



Pengaruh Metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) terhadap Kadar Antosianin dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jagung Hitam (*Zea mays* L.)

Christy Natalia Limbu Datu^{1*}, Danang Raharjo², Bangkit Riska Permata³

¹⁻³ Universitas Duta Bangsa Surakarta, Indonesia

christynataliaa2727@gmail.com¹, danang_raharjo@udb.ac.id², bangkit_riskapermata@udb.ac.id³

*Penulis Korespondensi: christynataliaa2727@gmail.com

Abstract. *This study aims to comprehensively evaluate the effect of the Ultrasound Assisted Extraction (UAE) method on anthocyanin content and antioxidant activity of black corn (*Zea mays* L.) extract as a source of natural bioactive compounds. The method employed was a laboratory experimental design involving extraction using 70% ethanol acidified with 1% HCl at a material-to-solvent ratio of 1:15 (b/v), with an ultrasonic frequency of 42 kHz for 30 minutes under controlled conditions. Total anthocyanin content was determined using the pH differential method, while antioxidant activity was analyzed using the ABTS method to determine the IC₅₀ value. The results showed that the extract yield obtained was 18.61%, indicating efficient extraction performance. The total anthocyanin content was recorded at 331.06 mg/100 g sample, while the antioxidant activity (IC₅₀) value was 61.47 ppm, which falls into the strong activity category. Phytochemical screening confirmed the presence of flavonoids, anthocyanins, tannins, saponins, alkaloids, and triterpenoids contributing to the antioxidant activity of the extract. Overall, these findings demonstrate that the UAE method is effective in enhancing extraction efficiency and extract quality. This study supports the utilization of black corn as a natural antioxidant source and a potential raw material for the development of functional foods and plant-based health products.*

Keywords: *Anthocyanins; Antioxidant Activity; Black Corn; Functional Food; Ultrasonic-Assisted Extraction.*

Abstrak. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi secara komprehensif pengaruh metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) terhadap kadar antosianin dan aktivitas antioksidan ekstrak jagung hitam (*Zea mays* L.) sebagai sumber senyawa bioaktif alami. Metode yang digunakan adalah eksperimen laboratorium dengan proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% yang diasamkan dengan HCl 1% pada rasio bahan terhadap pelarut 1:15 (b/v), frekuensi ultrasonik 42 kHz selama 30 menit pada kondisi terkendali. Penetapan kadar total antosianin dilakukan menggunakan metode diferensial pH, sedangkan aktivitas antioksidan dianalisis dengan metode ABTS untuk menentukan nilai IC₅₀. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rendemen ekstrak yang diperoleh sebesar 18,61%, yang mengindikasikan efisiensi proses ekstraksi. Kadar total antosianin tercatat sebesar 331,06 mg/100 g sampel, sementara nilai aktivitas antioksidan (IC₅₀) sebesar 61,47 ppm yang termasuk kategori aktivitas kuat. Skrining fitokimia mengonfirmasi keberadaan senyawa flavonoid, antosianin, tanin, saponin, alkaloid, dan triterpenoid yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak. Secara keseluruhan, temuan ini menunjukkan bahwa metode UAE efektif dalam meningkatkan efisiensi ekstraksi dan kualitas ekstrak. Penelitian ini mendukung pemanfaatan jagung hitam sebagai sumber antioksidan alami serta bahan baku potensial dalam pengembangan pangan fungsional dan produk kesehatan berbasis nabati.

Kata Kunci: *Aktivitas Antioksidan; Antosianin; Jagung Hitam; Pangan Fungsional; Ultrasound Assisted Extraction.*

1. LATAR BELAKANG

Peningkatan kesadaran masyarakat mengenai kesehatan mendorong pergeseran konsumsi pangan dari sekadar pemenuhan nutrisi menuju pangan fungsional yang memiliki manfaat fisiologis tambahan (Granato et al., 2020). Indonesia memiliki berbagai sumber pangan yang berpotensi dikembangkan sebagai pangan fungsional, salah satunya adalah tanaman jagung (Khoerunisa, 2020). Salah satu jenis jagung yang telah dikembangkan yaitu jagung hitam (*Zea mays* L.) (Berutu et al., 2019). Jagung hitam memiliki kandungan kimia dan nutrisi yang tinggi, seperti protein, serat, dan karbohidrat. Kandungan senyawa bioaktifnya,

terutama antosianin dan fenolik total, berperan penting dalam memberikan aktivitas antioksidan yang cukup tinggi (Sanchez-Nuno et al., 2024).

Menurut Balai Penelitian Tanaman Serelia (2017) dalam Veriska et al. (2022) kandungan antosianin pada jagung hitam juga berperan sebagai antioksidan alami dan melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas. Jagung hitam memiliki banyak manfaat bagi kesehatan, seperti membantu menurunkan kadar gula darah, meningkatkan sistem kekebalan tubuh, serta mengurangi tekanan darah dan kadar kolesterol.

Proses ekstraksi merupakan salah satu tahap penting untuk mengisolasi, mengidentifikasi dan memanfaatkan pigmen tumbuhan secara maksimal oleh karena itu diperlukan proses ekstraksi yang tepat (Amogne et al., 2020). Kestabilan antosianin bergantung pada, Cahaya, pH, oksigen dan suhu karena memiliki kestabilan yang rendah (Alvionita et al., 2016). Metode ekstraksi konvensional seperti maserasi, soxhletasi, dan refluks masih sering dipakai untuk mengekstraksi senyawa fenolik seperti antosianin, tetapi terbukti memiliki beberapa keterbatasan penting. Metode-metode konvensional tersebut cenderung membutuhkan waktu ekstraksi yang relatif lama, penggunaan pelarut dalam jumlah besar, dan kondisi suhu tinggi yang berpotensi menyebabkan degradasi antosianin yang termolabil, sehingga menurunkan rendemen dan stabilitas senyawa yang diperoleh (Laskhmikhantan et al., 2024).

Seiring perkembangan teknologi ekstraksi, berbagai metode non-konvensional telah dikembangkan untuk meningkatkan efisiensi dan kualitas ekstrak, salah satunya adalah *Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE)* untuk meningkatkan efisiensi proses dengan waktu lebih singkat, konsumsi energi lebih rendah, serta mampu menghasilkan ekstrak dengan kandungan senyawa bioaktif yang lebih banyak (Amri Aji, 2024). Metode *Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE)* memanfaatkan gelombang ultrasonik yang meningkatkan permeabilitas dinding sel tanaman serta menghasilkan efek kavitasi, sehingga mempercepat perpindahan massa dan mempermudah pelarut menembus jaringan tanaman. Dengan demikian, ekstraksi senyawa aktif seperti antosianin dapat berlangsung lebih efektif dan efisien. Efektivitas metode *Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE)* sendiri dipengaruhi oleh beberapa parameter penting, antara lain waktu, suhu, intensitas ultrasonik, dan konsentrasi pelarut (Chemat et al., 2020; Tryastuti et al., 2025).

Berdasarkan hal tersebut, penelitian mengenai pengaruh penerapan metode *Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE)* terhadap kadar antosianin dan aktivitas antioksidan ekstrak Jagung hitam (*Zea mays L.*) perlu dilakukan. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah dalam pengembangan metode ekstraksi yang lebih efisien dan optimal, sekaligus mendukung peningkatan nilai tambah jagung hitam sebagai sumber antioksidan alami.

2. KAJIAN TEORITIS

Jagung Hitam

Klasifikasi



Gambar 1. Jagung Hitam (*Zea mays L.*) varietas *black Aztec*.

Menurut Rukmana (2010) dalam Tambunan (2020), Klasifikasi jagung hitam adalah sebagai berikut:

- Kingdom : *Plantae*
 Divisi : *Spermatophyta*
 Sub Divisi : *Angiospermae*
 Kelas : *monocotyledoneae*
 Ordo : *Graminales*
 Famili : *Graminae*
 Genus : *Zea*
 Spesies : *Zea mays L*
 Varietas : *Black Aztec*

Diketahui bahwa jagung hitam memiliki kandungan senyawa bioaktif yang tinggi terutama pada kandungan fenolik, antosianin dan karotenoid yang berperan penting sebagai antioksidan alami. Menurut Hu et al. (2020), jagung hitam memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi karena akumulasi berbagai senyawa bioaktif selama perkembangan bijinya. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa antosianin sebagai pigmen utama pada jagung hitam meningkat seiring pematangan biji dan berperan sebagai antioksidan kuat dalam menangkap radikal bebas. Selain antosianin, jagung hitam juga mengalami peningkatan kandungan vitamin C, vitamin E, dan senyawa fenolik lainnya yang turut memberikan kontribusi terhadap kapasitas antioksidan total. Kombinasi berbagai komponen tersebut menjadikan jagung hitam sebagai sumber antioksidan alami. Kombinasi kandungan antosianin, fenolik, flavonoid, karotenoid, dan vitamin menjadikan jagung hitam sebagai sumber potensial senyawa bioaktif untuk pengembangan pangan fungsional serta peningkatan kesehatan manusia.

Antosianin

Antosianin adalah kelompok pigmen yang bisa larut dalam air dan sering ditemukan pada tanaman, selain klorofil. Antosianin merupakan senyawa alami yang memberikan warna merah, biru, atau ungu pada buah, sayuran, bunga, serta tumbuhan lainnya (Kurniawan, 2023). Antosianin termasuk dalam metabolit sekunder dari kelompok flavonoid (polifenol). Sampai saat ini sudah ditemukan lebih dari 550 jenis antosianin, dengan sekitar 90% dari jumlah tersebut berasal dari enam jenis utama, yaitu cyanidin, peonidin, pelargonidin, malvidin, delphinidin dan petunidin. Senyawa ini biasanya terikat dengan monosakarida atau disakarida untuk membentuk glikosida dan memiliki struktur kerangka karbon khas C₆-C₃-C₆ yang dimiliki oleh flavonoid. Perbedaan warna antosianin di alam terjadi karena variasi dari gugus hidroksil dan metoksil pada cincin aromatiknya (Liu et al., 2021). Berdasarkan penelitian Blanch & Castillo (2021) varietas *black corn* mengandung total fenolik sebesar $\pm 305,3$ mg GAE/100 g dan total antosianin mencapai ± 381 mg cyanidin-3-O-glucoside/100 g.

Antioksidan

Secara biologis, antosianin memiliki aktivitas antioksidan yang bekerja melalui mekanisme donasi atom hidrogen atau elektron untuk menetralkan radikal bebas, menghambat reaksi oksidasi berantai, serta mengkelat ion logam yang bersifat prooksidan. Antioksidan memiliki peran penting dalam menjaga kesehatan tubuh. menurut Harap (2016) dalam Fortin et al. (2021) antioksidan merupakan senyawa yang termasuk dalam golongan fenolik dan flavonoid, yang memiliki kemampuan untuk menetralkan radikal bebas serta menghambat proses oksidasi dalam sel, sehingga dapat mencegah atau mengurangi kerusakan sel yang ditimbulkannya. Akumulasi radikal bebas yang tidak terkendali dapat menyebabkan stres oksidatif dan kerusakan sel, sehingga berkontribusi terhadap peningkatan risiko berbagai penyakit kronis. Oleh karena itu, kandungan antosianin yang tinggi dalam suatu bahan umumnya berhubungan dengan meningkatnya aktivitas antioksidan. Beberapa penelitian melaporkan adanya korelasi positif antara kadar total antosianin dan kapasitas antioksidan ekstrak beras hitam yang dianalisis menggunakan metode DPPH, ABTS, maupun FRAP (Sompong et al., 2011; Chen et al., 2019; Zhang et al., 2022). Namun demikian, aktivitas antioksidan tidak hanya dipengaruhi oleh antosianin, tetapi juga oleh keberadaan senyawa fenolik lain yang dapat bekerja secara sinergis (Khoo et al., 2017).

Keberhasilan pemanfaatan antosianin sangat dipengaruhi oleh metode ekstraksi yang digunakan. Ekstraksi merupakan proses perpindahan senyawa bioaktif dari matriks bahan ke dalam pelarut akibat adanya perbedaan konsentrasi. Metode ekstraksi konvensional seperti maserasi dan refluks umumnya memerlukan waktu ekstraksi yang relatif lama serta

penggunaan pelarut dalam jumlah besar. Selain itu, paparan suhu tinggi dalam waktu yang lama berpotensi menyebabkan degradasi senyawa yang bersifat termolabil, termasuk antosianin. Beberapa penelitian melaporkan bahwa kondisi ekstraksi yang tidak optimal dapat menurunkan kadar total antosianin serta aktivitas antioksidan ekstrak yang dihasilkan (Azmir et al., 2013; Chemat et al., 2017; Tena & Asuero, 2022).

Ultrasound Assisted Extraction

Sebagai alternatif metode ekstraksi non-konvensional seperti *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE) dikembangkan untuk meningkatkan efisiensi dan kualitas ekstraksi. Ekstraksi dengan bantuan ultrasonik berkerja dengan cara kavitas akustik, yaitu fenomena yang terjadi ketika gelombang ultrasonik dengan frekuensi tinggi berada di dalam media cair. Gelombang ini menghasilkan gelembung-gelembung mikro kemudian pecah dengan kuat dan menciptakan suhu dan tekanan yang sangat tinggi. Proses ini menyebabkan dinding sel dari bahan tanaman pecah, memperluas luas permukaan kontak antara bahan dan pelarut, serta mempercepat difusi senyawa bioaktif ke dalam pelarut. sehingga senyawa bioaktif seperti polifenol, flavonoid dan kartenoid bisa dilepaskan secara lebih efisien. Metode *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE) berpotensi meningkatkan rendemen ekstraksi dan kadar senyawa aktif dalam waktu yang lebih singkat dibandingkan metode konvensional. Proses ini juga mempercepat waktu pemrosesan dan tetap menjaga kualitas tinggi dari ekstrak yang dihasilkan (Shen et al., 2023).

Hingga saat ini, penelitian terkait pengaruh metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) terhadap ekstraksi antosianin dari jagung hitam masih menunjukkan hasil yang beragam. Variasi tersebut terutama berkaitan dengan pengaruh parameter ekstraksi terhadap stabilitas dan bioaktivitas senyawa antosianin yang dihasilkan. Selain itu, kajian yang secara bersamaan mengevaluasi kadar antosianin dan aktivitas antioksidan sebagai indikator mutu ekstrak masih relatif terbatas. Berbagai penelitian pada bahan tanaman kaya fenolik menunjukkan bahwa penerapan *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE) dapat meningkatkan kadar total fenolik dan aktivitas antioksidan secara signifikan.

Penelitian Nurkhasanah et al. (2023). menunjukkan bahwa optimasi ekstrak jagung hitam (*Zea mays* L.) dengan metode *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE) dapat menghasilkan kondisi terbaik untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi antosianin dari jagung hitam pada konsentrasi etanol 70% (v/v), suhu 45°C dan lama ekstraksi selama 30 menit. Hasil ini menegaskan bahwa metode *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE) dapat digunakan sebagai metode yang efisien.

Berdasarkan teori mengenai stabilitas antosianin, mekanisme kavitasi pada *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE) , serta hubungan antara kadar antosianin dan aktivitas antioksidan, dapat diasumsikan bahwa penerapan metode Ultrasonic-Assisted Extraction dengan kondisi yang terkontrol berpotensi meningkatkan kadar antosianin dan aktivitas antioksidan ekstrak beras hitam. Dengan demikian, penelitian ini memiliki landasan teoritis dan empiris yang kuat untuk dilakukan guna mengevaluasi pengaruh metode *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE) terhadap kualitas ekstrak jagung hitam (*Zea mays L.*)

3. METODE PENELITIAN

Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *eksperimental laboratorium*. Tahapan penelitian dimulai dari determinasi tanaman, pengambilan sampel, pembuatan simplisia, pembuatan ekstrak, skrining fitokimia, uji kadar antosianin, uji kadar antioksidan, dan analisis data.

Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain adalah blender, ayakan no 40, oven (binder), neraca analitik (fujitsu), waterbath (faithful), *ultrahomogenizer* (FJ200-SH), spektrofotometri UV-Vis, *Software Design Expert* 13.

b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah beras hitam, etanol teknis, metanol p.a (Emsure), bahan ABTS (Sigma Aldrich), quersetin (Sigma Aldrich), akuades, n-butanol, serbuk Mg natrium astat (Emsure).

Ekstraksi Ultrasonic Assisted Extraction (UAE)

Sebanyak 10 g serbuk jagung hitam (*Zea mays L.*) dimasukkan ke dalam erlenmeyer/wadah ekstraksi tertutup, kemudian ditambahkan pelarut etanol 70% yang diasamkan dengan HCl 1% dengan rasio 1:15 (b/v). Campuran dihomogenkan hingga seluruh sampel terbasahi merata, lalu dilakukan ekstraksi menggunakan ultrasonic bath pada frekuensi 42 kHz selama 30 menit. Setelah ekstraksi selesai, campuran disaring menggunakan kertas saring/filtrasi vakum untuk memisahkan filtrat dari residu. Filtrat yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan (bila diperlukan) dikentalkan menggunakan rotary evaporator pada suhu rendah hingga diperoleh ekstrak pekat.

Skrining Fitokimia

a. Identifikasi Alkaloid

Ekstrak jagung hitam (*Zea mays* L.) dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi masing masing 1 ml, kemudian ditambahkan 0,1 ml asam klorida 2N, lalu pada tabung pertama tambahkan 2 tetes pereaksi mayer, tabung kedua tambahkan 2 tetes pereaksi dragendroff, dan tabung ketiga ditambahkan pereaksi wagner. Hasil uji positif diperoleh jika pada tabung pertama terbentuk endapan putih, pada tabung kedua terbentuk endapan jingga atau coklat, dan pada tabung ketiga terdapat endapan coklat (Tulnisa et al., 2025).

b. Identifikasi Flavonoid

Ekstrak jagung hitam (*Zea mays* L.) sebanyak 1 ml dipipet, lalu tambahkan 6 tetes HCL pekat dan 0,1 g bubuk magnesium, lalu dikocok perlahan. Jika muncul warna merah, jingga, dan hijau menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Tulnisa et al., 2025).

c. Identifikasi Antosianin

Ekstrak jagung hitam (*Zea mays* L.) dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi masing masing 1 ml, lalu pada tabung pertama ekstrak beras hitam ditambahkan dengan HCl 2M. Pada tabung kedua tambahkan NaOH 2M tetes demi tetes. Hasil uji positif diperoleh jika pada tabung pertama terbentuk warna merah tetap maka menunjukkan adanya antosianin. Pada tabung kedua terjadi perubahan warna merah menjadi hijau biru hingga perlahan memudar maka menunjukkan adanya antosianin (Febriani et al., 2021).

d. Identifikasi Tanin

Ekstrak jagung hitam (*Zea mays* L.) sebanyak 1 ml dipipet, ditambahkan 0,5 ml larutan FeCl_3 5%. Jika terbentuk warna hijau kehitaman dan biru tua berarti mengandung tanin (Tulnisa et al., 2025).

e. Identifikasi Saponin

Ekstrak jagung hitam (*Zea mays* L.) sebanyak 1 ml dipipet, ditambahkan 5 ml air panas, kemudian dikocok selama 1 menit dan ditambahkan 0,1 ml HCL 2N. Jika terbentuk busa yang stabil (30 detik) menunjukkan positif mengandung saponin (Tulnisa et al., 2025).

f. Identifikasi Steroid dan Triterpenoid

Ekstrak jagung hitam (*Zea mays* L.) sebanyak 3 ml dipipet, ditambahkan 0,5 ml Lieberman Burchard. Reaksi positif jika terbentuk warna coklat kemerahan atau ungu menunjukkan adanya terpenoid dan reaksi positif jika terbentuk warna biru atau hijau menunjukkan adanya steroid (Tulnisa et al., 2025).

Penetapan Kadar Antosianin

Kadar antosianin total ditentukan menggunakan metode diferensial pH dengan prinsip perbedaan stabilitas antosianin pada pH 1,0 dan pH 4,5. Larutan ekstrak sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam 2 vial, masing-masing ditambahkan 4 mL buffer KCl pH 1,0 dan 4 mL buffer Na-asetat pH 4,5 hingga absorbansi berada pada rentang pembacaan instrumen. Absorbansi masing-masing larutan diukur pada 520 nm dan 700 nm. Nilai absorbansi bersih dihitung dengan rumus (Fauziah, 2024).

$$A = \{(A^{520} - A^{700}) \text{ Ph } 1,0 - (A^{520} - A^{700}) \text{ Ph } 4,5\}$$

Kadar Total Antosianin

$$\text{Kadar Antosianin Total} = \frac{A \times \text{MW} \times \text{DF} \times V \times 100}{\epsilon \times I \times W}$$

Keterangan:

A : nilai absorbansi sampel

BM : bobot molekul sianidin-3-O-glukosida (449,2 g/mol)

DF : faktor pengenceran

W : berat ekstrak (g)

100 : faktor konversi perhitungan dalam mg/100g sampel

ϵ : absortivitas molar sianidin-3-O-glukosida (26.900 L/mol cm)

I : lebar kuvet (1 cm)

Penetapan Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ditentukan menggunakan metode ABTS berdasarkan kemampuan sampel mereduksi radikal kation ABTS. Larutan Radikal ABTS dibuat dengan mereaksikan 5 mL larutan ABTS (7 mM) dengan 5 mL $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (2,45 mM) dan diinkubasi dalam kondisi gelap selama 12–16 jam pada suhu ruang hingga terbentuk warna hijau kebiruan stabil. Larutan radikal kemudian diencerkan dengan etanol atau buffer fosfat hingga mencapai absorbansi sekitar $0,70 \pm 0,02$ pada 734 nm. Sebanyak 0,1 mL sampel ekstrak (konsentrasi 60, 70, 80, 90 dan 100 ppm), kemudian dicampur dengan 2 mL larutan ABTS•+ dan diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap. Absorbansi diukur pada 734 nm. Sebagai pembanding menggunakan kuersetin (10, 20, 30, 40 dan 50 ppm) (Raharjo, 2023). Persentase inhibisi dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blangko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blangko}} \times 100\%$$

Nilai IC₅₀ dapat ditentukan dari kurva hubungan konsentrasi ekstrak terhadap % inhibisi.

Persamaan Kurva Regresi Linier

$$y = bx + a$$

Keterangan:

y= absorbansi (50)

x= konsentrasi sampel

a= titik potong pada kurva sumbu y

b= kemiringan kurva

Analisis Statistik

Data kadar antosianin total dan aktivitas antioksidan (ABTS) yang diperoleh dari setiap pengulangan dianalisis secara kuantitatif dan disajikan dalam bentuk rata-rata (mean) ± standar deviasi (SD).

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi

Determinasi terhadap sampel jagung hitam yang diperoleh dari desa Jogonalan, kabupaten Klaten, Jawa Tengah. Determinasi dilakukan dengan tujuan untuk mengidentifikasi jenis dan nama spesifik tanaman agar terhindar dari kesalahan pengambilan sampel dan tercampurnya sampel dengan tumbuhan lain. Determinasi sampel dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT), Tawangmangu. Berdasarkan hasil determinasi dengan nomor TL.02.04/D.XI.6/34484.950/2025 sampel yang digunakan adalah benar jagung hitam (*Zea mays* L.) dari famili *poaceae*.

Pembuatan Serbuk Simplisia

Setelah dilakukan pengumpulan sampel jagung hitam (*Zea mays* L.) sebanyak 2,5 Kg sampel kemudian dipisahkan dari kotoran yang tersangkut dan dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan residu-residu kotoran yang tersisa lalu dipilah sampel yang memiliki kondisi yang baik. Sampel yang sudah dipilih kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C selama 12 jam. Sampel yang sudah kering kemudian dipilah yang masih dalam kondisi baik setelah pengeringan. Setelah sortasi kering kemudian dilakukan penyerbukan kepada sampel yang sudah kering. Penyerbukan dilakukan menggunakan blender yang kemudian diayak menggunakan pengayak dengan nomor *mesh* 40 untuk mendapatkan ukuran yang seragam. Penyerbukan dilakukan dengan tujuan memperkecil partikel jagung

hitam sehingga mudah kontak dengan pelarut dan penyaringnya dapat berlangsung secara efektif. Hasil rendemen simplisia jagung hitam diperoleh sebesar 50%.

Ekstraksi

Pada penelitian ini untuk melakukan optimasi ekstraksi menggunakan metode *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE). Ditimbang masing-masing 10 g kemudian di ekstraksi dengan pelarut etanol 70% yang diasamkan HCl 1%, rasio bahan terhadap pelarut 1:15 (b/v), waktu ekstraksi 30 menit, dan frekuensi ultrasonik 42 kHz. Dari proses tersebut diperoleh rendemen ekstrak sebesar 18,61%. Nilai rendemen ini menunjukkan bahwa metode UAE efektif dalam mengekstraksi komponen terlarut dari matriks beras hitam

Hal ini sejalan dengan penelitian dari Riwanti et al. (2025) yang menyatakan bahwa hasil rendemen ekstrak jagung hitam memiliki rendemen sebesar 5,72%. Perbedaan hasil ini dikarenakan perbandingan bahan dengan pelarut dan lama ekstraksi berpengaruh terhadap proses ekstraksi dan lama kontak pelarut dengan bahan. Peningkatan jumlah pelarut menyebabkan rendemen yang dihasilkan semakin besar. Hal ini terjadi karena partikel bahan terdistribusi secara optimal di dalam pelarut, sehingga menciptakan luas permukaan kontak yang lebih besar untuk proses penarikan senyawa bioaktif (Fajri & Daru, 2022). Dalam prosesnya, semakin lama waktu ekstraksi, maka jumlah senyawa yang terambil semakin banyak, yang mengakibatkan semakin besar penurunan senyawa bioaktif. Adanya proses kavitasi pada metode UAE akan mampu merusak dinding sel dan melepaskan senyawa yang terkandung di dalam sel dengan cepat. Selanjutnya, terjadi perpindahan massa dari matriks sel menuju pelarut melalui proses difusi. Proses ini akan terus berlangsung dan meningkatkan hasil ekstraksi sampai terjadi titik kesetimbangan. Oleh karena itu, sebelum terjadi titik kesetimbangan konsentrasi, maka penambahan waktu ekstraksi akan meningkatkan jumlah senyawa terekstrak (Kusnadi et al., 2020).

Skrining Fitokimia

Pada dasarnya, skrining fitokimia merupakan metode analisis kualitatif yang bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman, khususnya metabolit sekunder yang bersifat bioaktif (Wulansari, 2022). Berdasarkan hasil skrining fitokimia ekstrak etanol jagung hitam dapat diketahui bahwa ekstrak jagung hitam mengandung senyawa alkaloid, Flavonoid, tanin, saponin fenol dan triterpen.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia.

Senyawa	Reagen	Keterangan	Hasil
Alkaloid	Wagner	+ (lemah)	Endapan coklat
	Dragendorff	+ (lemah)	Endapan jingga
	Mayer	+ (lemah)	Endapan putih
Flavonoid	Serbuk Mg + HCL	+	Larutan merah jingga
Saponin	Aquades	+	Busa stabil
Tanin	FeCl ₃ 5%	+	Hijau Kehitaman
Terpenoid	Lieberman burchardad	+	Warna merah
Antosianin	HCL dan NaOH	+	Merah dan hijau tua

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak beras hitam mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder yang berpotensi bioaktif. Uji alkaloid menggunakan pereaksi Mayer, Dragendorff, dan Wagner menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya endapan putih hingga coklat kemerahan. Uji flavonoid dengan metode Mg dan HCl pekat menghasilkan perubahan warna menjadi merah, yang mengindikasikan keberadaan senyawa flavonoid. Uji antosianin menunjukkan hasil positif baik pada perlakuan NaOH (terbentuk warna hijau) maupun HCl (terbentuk warna merah), mengonfirmasi keberadaan pigmen antosianin dalam ekstrak. Selain itu, uji tanin dengan FeCl₃ 5% menghasilkan warna hijau kehitaman, sedangkan uji saponin menunjukkan terbentuknya busa stabil. Uji Liebermann Burchard menunjukkan positif untuk triterpenoid dengan terbentuknya warna merah. Keberadaan flavonoid, antosianin, dan tanin sebagai golongan fenolik mendukung potensi aktivitas antioksidan ekstrak, mengingat senyawa-senyawa tersebut memiliki gugus hidroksil aromatik yang mampu mendonorkan elektron atau atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas.

Penetapan Kadar Antosianin dan Aktivitas Antioksidan

Tabel 1. Kadar Antosianin dan Aktivitas Antioksidan Beras Hitam.

Konsentrasi Etanol (%)	Rasio Pelarut	Lama Ekstraksi (menit)	Kadar Antosianin (mg/100g)	Aktivitas Antioksidan (ppm)
70	1:15	30	331,06±0,835	61,47±0,332

5. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) dengan pelarut etanol Penetapan kadar antosianin total menggunakan metode diferensial pH menghasilkan nilai sebesar 331,06 mg/100 g sampel. Prinsip metode diferensial pH didasarkan pada perubahan struktur kimia antosianin akibat perbedaan kondisi pH. Pada pH 1,0 antosianin berada dalam bentuk kation flavilium yang stabil dan berwarna intens, sehingga menunjukkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang sekitar 520 nm. Sebaliknya, pada pH 4,5

antosianin mengalami perubahan struktur menjadi bentuk hemiketal atau chalcone yang tidak berwarna atau kurang menyerap cahaya pada panjang gelombang tersebut. Dengan mengukur selisih absorbansi antara kedua kondisi pH (dikoreksi pada 700 nm untuk menghilangkan gangguan kekeruhan), konsentrasi antosianin dapat dihitung secara kuantitatif berdasarkan hukum Lambert Beer. Prinsip ini memungkinkan pengukuran spesifik terhadap antosianin monomerik tanpa terganggu oleh pigmen lain.

Aktivitas antioksidan ekstrak ditentukan menggunakan metode ABTS dan diperoleh nilai 61,47 ppm pada panjang gelombang 734 nm dengan waktu inkubasi 30 menit. Prinsip metode ABTS adalah pembentukan radikal kation $ABTS^{\bullet+}$ melalui reaksi antara ABTS dan kalium persulfat, yang menghasilkan larutan berwarna hijau kebiruan dengan absorbansi maksimum pada 734 nm. Senyawa antioksidan dalam ekstrak akan mereduksi radikal $ABTS^{\bullet+}$ menjadi bentuk non-radikal yang tidak berwarna, sehingga terjadi penurunan absorbansi. Besarnya penurunan absorbansi sebanding dengan kapasitas antioksidan sampel dalam mendonorkan elektron atau atom hidrogen untuk menetralkan radikal. Nilai 61,47 ppm menunjukkan konsentrasi ekstrak yang diperlukan untuk memberikan efek penghambatan radikal, yang mengindikasikan aktivitas antioksidan yang cukup kuat. Aktivitas ini berkorelasi dengan kandungan antosianin yang tinggi serta keberadaan flavonoid dan tanin yang teridentifikasi pada skrining fitokimia.

Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak beras hitam yang diperoleh melalui metode UAE memiliki kandungan antosianin yang tinggi dan aktivitas antioksidan yang signifikan. Prinsip pengujian yang digunakan, baik metode diferensial pH maupun ABTS, memberikan dasar ilmiah yang kuat dalam mengukur konsentrasi pigmen dan kapasitas penangkap radikal secara kuantitatif. Hasil ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa beras hitam merupakan sumber antosianin dan antioksidan alami yang potensial untuk dikembangkan dalam produk pangan

70% yang diasamkan HCl 1%, rasio 1:15 (b/v), waktu 30 menit, dan frekuensi 42 kHz mampu menghasilkan rendemen ekstrak beras hitam sebesar 18,%. Ekstrak terbukti mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, antosianin, tanin, saponin, dan triterpenoid. Kadar antosianin total yang diperoleh sebesar 331,06 mg/100 g sampel, serta aktivitas antioksidan metode ABTS sebesar 61,47 ppm, menunjukkan bahwa ekstrak memiliki kapasitas antioksidan yang baik. Hasil ini menegaskan bahwa UAE efektif dalam mengekstraksi antosianin dan senyawa fenolik dari beras hitam sehingga berpotensi dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami.

Saran

Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan optimasi parameter ekstraksi seperti variasi waktu, daya ultrasonik, serta pengendalian suhu untuk memperoleh kadar antosianin dan aktivitas antioksidan yang lebih optimal. Selain itu, diperlukan analisis lanjutan menggunakan metode kromatografi (misalnya HPLC) untuk mengidentifikasi dan mengkuantifikasi jenis antosianin secara lebih spesifik, serta uji stabilitas dan aplikasi pada produk pangan fungsional.

REFERENSI

- Aji, A. (2024). Penerapan ultrasonic-assisted extraction (UAE) dalam peningkatan efisiensi ekstraksi senyawa bioaktif. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, 15(2), 85-94.
- Alvionita, J., Darwis, D., & Efdi, M. (2016). Ekstraksi dan identifikasi senyawa antosianin dari jantung pisang raja (*Musa × paradisiaca* L.) serta uji aktivitas antioksidannya. *Jurnal Riset Kimia*, 9(2), 21.
- Amogne, N. Y., Ayele, D. W., & Tsigie, Y. A. (2020). Recent advances in anthocyanin dyes extracted from plants for dye-sensitized solar cells. *Materials for Renewable and Sustainable Energy*, 9(4), 23.
- 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. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426-436.
- Berutu, R. K., Aziz, R., & Hutapea, S. (2019). Pengaruh pemberian berbagai sumber biochar dan pupuk kandang terhadap pertumbuhan dan produksi jagung hitam (*Zea mays* L.). *Jurnal Ilmiah Pertanian (JIPERTA)*, 1(1), 16-25.
- Blanch, G. P., & Castillo, M. L. (2021). Effect of baking temperature on phenolic content and antioxidant activity of black corn (*Zea mays* L.) bread. *Foods*, 10(6), 1202.
- Chemat, F., Abert-Vian, M., & Cravotto, G. (2017). Green extraction of natural products: Concept and principles. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(4), 708.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2020). Ultrasound-assisted extraction of food and natural products: Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540-560.
- Chen, X., Zhang, H., Wang, L., & Li, Z. (2019). Correlation between anthocyanin content and antioxidant activity of black rice extracts. *Food Chemistry*, 272, 506-513.
- Fortin, G. A., Asnia, K. K., Ramadhani, A. S., & Maherawati, M. (2021). Review: Minuman fungsional serbuk instan kaya antioksidan dari bahan nabati. *Agrointek*, 15(4), 984-991.
- Granato, D., Barba, F. J., Kovacevic, D. B., Lorenzo, J. M., Cruz, A. G., & Putnik, P. (2020). Functional foods: Product development, technological trends, efficacy testing, and safety. *Annual Review of Food Science and Technology*, 11, 93-118.
- Hu, X., Liu, J., Li, W., Wen, T., Li, T., Guo, X., & Liu, R. H. (2020). Biosynthesis and accumulation of multivitamins in black sweet corn (*Zea mays* L.) during kernel development. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100, 5230-5238.
- Khoerunisa, T. K. (2020). Review: Pengembangan produk pangan fungsional di Indonesia berbasis pangan lokal unggulan. *Indonesian Journal of Agricultural and Food Research*, 2(1), 49-59.

- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food and pharmaceutical ingredients and their potential health benefits. *Food & Nutrition Research*, *61*(1), 1361779.
- Kurniawan, W. (2023). Efektivitas antosianin ekstrak bunga mawar untuk pengobatan diabetes melitus tipe 2. *Jurnal Inovasi Riset Ilmu Kesehatan*, *2*(2), 91-98.
- Kusnadi, J., Andayani, D. W., Zubaidah, E., & Arumingtyas, E. L. (2019). Ekstraksi senyawa bioaktif cabai rawit (*Capsicum frutescens L.*) menggunakan metode gelombang ultrasonik. *Jurnal Teknologi Pertanian*, *20*(2), 79-84.
- Lakshmikhantan, P., Kumar, S., & Devi, R. (2024). Limitations of conventional extraction methods on phenolic compounds and anthocyanin stability. *Journal of Food Processing and Preservation*, *48*(1), e17532.
- Liu, J., Zhou, H., Song, L., Yang, Z., Qiu, M., Wang, J., & Shi, S. (2021). Anthocyanins: Promising natural products with diverse pharmacological activities. *Molecules*, *26*(13), 3807.
- Nurkhasanah, A., Farda, T., Ceferino, C., Setyaningsih, W., & Palma, M. (2023). Ultrasound-assisted anthocyanin extraction from pigmented corn: Optimization using response surface methodology. *Methods and Protocols*, *6*(4), 69.
- Raharjo, O. W. (2023). Penentuan kadar total flavonoid dari ekstrak dan fraksi daun bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) serta uji aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS dan FRAP.
- Riwanti, P., Ma'arif, B., Primadini, F. R., Maulidiah, E. N., & Ramadhan, R. I. (2025). Standardization of 96% ethanol extract of beluntas leaves, kenikir leaves, and purple corn kernels. *Jurnal Jamu Indonesia*, *10*(1), 11-18.
- Sánchez-Nuño, Y. A., Zermeño-Ruiz, M., Vázquez-Paulino, O. D., Vázquez-Paulino, K. N., & Villaruel-López, A. (2024). Bioactive compounds from pigmented corn (*Zea mays L.*) and their effect on health. *Biomolecules*, *14*(3), 338.
- Shen, L., Pang, S., Zhong, M., Sun, Y., Qayum, A., Liu, Y., & Reng, X. (2023). A comprehensive review of ultrasonic-assisted extraction (UAE) for bioactive components: Principles, advantages, equipment, and combined technologies. *Ultrasonics Sonochemistry*, *101*, 106-???
- Sompong, R., Siebenhandl-Ehn, S., Linsberger-Martin, G., & Berghofer, E. (2011). Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China, and Sri Lanka. *Food Chemistry*, *124*(1), 132-140.
- Tena, M. T., & Asuero, A. G. (2022). Anthocyanins and their role in food quality and health: Extraction, stability, and antioxidant activity. *Molecules*, *27*(1), 137.
- Tulnisa, H., Ahmad, A. R., & Hasnaeni. (2025). Optimasi metode ekstraksi maserasi dan ultrasound-assisted extraction (UAE) rimpang kunyit (*Curcuma longa L.*) dan aktivitas antioksidannya. *Jurnal Review Pendidikan dan Pengajaran*, *8*, 4101-4111.
- Veriska, L., Rochman, N., & Yulianti, N. (2022). Pertumbuhan, produksi, dan kualitas jagung hitam (*Zea mays L.*) pada berbagai dosis kalium nitrat. *Jurnal Agronida*, *8*(2), 93-101.
- Wulansari, R. (2022). Analisis senyawa metabolit sekunder dan uji aktivitas larvasida alami pada ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus mauritiana Lamk.*) terhadap larva *Aedes aegypti* (Disertasi doctoral). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Zahroh, F., & Agustini, R. (2021). Penentuan kandungan total antosianin yeast beras hitam (*Oryza sativa L. indica*) menggunakan metode pH diferensial. *Unesa Chemistry*, *10*(2), 200–208. <https://doi.org/10.26740/ujc.v10n2.p200-208>
- Zhang, Y., Chen, H., Chen, J., & Wang, L. (2022). Evaluation of total anthocyanin content and antioxidant capacity of black rice using DPPH, ABTS, and FRAP assays. *Antioxidants*, *11*(3), 456.