

OPTIMASI EKSTRAKSI ANTOSIANIN DAUN JATI (*Tectona grandis* Linn.) DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDANNYA

Aintan Rahmadhani¹, Dedi Hanwar²
Universitas Muhammadiyah Surakarta^{1,2}
dedi.hanwar@ums.ac.id²

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimalkan ekstraksi antosianin dan aktivitas antioksidannya dari daun jati (*Tectona grandis* Linn.) menggunakan pelarut etanol-HCl 1% dengan variasi konsentrasi etanol. Metode yang digunakan adalah maserasi dengan konsentrasi etanol 50%, 70%, dan 96%. Ekstrak yang dihasilkan dianalisis secara kualitatif melalui uji kromatografi lapis tipis (KLT) dan uji fitokimia dan kuantitatif untuk menentukan kadar antosianin dan aktivitas antioksidannya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% memiliki rendemen tertinggi (18,5%), dan semua ekstrak memenuhi syarat rendemen (>7,5%). Kadar antosianin tertinggi ditemukan pada ekstrak etanol 96% (26,022 mg/dL), dengan aktivitas antioksidan terbaik (IC₅₀ = 87,66 ppm). Simpulan, terdapat hubungan linier antara aktivitas antioksidan dan kadar antosianin, di mana semakin tinggi konsentrasi etanol dalam pelarut, semakin efektif ekstraksi antosianin dan aktivitas antioksidan dari sampel daun jati.

Kata Kunci: Antioksidan, Antosianin, Daun Jati, DPPH, Etanol-HCl

ABSTRACT

*This research aimed to optimize the extraction of anthocyanins and their antioxidant activity from teak leaves (*Tectona grandis* Linn.) using 1% ethanol-HCl solvent with varying ethanol concentrations. The method used is maceration with ethanol concentrations of 50%, 70% and 96%. The resulting extract was analyzed qualitatively through thin layer chromatography (TLC) tests and phytochemical and quantitative tests to determine anthocyanin levels and antioxidant activity. The results showed that 70% ethanol extract had the highest yield (18.5%), and all extracts met the yield requirements (>7.5%). The highest anthocyanin levels were found in 96% ethanol extract (26.022 mg/dL), with the best antioxidant activity (IC₅₀ = 87.66 ppm). In conclusion, there is a linear relationship between antioxidant activity and anthocyanin levels, where the higher the ethanol concentration in the solvent, the more effective the extraction of anthocyanins and antioxidant activity from teak leaf samples.*

Keywords: Antioxidants, Anthocyanins, Teak Leaves, DPPH, Ethanol-HCl

PENDAHULUAN

Seiring berkembangnya zaman, penggunaan pewarna dalam kosmetik sangat diperlukan seperti halnya pada sediaan *lipstick*, *blush on*, dan *eyeshadow*. Hal ini mendorong penggunaan pewarna dalam formulasi, baik pewarna sintesis ataupun pewarna alami. Penggunaan pewarna alami merupakan solusi untuk menghindari penggunaan pewarna sintetik yang berbahaya. Pewarna alami adalah zat warna (pigmen) yang diperoleh dari tumbuhan, hewan, atau sumber-sumber mineral seperti warna merah alami dari senyawa antosianin pada daun jati muda (*Tectona grandis* linn.) (Suryanti et al., 2020).

Tanaman jati (*Tectona grandis* linn.) merupakan pohon tropis dengan distribusi luas di Indonesia. Tanaman jati banyak tumbuh di daerah berkapur seperti Blora, Jawa Tengah, terutama di kecamatan Randublatung. Berdasarkan Website Perhutani menyatakan bahwa KPH Randublatung, kawasan hutan jati seluas 32.464,1 Ha sehingga pada penelitian ini digunakan ekstrak dari daun jati yang diambil dari hutan Blora, Jawa Tengah.

Ketersediaan tanaman jati yang melimpah telah dimanfaatkan masyarakat untuk industri mebel, pembungkus makanan, dan obat tradisional. Daun jati (*Tectona grandis* linn.) dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Daun dari pohon jati (*Tectona grandis* linn.) memiliki beberapa khasiat secara farmakologi seperti *anthelmintic* (obat cacing), *antidiabetic*, *anti-hemolytic anemia*, *antiplasmodial*, *anti-hypertensive*, *antifungal*, dan *hepatoprotective* (Asdaq et al., 2022).

Daun jati (*Tectona grandis* linn.) juga mengandung 19 senyawa aktif metabolit sekunder antara lain *steroids*, *tannin*, *saponin*, *anthocyanin*, *coumarins*, *emodins*, *alkaloids*, *proteins*, *amino acids*, *carbohydrate*, *flavonoids*, *diterpenes*, *physterol*, *phenol*, *phlobatannin*, *leucoanthocyanin*, *anthraquinone*, *cardial glycosides*, dan *chalcones* (Godghate & Sawanth, 2014). Akan tetapi, senyawa metabolit sekunder daun jati (*Tectona grandis* linn.) yang berperan sebagai pigmen warna merah alami adalah antosianin. Antosianin terkandung dalam daun jati muda yang juga memiliki aktivitas antioksidan (Suryanti et al., 2020). Hal ini dapat berhubungan karena aktivitas antioksidan merupakan aktivitas yang ditimbulkan dari senyawa antosianin yang berdasarkan struktur antosianin, semakin banyak gugus hidroksi fenolik akan semakin meningkatkan fungsi antioksidannya (Priska et al., 2018). Dengan demikian, pada penelitian ini menggunakan ekstrak dari daun jati (*Tectona grandis* linn.) muda yang memiliki kandungan senyawa antosianin dalam ekstrak tanaman yang akan berhubungan dengan aktivitas antioksidan.

Pada penelitian sebelumnya diperoleh aktivitas antioksidan yang sangat kuat dari ekstrak daun jati (*Tectona grandis* linn.) dengan pelarut metanol serta dikonfirmasi adanya kandungan total fenolik dan antosianin (Suryanti et al., 2020) Pada penelitian lain, ekstrak zat warna atau antosianin daun jati muda diperoleh pada konsentrasi optimum dengan pelarut etanol 80% yang nilai absorbansinya 1,425 (Silahturahmi et al., 2021). Serta aktivitas antioksidan ekstraksi daun jati

muda (*Tectona grandis* linn.) diperoleh sebesar IC_{50} 70,848 ppm dengan pelarut butanol dan 80,893 ppm dengan ekstrak aseton (Safitriyani, 2022). Beberapa penelitian sebelumnya tersebut, dilakukan ekstraksi dengan beberapa pelarut yang berbeda. Oleh karena itu, perlu adanya optimasi pelarut dalam ekstrak daun jati (*Tectona grandis* linn). Pada penelitian ini dilakukan optimasi pelarut dengan menggunakan pelarut polar yaitu etanol-HCl 1% dengan beberapa konsentrasi etanol yaitu 50%, 70%, dan 96%.

Dipilih pelarut etanol karena flavonoid umumnya berbentuk glikosida polar sehingga harus dilarutkan dalam pelarut polar serta etanol memiliki sifat tidak beracun (non toksik), aman, dan mampu menarik lebih banyak senyawa secara sederhana (Muhsin & Pratiwi, 2023). Ditambahkan HCl 1% dalam pelarut karena antosianin lebih stabil dalam kondisi asam daripada basa atau netral karena pada kondisi asam membran sel tanaman dapat terdenaturasi, sehingga senyawa flavonoid dapat keluar dari sel tanaman (Muhsin & Pratiwi, 2023). HCl dipilih karena dapat menghasilkan kadar total antosianin yang lebih tinggi daripada asam sitrat (Damayanti et al., 2020). Adapun beberapa uji dilakukan untuk mengetahui senyawa-senyawa dalam daun jati (*Tectona grandis* linn.) seperti kandungan antosianin dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif dengan hasil kadar antosianin total, serta uji antioksidan dilakukan dengan metode DPPH sehingga daun jati (*Tectona grandis* linn.) dapat digunakan untuk pewarna alami dalam formulasi kosmetik seperti lipstick yang berwarna merah alami dengan mempunyai aktivitas antioksidan.

METODE PENELITIAN

Sampel

Beberapa helai daun jati muda (*Tectona grandis* linn) dari hutan jati, Randublatung, Blora, Jawa Tengah, Indonesia yang berwarna hijau muda memiliki ukuran diameter 15-25cm.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat gelas, neraca analitik, rotary evaporator, kertas saring whatman, dan Spektrofotometri UV-VIS. Bahan yang digunakan adalah daun jati yang masih segar berwarna hijau diambil di lingkungan hutan jati Randublatung, Blora, Jawa Tengah, larutan DPPH, etanol-HCl, aquadest, KCl, dan natrium asetat.

Ekstraksi Daun Jati

Ekstraksi menggunakan metode ekstraksi maserasi. Daun dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu kamar. Kemudian digiling hingga menjadi bubuk halus. Bubuk kering daun jati muda 400g dimaserasi menggunakan masing-masing pelarut 2000mL yaitu etanol 50%-HCl 1%, etanol 70%-HCl 1%, dan etanol 96%-HCl 1% dengan perbandingan volume 9:1 yang

dilakukan pengadukan 3x selama 2 hari. Selanjutnya campuran disaring dengan kertas saring whatman dan dilakukan pengentalan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C sehingga didapatkan ekstrak kental. Kemudian dihitung rendemen ekstrak untuk mengetahui nilai ekstrak yang dihasilkan. Dengan syarat rendemen daun jati tidak kurang 7,5% (Kementerian Kesehatan Indonesia, 2017). Rendemen dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kering}}{\text{Berat ekstrak basah}} \times 100\%$$

Persamaan 1. Perhitungan Rendemen Ekstrak

Uji Antosianin

Analisis Kualitatif KLT Antosianin

Antosianin merupakan senyawa flavonoid yang dapat diidentifikasi menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan pembanding berupa kuersetin. Proses KLT dilakukan dengan menggunakan fase diam berupa silika gel GF254 dan fase gerak campuran etil asetat:n-heksana (12:8). Setelah pengembangan, bercak diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, kemudian dibandingkan dengan bercak pembanding kuersetin. Jika bercak tidak terlihat, dilakukan penyemprotan menggunakan larutan AlCl_3 (Anggista et al., 2016).

Analisis Kualitatif Uji Fitokimia Antosianin

Masing-masing ekstrak ditambahkan dan dipanaskan dengan HCl 2M selama 2 menit kemudian diamati warnanya apabila warna merah tidak berubah maka menunjukkan adanya antosianin dan kepekatan warna merah menunjukkan tingginya antosianin. Kemudian masing-masing ekstrak juga diuji dengan ditambahkan NaOH 2M tetes demi tetes, diamati warnanya apabila warna merah berubah menjadi hijau biru dan memudar perlahan maka menunjukkan adanya antosianin (Aji et al., 2024).

Analisis Kuantitatif

Preparasi Sampel

Ditimbang ekstrak kental daun jati sebanyak 250mg dan dilarutkan dengan masing-masing pelarut sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 25mL sehingga didapatkan konsentrasi ekstrak 10.000 ppm.

Pembuatan Larutan Dapar

Larutan pH 1,0: Ditimbang 0,465gram KCl dan dilarutkan dengan aquades dalam tabung volumetrik 250 mL sampai batas serta ditambahkan HCl sampai pH mencapai $1,0 \pm 0,1$. Untuk larutan pH 4,5: Ditimbang 8,2gram natrium asetat (CH_3COONa) dan dilarutkan dengan aquades dalam tabung volumetrik 250 mL sampai batas serta ditambahkan larutan HCl sampai $\text{pH} \pm 4,5$.

Penentuan Gelombang Maksimal

Diambil 5 mL larutan ekstrak dari preparasi sampel dan diukur absorbansi pada panjang gelombang 400-800 nm.

Penetapan Kadar Antosianin

Dibuat dua larutan uji dengan perbedaan pH. Larutan uji A dibuat dengan mengambil 1 mL ekstrak yang telah dipreparasi, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur berkapasitas 5,0 mL dan ditambahkan larutan dapar KCl dengan pH 1,0 hingga volume mencapai 5,0 mL. Selanjutnya, absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimum dan pada gelombang 700 nm menggunakan blangko yang berisi pelarut dan larutan dapar KCl pH 1,0. Sementara itu, larutan uji B dibuat dengan cara yang sama, yaitu mengambil 1 mL ekstrak yang telah dipreparasi, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur berkapasitas 5,0 mL dan ditambahkan larutan dapar natrium asetat (CH₃COONa) dengan pH 4,5 hingga volume mencapai 5,0 mL. Absorbansi larutan ini juga diukur pada panjang gelombang maksimum dan pada gelombang 700 nm menggunakan blangko yang berisi pelarut dan larutan dapar natrium asetat pH 4,5.

Setelah didapatkan Absorbansi larutan uji A dan B dihitung dengan menggunakan persamaan berikut:

$$A = (A_{\lambda_{maks}} - A_{700nm})_{pH1,0} - (A_{\lambda_{maks}} - A_{700nm})_{pH4,5}$$

Persamaan 2. Perhitungan Absorbansi Antosianin

Dengan A merupakan absorbansi larutan uji, kemudian dilakukan perhitungan kadar antosianin dengan persamaan berikut:

$$\text{Antosianin (mg/L)} = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{\epsilon \times L}$$

Persamaan 3. Perhitungan Kadar Antosianin Total

Keterangan:

A = Absorbansi larutan uji

ϵ = Absorptivitas molar sianidin-3-glukosida (26900 L/mol.cm)

L = Lebar kuvet 1cm

MW = Berat molekul sianidin-3-glukosida (449,2g/mol)

DF = Dilution factor (faktor pengenceran)

1000 = Pengubah gram menjadi mg

Uji Antioksidan

Pembuatan Larutan DPPH

Dibuat larutan DPPH 0,1 mM dengan cara dibuat larutan induk DPPH dengan ditimbang 15,7mg DPPH dilarutkan dengan etanol p.a ad 100 mL, kemudian diencerkan larutan induk dengan diambil 25mL ad 100 mL dengan etanol p.a sehingga diperoleh larutan DPPH 0,1 mM.

Pengukuran Gelombang Maksimal DPPH

Diambil 5 mL larutan DPPH 0,4 mM ke dalam kuvet, kemudian diukur serapan larutan menggunakan spektrofotometri UV-VIS pada panjang gelombang serapan maksimal 400-800nm.

Pengukuran Abrobansi Daya Antioksidan Blanko

Pengujian dilakukan menggunakan larutan DPPH 0,4 mM pada kuvet pada panjang gelombang maksimal yaitu diperoleh 516,2 nm.

Preparasi Larutan Pembanding Vitamin C

Dibuat larutan stok vitamin C 100 ppm dengan cara menimbang sebanyak 10mg vitamin C, kemudian dilarutkan dengan etanol *p.a* sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 100 mL. Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 2,5 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, dan 40 ppm dengan pengenceran bertingkat menggunakan pelarut etanol *p.a*.

Pengukuran Abrobansi Vitamin C Pembanding

Pengujian dilakukan dengan memipet 1 mL larutan vitamin C dari berbagai konsentrasi (2,5 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, dan 40 ppm) kemudian masing-masing ditambahkan 3 mL DPPH, dicukupkan volumenya dengan etanol *p.a* hingga 5 ml kemudian divortex dan diinkubasi pada suhu 37°C pada ruang gelap selama 30 menit. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal yaitu pada gelombang 516,2 nm.

Preparasi Sampel

Dibuat larutan stok 500 ppm dengan cara menimbang masing-masing ekstrak kental daun jati sebanyak 100 mg dan dilarutkan dengan etanol *p.a* sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 200 mL selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 25ppm, 50ppm, 100 ppm, 200 ppm, dan 400 ppm dengan pengenceran bertingkat menggunakan pelarut etanol *p.a*.

Pengukuran Absorbansi Daya Antioksidan Sampel

Pengujian dilakukan dengan memipet 1mL larutan sampel dengan berbagai konsentrasi (25ppm, 50ppm, 100 ppm, 200 ppm, dan 400 ppm). Kemudian masing-masing ditambahkan 3mL DPPH, kemudian divortex dan diinkubasi pada suhu 37°C pada ruang gelap selama 30 menit. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal yaitu pada gelombang 516,2 nm.

Perhitungan Aktivitas Antioksidan

Penghitungan aktivitas antioksidan dengan menghitung presentase inhibisi (%) terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel terlebih dahulu. Untuk menghitung % Inhibisi menggunakan rumus:

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{abs blanko} - \text{abs sampel}}{\text{abs blanko}} \times 100\%$$

Persamaan 4. Perhitungan %Inhibisi

Setelah didapatkan presentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi dilanjutkan dengan perhitungan IC_{50} . IC_{50} adalah bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel yang mampu menghambat aktiitas suatu radikal bebas sebesar 50%. Nilai IC_{50} dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier dari \ln konsentrasi vs %Inhibisi yang diperoleh ($y = bx + a$) kemudian dihitung dengan mensubstitusikan 50% pada persamaan linier sehingga diperoleh nilai konsentrasi hambat 50% ($x = IC_{50}$). Kemudian dibandingkan antara IC_{50} sampel dengan baku vitamin C.

HASIL PENELITIAN

Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa dari simplisia menggunakan pelarut tertentu dengan tujuan memperoleh senyawa yang diukur berdasarkan rendemen (%). Semakin tinggi rendemen yang diperoleh, semakin tinggi pula nilai ekstraksi yang dicapai. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi, yaitu proses perendaman simplisia dalam pelarut pada suhu kamar selama tiga hari (3×24 jam) dengan pengadukan sekali sehari (Kurniawati & Susanti, 2019). Metode ini dipilih karena efektif untuk mengekstraksi senyawa polar seperti antosianin, serta tidak memerlukan panas tinggi sehingga mencegah degradasi senyawa yang sensitif (Harborne, 1996). Dalam penelitian ini, pelarut yang digunakan adalah etanol-HCl 1% karena sifatnya yang tidak toksik dan kemampuannya melarutkan senyawa polar seperti flavonoid. Penambahan HCl 1% bertujuan menciptakan kondisi asam yang stabil untuk antosianin, mengingat senyawa ini lebih stabil pada pH rendah dibandingkan pH basa (Fitriyanti et al., 2022).

Setelah dilakukan maserasi didapatkan rendemen ekstrak. Rendemen adalah persentase berat ekstrak yang diperoleh dari total berat simplisia yang diekstraksi. Rendemen menunjukkan efisiensi ekstraksi, dengan kriteria minimal ekstrak daun jati berdasarkan Kementerian Kesehatan adalah 7,5%. Dalam penelitian ini, dilakukan ekstraksi daun jati (*Tectona grandis* Linn.) menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi berbeda (50%, 70%, dan 96%) untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung di dalamnya. Ekstraksi daun jati menggunakan metode maserasi menghasilkan rendemen seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak

Konsentrasi Etanol	Rendemen Ekstrak (%)
Etanol 50%	18,41%
Etanol 70%	18,50%
Etanol 96%	14,05%

Uji Kualitatif Antosianin





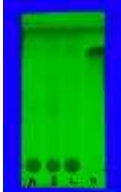


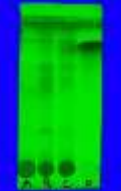

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode analisis yang digunakan untuk memisahkan senyawa berdasarkan perbedaan afinitas mereka terhadap fase diam (silika gel) dan fase gerak (campuran pelarut). KLT sangat efektif untuk mendeteksi keberadaan antosianin karena senyawa ini menunjukkan fluoresensi spesifik di bawah sinar UV (Handayani & Larasati, 2018).

Pada kromatografi lapis tipis (KLT), fase diam yang digunakan adalah silika gel GF254, karena sifatnya yang polar mendukung pemisahan senyawa polar, seperti antosianin. Fase gerak yang digunakan adalah campuran etil asetat dan n-heksana dengan perbandingan 12:5, yang efektif dalam memisahkan senyawa polar dan menghasilkan bercak yang terdefinisi dengan baik (Khasanah et al., 2014).

Dalam penelitian ini, digunakan kuersetin sebagai kontrol pembanding karena kuersetin merupakan flavonoid yang telah diketahui memiliki sifat antosianin. Penggunaan kuersetin sebagai kontrol pembanding memungkinkan untuk membandingkan pola migrasi dan intensitas bercak antosianin dengan senyawa yang telah diketahui karakteristiknya, sehingga dapat memverifikasi keberadaan antosianin dalam sampel yang diuji.

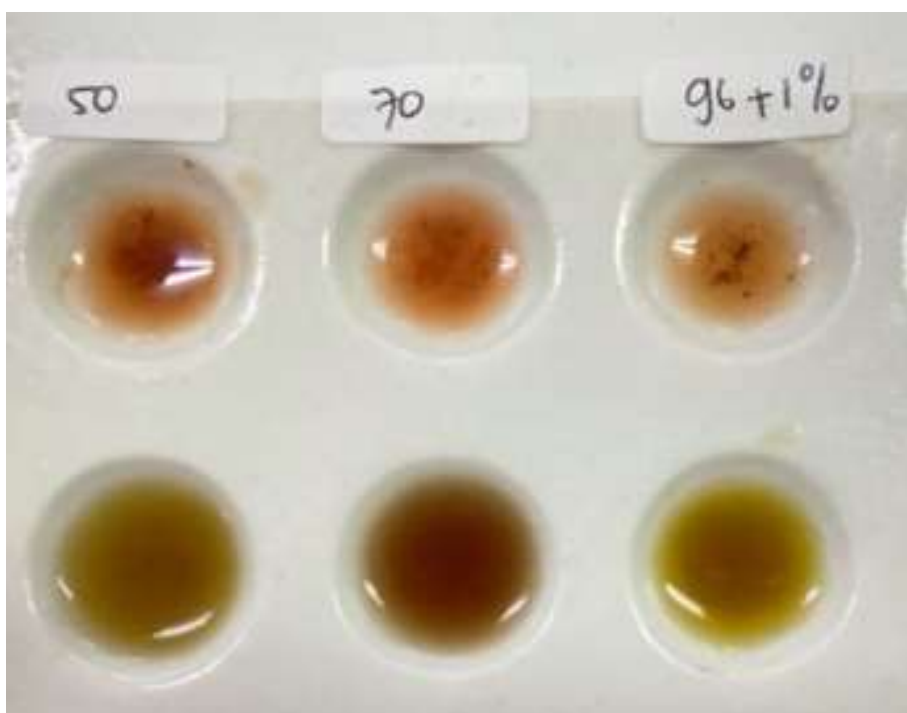
Tabel 2. Hasil KLT Ekstrak Daun Jati (A (ekstrak etanol 50%-HCl 1%), B (ekstrak etanol 70%-HCl 1%), C (ekstrak etanol 96%-HCl 1%), dan D (Kuersetin))

	Pengamatan Sinar Tampak	UV 254	UV 366
Sebelum dielusi			
Setelah dielusi			
Setelah dielusi dan disemprot AlCl ₃			

Uji Fitokimia Antosianin

Uji fitokimia adalah metode untuk mengidentifikasi jenis senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam bahan alam, seperti alkaloid, flavonoid, saponin,

tanin, terpenoid, dan senyawa lainnya. Proses ini menggunakan reaksi kimia spesifik untuk mendeteksi adanya senyawa tertentu berdasarkan perubahan warna, endapan, atau reaksi lainnya (Nasrullah Husain & Syahrir, 2020). Pada uji fitokimia ini, masing-masing ekstrak ditambahkan HCl 2M tetes demi tetes untuk melihat kestabilan warna merah antosianin, kemudian diuji dengan penambahan tetes demi tetes NaOH 2M untuk melihat degradasi dalam kondisi basa. Prosedur ini bertujuan untuk mengonfirmasi keberadaan antosianin berdasarkan perubahan warnanya (Aji et al., 2024).



Gambar 1. Uji Fitokimia Antosianin

Uji Kuantitatif Antosianin

Uji ini dilakukan untuk mengukur kadar antosianin berdasarkan absorbansi pada panjang gelombang maksimal dan 700 nm. Pengukuran dilakukan pada berbagai konsentrasi pelarut etanol (50%, 70%, dan 96%), dengan pengukuran dalam dua pH yang berbeda, yaitu pH 1,0 dan pH 4,5. Panjang gelombang ini dipilih untuk memastikan akurasi dalam mendeteksi perbedaan serapan antosianin pada pH berbeda. Dua larutan dengan pH 1,0 dan pH 4,5 digunakan untuk mengukur stabilitas antosianin dalam kondisi asam dan hampir netral. Pada pH 1,0, antosianin berada dalam bentuk flavylium cation yang memberikan warna merah intens, sementara pada pH 4,5, struktur molekulnya berubah menjadi hemiketal, menyebabkan warna memudar. Metode ini merupakan pendekatan yang valid untuk menghitung konsentrasi antosianin total berdasarkan perbedaan absorbansi pada kedua pH tersebut (Giusti & Wrolstad, 2001). Metode ini mengikuti prosedur pengukuran antosianin yang umum digunakan dalam penelitian fitokimia, yang

mempertimbangkan perbedaan stabilitas antosianin pada kondisi pH berbeda (Giusti & Wrolstad, 2001).

Tabel 3. Panjang Gelombang (λ) Maksimum dari 6 Jenis Antosianin

Aglikon	λ_{max} (nm) / warna
Pelargonidin	494 nm/oranye
Sianidin	506 nm/oranye - merah
Peonidin	506 nm/oranye - merah
Delfinidin	508 nm/ merah
Petunidin	508 nm/ merah
Malvidin	510 nm/ kebiruan - merah

Setelah didapatkan absorbansi sampel dengan perbedaan pH dan pada gelombang, dihitung absorbansi sampel total, dihitung kadar antosianin total didapatkan hasil kadar total antosianin seperti ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-Rata Kandungan Antosianin pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol

Konsentrasi pelarut Etanol (%) + HCl 1%	Rata-rata (mg/L)
50%	3,312
70%	11,327
96%	26,022

Uji Antioksidan DPPH

Antioksidan berfungsi melindungi tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas dengan cara mendonorkan elektron, sehingga menetralkan radikal tersebut. Dalam penelitian ini, metode DPPH digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan ekstrak daun jati pada berbagai konsentrasi pelarut dengan vitamin C sebagai kontrol. Metode DPPH melibatkan reaksi antara molekul radikal bebas DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan senyawa antioksidan, yang menyebabkan perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning sehingga dalam pembacaan absorbansi terhadap perubahan warna dilakukan pada waktu tertentu yang memberikan kesempatan yang cukup untuk berlangsungnya reaksi antara DPPH dan senyawa antiradikal atau biasa disebut dengan waktu inkubasi yaitu selama 30 menit (Melannisa et al., 2011). Proses antioksidan DPPH pada daun jati (*Tectona grandis* linn.) terjadi karena senyawa antioksidan yang terdapat pada tumbuhan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme pendonoran atom hidrogen kepada DPPH yang bersifat diamagnetik karena adanya pasangan elektron (Aprilianingtyas & Haryoto, 2022).

Tabel 5. Klasifikasi Nilai IC₅₀

Aktivitas Antioksidan	Rentang Nilai IC ₅₀ (ppm)
Sangat Kuat	<50
Kuat	50–100
Sedang	100–150
Lemah	150-200

(Sari et al., 2023).

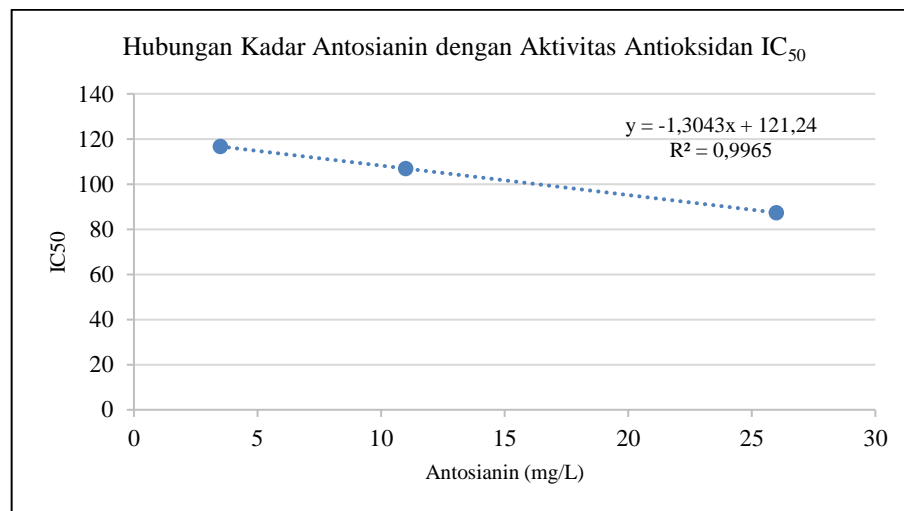
Tabel 6 menyajikan hasil uji IC₅₀ dari beberapa sampel ekstrak etanol daun jati yang diproses dengan berbagai pelarut (etanol 50%, 70%, dan 96%) yang ditambahkan HCl 1%, serta kontrol berupa vitamin C. Kategori aktivitas antioksidan setiap sampel didasarkan pada nilai IC₅₀ yang dihasilkan, dengan perbandingan terhadap kontrol vitamin C sebagai antioksidan standar.

Tabel 6. Hasil IC₅₀

Sampel	IC ₅₀ (ppm)	Kategori Aktivitas Antioksidan
Ekstrak Etanol 50% + HCl 1%	117,58	Sedang
Ekstrak Etanol 70% + HCl 1%	105,45	Sedang
Ekstrak Etanol 96 % + HCl 1%	87,66	Kuat
Kontrol Vitamin C	8,67	Sangat Kuat

Hubungan Antosianin dan Aktivitas Antioksidan

Gambar 2 menunjukkan hubungan antara kadar antosianin dalam sampel dan aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Hubungan ini penting untuk mengevaluasi seberapa besar kontribusi antosianin dalam meningkatkan aktivitas antioksidan ekstrak daun jati.



Gambar 2 Hubungan Antosianin dan Aktivitas Antioksidan

PEMBAHASAN

Ekstraksi

Dari hasil penelitian, setiap konsentrasi pelarut memberikan rendemen yang berbeda-beda. Pada pelarut etanol 50% menghasilkan rendemen sebesar 18,41%. Hasil ini menunjukkan bahwa pelarut etanol 50% cukup efisien dalam mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia daun jati. Sedangkan pada pelarut Etanol 70% menghasilkan rendemen sebesar 18,5%. Serta pada pelarut etanol 96% menghasilkan rendemen sebesar 14,05%.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa pelarut etanol 70% memberikan hasil yang lebih optimal dalam hal rendemen dibandingkan dengan pelarut lainnya yang menunjukkan bahwa konsentrasi ini mampu mengekstraksi senyawa aktif polar dan semi-polar secara optimal. Rendemen lebih rendah pada etanol 96% disebabkan oleh polaritas tinggi pelarut yang kurang efektif melarutkan senyawa semi-polar (Khasanah et al., 2014). Akan tetapi, semua ekstrak etanol dari sampel telah memenuhi syarat rendemen ekstrak yaitu rendemen >7,5% yang berarti ekstrak sudah baik dan layak untuk pengujian (Depkes RI, 2017).

Perolehan rendemen tertinggi pada ekstrak etanol 70%-HCl 1% dapat dijelaskan oleh beberapa faktor. Pertama, tingkat polaritas pelarut menjadi salah satu penentu penting. Etanol dengan konsentrasi lebih rendah, seperti 50% dan 70%, lebih efektif dalam mengekstraksi senyawa polar dan non-polar dari daun jati. Sebaliknya, pada etanol 96%, meskipun efisien untuk mengekstraksi senyawa polar, senyawa non-polar mungkin tidak terlarut sepenuhnya, sehingga rendemen yang diperoleh cenderung lebih rendah (Khasanah et al., 2014; Nasrullah et al., 2020). Kedua, efektivitas pelarut juga berperan penting. Pelarut dengan konsentrasi sedang, seperti etanol 70%, memberikan keseimbangan optimal antara ekstraksi senyawa polar dan non-polar, menghasilkan rendemen yang lebih tinggi (Nasrullah et al., 2020; Layalin, 2021). Terakhir, kondisi ekstraksi turut memengaruhi hasil. Proses maserasi yang dilakukan pada suhu kamar memungkinkan senyawa aktif terlarut secara perlahan. Namun, suhu yang relatif rendah dapat memperlambat proses ekstraksi, sehingga memengaruhi jumlah ekstrak yang diperoleh (Harjanti, 2016; Tambunan et al., 2021).

Uji Kualitatif Antosianin

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Berdasarkan hasil penelitian, pengamatan KLT pada sinar tampak menunjukkan bahwa bercak totonan ekstrak terlihat sangat jelas (Tabel 2). Setelah dielusi dan disemprot dengan $AlCl_3$, panjang lintasan dan noda masing-masing ekstrak tampak jelas. Namun, pada ekstrak etanol 50%-HCl 1%, lintasan elusi ekstrak tidak begitu jelas meskipun telah disemprot dengan $AlCl_3$. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan antosianin dalam ekstrak tersebut kemungkinan sangat sedikit.

Pada pengamatan di bawah sinar UV 254 nm, totonan ekstrak tampak sangat jelas. Setelah dielusi dan disemprot dengan $AlCl_3$, panjang lintasan dan noda dari masing-masing ekstrak menjadi lebih jelas (Tabel 2). Hal ini disebabkan oleh reaksi antara gugus hidroksil flavonoid dengan $AlCl_3$, yang membentuk kompleks antara gugus hidroksil dan kation atau gugus hidroksoksi (Bachtiar et al., 2023). Dengan demikian, setelah disemprot dengan $AlCl_3$, lintasan elusi ekstrak menjadi lebih mudah diamati, dan salah satu noda pada setiap ekstrak sejajar dengan kontrol pembanding kuersetin. Hal ini mengonfirmasi bahwa ekstrak tersebut mengandung

kuersetin, yang termasuk dalam golongan flavonoid dan diketahui memiliki sifat antosianin.

Pada pengamatan di bawah sinar UV 366 nm, bercak noda sebelum dan sesudah dielusi pada semua ekstrak tidak begitu terlihat. Namun, setelah disemprot dengan $AlCl_3$, muncul bercak merah kecokelatan yang sangat tipis pada semua ekstrak (Tabel 2). Hal ini menandakan adanya antosianin dalam ekstrak tersebut (Richart et al., 2023).

Uji Fitokimia Antosianin

Berdasarkan hasil penelitian, setelah penambahan HCl 2M didapatkan warna merah yang tidak pudar dan pekat pada semua sampel ekstrak (

Gambar 1). Warna merah yang didapatkan disebabkan karena sktruktur antosianin stabil dalam bentuk flavylium cation yang memberikan warna merah serta ion H^+ dari HCl (asam) akan memperkuat struktur cincin flavonoid pada antosianin. Sedangkan setelah ditetaskan NaOH 2M semua ekstak berubah menjadi hijau biru kemudian memudar perlahan. Hal ini karena ion OH^- dari NaOH 2M menyebabkan antosianin mengalami deprotonasi, menghasilkan warna hijau biru. Warna ini memudar seiring waktu karena struktur antosianin menjadi tidak stabil pada pH tinggi dan mengalami degradasi (Khasanah et al., 2014). Dengan demikian, semua ekstrak terkonfirmasi positif mengandung antosianin.

Uji Kuantitatif Antosianin

Penelitian ini menunjukkan bahwa antosianin dalam sampel memiliki panjang gelombang maksimal pada 501 nm, yang mengindikasikan bahwa senyawa tersebut termasuk dalam golongan flavonoid sianidin (Tabel 3). Flavonoid sianidin memiliki struktur dasar flavylium kation yang mampu menyerap cahaya pada panjang gelombang sekitar 506 nm dan menghasilkan warna oranye-merah (Priska et al., 2018).

Berdasarkan hasil analisis, kadar antosianin total bervariasi sesuai dengan jenis pelarut yang digunakan. Penggunaan etanol 50% menghasilkan kadar antosianin rata-rata sebesar 3,312 mg/L, menunjukkan bahwa pelarut ini cukup efektif untuk mengekstraksi antosianin namun kurang optimal untuk senyawa polar. Pada penggunaan etanol 70%, kadar antosianin yang dihasilkan lebih tinggi, yaitu 11,327 mg/L. Hal ini disebabkan oleh polaritas sedang etanol 70% yang mendukung keseimbangan ekstraksi antosianin tanpa menyebabkan degradasi. Pelarut etanol 96% menghasilkan kadar antosianin tertinggi, yaitu 26,022 mg/L, yang menunjukkan bahwa etanol dengan konsentrasi tinggi lebih efektif untuk mengekstraksi antosianin. Polaritas tinggi pada etanol 96% memungkinkan interaksi yang lebih optimal dengan senyawa polar seperti antosianin dibandingkan pelarut dengan konsentrasi lebih rendah (Kasim et al., 2024).

Uji Antioksidan DPPH

Berdasarkan penelitian, diperoleh panjang gelombang maksimal DPPH sebesar 516,2 nm dengan absorbansi blanko 0,806. Hal ini sudah sesuai dengan panjang gelombang karakteristik DPPH dalam yaitu 515–520 nm yang menunjukkan bahwa pengukuran berada dalam rentang yang valid untuk analisis aktivitas antioksidan (Almajid et al., 2021). Setelah didapatkan hasil penelitian berupa absorbansi sampel dihitung %Inhibisi dan IC_{50} dari masing-masing sampel untuk dikategorikan aktivitas antioksidannya.

Pada penelitian, kontrol positif yang dapat digunakan untuk antioksidan adalah vitamin C karena dapat mencegah efek negatif dari radikal bebas dengan mendonorkan elektron dengan hasil IC_{50} nya sebesar 8,67 ppm (Tabel 6) yang masuk dalam kategori antioksidan sangat kuat (Fitriani et al., 2019). Pada ekstrak dengan pelarut etanol 50% + HCl 1% memiliki nilai IC_{50} sebesar 117,58ppm dan pada ekstrak dengan pelarut etanol 70% + HCl 1% memiliki nilai IC_{50} sebesar 105,45 ppm yang masuk dalam kategori sedang, menunjukkan bahwa meskipun etanol 50% cukup efektif untuk mengekstraksi senyawa aktif, tetapi efisiensinya lebih rendah dibandingkan dengan etanol 70% karena polaritasnya yang lebih rendah (Insyiah & Affanti, 2022). Sedangkan pada ekstrak dengan pelarut etanol 96%+HCl 1% menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 87,66 ppm (Tabel 6) yang termasuk dalam kategori antioksidan kuat, menunjukkan bahwa memberikan keseimbangan polaritas yang ideal untuk mengekstraksi senyawa antioksidan, termasuk antosianin dan senyawa fenolik lainnya, yang berkontribusi pada aktivitas antioksidan tinggi (Harjanti, 2016).

Dengan demikian, aktivitas antioksidan tertinggi dari sampel diperoleh pada ekstrak etanol 96%+HCl 1% dengan perolehan IC_{50} 87,66 ppm yang termasuk dalam kategori antioksidan kuat.

Hubungan Antosianin dan Aktivitas Antioksidan

Penelitian ini menunjukkan hubungan yang signifikan ($R^2=0,9965$) antara kandungan antosianin dan aktivitas antioksidan ekstrak daun jati (Gambar 2). Hasil analisis mengungkapkan bahwa ekstrak dengan kadar antosianin tertinggi memiliki nilai IC_{50} terendah, menunjukkan kemampuan antioksidan yang lebih baik pada ekstrak etanol 96%+HCl 1%. Hal ini sejalan dengan teori bahwa antosianin sebagai salah satu senyawa fenolik, memiliki struktur kimia yang memungkinkan donasi elektron atau hidrogen untuk menetralkan radikal bebas atau semakin banyak gugus hidroksi fenolik akan semakin meningkatkan fungsi antioksidannya (Priska et al., 2018).

Hubungan positif antara kandungan antosianin dan aktivitas antioksidan ini mendukung potensi antosianin tidak hanya sebagai pewarna alami, tetapi juga sebagai agen antioksidan yang signifikan. Potensi ini membuka peluang untuk mengembangkan ekstrak daun jati sebagai sumber alami antioksidan yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai aplikasi, seperti farmasi, kosmetik, dan makanan. Dengan pertimbangan efektivitas dan stabilitas, ekstrak dengan pelarut etanol 96% + HCl 1% menjadi pilihan terbaik untuk pengembangan lebih lanjut.

SIMPULAN

Uji analisis kualitatif antosianin dengan KLT dan uji fitokimia antosianin mengkonfirmasi adanya antosianin pada masing-masing sampel. Kadar antosianin tertinggi diperoleh pada ekstrak etanol 96%+ HCl 1% (26,022 mg/L). Aktivitas antioksidan kuat dihasilkan dari ekstrak dengan pelarut etanol 96%+HCl 1% dengan nilai IC_{50} sebesar 87,66 ppm. Terdapat hubungan linier antara aktivitas antioksidan dan kadar antosianin, semakin tinggi etanol pada pelarut semakin dapat mengekstraksi antosianin dan antioksidan pada sampel daun jati yang ditunjukkan. Penelitian ini menunjukkan bahwa daun jati muda memiliki potensi besar sebagai sumber pewarna alami yang ramah lingkungan dan antioksidan yang aman.

DAFTAR PUSTAKA

- Almajid, G. A. A., Rusli, R., & Priastomo, M. (2021). Pengaruh pelarut, suhu, dan pH terhadap pigmen antosianin dari ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 14, 179–185.
- Aprilianingtyas, T., & Haryoto. (2022). Aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol herba gelang biasa (*Portulaca oleracea L.*) dengan metode DPPH, FRAP, dan Cuprac. *Usadha: Journal of Pharmacy*, 1(3), 364–374.
- Asdaq, S. M. B., Rabbani, S. I., Alshammari, M. K., Alshammari, R. S., Kamal, M., Imran, M., AlShammari, N. A., Al Twallah, M. F., & Alshahrani, A. H. (2022). Burden of COVID-19: A preliminary analysis in the population of Saudi Arabia. *PeerJ*, 10, e13219. <https://doi.org/10.7717/peerj.13219>
- Bachtiar, A. R. (2023). Penetapan kadar flavonoid total buah *Dillenia serrata* menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. *Makassar Natural Product*

- Journal*, 1(2), 86–101. Dikutip dari <https://journal.farmasi.umi.ac.id/index.php/mnpj/article/view/36>
- Damayanti, A., Megawati, M., Mulyani, N. K. C., & Alvionita, E. A. (2020). Pengaruh perbedaan pelarut asam pada ekstraksi antosianin bunga dadap merah (*Erythrina crista-galli*) dengan metode microwave-assisted extraction. *Journal of Chemical Process Engineering*, 5(1), 33-39. Dikutip dari <https://jurnal.fti.umi.ac.id/index.php/JCPE/article/download/856/222>
- Depkes RI. (2017). *Farmakope Indonesia edisi II*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Fitriyani, N., Herman, H., & Rijai, L. (2019). Antioksidan ekstrak daun sumpit (*Brucea javanica* (L. Merr) dengan metode DPPH. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 2(1), 57–62. <https://doi.org/10.25026/jsk.v2i1.116>
- Godghate, A., & Sawant, R. (2014). Phytochemical analysis of leaves of *Tectona grandis* Linn. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 5(1), 355–359. Dikutip dari https://www.researchgate.net/publication/279534517_Phytochemical_analysis_of_leaves_of_tectona_grandis_linn
- Handayani, R., & Larasati, H. Y. (2018). Identifikasi pewarna sintesis pada produk olahan bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dengan metode kromatografi lapis tipis. *Anterior Jurnal*, 17(2), 130–135.
- Harjanti, R. S. (2016). Optimasi pengambilan antosianin dari kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) sebagai pewarna alami pada makanan. *Chemica: Jurnal Teknik Kimia*, 3(2), 39–45.
- Insyiah, T. W. A., & Affanti, T. B. (2022). Pemanfaatan daun jati, daun jarak wulung dan daun marenggo sebagai ide penciptaan warna dan motif selendang. *Suluh: Jurnal Seni Desain Budaya*, 5(1), 28–40.
- Kasim, M., Fitriyana, & Kusumattaqin, F. (2024). Formulasi sediaan lipstik menggunakan pewarna alami ekstrak daun jati muda (*Tectona grandis* L.F.). *Jurnal Ilmiah Sains dan Teknologi*, 2(8), 117–124.
- Khasanah, L. U. R., Utami, B. K., Ananditho, & Nugraheni, A. E. (2014). Pengaruh penambahan oleoresin 0,1% pendahuluan fermentasi padat dan fermentasi cair terhadap rendemen dan karakteristik mutu minyak atsiri daun kayu manis. *Jurnal Agritech*, 34(1), 36-41.
- Khasanah, L. U., Fathinatullabibah, & Kawiji. (2014). Stabilitas antosianin ekstrak daun jati (*Tectona grandis*) terhadap perlakuan pH dan suhu. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 3(2), 60–63.
- Koswara, S. (2009). *Seri teknologi pangan populer (teori dan praktek): Teknologi pengolahan roti*. e-BookPangan.com.
- Layalin, A. Y. A. (2021). Skrining dan evaluasi serbuk senyawa antosianin pada daun jati belanda dan kulit batang jamblang sebagai pewarna alami makanan secara kromatografi lapis tipis. *Karya Tulis Ilmiah*, 1–47.
- Melannisa, R., K, I. T. D., Suhendi, A., Da, M., Ilham, A., & Atmaja, K. (2011). Uji aktivitas antioksidan ekstrak buah *Psidium guajava* L., *Melaleuca leucadendron* L., *Capsicum frutescens* L., dan *Anethum graveolens* L.

- dengan metode DPPH beserta penetapan kadar fenolik totalnya. *PHARMACON*, 12(2), 60–64.
- Muhsin, L. B., & Pratiwi, B. Y. H. (2023). Perbandingan efektivitas ekstrak daun gamal (*Gliricidia sepium*) dengan pelarut etanol dan metanol sebagai insektisida alami. *JKIC*, 4(2), 215-224. Dikutip dari <https://celebica.uho.ac.id/index.php/journal/article/download/42/33/286>
- Priska, M., Peni, N., Carvallo, L., & Ngapa, Y. D. (2018). Review: Antosianin dan pemanfaatannya. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*, 6(2), 79–97.
- Richart, J. E., Salempa, P., & Faika, S. (2023). Analisis kadar antosianin pada daun miana (*Lamiaceae*). *Jurnal Chemica*, 24(1), 40–52.
- Safitriyani, R. E. N. (2022). *Uji aktivitas antioksidan dengan metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) ekstrak asetone dan butanol daun jati (Tectona grandis)*. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Gombong.
- Sari, D., Zurmansyah, E., Hamdi, & Kristiandi, K. (2023). Analisis antioksidan, total asam, total padatan terlarut, dan viskositas pada minuman sirup jeruk siam (*Citrus nobilis var. microcarpa*). *J Food Secur Agroindustry*, 1(1), 12–17.
- Silaturahmi, A., Wiraningtyas, A., & Ruslan, R. (2021). Ekstraksi zat warna dari daun jati muda (*Tectona grandis Linn. F.*) dan aplikasinya pada benang tenunan Bima. *Jurnal Redoks: Jurnal Pendidikan Kimia dan Ilmu Kimia*, 4(1), 1–9. <https://doi.org/10.33627/re.v4i1.512>
- Suryanti, V., Kusumaningsih, T., Marliyana, S. D., & Setyono, H. A. (2020). Identification of active compounds and antioxidant activity of teak (*Tectona grandis*) leaves. *Biodiversitas*, 21(3), 946–952. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210313>
- Tambunan, M. P. M., Ginting, Z., & Nurlaila, R. (2021). Pengaruh suhu dan waktu hidrolisis terhadap kadar glukosa dalam pembuatan sirup glukosa dari biji alpukat dengan metode hidrolisis asam. *Chemical Engineering Journal Storage*, 1(3), 17–26.