



Isolasi dan Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol Daun *Uncaria cordata* (Lour.) Merr.

Noveri Rahmawati^{1*}, Endamora², Rizky Rindiana², Husnunnisa¹, Nawwar Irfan¹, Rahmi Amini¹, Nurdina Putri¹, Putri Tri Hartini¹, Khazanah Nurain Nurdin¹, Restu Anisa Putri¹, Sari Rahmadhani¹

¹Program Studi Farmasi, Universitas Muhammadiyah Riau, Pekanbaru,

² Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau, Pekanbaru

ABSTRACT

Uncaria cordata (Lour. Merr. is one plants genus *Uncaria* growing in Indonesia, there has been no publication content of secondary metabolites are active as antioxidants. Antioxidant activity by DPPH test (1,1-diphenyl-2 pikrilhidrazil) generate IC₅₀ n-hexane extract did not have IC₅₀ values and can only inhibit 34.234% at a concentration of 1000 µg/mL, ethyl acetate extract of 704.478 µg/mL, methanol extract of 6.778 µg/mL. Methanol extract with the highest IC₅₀ isolation by column chromatography and obtained compound isolates F2. In the test with the Lieberman Burchard color reagent terpenoids positive (red) compounds derived from class terpenoids possibility. The results UV spectrum gives maximum absorption at a wavelength of 293.50 nm and 310.5 nm. Infrared spectrum showed absorption 3410 cm⁻¹ (OH), 2933 cm⁻¹ (CH), 1690 cm⁻¹ (C = O), 1457 cm⁻¹ (CH), and 1036 cm⁻¹ (CC). The antioxidant activity (IC₅₀) F2 compounds have not active category.

Keywords: Antioxidant; Isolation; *Uncaria cordata* Lour. Merr.

Article Information

Received: June, 18, 2026
Revised: June, 30, 2026
Available online: June, 30, 2026

Keywords :

Antioxidant; Isolation; *Uncaria cordata* Lour. Merr.

Correspondence E-mail:

noverirahmawati@umri.ac.id



INTRODUCTION

Indonesia dikenal sebagai negara dengan keanekaragaman hayati terbesar kedua di dunia setelah Brazil, yang memiliki sekitar 30.000 jenis tumbuhan di dalam hutannya dan 1.260 di antaranya berkhasiat sebagai obat. Mengingat jumlah tumbuhan obat yang dibudidayakan saat ini masih sangat sedikit, hutan Indonesia menjadi sumber plasma nutfah penting yang potensinya perlu terus digali [1,2]. Salah satu tumbuhan obat yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat di wilayah tropis seperti Asia Selatan, Afrika, dan Amerika Selatan adalah dari genus *Uncaria*. Sebagian besar tanaman dari genus ini menjadi sumber produk herbal utama untuk mengobati berbagai penyakit, seperti gangguan saraf, hipertensi, kanker, diabetes, hingga inflamasi. Kandungan metabolit sekunder terbanyak yang berhasil diisolasi dari genus *Uncaria* didominasi oleh golongan alkaloid, triterpen, dan flavon [3].

Sifat farmakologis dan aktivitas biologis dari genus *Uncaria* ini sangat erat kaitannya dengan kandungan senyawa aktif di dalamnya. Sifat antioksidan pada spesies *Uncaria* ditentukan oleh kehadiran senyawa polifenol seperti tanin, *catechin*, dan gambirin, sedangkan golongan flavonoidnya berkontribusi pada aktivitas antiinflamasi, antidiabetes, antikarsinogenik, antimutagenik, dan antiviral [4]. Hal ini diperkuat oleh penelitian Ahmad *et al.* (2011) di Malaysia yang menguji efek antioksidan dan antidiabetes pada beberapa spesies *Uncaria*. Hasil penelitian tersebut menunjukkan variasi nilai IC_{50} , diantaranya *Uncaria lucida* IC_{50} 58 $\mu\text{g/mL}$, *Uncaria acida* IC_{50} 65 $\mu\text{g/mL}$, *Uncaria cordata* IC_{50} 200 $\mu\text{g/mL}$, *Uncaria callophylla* IC_{50} 33 $\mu\text{g/mL}$ dan *Uncaria longiflora* IC_{50} 8 $\mu\text{g/mL}$. Melalui uji fitokimia, bagian daun dan batang *Uncaria cordata* asal Malaysia tersebut terdeteksi positif mengandung tanin, saponin, dan fenolik, tetapi negatif terhadap alkaloid dan flavonoid [5].

Uncaria cordata yang tumbuh di Indonesia menunjukkan karakteristik yang berbeda dan belum ada publikasi mengenai kandungan metabolit sekunder aktifnya sebagai antioksidan. Berdasarkan uji fitokimia awal yang telah dilakukan, tumbuhan *Uncaria cordata* asal Indonesia ini justru menunjukkan hasil positif terhadap kandungan senyawa flavonoid, fenolik, saponin, dan terpenoid. Adanya perbedaan profil metabolit sekunder antara *Uncaria cordata* yang tumbuh di



Indonesia dengan yang tumbuh di Malaysia tersebut menjadi dasar kuat dilakukannya penelitian ini. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi senyawa serta menguji aktivitas antioksidan dari tumbuhan *Uncaria cordata* tersebut dengan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).

MATERIAL AND METHODS

Alat

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah satu set alat destilasi, *rotary evaporator*, ultrasonikator Kery Pulsatron, kolom kromatografi, *chamber*, lampu ultraviolet λ (254 dan 366 nm), Spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10S UV-Vis v4.002 2L9N175013), IR (IR Shimadzu, IR Prestige-21), alat pengukur titik leleh *Fisher Johns*, pipet mikro dan peralatan gelas yang biasa dipakai di laboratorium kimia. Alat-alat yang digunakan untuk uji antioksidan yaitu spatel, timbangan analitik, gelas ukur, *96 well microplate*.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah daun akar kaik-kaik (*Uncaria cordata* (Lour.) Merr) diperoleh dari hutan Larangan Adat Desa Rumbio Kabupaten Kampar, n-heksana, etil asetat, metanol, silika gel 60 (70-230 mesh), silika gel 60 GF₂₅₄, plat KLT GF₂₅₄, pelarut teknis untuk isolasi dan pelarut pure analitis untuk analisis spektroskopi, DPPH, vitamin C.

Pengambilan sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun *Uncaria cordata* (Lour.) Merr yang diambil di Hutan Larangan Adat Rumbio Kabupaten Kampar Provinsi Riau sebanyak 3,5 kg daun segar.

Identifikasi sampel

Identifikasi tumbuhan dilakukan di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Jurusan Biologi Universitas Andalas Padang, Sumatera Barat.



Ekstraksi sampel

Daun dibersihkan dari kotoran yang melekat dengan cara dicuci dengan air mengalir dan setelah bersih ditimbang dengan berat basah 3,5 kg kemudian dikeringkan dan dirajang. Setelah dirajang kemudian dikeringanginkan dan diperoleh 1,7 kg berat kering. Sampel yang kering dimasukkan ke dalam botol bewarna gelap kemudian direndam dengan pelarut *n*-heksana untuk menarik senyawa-senyawa non polar lalu disaring. Proses ekstraksi dilakukan dengan tiga kali pengulangan pada tempat yang terlindung cahaya selama lima hari sambil sesekali dikocok.

Hasil maserat yang didapat diuapkan dari pelarutnya menggunakan alat *rotary evaporator (in vacuo)* sehingga diperoleh ekstrak kental *n*-heksan. Sampel sisa ekstraksi dengan *n*-heksan kemudian dimaserasi kembali dengan etil asetat hingga terendam dalam wadah yang sama selama lima hari dengan tiga kali pengulangan. Maserat diuapkan secara *in vacuo* sampai didapat ekstrak kental etil asetat. Prosedur ekstraksi menggunakan pelarut ini bertujuan untuk menarik senyawa-senyawa semi polar. Sampel sisa maserasi dengan etil asetat, selanjutnya dimaserasi dengan pelarut metanol selama lima hari dengan tiga kali pengulangan. Maserat ini diuapkan secara *in vacuo* sampai didapatkan ekstrak kental metanol. Ekstraksi dengan pelarut metanol dimaksudkan untuk menarik senyawa-senyawa polar. Ekstrak dilakukan skrining fitokimia [6].

Pemeriksaan ekstrak dengan kromatografi lapis tipis

Ekstrak yang akan dianalisis dilarutkan dalam pelarut yang sesuai (*n*-heksana, etil asetat, metanol), kemudian ditotolkan pada salah satu ujung (kira-kira 1 cm dari ujung) plat KLT, lalu dimasukkan ke dalam bejana pengembang yang berisi pelarut dengan kedalaman 0.5 cm, pelarut ini bertindak sebagai fasa gerak. Perlakuan ini dilakukan sedemikian rupa sehingga pelarut kontak dengan ujung yang telah ditotolkan bercak cuplikan tersebut. Bejana ditutup rapat dan pelarut dibiarkan naik sampai 5 cm di atas totolan cuplikan. Setelah permukaan pelarut telah sampai pada jarak yang telah ditentukan maka plat diambil dan dikeringkan. Noda-noda yang terpisah dideteksi dengan menggunakan lampu UV 254 dan 366 nm dan pereaksi penampak noda serium (IV) sulfat ($\text{Ce (SO}_4)_2$) dan Anisaldehyd [7].



Pemisahan ekstrak dengan kromatografi kolom gravitasi

Pengisian kolom dilakukan dengan mensuspensikan (membuat bubur) silika gel 60 dengan pelarut *n*-heksana terlebih dahulu yang bertujuan menghomogenkan dan menghilangkan kemungkinan adanya gelembung udara yang dapat mengganggu proses pemisahan. Kemudian bubur silika ini dimasukkan kedalam kolom kromatografi yang bagian dasarnya telah dilapisi kapas sebagai penyaring sampai bubur silika padat.

Ekstrak kental metanol merupakan ekstrak dengan aktivitas antioksidan terkuat dari uji pendahuluan antioksidan dari ketiga ekstrak yang diperoleh yang akan dipisahkan dilakukan preadsorpsi dan dimasukkan dalam kolom. Selanjutnya pengelusian dilakukan menggunakan metode *Step Gradien Polarity* (SGP), dimulai dari pelarut nonpolar (*n*-heksana) dilanjutkan dengan komposisi yang semi polar (dengan penambahan etil asetat) hingga pelarut polar (metanol). Pemisahan yang keluar ditampung dalam botol vial dan diberi nomor, kemudian dimonitor dengan KLT di bawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm, 366 nm dan pereaksi penampak noda serum (IV) sulfat dan anisaldehyd. Vial-vial dengan R_f yang sama digabung, dimonitor kembali dengan KLT hingga didapat pola senyawa yang bagus [8,9].

Rekristalisasi

Padatan yang masih kotor dilakukan rekristalisasi untuk menghilangkan pengotor sehingga diperoleh senyawa yang lebih murni. Rekristalisasi dilakukan dengan melarutkan padatan yang akan direkristalisasi dalam pelarut melarutkan padatan dengan baik dalam keadaan panas dan tidak larut dalam keadaan dingin. Padatan dari ekstrak dilarutkan dengan pelarut yang sesuai. Filtrat yang diperoleh kemudian didinginkan sampai terbentuk padatan yang sempurna. Masing-masing padatan yang diperoleh disaring dengan menggunakan corong buchner dan dicuci dengan pelarut sesuai dalam keadaan dingin dan dikeringkan.

Pemeriksaan kemurnian

Senyawa hasil rekristalisasi diuji kemurniannya dengan KLT dalam berbagai sistem eluen, jika menghasilkan satu noda berarti kristal tersebut sudah murni. Uji kemurnian yang lain dengan melihat titik lelehnya dengan



menggunakan alat penentuan titik leleh *Fisher Jones*. Pembacaan titik leleh dimulai saat kristal mulai meleleh sampai habis meleleh semuanya. Jika selisih harga titik lelehnya kecil atau sama dengan 2°C maka senyawa tersebut sudah murni.

Karakterisasi senyawa hasil isolasi (isolat)

Pemeriksaan organoleptis

Pemeriksaan organoleptis dilakukan secara visual dengan mengamati bentuk, dan warna senyawa murni yang didapat.

Pemeriksaan kelarutan

Senyawa hasil isolasi dilarutkan dengan berbagai macam pelarut, diawali dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan metanol.

Pemeriksaan kromatografi lapis tipis (Nilai R_f)

Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan plat silika gel 60 GF₂₄₅ sebagai fase diamnya, dengan cara diambil sedikit senyawa hasil isolasi yang dilarutkan dengan pelarut nonpolar. Senyawa larut ditotolkan 1 cm dari bawah plat dengan menggunakan pipet kapiler. Setelah pelarutnya menguap dimasukkan ke dalam *chamber* atau bak pengelusi yang berisi fase gerak/eluen yang digunakan untuk mengelusi sampel berupa *n*-heksana, etil asetat, metanol dengan berbagai perbandingan. Setelah eluen naik sampai garis batas, plat dikeluarkan dan dikeringkan di udara terbuka. Noda dapat diamati dengan penyinaran dibawah lampu UV atau pereaksi penampak noda seperti serum sulfat dan uap iodium. Kemudian harga R_f dapat ditentukan berdasarkan noda yang terlihat dibawah lampu UV λ 254 dan 366 nm. Banyaknya senyawa dalam sampel dapat diperkirakan dari banyaknya noda yang didapat.

Perekaman spektrum ultraviolet

Perekaman spektrum ultraviolet menggunakan spektrofotometer ultraviolet, dilakukan dengan melarutkan 1 mg sampel dalam metanol. Kemudian larutan dimasukkan dalam kuvet dan diukur puncak serapan senyawa lalu bandingkan dengan standar.

Perekaman spektrum inframerah

Perekaman spektrum inframerah dilakukan dengan menggerus 1 mg sampel dengan 100 mg kalium bromida kemudian dijadikan pellet dengan



memberikan tekanan 800 kPa. Pelet diletakkan pada alat spektrofometer inframerah dan diukur spektrumnya. Puncak-puncak dinyatakan dalam satuan cm^{-1} [10].

Pemeriksaan antioksidan

Uji aktifitas antioksidan dilakukan menggunakan *microplate reader two fold delution* dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazil). Pada panjang gelombang 520 nm. Sampel ekstrak dan senyawa hasil isolasi sebanyak 2 mg dilarutkan dalam 2 mL metanol sehingga konsentrasi sampel menjadi 1000 $\mu\text{g/ml}$. Baris A dimasukkan sampel sebanyak 100 μL (plate terdiri dari baris A-H masing-masing berjumlah 12 sumur). Sebanyak 50 μL metanol dimasukkan pada masing-masing sumur pada baris B-F. Baris A dipipet sebanyak 50 μL dan dimasukkan kebaris B dan dilakukan sampai baris F, baris F dipipet 50 μL lalu buang, sehingga diperoleh konsentrasi 1000, 500, 250, 125, 62,5 dan 31,25 $\mu\text{g/mL}$. sedangkan pada baris G-H diisi dengan metanol 50 μL , khusus pada baris H diisi hanya sumur 1-6. Baris A-G ditambahkan DPPH sebanyak 80 μL dengan konsentrasi 40 $\mu\text{g/mL}$, kemudian diinkubasi selama 30 menit. Aktifitas penangkapan radikal diukur sebagai penurunan absorbansi DPPH dengan *micro plate reader* dan olah data. Kontrol positif yang digunakan sebagai pembanding yaitu asam askorbat dengan konsentrasi 50 $\mu\text{g/mL}$.

Analisa data

Persentase daya hambatan (%) dikalkulasikan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Hambatan} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100 \%$$

Ket: A_{kontrol} = Absorbansi tidak mengandung sampel

A_{sampel} = Absorbansi sampel

Perhitungan persen IC_{50} dihitung dari persamaan regresi nilai persen inhibisi.

$$y = a + bx$$

Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan dapat dilihat dari tabel berikut :



Tabel 1. Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH [11]

Nilai IC ₅₀ (µg/mL)	Aktivitas Antioksidan
< 50	Sangat aktif
50 – 100	Aktif
100 – 250	Sedang
250 – 500	Lemah
>500	Tidak aktif

RESULT AND DISCUSSION

Penelitian ini menggunakan daun segar tumbuhan *Uncaria cordata* (Lour.) Merr.) yang diperoleh dari Hutan Larangan Adat Desa Rumbio Kabupaten Kampar Provinsi Riau (Gambar 1). Sampel yang diperoleh dilanjutkan dengan proses pembuatan simplisia, dimulai dengan sortasi basah, pencucian, pengeringan, perajangan dan sortasi kering. Sampel daun segar *Uncaria cordata* (Lour.) Merr. dilakukan uji pendahuluan fitokimia dengan hasil positif terpenoid, saponin, fenolik dan flavonoid. Selanjutnya sampel segar dilakukan pembuatan simplisia dan ekstrak. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metoda maserasi bertingkat dengan urutan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol. Rendemen ekstrak tertinggi adalah ekstrak metanol (Tabel 2), hal ini disebabkan karena metanol merupakan pelarut polar, sehingga mampu mengekstraksi banyak metabolit sekunder dan primer yang bersifat polar dan semi polar [12]. Senyawa metabolit sekunder yang sering ikut terekstraksi diantaranya alkaloid, flavonoid, tanin, glikosida, fenolik, beberapa saponin, gula, asam organik. Hasil skrining fitokimia daun segar dan ekstrak, dapat dilihat pada Tabel 3 [13].



Gambar 1. Daun *Uncaria cordata* (Lour.) Merr.

Tabel 2. Rendemen Ekstrak Daun *Uncaria cordata* (Lour.) Merr.

Berat Sampel Basah	Berat sampel kering	Berat ekstrak		
		<i>n</i> -heksana	Etil asetat	Metanol
3500 g	1700 g	22,24 g (1,31 %)	100,45 g (5,9 %)	197,61 g (11,62 %)

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Daun Segar dan Ekstrak

No	Golongan senyawa	Pereaksi	Daun segar	Ekstrak <i>n</i> -heksana	Ekstrak etil asetat	Ekstrak metanol
1.	Flavonoid	Mg-HCl P	+	-	-	+
2.	Saponin		(Busa)	-	(Busa)	(Busa)
3.	Terpenoid	LB	(orange kemerahan)	-	-	-
4.	Steroid	LB	-	(Biru)	(Biru)	(Biru)
5.	Alkaloid	Mayer	-	-	-	-
7.	Fenolik	FeCl ₃	(Hijau)	-	-	(Hijau)

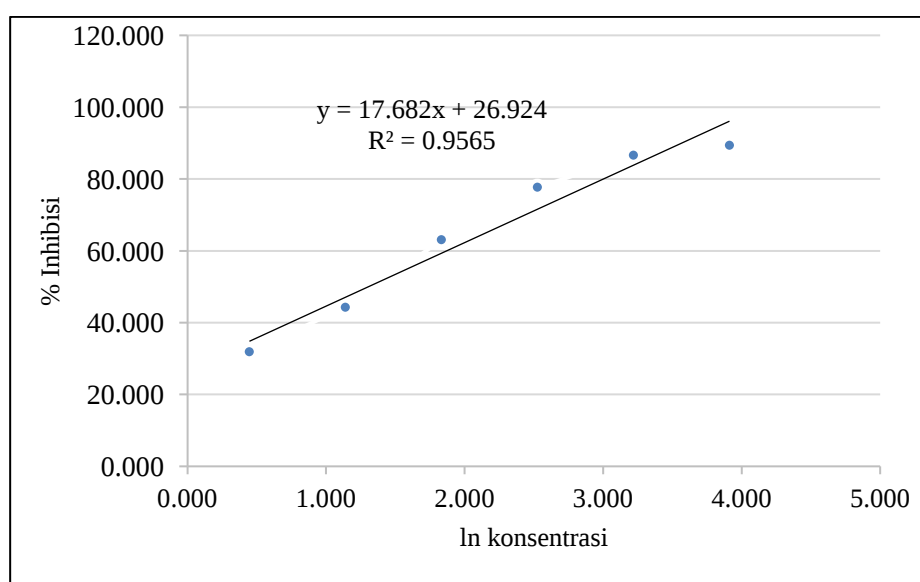
Ekstrak *n*-heksan, etil asetat dan metanol selanjutnya ditentukan aktivitas antioksidan menggunakan metoda DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). DPPH



adalah radikal bebas yang stabil pada suhu kamar, berbentuk serbuk, berwarna ungu dan cepat teroksidasi oleh cahaya dan panas. Metoda DPPH dipilih karena memerlukan sampel yang sedikit, waktu pengukuran singkat dan hasilnya cepat didapat. Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak dilakukan dalam 6 seri konsentrasi yaitu untuk ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25 $\mu\text{g/mL}$. Pada pengujian antioksidan, kontrol positif yang digunakan adalah vitamin C. Nilai persen inhibisi vitamin C dapat dilihat pada Tabel 4 dan Gambar 2. Berdasarkan nilai persen inhibisi, diperoleh IC_{50} vitamin C sebesar 3,687 $\mu\text{g/mL}$ [14].

Tabel 4. Nilai Persen Inhibisi Asam Askorbat (Vitamin C)

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	ln konsentrasi	Absoban		Absorban rata-rata	Absorban sampel	% Inhibisi
		1	2			
50	3,912	0,15	0,15	0,15	0,049	89,370
25	3,219	0,163	0,163	0,163	0,062	86,551
12,5	2,526	0,207	0,201	0,204	0,103	77,657
6,25	1,833	0,267	0,276	0,271	0,1705	63,015
3,125	1,139	0,336	0,28	0,336	0,257	44,251
1,5625	0,446	0,417	0,413	0,415	0,314	31,887



Gambar 2. Kurva persamaan nilai regresi IC_{50} Asam Askorbat (Vitamin C)



Aktivitas antioksidan ketiga ekstrak diperoleh berturut-turut n-heksan, etil asetat dan metanol adalah >500, 704,478 $\mu\text{g/mL}$ dan 6,778 $\mu\text{g/mL}$. Nilai persen inhibisi untuk ketiga ekstrak, dapat dilihat pada Tabel 5,6 dan 7. Ekstrak methanol mempunyai nilai aktivitas paling tinggi, dapat disebabkan karena kandungan metabolit sekunder flavonoid dan fenolik. Berdasarkan penelusuran literatur, flavonoid dan fenolik memberikan peranan terhadap aktivitas antioksidan suatu ekstrak [15].

Tabel 5. Nilai Persen Inhibisi Ekstrak n-heksana pada Beberapa Konsentrasi

konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorban			Absorban rata-rata	Absorban sampel	% Inhibisi
	1	2	3			
1000	0,41	0,424	0,436	0,423	0,315	34,234
500	0,432	0,439	0,441	0,437	0,329	31,315
250	0,441	0,436	0,438	0,438	0,330	31,107
125	0,439	0,438	0,445	0,441	0,333	30,620
62,5	0,441	0,443	0,441	0,442	0,334	30,412
31,25	0,445	0,444	0,445	0,445	0,337	29,786

Tabel 6. Nilai Persen Inhibisi Ekstrak Etil Asetat pada Beberapa Konsentrasi

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorban				Absorban rata-rata	Absorban sampel	% Inhibisi
	1	2	3	4			
1000	0,27	0,256	0,256	0,247	0,257	0,149	68,913
500	0,462	0,424	0,43	0,433	0,433	0,325	32,218
250	0,455	0,45	0,447	0,447	0,447	0,339	29,299
125	0,532	0,509	0,496	0,509	0,509	0,401	16,373
62,5	0,556	0,54	0,534	0,541	0,541	0,433	9,701
31,25	0,575	0,571	0,553	0,563	0,563	0,455	5,114

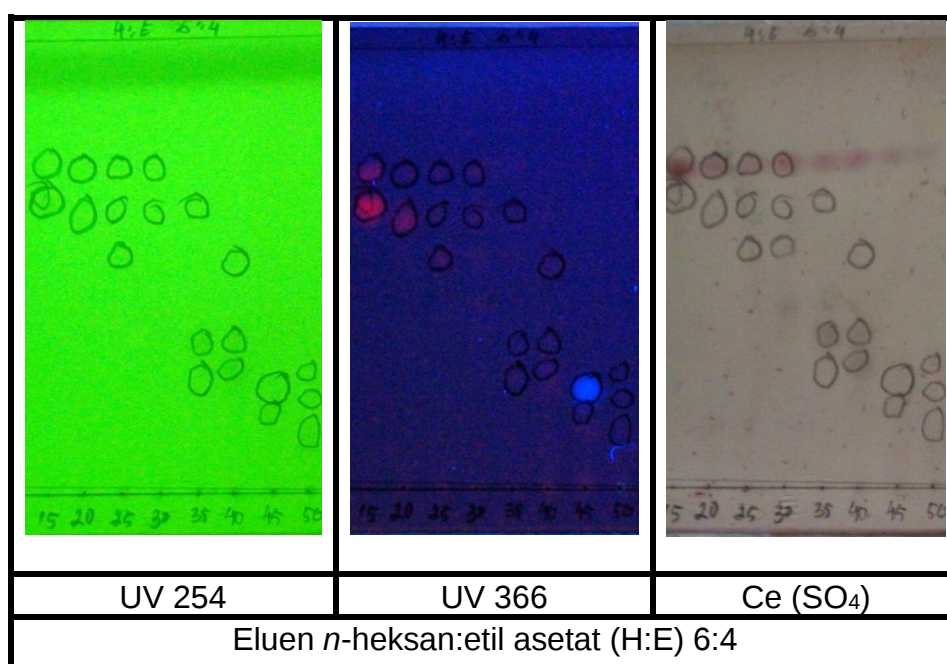
Tabel 7. Nilai Persen Inhibisi Ekstrak Metanol pada Beberapa Konsentrasi



Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorban				Absorban rata-rata	Absor- ban sampel	% Inhibisi
	1	2	3	4			
100	0,123	0,122	0,126	0,130	0,125	0,024	94,739
50	0,187	0,134	0,148	0,145	0,154	0,053	88,611
25	0,246	0,255	0,246	0,251	0,250	0,149	67,787
12.5	0,281	0,262	0,253	0,271	0,267	0,166	64,045
6,25	0,351	0,355	0,353	0,353	0,353	0,252	45,336
3,12	0,383	0,383	0,387	0,386	0,385	0,284	38,449

Ekstrak metanol selanjutnya dipisahkan dengan kromatografi kolom. Sebanyak 3 g ekstrak kental metanol menggunakan silika gel sebagai fase diamnya. Ekstrak preabsorpsi bersama silika sehingga kering berbentuk serbuk dan bisa dialirkan ke dalam kolom yang sudah berisi silika. Sistem elusi yang digunakan adalah sistem elusi dengan kepolaran bertingkat atau *Step Gradient Polarity* (SGP). Perbandingan eluen dimulai dari pelarut yang non polar (n-heksana), semi polar (etil asetat) hingga pelarut yang polar (metanol). Eluen akan ditingkatkan kepolarannya apabila pita yang turun dengan eluen sebelumnya telah terelusi semua dan ditampung dalam vial. Volume fase gerak yang digunakan bervariasi tergantung kebutuhan untuk mengelusi supaya pita pada kolom yang dielusi dengan eluen bersangkutan turun semuanya.

Hasil kromatografi kolom ditampung dalam vial dan dibiarkan menguap. Sebanyak 209 vial diperoleh dari kromatografi kolom ini kemudian dimonitor dengan KLT setiap jarak 5 vial, pola nodanya diamati dibawah lampu UV, penampak noda serum sulfat ($\text{Ce}(\text{SO}_4)$) dan ditandai menggunakan pensil tepat pada nodanya, fraksi yang memiliki R_f sama digabung sehingga didapatkan 5 fraksi gabungan yang hasilnya ini dimonitoring kembali dengan KLT. Berdasarkan pola pemisahan yang diperoleh dari KLT, maka dipilih fraksi 2 untuk dilanjutkan isolasi. Profil KLT fraksi 2, dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Profil KLT Fraksi 2

Fraksi 2 diperoleh padatan berbentuk amorf pada dinding vial kemudian dilakukan pencucian menggunakan metode dekantasi. Proses dekantasi ini menghasilkan senyawa murni yang diberi label F2 sebanyak 12,2 mg yang berupa padatan amorf berwarna putih. Pada prinsipnya dekantasi dilakukan berdasarkan perbedaan kelarutan antara zat yang akan dimurnikan dengan pengotor dalam suatu pelarut tunggal atau kombinasi dari beberapa pelarut yang cocok. Hasil dekantasi dari fraksi 2 (senyawa F2) dilakukan pemeriksaan kemurnian senyawa dengan menguji KLT menggunakan fase gerak etil asetat:metanol. Hasil menunjukkan pemisahan terbaik pada perbandingan etil asetat:metanol (4:6) dan pereaksi penampak noda Anisaldehyd dengan nilai R_f 0,725 dan didapatkan satu noda (Gambar 4).



	
Anisaldehyd sebelum	Anisaldehyd Sesudah
Eluen etil asetat : metanol (4:6)	
Rf (retardation factor) 0,725	

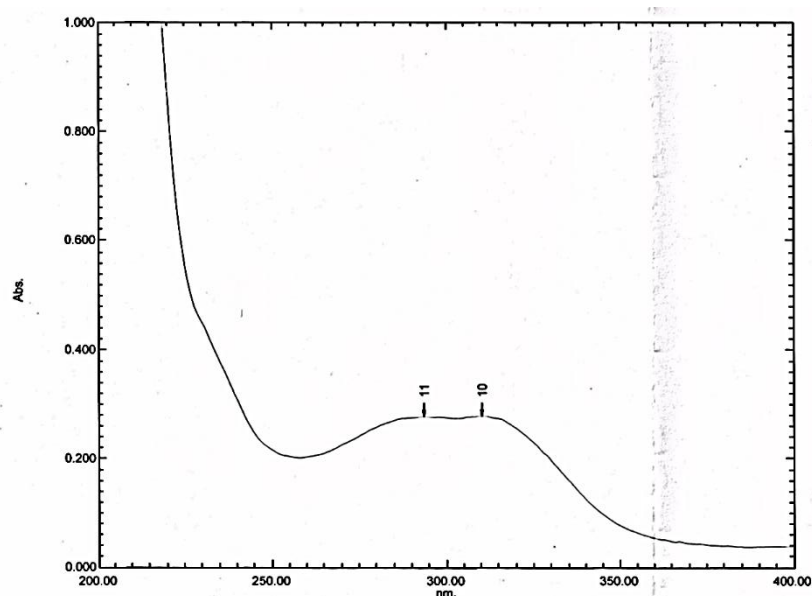
Gambar 4. Profil KLT Senyawa F2

Pada KLT senyawa F2 memperlihatkan 1 noda, namun untuk memastikan kemurnian, maka dilakukan penentuan titik leleh menggunakan alat *Fisher John*. Hasil penentuan titik leleh diperoleh nilai 190-192°C, dimana suatu senyawa dikatakan murni salah satunya apabila memiliki selisih nilai titik leleh $\leq 2^\circ\text{C}$. Pada uji pereaksi warna dengan Liberman buchard positif terpenoid (merah), dan pada uji dengan FeCl_3 positif fenolik (hijau), dari hasil uji pereaksi warna senyawa yang terdeteksi kemungkinan dari golongan terpenoid. Menurut Ndagijimana *et al* (2013) senyawa fitokimia yang paling banyak terisolasi dari genus *Uncaria* adalah golongan terpenoid terutama golongan triterpenoid yaitu asam ursolat, asam oleanolik dan golongan monoterpen yaitu asam deoksiloganik.

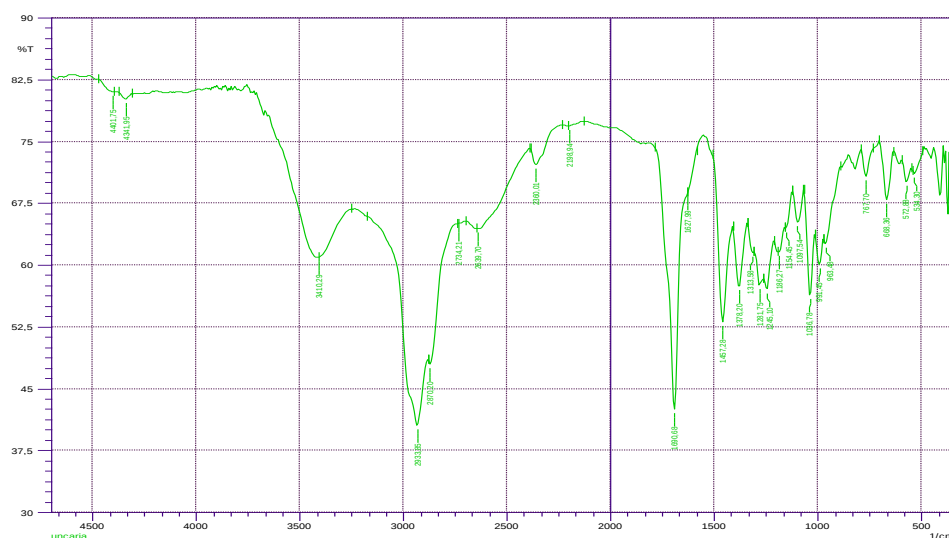
Hasil spektrum UV (200-400 nm) senyawa dalam metanol memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang berturut-turut 293,50nm dan 310,50 nm (Gambar 5). Spektrum UV digunakan untuk menganalisa keberadaan gugus kromofor dan gugus ausokrom. Serapan senyawa yang dihasilkan dari



senyawa terpenoid terdapat pada rentang panjang gelombang ultraviolet yaitu 180-380nm karena senyawa yang tidak berwarna (Harborne, 1987). Gugus kromofor yang terdeteksi berdasarkan spektrum IR yaitu gugus C=O sedangkan gugus ausokrom yaitu O-H. Pada spektrum IR pita serapan terdapat di daerah bilangan gelombang 3410 cm^{-1} berasal dari gugus O-H, untuk pita yang muncul pada 2933 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-H. Untuk pita yang muncul pada 1690 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=O. Pada bilangan gelombang 1457 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-H, gugus C-C terlihat pada bilangan gelombang 1036 cm^{-1} (Gambar 6).



Gambar 5. Spektrofotometri UV Senyawa F2 dengan Menggunakan Pelarut Metanol



Gambar 6. Spektrofotometri IR Senyawa F2

Senyawa F2 dilakukan pengujian antioksidan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan 6 seri konsentrasi yaitu 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25 $\mu\text{g/mL}$. Dari hasil pengujian senyawa murni didapat persen inhibisi sebesar 7,413 % pada konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ (Tabel 8).

Tabel 8. Nilai Persen Inhibisi Senyawa F2

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absoban				Absorban rata-rata	Absorban sampel	% Inhibisi
	1	2	3	4			
1000	0,373	0,412	0,459	0,464	0,427	0,320	7,413
500	0,379	0,415	0,456	0,463	0,428	0,321	7,051
250	0,386	0,419	0,462	0,484	0,438	0,330	4,3006
125	0,388	0,429	0,457	0,490	0,441	0,334	3,359
62,5	0,382	0,495	0,446	0,444	0,442	0,334	3,142
31,25	0,391	0,493	0,470	0,455	0,452	0,345	0,101

Perbedaan nilai IC_{50} antara ekstrak metanol dan senyawa hasil isolasi kemungkinan dipengaruhi oleh efek sinergis beberapa komponen senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan. senyawa F2 dari beberapa uji pereaksi warna, hasil spektrum UV dan spektrum IR kemungkinan golongan terpenoid dimana yang berperan sebagai senyawa antioksidan spesies *Uncaria* adalah golongan flavonoid [16].



CONCLUSION

Ekstrak metanol *Uncaria cordata* (Lour. Merr. mempunyai aktivitas antioksidan dengan IC₅₀ paling tinggi yaitu 6,778 µg/mL dengan kategori sangat aktif. Hasil isolasi ekstrak metanol diperoleh isolat golongan terpenoid dan tidak mempunyai aktivitas antioksidan pada konsentrasi 1000 µg/mL.

ORCID

NOVERI RAHMAWATI: (<https://orcid.org/0009-0000-7746-2009>)

REFERENCE

- [1] Cahyaningsih, R., et al. (2021). *Setting the priority medicinal plants for conservation in Indonesia*. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 68, 2019–2050. <https://doi.org/10.1007/s10722-021-01115-6>
- [2] Heitzman, M. E., Neto, C. C., Winiarz, E., Vaisberg, A. J., & Hammond, G. B. (2021). *Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of Uncaria (Rubiaceae)*. *Phytochemistry*, 190, 112856.
- [3] Huang, X.-Y., Cui, J., Wang, W.-L., Zhou, H.-Z., Jiang, Y.-C., He, X., Chen, H.-L., & Li, L.-M. (2026). *New monoterpene indole alkaloids as potential neuroprotective agents from Uncaria hirsuta Haviland*. *Molecules*, 31(12), 2053. <https://doi.org/10.3390/molecules31122053>
- [4] Kushida, H., Matsumoto, T., & Ikarashi, Y. (2021). *Properties, pharmacology, and pharmacokinetics of active indole and oxindole alkaloids in Uncaria Hook*. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 688670. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.688670>
- [5] Ahmad, R., Hashim, H. M., Noor, Z. M., Ismail, N. H., Salim, F., Lajis, N. H., & Shaari, K. (2011). *Antioxidant and antidiabetic potential of Malaysian Uncaria*. *Research Journal of Medicinal Plants*, 5(5), 587–595. <https://doi.org/10.3923/rjmp.2011.587.595>
- [6] Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. (2021). *Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review*. *Journal of Food Engineering*, 117, 426–436.
- [7] Hałka-Grysińska, A., Szczyrba, A., Dzido, T. H., & Kaliszan, R. (2021). *Reversed-phase pH gradient thin-layer chromatography of biologically active substances with controlled developing solvent velocity*. *Journal of*



Chromatography A, 1649, 462224.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462224>

- [8] Zeng, P., Wang, X. M., Ye, C. Y., Su, H. F., & Tian, Q. (2021). *The main alkaloids in Uncaria rhynchophylla and their anti-Alzheimer's disease mechanism determined by a network pharmacology approach*. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 3612.
- [9] Yang, W., Ip, S. P., Liu, L., Xian, Y. F., & Lin, Z. X. (2020). *Uncaria rhynchophylla and its major constituents on central nervous system: A review on their pharmacological actions*. *Current Vascular Pharmacology*, 18, 346–357.
- [10] Sharma, R., et al. (2024). *Fourier transform infrared spectroscopic technique for analysis of inorganic materials: A review*. *Discover Materials*, 4. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12426772>
- [11] Gülçin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). *DPPH radical scavenging assay*. *Processes*, 11(8), 2248. <https://doi.org/10.3390/pr11082248>
- [12] Guo, L., Guo, Y., Wang, R., Feng, J., Shao, N., Zhou, X., & Zhou, Y. (2023). *Interface chirality: From biological effects to biomedical applications*. *Molecules*, 28(15), 5629. <https://doi.org/10.3390/molecules28155629>
- [13] Chibuye, B., Singh, I. S., Luke, C., & Kakoma, M. K. (2023). *A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants*. *Scientific African*, 19, e01585. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e01585>
- [14] Foti, M. C., Daquino, C., & Geraci, C. (2021). *A critical examination of the DPPH method: Mistakes and inconsistencies in stoichiometry and IC50 determination by UV–Vis spectroscopy*. *Analytica Chimica Acta*, 1157, 338398. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338398>
- [15] Liga, S., Paul, C., & Péter, F. (2023). *Flavonoids: Overview of biosynthesis, biological activity, and current extraction techniques*. *Plants*, 12(14), 2732. <https://doi.org/10.3390/plants12142732>
- [16] Shi, L., Zhao, W., Yang, Z., Subbiah, V., & Suleria, H. A. R. (2022). *Extraction and characterization of phenolic compounds and their potential antioxidant activities*. *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 81112–81129. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-23337-6>