

ANALISIS KUALITATIF SENYAWA METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN GAMBIR (*Uncaria gambir* (W.Hunter) Roxb.) DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN METODE DPPH

Harry Ade Saputra^{1*}, Arini Afrilia², Yulia Yesti³, Bily Harnaldo Putra⁴, Sri Gusriyani⁵

Program Studi Farmasi Universitas Fort De Kock, Bukittinggi

*Email Korespondensi : harryadesaputra@fdk.ac.id

Submitted: 11-07-2026, Reviewer: 01-08-2026, Accepted: 24-08-2026

ABSTRACT

*Free radicals are reactive molecules that can cause cellular dysfunction and molecular alterations unrecognized by the immune system. One of the plants with the potential to counteract free radicals is gambir leaves (*Uncaria gambir* (W. Hunter) Roxb.), which possess antioxidant properties. This study aims to identify the secondary metabolite compounds present in the extracts and fractions of gambir leaves through phytochemical screening and LC-HRMS analysis, as well as to evaluate their antioxidant activity. The extraction methods used were maceration with ethanol p.a. and decoction with water, followed by fractionation using n-hexane, ethyl acetate, and water. Antioxidant activity was assessed using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. Phytochemical screening and LC-HRMS results showed that the ethanol extract contained alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, triterpenoids, and steroids; the water extract contained alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, and triterpenoids; the water fraction contained alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins; the ethyl acetate fraction contained alkaloids, flavonoids, and tannins; and the n-hexane fraction contained flavonoids, tannins, triterpenoids, and steroids. The antioxidant activity assay showed percent inhibition values of 12.35% for the ethanol extract, 20.62% for the water extract, 0.25% for the n-hexane fraction, 3.70% for the ethyl acetate fraction, and 4.20% for the water fraction. Based on these findings, it can be concluded that the extracts and fractions of gambir leaves (*Uncaria gambir* (W. Hunter) Roxb.) have potential as a source of antioxidants.*

Keywords: Gambir leaves (*Uncaria gambir* (W.Hunter) Roxb.), phytochemical screening, LC-HRMS, antioxidants, DPPH

ABSTRAK

Radikal bebas adalah molekul reaktif yang dapat menyebabkan disfungsi seluler dan perubahan molekuler yang tidak dikenali oleh sistem kekebalan tubuh. Salah satu tanaman yang berpotensi menangkal radikal bebas adalah daun gambir (*Uncaria gambir* (W. Hunter) Roxb.), yang memiliki sifat antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak dan fraksi daun gambir melalui skrining fitokimia dan analisis LC-HRMS, serta mengevaluasi aktivitas antioksidannya. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan etanol p.a. dan dekoksi dengan air, diikuti dengan fraksinasi menggunakan n-heksana, etil asetat, dan air. Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Hasil skrining fitokimia dan LC-HRMS menunjukkan bahwa ekstrak etanol mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, dan steroid; ekstrak air mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid; fraksi air mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin; fraksi etil asetat mengandung alkaloid,

flavonoid, dan tanin; serta fraksi n-heksana mengandung flavonoid, tanin, triterpenoid, dan steroid. Uji aktivitas antioksidan menunjukkan nilai persentase inhibisi sebesar 12,35% untuk ekstrak etanol, 20,62% untuk ekstrak air, 0,25% untuk fraksi n-heksana, 3,70% untuk fraksi etil asetat, dan 4,20% untuk fraksi air. Berdasarkan temuan tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekstrak dan fraksi daun gambir (*Uncaria gambir* (W. Hunter) Roxb.) memiliki potensi sebagai sumber antioksidan.

Kata kunci: Daun Gambir (*Uncaria Gambir* (W. Hunter) Roxb.), Skrining Fitokimia, LC-HRMS, Antioksidan, DPPH

PENDAHULUAN

Dalam kehidupan sehari-hari tubuh manusia banyak terpapar oleh radikal bebas. Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan, sehingga sangat reaktif dan berusaha menstabilkan dirinya dengan mengambil elektron dari molekul sekitarnya (Islamiati et al., 2022). Radikal bebas bisa berasal dari asap kendaraan dan asap rokok, stress oksidatif serta penambahan bahan kimia didalam makanan dan minuman yang dikonsumsi sehari-hari. Dampak radikal bebas sangat berbahaya bagi tubuh karena dapat menyebabkan penyakit degeneratif seperti jantung, stroke bahkan dapat menyebabkan kanker (Werdhasari, 2014). Dampak negatif dari radikal bebas ini dapat ditanggulangi oleh antioksidan.

Antioksidan merupakan zat yang dapat mencegah kerusakan sel akibat radikal bebas. Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi menjadi antioksidan endogen yang didapat dari dalam tubuh dan antioksidan eksogen yang didapat dari luar tubuh (Werdhasari, 2014). Antioksidan dari luar tubuh diperoleh dalam bentuk sintetis dan alami. Namun penggunaan antioksidan sintetis dibatasi karena jika melebihi dapat menyebabkan racun dalam tubuh dan bersifat karsinogenik, untuk itu dibutuhkan antioksidan alami yang aman. Salah satu sumber antioksidan alami biasanya berasal dari senyawa fenolik, kelompok terbesar dari senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan yang dapat meningkatkan pertahanan diri dari penyakit

yang diinduksi oleh radikal bebas (Hanin dan Pratiwi, 2017).

Salah satu tumbuhan yang mempunyai senyawa fenolik dan berpotensi sebagai antioksidan adalah gambir. Gambir merupakan tanaman yang sejak lama telah dibudidayakan di Indonesia, karena gambir merupakan salah satu komoditas perkebunan rakyat yang berorientasi ekspor (Lidar et al., 2019). Daun gambir secara tradisional digunakan untuk bahan campuran menyirih, demam, sakit kepala, dan infeksi jamur. Seperti di Malaysia gambir digunakan untuk obat luka bakar, disamping rebusan daun muda dan tunasnya digunakan sebagai obat diare dan disentri serta obat kumur-kumur pada sakit kerongkongan. Sedangkan di Singapura gambir digunakan sebagai bahan baku obat sakit perut dan sakit gigi (Kamsina & Firdausi, 2018).

Dalam daun gambir terdapat kandungan metabolit sekunder terbanyak yaitu flavonoid dengan komponen utamanya katekin sebesar 89,05 % (Kamsina et al., 2020). Menurut penelitian (Kurnianti et al., 2019) bahwa ketkin memiliki efek positif bagi kesehatan manusia serta tidak memiliki potensi mutagenic. Penelitian yang berkaitan dengan aktivitas ekstrak gambir telah banyak dilakukan diantaranya penelitian Nakagawa (2005) senyawa utama gambir yaitu katekin yang dapat berperan sebagai antiinflamasi, antioksidan, antibakteri, antitumor, dan antivirus. Ekstrak daun gambir memiliki aktivitas seperti antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan salah satunya dapat dilakukan dengan metode DPPH (2,2 difenil-1-pikrilhidrazil) yang

merupakan suatu senyawa radikal yang bersifat stabil. Semula DPPH yang berwarna ungu pekat memberikan serapan pada panjang gelombang 515-520 nm namun setelah mengalami reduksi maka DPPH akan berubah menjadi difenil pikril hidrazin yang warnanya memudar menjadi warna kuning dan nilai serapannya akan sebanding dengan jumlah elektron yang diterima (Sunarni, 2007). Keunggulan dari metode DPPH ini yaitu metodenya yang sederhana, mudah, cepat, peka, serta memerlukan sampel dalam jumlah yang kecil. Mudah diterapkan karena senyawa radikal DPPH yang digunakan bersifat relatif stabil dibandingkan dengan metode yang lainnya (Rahmawati *et al.*, 2015).

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari, blender, beaker glass (IWAKI), spektrofotometer UV-Vis single beam (Spektroquant Prove 300 Merck), tabung reaksi (Pyrex), LC-HRMS, corong pisah (Pyrex), timbangan analitik (BS600H, Series Balance, China), labu ukur (Pyrex), spatel, pipet volume, pipet tetes, mikro pipet, botol kaca gelap, batang pengaduk, wadah maserasi, gelas ukur (IWAKI), corong (Pyrex), *freeze drying*, rotary evaporator (IKA), plat tetes.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, daun gambir, aquadest (Merck), kloroform, ammonia, asam sulfat, serbuk mg, asam klorida, FeCl₃, reagen *mayer*, reagen *dragendorff*, reagen *wagner*, reagen *Lieberman-Burchard* (asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat), DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), etanol p.a, N-heksana p.a, etil asetat p.a, metanol, kertas saring, aluminium foil, asam askorbat.

Identifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman gambir (*Uncaria gambir* (W.Hunter) Roxb.) dilakukan di Herbarium Andalas (ANDA) Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, Padang. Proses ini dilakukan untuk menentukan jenis (spesies) dari sampel tanaman yang digunakan. Hal ini bertujuan untuk mencegah kesalahan dalam pemilihan sampel tanaman dalam penelitian.

Pengambilan Sampel

Sampel dari penelitian ini adalah daun gambir (*Uncaria gambir* (W.Hunter) Roxb.) yang diperoleh dari daerah Balitro Solok, Provinsi Sumatera Barat.

Pembuatan Ekstrak

Untuk ekstrak etanol sebanyak 200 g daun gambir dilakukan maserasi dalam 2 L pelarut etanol p.a menggunakan wadah gelap, rendam selama 6 jam pertama sesekali di aduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Lalu maserat disaring serta ampasnya dimaserasi lagi sampai tiga kali pengulangan atau sekurang-kurangnya satu kali. Maserat yang sudah disaring kemudian di uapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Hasil ekstrak kental di *freeze dry* untuk mendapatkan ekstrak kering (Departemen Kesehatan RI, 2017).

Untuk ekstrak air 100 g daun *Uncaria gambir* (W.Hunter) Roxb. segar direbus langsung menggunakan air sebanyak 1 liter air, rebus selama 1 jam dihitung setelah mendidih sambil sekali diaduk. Saring air rebusan, peras ampas daun dengan alat peras sistem ulir. Tampung hasil perasan dan gabungkan dengan air rebusan, endapkan selama 2 × 24 jam. Saring dan peras, endapan yang diperoleh hingga masa berbentuk pasta

kekuningan. Cetak dan potong keringkan pada suhu 60°C (Depkes RI, 2017).

Pembuatan Fraksinasi Etil Asetat

Cara fraksinasi ekstrak etanol daun gambir dilakukan dengan menimbang 20 gram ekstrak larutkan dengan pelarut nya di dalam beaker gelas lalu dilarutkan dengan 75 mL air, yang diletakkan pada corong pisah kemudian memasukkan pelarut n-heksan sebanyak 75 mL lakukan pengulangan sampai bening. Setelah itu menampung fase n-heksan yang didapatkan dan untuk mendapatkan hasil fraksinya, n-heksan dipekatkan dengan vacuum rotary evaporator. Selanjutnya menggunakan pelarut etil asetat 75 mL, lakukan hal yang sama seperti yang di atas. yang dilakukan 3 kali fraksinasi masing-masing 75 mL. Kemudian, didapatkan residu air yang telah ditampung pada wadah akan dikeringkan dengan *freeze drying* sampai mendapatkan hasil fraksi air dan ditimbang (Melsi *et al.*, 2022)

Skrining Fitokimia

(1) Identifikasi Senyawa Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram sampel dilarutkan dalam 5 mL HCl 2N. Larutan yang didapatkan dibagi menjadi 2 bagian, masing-masing bagian ditambahkan pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendorff. Hasil positif alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna berturut-turut yaitu putih dan coklat muda hingga kuning (Depkes RI, 1989).

(2) Identifikasi Senyawa Flavonoid

Sebanyak 1 gram sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan etanol 96%. Campuran dikocok dan dipanaskan dalam penangas selama 10 menit, kemudian di saring. Filtratnya yang diperoleh ditambahkan 0,2 gram serbuk Mg, dan beberapa tetes HCl pekat. Campuran dikocok dan dibiarkan memisah. Adanya flavonoid

ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan etanol (Depkes RI, 1989).

(3) Identifikasi Senyawa Saponin

Sebanyak 0,5 gram sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 10 mL air panas dan didinginkan, kemudian dikocok selama 10 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2N memberikan indikasi adanya saponin (Depkes RI, 1989).

(4) Identifikasi Senyawa Tanin

Sebanyak 1 gram sampel ditambahkan 2 mL aquadest dididihkan selama 15 menit. Filtratnya disaring dan direaksikan dengan 1-2 tetes FeCl₃. Hasil positif tanin apabila terbentuk warna biru tua kehitaman (Depkes RI, 1989).

(5) Identifikasi Senyawa Triterpenoid dan Steroid

Sebanyak 1 gram sampel ditambahkan 2 mL kloroform dan dikocok. Kemudian ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat masing-masing sebanyak 2 tetes. Hasil positif terpenoid apabila terbentuk cincin berwarna jingga kemerahan pada larutan, sedangkan untuk positif steroid apabila terjadi perubahan warna merah pada larutan pada pertama kali kemudian berubah menjadi biru hijau (Depkes RI, 1989).

LC-HRMS

Sebanyak 0,5 g ekstrak daun gambir dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan metanol. Sonikasi selama 30 menit kemudian disaring menggunakan membrane filter PTFE 0,22 µm. Sampel yang telah disaring kemudian diinjeksikan ke dalam sistem LC-HRMS. Interpretasi data spektrum massa LC-HRMS

menggunakan software yang selanjutnya data diinterpretasikan (Guillain-barré, 2021).

Uji Antioksidan

1). Pembuatan Larutan DPPH

Sebanyak 8 mg DPPH dilarutkan dalam 500 mL metanol p.a didalam labu ukur 500 mL.

2). Pembuatan Larutan Blanko Dan Penentuan Panjang Gelombang Serapam Maksimum DPPH

Sebanyak 0,2 mL larutan DPPH dalam tabung reaksi ditambahkan 3,8 mL metanol p.a dan dikocok hingga homogen. Lalu dimasukkan ke dalam kuvet sebanyak 4 mL dan diukur panjang gelombang maksimum pada rentang 200-800 nm .

3). Pembuatan Larutan Sampel

Sampel sebanyak 10 mg dilarutkan dalam metanol p.a pada labu ukur 10 mL sehingga dihasilkan konsentrasi sampel 1000 ppm. Kemudian dibuat campuran seri konsentrasi masing-masing 10; 30; 50; 100; dan 130 ppm, dengan mengambil masing-masing sebanyak 1 mL dari larutan sampel 1000 ppm. Lalu masing-masing campuran seri ditambahkan dengan metanol hingga tanda batas dalam labu ukur.

4). Pembuatan Larutan Asam Askorbat

Serbuk vitamin C sebanyak 10 mg dilarutkan dalam metanol p.a pada labu ukur 10 mL sehingga dihasilkan konsentrasi larutan standar vitamin C 1000 ppm. Kemudian dibuat campuran seri konsentrasi masing-masing 10; 30; 50; 70; dan 100 ppm, dengan mengambil masing-masing sebanyak 1 mL dari larutan standar Vitamin C 1000 ppm. Lalu masing-masing campuran seri ditambahkan dengan metanol hingga tanda batas pada labu ukur.

5). Pengujian Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat

Sebanyak 0,2 mL larutan standar vitamin C didalam tabung reaksi ditambahkan

dengan 3.8 mL larutan DPPH. Kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit. Selanjutnya diukur serapan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Pramiastuti *et al.*, 2021).

6). Pengujian Aktivitas Antioksidan Sampel

Sebanyak 0,2 mL larutan sampel didalam tabung reaksi ditambahkan dengan 3,8 mL DPPH. Kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit. Selanjutnya, diukur serapan menggunakan spektrofotometer (Pramiastuti *et al.*, 2021).

ANALISIS DATA

Aktivitas antioksidan ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase (%) inhibisi dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A \text{ kontrol} - A \text{ sampel}}{A \text{ kontrol}} \times 100\%$$

(Persamaan 1. Persentase Inhibisi)

Keterangan : A kontrol = Absorbansi DPPH

A sampel = Absorbansi sampel

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Tumbuhan Gambir

Identifikasi tumbuhan gambir dilakukan di Laboratorium Herbarium Universitas Andalas (ANDA) Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas. Hasil herbarium yang diperoleh dengan nomor identifikasi 239/K-ID/ANDA/IV/2025 menunjukkan bahwa tumbuhan gambir yang berasal dari Balitro Solok, Provinsi Sumatera Barat yang akan dijadikan sampel untuk penelitian ini adalah benar tumbuhan gambir (*Uncaria gambir* (W.Hunter) Roxb.). Adapun tujuan dari identifikasi sampel ini adalah untuk mengetahui identitas sampel yang akan digunakan dalam penelitian ini.

Hasil Pembuatan Ekstrak

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dari 200 gram sampel di maserasi dengan pelarut etanol p.a diperoleh ekstrak kering etanol daun gambir sebesar 55,4 gram. Penelitian oleh Isromarina *et al.*, (2019) dari 500 gram daun gambir dimaserasi menggunakan pelarut etanol didapatkan hasil ekstrak kental sebanyak 16,77 gram.

Hasil penelitian ini didapatkan hasil lebih banyak dibandingkan dengan penelitian (Anisa *et al.*, 2025) dikarenakan adanya perbedaan cara pengekstraksian yang dilakukan. Isromarina *et al.*, (2019) melakukan maserasi secara bertingkat menggunakan n-heksan, etil asetat, dan etanol, sehingga menghasilkan ekstrak etanol lebih sedikit karena sebagian senyawa telah terambil oleh pelarut sebelumnya, sedangkan penelitian ini melakukan maserasi langsung dengan etanol. Houghton dan Raman (1998), menyatakan maserasi bertingkat bertujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya, namun dapat menyebabkan senyawa yang terekstraksi oleh pelarut akhir menjadi lebih sedikit karena telah terambil oleh pelarut sebelumnya.

Pada ekstrak air dari 100 gram sampel direbus didalam 1 liter air diperoleh hasil ekstrak kering sebanyak 29,32 gram. Penelitian oleh Sagala *et al.*, (2015) melakukan perebusan daun gambir secara tradisional dari 23 kg sampel didapatkan hasil ekstrak air sebanyak 1.373 gram.

Hasil penelitian ini didapatkan hasil yang berbeda dibandingkan hasil pengolahan tradisional oleh Sagala *et al.* Perbedaan ini disebabkan dimana Sagala menghasilkan produk gambir padat melalui proses pemadatan dan pengeringan jangka panjang, yang secara alami menurunkan berat akhir produk. Selain itu, volume pelarut dan waktu perebusan juga berpengaruh terhadap hasil yang didapatkan. (Reda

Proses pembuatan ekstrak air dilakukan dengan langsung merebus daun

gambir, hal tersebut bertujuan untuk melarutkan senyawa polar seperti katekin yang mudah larut didalam air panas dan tidak larut didalam air dingin. Hal ini sejalan dengan penelitian yang menyatakan bahwa katekin dalam keadaan murni sukar larut dalam air dingin, namun mudah larut dalam air panas, larut dalam alkohol, dan etil asetat.

Hasil Pembuatan Fraksi

Dari fraksinasi yang dilakukan dari 20 gram ekstrak etanol daun gambir didapatkan hasil fraksi n-heksan sebanyak 0,380 gram. Penelitian oleh (Putri *et al.*, 2022), didapatkan fraksi n-heksan dari 100 gram ekstrak sebanyak 0,3 gram.

Hasil yang didapat pada penelitian ini lebih banyak, disebabkan oleh adanya perbedaan sampel yang digunakan dimana Herdiana & Aji menggunakan gambir blok yaitu ekstrak kering yang sebagian besar kandungan non-polarnya sudah tersari sebelumnya dan penelitian ini menggunakan ekstrak kental etanol daun gambir dari daun segar atau sampel basah. Selain itu, fraksi n-heksan relative sulit didapatkan karena sifatnya yang non-polar sehingga hanya menarik senyawa non-polar saja.

Hasil fraksi etil asetat diperoleh sebanyak 15,132 gram. Penelitian Yunarto *et al.*, (2015) yang mendapatkan hasil fraksi etil asetat daun gambir dengan berat sampel 200 gram dengan dua kali pengulangan masing-masing sebesar 132,56 g dan 133,58 g.

Hasil fraksi etil asetat sejalan dengan penelitian Yunarto *et al* meskipun ada sedikit perbedaan rendemen yang lebih tinggi ini menunjukkan proses fraksinasi yang efisien. Menurut Tiwari *et al.*, (2011) pengulangan fraksinasi hingga pelarut bening digunakan untuk menjamin ekstraksi maksimal senyawa target, terutama flavonoid dan fenolik. Katekin dan flavonoid lainnya merupakan senyawa semi-polar yang larut baik didalam etil asetat (Kassim *et al.*, 2011).

Hasil fraksinasi pada fraksi air didapat sebanyak 2,844 gram. Penelitian Bakhtra *et al.*, (2019) mendapatkan hasil fraksi air sebanyak 5,72 gram dari 20 gram sampel dalam 100 ml pelarut, hal ini menunjukkan hasil yang didapat pada penelitian ini lebih rendah.

Hasil yang didapat lebih sedikit dibandingkan dengan Bakhtra *et al* yang bisa disebabkan oleh perbedaan cara mengekstrak sampel, dan perbedaan volume pelarut yang digunakan, dimana penelitian Bakhtra *et al* menggunakan 100 mL pelarut dan penelitian ini menggunakan 75 mL pelarut.

Hasil Skrining Fitokimia Dan LC-HRMS

Uji skrining fitokimia dan LC-HRMS dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam ekstrak dan fraksi daun gambir. Hasil skrining fitokimia yang mengidentifikasi adanya senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, dan steroid diperkuat oleh hasil analisis LC-HRMS yang secara spesifik menunjukkan senyawa-senyawa bioaktif dengan persentase area tertentu

Tabel 1. Ekstrak Etanol

Metabolit sekunder	Hasil	Senyawa LC-HRMS	% Area
Alkaloid	+	Rauwolscine	0,74
		Methyl bogamine-18 carboxylate	0,73
		Raubasine	0,36
Flavonoid	+	Catechin	4,95
		Quercetin-3 β -D-glucoside	3,71
		Trifolin	2,38
Saponin	+	2-monolinolenin	0,08
Tanin	+	(+)-Procyanidin B2	0,28
Triterpenoid	+	Ursolic acid	5,86
		Dihydroartemisinin	1,42
		Betulin	0,75
Steroid	+	FF-MAS	1,18
		Cholesteryl acetate	0,98
		Globos sterol	0,16

Dari tabel diatas dapat dilihat ekstrak etanol menunjukkan kandungan metabolit sekunder yang lengkap. Berdasarkan hasil yang diperoleh, terdeteksi senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, terpenoid dan steroid. Senyawa dengan persen area tertinggi adalah ursolic acid dengan 5,86%, yang merupakan golongan triterpenoid dengan aktivitas biologis antiinflamasi dan antioksidan.

Penelitian Lusiana *et al.*, (2025) menunjukkan hasil yang sejalan dengan penelitian ini yang menyatakan bahwa

melalui skrining fitokimia ekstrak daun gambir menunjukkan adanya kandungan senyawa flavonoid, tanin, fenol, steroid, saponin, dan alkaloid. Kandungan flavonoid yang merupakan senyawa polifenol, memberikan kontribusi utama terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun gambir. Flavonoid diketahui memiliki kemampuan menangkal radikal bebas, menghambat stress oksidatif, dan melindungi sel dari kerusakan akibat oksidasi (Dai & Mumper, 2010).

Tabel 2. Ekstrak air

Metabolit sekunder	Hasil	Senyawa LC-HRMS	% Area
Alkaloid	+	Macamide	0,52
		Methyl ibogamine-18-carboxylate	0,15
		α -Pyrrolidinopropiophenone	0,11
Flavonoid	+	Cianidanol	52,83
		Quercetin-3 β -D-glucoside	2,18
		Trifolin	1,49
Saponin	+	D-Saccharolactone	0,31
		D-Saccharic acid	0,29
		D-(-)-Fructose	0,15
Tanin	+	Procyanidin A2	0,55
		(+)-Procyanidin B2	0,08
Triterpenoid	+	Dihydroartemisinin	0,95
		Senkyunolide B	
		Gibberellin A7	0,22
			0,20
Steroid	-	-	-

Alkaloid, terpenoid, flavonoid, dan berbagai senyawa polifenol lainnya. Flavonoid seperti trifolin, afzelechin, dan kaempferol tetap dominan, dan senyawa tanin seperti procyanidin A2 juga terdeteksi. Kandungan senyawa-senyawa ini menunjukkan bahwa air sebagai pelarut lebih

selektif terhadap senyawa polar seperti flavonoid dan tanin.

Tabel 3. Fraksi N-Heksan

Metabolit sekunder	Hasil	Senyawa LC-HRMS	% Area
Alkaloid	-	Methyl ibogamine-18-carboxylate	0,05
		Hydrolyzed fumonisins B1	
		Dubamine	0,04
			0,03
Flavonoid	+	Cianidanol	14,79
		Quercetin-3 β -D-glucoside	0,27
		Trifolin	0,07
Saponin	-	Gitogenin	0,26
Tanin	+	Gambiriin C	0,30
Triterpenoid	+	Betulin	2,09
		Dihydroartemisinin	0,59
		Mandenol	
			0,37
Steroid	+	Cholesteryl acetate	3,60
		3-dehydro-6-deoxoteasterone	1,23
		Globos sterol	
			0,52

Fraksi n-heksan menunjukkan adanya kandungan metabolit flavonoid, tanin, triterpenoid, dan steroid. Senyawa dengan persentase area terbesar adalah cianidanol dengan 14,79%, yang merupakan golongan flavonoid dengan aktivitas antioksidan yang kuat.

Hasil skrining fitokimia fraksi n-heksan menunjukkan hasil negatif pada alkaloid dan saponin, tetapi pada uji LC-HRMS menunjukkan adanya senyawa alkaloid dan saponin, hal ini disebabkan karena sedikitnya dan kecilnya persentase senyawa tersebut, sehingga pada saat

pengujian skrining fitokimia didapatkan hasil yang negatif.

Penelitian Isromarina et al., (2019), terhadap uji skrining fitokimia ekstrak n-heksan daun gambir mendapatkan hasil skrining fitokimia negatif mengandung flavonoid, saponin, triterpenoid dan steroid dan positif mengandung alkaloid, dan fenol. Fraksi n-heksan merupakan fraksi non-polar yang secara umum lebih selektif terhadap senyawa nonpolar seperti steroid dan terpenoid. Meskipun demikian, beberapa flavonoid dan tanin masih dapat terdeteksi, menandakan bahwa ada senyawa semi-polar yang ikut terfraksinasi.

Tabel 4. Fraksi Etil Asetat

Metabolit sekunder	Hasil	Senyawa LC-HRMS	% Area
Alkaloid	+	Methyl ibogamine-18-carboxylate	0,31
		MDPBP	0,14
		Yohimbine	0,10
Flavonoid	+	Cianidanol	24,08
		Catechin	22,69
		Quercetin-3 β -D-glucoside	1,86
Saponin	-	Gitogenin	0,20
Tanin	+	Gambiriin C	3,33
Triterpenoid	-	Ursolic acid	2,24
		Dihydroartemisinin	1,05
		Betulin	0,44
Steroid	-	FF-MAS	0,45

Fraksi etil asetat menunjukkan adanya kandungan metabolit alkaloid, flavonoid, dan tanin. Senyawa dengan persentase area terbesar adalah cianidanol dengan 24,08%, yang merupakan golongan flavonoid dengan aktivitas antioksidan yang kuat.

Penelitian Isromarina et al., (2019), terhadap uji skrining fitokimia ekstrak etil asetat daun gambir mendapatkan hasil

skrining fitokimia negatif mengandung triterpenoid dan steroid dan positif mengandung alkaloid, flavonoid, fenol, dan saponin. Fraksi etil asetat bersifat semi-polar dan dikenal paling efektif mengekstraksi senyawa fenolik dan flavonoid. Keberadaan flavonoid dan tanin mendukung ekstraksi semi-polar pada fraksi etil asetat.

Tabel 5. Fraksi Air

Metabolit sekunder	Hasil	Senyawa LC-HRMS	% Area
Alkaloid	+	Colchicine	1,25
		Samidorphan	1,23
		Methyl ibogamine-18-carboxylate	0,60
Flavonoid	+	Cianidanol	27,55
		Quercetin-3 β -D-glucoside	1,69
		Trifolin	0,70
Saponin	+	D-saccharic acid	0,30
Tanin	+	Gambiriin C	0,12
Triterpenoid	-	($\pm$)-Muscone	0,79

		Dihydroartemisinin	0,56
		Gibberellin A7	0,36
Steroid	-	FF-MAS	0,04

Fraksi air menunjukkan adanya kandungan metabolit alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Senyawa dengan persentase area terbesar adalah cianidanol dengan 27,55%, yang merupakan golongan flavonoid dengan aktivitas antioksidan yang kuat.

Pada penelitian Fitriani et al., (2021), fraksi air daun gambir dilaporkan mengandung flavonoid, tanin, dan saponin, namun tidak ditemukan keberadaan alkaloid dan triterpenoid. Pada senyawa metabolit triterpenoid pada uji skrining fitokimia didapatkan hasil negatif, tetapi pada uji LC-

HRMS diperoleh adanya senyawa tersebut namun hanya dengan persentase area kecil. Fraksi air menyimpan spektrum senyawa luas, terutama alkaloid dan flavonoid, yang dapat menjelaskan efek farmakologis seperti antioksidan dan antiinflamasi.

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi daun gambir pada konsentrasi 10 ppm dapat dilihat pada tabel berikut

Tabel 6. Uji Aktivitas Antioksidan

Sampel	Absorban DPPH	Rata-rata absorban	% inhibisi
Asam askorbat	0,270	0,225	16,54%
Ekstrak etanol	0,270	0,237	12,35%
Ekstrak air	0,270	0,214	20,62%
Fraksi n-heksan	0,270	0,269	0,25%
Fraksi etil asetat	0,270	0,260	3,70%
Fraksi air	0,270	0,259	4,20%

Uji aktivitas antioksidan dilakukan terhadap beberapa sampel daun gambir (*Uncaria gambir* (W.Hunter) Roxb.), meliputi ekstrak etanol, ekstrak air, fraksi n-

heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air, serta kontrol positif berupa asam askorbat. Uji dilakukan dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) pada konsentrasi

10 ppm, yang bekerja berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan dalam mereduksi radikal bebas DPPH.

Pada metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) senyawa antioksidan akan mendonorkan atom hidrogen untuk mereduksi radikal bebas DPPH, sehingga menyebabkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning pucat. Perubahan ini diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 518 nm. Hasil pengukuran absorbansi kemudian dikonversikan ke dalam nilai persen inhibisi sebagai indikator potensi aktivitas antioksidan. Semakin tinggi persen inhibisi, maka semakin tinggi aktivitas antioksidan dari sampel tersebut.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan berbeda-beda antar jenis sampel, nilai % inhibisi asam askorbat sebagai pembanding diperoleh (16,54%), sedangkan pada sampel nilai % inhibisi tertinggi diperoleh pada ekstrak air (20,62%), diikuti oleh ekstrak etanol (12,35%), fraksi air (4,20%), fraksi etil asetat (3,70%), dan fraksi n-heksan (0,25%).

Asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif, yang memberikan nilai inhibisi sebesar 16,54%. Asam askorbat diketahui sebagai antioksidan kuat karena kemampuannya dalam mereduksi radikal bebas dengan cepat. Hasil ini memperkuat bahwa senyawa alami dari daun gambir mampu menyamai bahkan melampaui nilai inhibisi asam askorbat pada konsentrasi tertentu.

Ekstrak air menunjukkan nilai % inhibisi tertinggi yaitu sebesar 20,62%. Hal ini menunjukkan bahwa pelarut air mampu mengekstraksi senyawa aktif yang bersifat sangat polar, seperti flavonoid, polifenol, dan tanin, yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan tinggi. Berdasarkan hasil identifikasi LC-HRMS ekstrak air menunjukkan dominasi senyawa flavonoid polar, terutama cianidanol (52,83%), quercetin-3 β -D-glucoside (2,18%), dan

trifolin (1,49%). Kehadiran senyawa ini berkontribusi signifikan terhadap tingginya aktivitas antioksidan ekstrak air. Selain itu, keberadaan tanin seperti procyanidin A2 dan B2, serta triterpenoid seperti dihydroartemisinin dan ursolic acid, menambah kekuatan aktivitas antioksidan melalui stabilisasi senyawa radikal bebas dan penghambatan oksidasi lipid.

Ekstrak etanol menunjukkan aktivitas antioksidan sebesar 12,35%. Pelarut etanol mampu mengekstraksi senyawa flavonoid dan fenolik dalam jumlah cukup banyak, meskipun tidak seefisien pelarut air. Pelarut etanol bersifat polar dan mampu mengekstraksi senyawa fenolik serta flavonoid dalam jumlah besar.

Pada ekstrak etanol, senyawa flavonoid juga ditemukan dalam jumlah cukup besar, seperti catechin (4,95%), quercetin-3 β -D-glucoside (3,71%), dan trifolin (2,38%). Meskipun jumlah total flavonoid cukup tinggi, aktivitas antioksidannya tidak setinggi ekstrak air. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan kelarutan senyawa aktif serta penurunan aktivitas yang mungkin dipengaruhi oleh degradasi termal atau oksidatif selama proses ekstraksi. Namun, ekstrak etanol tetap menunjukkan aktivitas cukup tinggi dan berada di atas kontrol asam askorbat pada konsentrasi yang sama, menunjukkan bahwa senyawa aktif dalam ekstrak etanol tetap memiliki potensi sebagai antioksidan.

Fraksi air menghasilkan inhibisi sebesar 4,20%, lebih rendah dibandingkan ekstrak air, yang secara teori seharusnya mengandung senyawa yang sama dengan ekstrak air, justru menunjukkan aktivitas yang lebih rendah. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh menurunnya jumlah senyawa aktif selama proses fraksinasi. Senyawa-senyawa flavonoid seperti cianidanol (27,55%), quercetin-3 β -D-glucoside, trifolin, rutin, dan afzelechin memang masih terdeteksi, namun kemungkinan tidak dalam komposisi sinergis yang optimal seperti pada

ekstrak aslinya. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kasar seringkali lebih efektif secara biologis daripada fraksi murni, karena mengandung campuran kompleks senyawa yang bekerja secara sinergis dalam menghambat oksidasi.

Fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antioksidan sebesar 3,70%. Rendahnya aktivitas fraksi ini dapat dikaitkan dengan terbatasnya jumlah senyawa semi-polar yang bersifat antioksidan dalam daun gambir. Fraksi etil asetat mengandung senyawa-senyawa flavonoid seperti catechin (22,69%) dan cianidanol (24,08%), namun nilai % inhibisi yang ditunjukkan hanya sebesar 3,70%. Ketidaksesuaian antara kandungan senyawa dan aktivitas ini mengindikasikan bahwa tidak semua senyawa yang terdeteksi aktif terhadap DPPH, atau bahwa bioaktivitas senyawa dapat terganggu oleh kehadiran senyawa lain yang bersifat antagonis. Kemungkinan lainnya adalah senyawa yang terdeteksi dalam jumlah besar tersebut tidak larut sempurna dalam fase pengujian DPPH, sehingga tidak memberikan kontribusi maksimal.

Fraksi n-heksan menunjukkan aktivitas antioksidan paling rendah (0,25%). Pada fraksi n-heksan, ditemukan senyawa flavonoid dalam jumlah kecil dan didominasi oleh senyawa non-polar seperti steroid dan triterpenoid, misalnya cholesteryl acetate, FF-MAS, betulin, dan lupeol. Senyawa-senyawa ini umumnya tidak memiliki kemampuan untuk mendonorkan atom hidrogen secara efektif dalam mekanisme DPPH, sehingga sangat wajar jika nilai % inhibisi pada fraksi n-heksan sangat rendah, yakni hanya 0,25%. Hal ini sesuai dengan sifat n-heksan sebagai pelarut non-polar, yang hanya melarutkan senyawa-senyawa seperti lipid, klorofil, atau senyawa terpenoid non-polar, yang umumnya tidak memiliki aktivitas antioksidan kuat terhadap radikal bebas DPPH. Hasil ini diperkuat oleh penelitian Hasibuan et al. (2019) yang melaporkan bahwa fraksi n-heksan daun gambir menunjukkan aktivitas antioksidan sangat rendah karena tidak

mengandung senyawa fenolik atau flavonoid dalam jumlah signifikan.

Berdasarkan hasil penelitian, terlihat bahwa pelarut polar seperti air lebih efektif dalam mengekstraksi senyawa antioksidan dari daun gambir dibandingkan pelarut semi-polar maupun non-polar. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif utama dalam daun gambir yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan adalah senyawa polar seperti katekin, flavonoid, dan tanin.

Untuk mengeksplorasi potensi daun gambir sebagai bahan baku obat kanker kulit, maka aktivitas antioksidan yang tinggi sangat relevan. Senyawa seperti flavonoid dan tanin telah dibuktikan memiliki efek kemoprotektif terhadap kanker kulit karena kemampuannya dalam menetralkan radikal bebas dan menghambat jalur pro-inflamasi (Kumar & Pandey, 2013). Dengan temuan bahwa ekstrak air dan etanol dari daun gambir kaya akan senyawa-senyawa tersebut, maka keduanya sangat potensial untuk dikembangkan sebagai bahan baku sediaan topikal (gel, krim) atau suplemen antioksidan dalam terapi pencegahan kanker kulit.

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan adanya hubungan yang kuat antara polaritas senyawa aktif, hasil LC-HRMS, dan aktivitas antioksidan. Selain itu, hasil ini memperlihatkan bahwa pendekatan kombinasi antara uji aktivitas biologis, skrining fitokimia, dan analisis LC-HRMS memberikan pemahaman yang lebih lengkap dan akurat dalam mengevaluasi potensi suatu tanaman sebagai sumber antioksidan alam.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

Analisis skrining fitokimia dan LC-HRMS berhasil mengidentifikasi berbagai senyawa metabolit sekunder dari ekstrak dan fraksi daun gambir. Diantaranya pada ekstrak etanol posistif alkaloid, flavonoid, saponin, tanin,

triterpenoid, dan steroid. Pada ekstrak air positif alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid. Pada fraksi air positif alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Pada fraksi etil asetat positif alkaloid, flavonoid, dan tanin. Dan pada fraksi n-heksan positif flavonoid, tanin, triterpenoid, dan steroid. Uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak dan fraksi daun gambir pada konsentrasi 10 ppm diperoleh nilai % inhibisi aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol 12,35%, pada ekstrak air 20,62%, pada fraksi air 4,20%, pada fraksi etil asetat 3,70%, dan terakhir pada fraksi n-heksan 0,25%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Berisi ucapan terima kasih kepada lembaga pemberi dana/individu, dan atau yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan manuskrip.[Times New Roman, 12, normal], spasi 1.

REFERENSI

- Anisa, H., Amin, M., Mukti, A. T., & Mahasri, G. (2025). POTENTIAL OF PLANT EXTRACTS AS ANTIBACTERIAL AGAINST *Vibrio parahaemolyticus*: A LITERATURE REVIEW. *Jurnal Perikanan Unram*, 15(4), 1974–1983. <https://doi.org/10.29303/jp.v15i4.1692>
- Guillain-barré, S. De. (2021). *Artículo original*. 8(1), 36–45.
- Islamiati, E. D., Widada, J., Dwi, T., & Widiyanto, D. (2022). AGRICULTURE AND of two plant pathogenic fungi. *Agriculture and Natural Resources*, 56, 899–908.
- Putri, Y. N., Setiawan, M. R., & Anggrain, M. T. (2022). Jurnal Ilmiah Kesehatan Jurnal Ilmiah Kesehatan. *Medika: Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 4(1), 28–34.
- Redaksi, P. (2014). *Jurnal Litbang Industri Jurnal Litbang Industri*. 2014(2), 73–81.
- Rahmawati, A., Muflihunna, A., & LaOde Muhammad Sarif. (2015). Analisis Aktivitas Antioksidan Produk Sirup Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. Vol 2, No.2
- Rosa, Y. (2021). Aktivitas antijamur ekstrak etanol daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb) terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*, 8(3).
- Sagala, J. F., Hartono, R., & Azhar, I. (2015). Potensi Pemanfaatan Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) Di Kecamatan Pergetteng Getteng Sengkut, Kabupaten Pakpak Bharat, Provinsi Sumatera Utara. *Jurnal Penelitian Universitas Sumatera Utara*, 1-8.
- Sunarni, T., S, Pramono., R, Asmah. 2007. Flavonoid Antioksidan Penangkap Radikal dari Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*). *Majalah Farmasi Indonesia*. Vol 18(3). 111- 116.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and Extraction : A Review. *Internationale Pharmaceutica Sciencia*, 1(1), 98-106.
- Werdhasari, A. (2014). Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 3 (2), 59-68.
- Yeni, G., Khaswar, S., Etik, M., dan Hendri, M., (2017). Penentuan Teknologi Proses Pembuatan Gambir Murni dan Katekin Terstandar dari Gambir Asalan. *Jurnal Litbang Industri* 7 (1): 1.
- Yunarto, N., Elya, B., & Konadi, L. (2015). Potensi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) sebagai Antihiperlipidemia. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 5(1), 1-10.
- Yuslianti, E. R., Koswara, T., & Pragita, T. (2024). Efektivitas antiinflamasi menurunkan jumlah sel inflamasi pada tikus Wistar yang mengalami gingivitis: eksperimental laboratoris..