (58,89%), 0,96% clovin, 4,81% *myricetin-3-O-rutinoside*, 1,25% robinin, 2,51% *hyperoside*, 29,31% *nicotiflorin*, dan 2,28% *narcissin* dari total flavonoid [17].

4. KESIMPULAN

- Panjang gelombang *zero crossing* Quercetin adalah 373 dan Rutin 285,5 nm
- R^2 kedua standar sangat baik diatas 0,998

- Presisi baik dengan %CV lebih rendah dari 0,5 CV Horwitz
- Akurasi baik dengan % recovery 93-95%
- Kadar Quercetin dan Rutin pada fraksi semi polar terdeteksi 3,43 ppm Quercetin dan 5,0 ppm Rutin, terdeteksi sudah di atas nilai LoD dan LoQ
- Metode *zero crossing* menjadi pilihan dalam analisis secara simultan 2 senyawa bioaktif fraksi semi polar ekstrak etanol daun kacapiring.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Karya ilmiah ini dibiayai oleh Direktorat Sumber Daya, Ditjen Diktiristik, Kemdikbudristek melalui Program Hibah Karya Inovasi Laboran Tahun 2024, dengan Nomor Kontrak 042/KILab/E4/DT.04.03/2024, tanggal 19 Juni 2024

6. DAFTAR PUSTAKA

- [1] Redasani ,V.K., Patel, P.R., Marathe, D.Y., Chaudhari, S.R., Shirkhedkar, A.A., Surana, S.J. (2018): A review on derivative uv-spectrophotometry analysis of drugs in pharmaceutical formulations and biological samples review, J Chil Chem Soc 63(3), 4126-4134.
- [2] Muchtadi, D. 2012. *Pangan Fungsional dan Senyawa Bioaktif*. Penerbit Alfa Beta Bandung.

- [3] Shama, V.J. Patel, P.M. 2013. Evaluation of antibacterial activity of methanolic extract of plant *Rivea ornata*. Pharmacy. Int. Res. J. Pharm. 4.4. 233-234.
- [4] Chew, K.K. Ng, S.Y. Khoo, M.Z. Wan Aida, W.M. Ho, C.W. 2011. Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Centella astalica* extracts. Int. Food Res. K J. 18, 571-578.
- [5] Bucar, F. Wube, A. Schmid, M. 2013. Natural product isolation how to get from biological material to pure compounds. Nat. Prod. Rep. 1. 525-545.
- [6] Gupta, A. Kumar, R. Pandey, A.K. 2020. Antioxidant and antidiabetic activities of *Terminalia bellirica* fruit in alloxan induced diabetic rats. South African Journal of Botany 130 (308-315).
- [7] Huang, S.W. Wangt, W. Zhang, M.Y. Liu, Q.B. Luo, S.Y. Peng, Y. Sun, B. Wu, D.L. Song, S.J. 2014. The effect of ethyl acetate extract from persimmon leaves on Alzheimer's disease and its underlying mechanism. Phytomedicoinex x x x. xxx-xxx.
- [8] Maruf, D.H. and Mohammad, R.H. 2023. Derivative Spectrophotometric Methods for Simultaneous Determination of Quercetin and Gentisic acid in *Capparis spinosa* L. Baghdad Science Journal. <https://dx.doi.org/10.21123/bsj.2023.8632> P-ISSN: 2078-8665 - E-ISSN: 2411-7986
- [9] Nadir SA, Fakhre NA. 2022. Simultaneous Determination of Binary Mixtures of Aniline and 2-Nitroniline in Tap Water Samples by Derivative Spectrophotometry. Eurasian J Sci Eng. 2022; 8(3): 12-24. <https://doi.org/10.23918/eajse.v8i3p12>.
- [10] Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, 15. Penerbit ITB. Bandung.
- [11] Yuliantini, A., Yuristina, H., Tursino. 2018. Penetapan Kadar Pseudoefedrin HCl dan Klorfeniramin Maleat Dengan Metode Spektrofotometri Derivative Dalam Sediaan Sirup. *Farmagazine*, Vol. V No.2 Mei 2018.
- [12] Yang, Y., Ouyang, Z., Chang, Y. and Meng, X. 2007. Study on hypoglycemic effects of components in mulberry leaves. *Food Sci.*, 28: 454-456.
- [13] Ana, A.H.F., Ethel, L.B.N., Katashi, O., Marina, P.O., Bruno, P.D.M., Julliano, F.C.G. and Ary, F.J. 2010. Influence of rutin treatment on biochemical alterations in experimental diabetes. *Biomed. Pharmacother*, 64: 214-219.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2009.08.007>
- [14] Yingyuen, P., Sukrongsax, S., and Phisalaphong, M. 2020. Isolation, separation and purification of rutin from banana leaves (*Musa balbisiana*). *Industrial Crops & Products*, 149: 1-9. doi:10.1016/j.indcrop.2020.112307. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112307>
- [15] Saravanakumar, K., Park S., Sathiyaseelan A., Kim K-N., Su-Hyeon Cho, S-H., Mariadoss, A.V.A., and Wang, M.H. 2021. Metabolite Profiling of Methanolic Extract of *Gardenia jambinoides* by LC-MS/MS and GC-MS and Its Anti-Diabetic, and Anti-Oxidant Activities. *Pharmaceuticals*, 14 (102): 1-19. <https://doi.org/10.3390/ph14020102>
- [16] Hussain, J., Bassal, M., Sarhan, H., and Aga, M.I.H. 2017. Qualitative and quantitative comparison of rutin, quercetin and gallic acid concentrations in Syrian *Capparis spinosa* L. Leaves. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6: 407-415.
- [17] Tao, H., Cui, B., Zhang, H., Bekhit, A.E.D., and Lu, F. 2019. Identification

and characterization of flavonoids compounds in cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz) by HPLC/FTICR-

MS. *International Journal of Food Properties*, 22(1): 1134-1145. doi: 10.1080/10942912.2019.1626879.