



## Pengaruh Metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) terhadap Kadar Antosianin dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Beras Hitam (*Oryza sativa L. indica*)

Novi Alfi Ramadhani<sup>1\*</sup>, Danang Raharjo<sup>2</sup>, Bangkit Riska Permata<sup>3</sup>

<sup>1-3</sup> Universitas Duta Bangsa Surakarta, Indonesia

[ramadhaninovi002@gmail.com](mailto:ramadhaninovi002@gmail.com)<sup>1</sup>, [danang\\_raharjo@udb.ac.id](mailto:danang_raharjo@udb.ac.id)<sup>2</sup>, [bangkit\\_riskapermata@udb.ac.id](mailto:bangkit_riskapermata@udb.ac.id)<sup>3</sup>

\*Penulis Korespondensi: [ramadhaninovi002@gmail.com](mailto:ramadhaninovi002@gmail.com)

**Abstract.** Black rice (*Oryza sativa L. indica*) is one of the natural sources of anthocyanins with high potential as an antioxidant to neutralize free radicals. This study aimed to further evaluate the effect of the Ultrasound Assisted Extraction (UAE) method on anthocyanin content and antioxidant activity of black rice extract. The extraction process was carried out using 70% ethanol acidified with 1% HCl at a material-to-solvent ratio of 1:15 (w/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 IC<sub>50</sub> value. The results showed an extract yield of 17.8%, reflecting the efficiency of the extraction process. The total anthocyanin content obtained was 236.43 mg/100 g sample. The antioxidant activity showed an IC<sub>50</sub> value of 68.71 ppm, which is categorized as strong activity. Phytochemical screening confirmed the presence of alkaloids, flavonoids, anthocyanins, tannins, saponins, and triterpenoids that contribute to the biological activity of the extract. Overall, these findings indicate that the UAE method effectively enhances the extraction efficiency of bioactive compounds from black rice and produces extracts with high anthocyanin content and antioxidant capacity, making it a promising natural antioxidant source for functional food and health products.

**Keywords:** ABTS; Anthocyanins; Antioxidant Activity; Black Rice; Ultrasound Assisted Extraction.

**Abstrak.** Beras hitam (*Oryza sativa L. indica*) merupakan salah satu sumber antosianin alami yang berpotensi tinggi sebagai antioksidan untuk menangkal radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi secara lebih mendalam pengaruh metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) terhadap kadar antosianin dan aktivitas antioksidan ekstrak beras hitam. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut etanol 70% yang diasamkan dengan HCl 1% pada rasio bahan terhadap pelarut 1:15 (b/v), dengan 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 IC<sub>50</sub>. Hasil penelitian menunjukkan rendemen ekstrak sebesar 17,8%, yang mencerminkan efisiensi proses ekstraksi. Kadar total antosianin yang diperoleh sebesar 236,43 mg/100 g sampel. Aktivitas antioksidan menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 68,71 ppm yang tergolong dalam kategori kuat. Skrining fitokimia mengonfirmasi adanya alkaloid, flavonoid, antosianin, tanin, saponin, dan triterpenoid yang berperan dalam aktivitas biologis ekstrak. Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan bahwa metode UAE efektif meningkatkan efisiensi ekstraksi senyawa bioaktif beras hitam serta menghasilkan ekstrak dengan kandungan antosianin dan kapasitas antioksidan yang tinggi, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami dalam produk pangan fungsional dan kesehatan.

**Kata kunci:** ABTS; Aktivitas Antioksidan; Antosianin; Beras Hitam; *Ultrasound Assisted Extraction*.

### 1. LATAR BELAKANG

Pangan fungsional merupakan salah satu alternatif untuk menurunkan resiko timbulnya penyakit degeneratif karena keunggulan kandungan senyawa bioaktif yang dimilikinya. Salah satu komoditas pangan lokal yang berpotensi besar sebagai pangan fungsional adalah beras hitam (Arifa et al., 2021). Beras hitam (*Oryza sativa L. indica*) adalah salah satu varietas lokal yang mempunyai perikarp, aleuron, dan endosperma yang berwarna merah pekat dan ungu kebiruan yang mengandung antosianin. Beras hitam mengandung pigmen antosianin yang

berasal dari lapisan aleuron, yaitu senyawa flavonoid alami yang berperan sebagai antioksidan dan memberikan warna hitam keunguan khas pada beras tersebut (Fitriyah et al., 2022).

Antosianin adalah bagian dari keluarga flavonoid yang berperan sebagai senyawa bioaktif karena memiliki sifat antioksidan. Antosianin mempunyai karakteristik kerangka karbon ( $C_6C_3C_6$ ) dengan struktur dasar antosianin adalah 2-fenil-benzofirilium dari garam flavilium. Kondisi bebas cahaya, temperatur rendah, kopigment, ion logam, oksigen, enzim, konsentrasi, dan tekanan pun menjadi faktor penting agar kestabilan antosianin tetap terjaga sehingga kesetimbangan antosianin tidak mudah bergeser dan pada akhirnya mengalami degradasi (Priska et al., 2024). Antosianin memiliki kandungan antioksidan yang dapat mencegah berbagai masalah kesehatan yang berperan dalam meredam radikal bebas yang berlebih. Antosianin juga terbukti dapat menghambat penyakit stress oksidatif, memperlambat pertumbuhan dan penyebaran sel kanker, kardiovaskular, komplikasi diabetes serta penyakit degeneratif lainnya (Zahroh & Agustini, 2021).

Efektivitas pemanfaatan antosianin pada beras hitam sangat dipengaruhi oleh metode ekstraksi yang digunakan, karena teknik yang tepat dapat mempertahankan kestabilan dan kadar senyawa aktif tersebut. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi efektivitas proses ekstraksi meliputi suhu dan waktu ekstraksi, jenis dan konsentrasi pelarut yang digunakan, perbandingan antara bahan dan pelarut, serta ukuran partikel bahan (Susiloningrum & Sari, 2023). Penggunaan metode konvensional yang paling umum, seperti maserasi, refluks, perkolasi, dan soxhletasi. Metode ekstraksi konvensional masih terdapat sejumlah kekurangan diantaranya adalah memerlukan volume pelarut yang besar dan waktu yang lama, sementara rendemen yang dihasilkan rendah. Selain itu metode ini dapat menyebabkan senyawa termolabil dan pelarut yang digunakan harus mempunyai tingkat kemurnian tinggi yang akhirnya meningkatkan biaya produksi (Tri et al., 2022). Secara kimia, struktur antosianin tergolong tidak stabil dan mudah mengalami degradasi, sehingga diperlukam proses ekstraksi yang lebih stabil terhadap senyawa antosianin (Purwaniati et al., 2020)

Seiring perkembangan teknologi, metode non-konvensional seperti *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) dikembangkan untuk meningkatkan efisiensi dan kualitas ekstrak. Metode ini dikenal sangat efektif dalam meningkatkan efisiensi proses ekstraksi. Metode ini mampu mempercepat pergerakan massa dan mendorong fragmentasi selama proses berlangsung, menghasilkan partikel yang lebih kecil sehingga memungkinkan ekstraksi senyawa target dalam jumlah yang lebih besar. Sonikasi merupakan bentuk modifikasi dari metode maserasi yang memanfaatkan sinyal ultrasonik berfrekuensi tinggi, umumnya berkisar antara 20 hingga 50 kHz (Safitri, 2025). Gelombang ultrasonik dapat menciptakan kavitasi dalam pelarut yang

berfungsi untuk memecah dinding sel tumbuhan dan mempercepat pelepasan senyawa aktif (Nathanael et al., 2025). Dibandingkan dengan teknik ekstraksi konvensional, UEA beroperasi dengan konsumsi energi yang lebih rendah dan lebih baik dalam menjaga komponen yang sensitif terhadap panas (Safitri, 2025).

Kelebihan utama metode UAE meliputi waktu ekstraksi yang relatif singkat, efisiensi tinggi dalam senyawa bioaktif, dan pelarut yang digunakan lebih sedikit menjadikan lebih ramah lingkungan dan hemat biaya. Kekurangan dari metode ini ialah dapat berpotensi merusak senyawa apabila gelombang ultrasonik berlebihan (Nathanael et al., 2025). Salah satu faktor yang mempengaruhi efektivitas metode UAE adalah suhu. Jika suhu ekstraksi melebihi batas optimal, maka dapat terjadi penurunan hasil ekstrak karena terjadinya oksidasi yang dapat mengubah struktur senyawa bioaktif dalam larutan (Susiloningrum & Sari, 2023).

Sebagai senyawa bioaktif, keberadaan ikatan rangkap terkonjugasi dalam struktur antosianin menjadikannya tidak hanya berfungsi sebagai tanaman, tetapi juga bermanfaat bagi manusia sebagai agen penghancur sekaligus penangkal radikal bebas atau yang dikenal sebagai antioksidan alami. Semakin banyak gugus hidroksil fenolik dalam struktur dapat meningkatkan fungsi antioksidannya (Priska et al., 2024). Peningkatan efisiensi ekstraksi antosianin melalui metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) berpotensi meningkatkan kapasitas antioksidan dari ekstrak secara signifikan, tetapi kondisi ultrasonik yang terlalu intens, seperti durasi atau daya yang tinggi, juga dapat menyebabkan degradasi struktur antosianin akibat reaksi sonokimia termasuk pembentukan radikal bebas sekunder dan peningkatan suhu lokal, sehingga mengurangi stabilitas dan kandungan senyawa tersebut selama proses ekstraksi (Devi et al., 2024). Oleh karena itu, diperlukan kajian yang sistematis untuk mengevaluasi pengaruh metode UAE terhadap kadar antosianin dan aktivitas antioksidan ekstrak beras hitam.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian mengenai pengaruh *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) terhadap kadar antosianin dan aktivitas antioksidan ekstrak beras hitam (*Oryza sativa L. indica*) menjadi penting untuk dilakukan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah dalam pengembangan metode ekstraksi yang lebih efisien dan optimal, serta mendukung pemanfaatan beras hitam sebagai sumber antioksidan alami bernilai tambah tinggi.

## 2. KAJIAN TEORITIS

### Beras Hitam (*Oryza sativa L. indica*)

#### Klasifikasi Tanaman



**Gambar 1.** Beras Hitam (*Oryza sativa L. indica*).

Menurut Alfian (2021), klasifikasi beras hitam adalah sebagai berikut:

- Kingdom : *Plantae*
- Divisi : *Spermatophyta*
- Subdivisi : *Angiospermae*
- Kelas : *Monocotyledoneae*
- Bangsa : *Poales (Glumiflorae)*
- Famili : *Poaceae (Graminea)*
- Marga : *Oryzae*
- Spesies : *Oryza sativa L. indica*

Beras hitam adalah salah satu varietas lokal yang mempunyai pigmen paling baik dibandingkan beras putih atau beras berwarna lainnya. Beras hitam termasuk salah satu bahan pangan fungsional yang kaya akan antosianin beras hitam menjadi indikator tingginya kadar antosianin. Beras hitam mengandung senyawa komponen utama berupa antosianin dan senyawa fenolik. Antosianin berfungsi untuk memberikan pigmen warna gelap pada beras hitam serta berperan sebagai antioksidan kuat dalam melawan radikal bebas (Dewi & Wihandani, 2025). Antosianin merupakan senyawa golongan flavonoid yang berperan penting dalam pencegahan berbagai penyakit degeneratif. Antosianin berfungsi sebagai antioksidan yang memberikan manfaat positif bagi kesehatan (Shaliha et al., 2025).

#### Antosianin

Beras hitam mengandung antosianin dalam jumlah yang tinggi. Intensitas warna gelap pada beras menunjukkan kadar antosianin yang semakin besar. Antosinin berperan sebagai antioksidan yang dapat membantu memperbaiki kerusakan sel, termasuk sel hati, serta berperan dalam mencegah penyakit kanker dan diabetes mellitus. Selain kandungan antosianin yang

tinggi, beras hitam juga mempunyai daya tarik visual karena tampilannya yang khas, serta menawarkan peluang ekonomi yang menjanjikan (Suliartini et al., 2025).

Beras hitam mengandung *cyanidin-3-glucoside* (C3G) sebagai komponen antosianin utama dengan jumlah paling tinggi. C3G adalah jenis antosinin dominan yang banyak ditemukan pada kelompok pangan seperti biji-bijian dan buah beri dengan proporsi mencapai sekitar 82% dari total kandungan antosianin. Komponen antosianin terbesar kedua pada beras hitam adalah *peonidin-3-glycoside* (P3G) (Dewi & Wihandani, 2025). Pada kondisi pH sangat asam (pH 1-2) kestabilan antosianin dalam bentuk kation flavium berwarna merah (Priska et al., 2024). Penelitian Arifa et al., (2021), kandungan antosianin dalam beras hitam bervariasi sekitar 52,4 mg/100 g hingga 126,1 mg/100 g.

### **Antioksidan**

Antioksidan adalah senyawa yang berperan penting dalam mencegah pembentukan radikal bebas dalam tubuh yang dapat merusak sel-sel tubuh. Berdasarkan asalnya, antioksidan diklasifikasikan menjadi dua jenis, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Tubuh manusia memerlukan antioksidan alami untuk menghambat pembentukan radikal bebas dan membantu memperbaiki sel yang mengalami kerusakan (Susiloningrum & Sari, 2021). Mekanisme kerja senyawa antioksidan adalah dengan mendonorkan atom hidrogen atau proton kepada senyawa radikal. Proses ini membantu melengkapi kekurangan elektron pada radikal bebas, sehingga mencegah terjadinya reaksi berantai pembentukan radikal bebas. Dengan demikian, senyawa radikal menjadi lebih stabil (Poli et al., 2022).

Oleh karena itu, tingginya kadar antosianin dalam suatu bahan sering kali berkaitan dengan kapasitas antioksidan yang lebih tinggi, dan sejumlah penelitian telah melaporkan korelasi positif antara kadar total antosianin dengan aktivitas antioksidan ekstrak yang diukur menggunakan metode seperti DPPH, ABTS, atau FRAP. Akan tetapi, aktivitas antioksidan total tidak hanya ditentukan oleh antosianin saja, tetapi juga dipengaruhi oleh keberadaan senyawa fenolik lain yang bekerja secara sinergis dalam meningkatkan kapasitas penangkalan radikal bebas (Kim et al., 2025).

### **Ultrasound Assisted Extraction**

Metode ekstraksi adalah tahap awal yang sangat penting dalam penelitian karena berpengaruh besar terhadap hasil akhirnya. Melewati proses ekstraksi, senyawa-senyawa metabolit dapat diperoleh dan berperan dalam memberikan aktivitas farmakologis (Yuliawati et al., 2021). Metode ekstraksi yang biasa digunakan beberapa tahun terakhir yaitu metode ekstraksi konvensional seperti maserasi, soxhlet, yang menggunakan volume pelarut dalam jumlah besar dan memerlukan waktu ekstraksi yang lama (Tulnisa et al., 2025).

Sebagai alternatif, maka dikembangkannya metode non konvensional yang dapat meningkatkan efisiensi dan kualitas ekstrak salah satunya adalah metode *Ultrasound Assisted Extraction*. Metode UAE didasarkan pada perambatan gelombang ultrasonik yang melewati medium akibat getaran selama proses pengadukan intensif. Gelombang ultrasonik ini memiliki frekuensi tinggi umumnya diatas 20 kHz (Susiloningrum & Sari, 2023). Pemanfaatan gelombang ultrasonik untuk menciptakan kavitasi dalam pelarut yang berfungsi untuk memecah dinding sel tumbuhan dan mempercepat pelepasan senyawa aktif. Salah satu keunggulan dari metode ini adalah kemampuannya untuk meningkatkan hasil rendemen serta mempercepat waktu ekstraksi (Nathanael *et al.*, 2025).

Proses ekstraksi menggunakan metode UAE menghasilkan tekanan dan suhu internal yang cukup tinggi, yang menyebabkan terjadinya fragmentasi sel serta meningkatkan efisiensi hasil ekstrak akibat adanya kavitasi. Kavitasi ini timbul akibat getaran akustik pada frekuensi tertentu antara sampel dan lingkungannya karena perpindahan energi sehingga memicu disintegrasi mekanis pada dinding sel. Kerusakan dinding sel tersebut membuat komponen ekstrak dalam sampel cair lebih mudah keluar, sehingga waktu ekstraksi lebih singkat. Selain itu, penggunaan panas, pelarut, dan energi berkurang menjadikan metode UAE lebih efisien dan mudah diterapkan untuk memperoleh ekstrak sampel (Habibie, 2021).

Metode ekstraksi berbantuan ultrasonik (UAE) sangat sesuai untuk mengekstraksi komponen bioaktif yang sensitif terhadap panas karena prosesnya dapat dilakukan pada suhu relatif rendah. Efek mekanis dari gelombang ultrasonik meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam jaringan sel, sehingga mempercepat perpindahan massa dan memfasilitasi pelepasan senyawa intraseluler melalui gangguan dinding sel biologis. Oleh karena itu, dibandingkan dengan metode konvensional, UAE dinilai lebih efektif karena mampu mempersingkat waktu ekstraksi serta mengurangi kebutuhan volume pelarut. Selain itu, teknik ini memungkinkan pelepasan senyawa dari matriks bahan tanpa merusak struktur utamanya, meminimalkan paparan suhu tinggi, serta menekan kehilangan atau penguapan senyawa yang memiliki titik didih rendah (Tulnisa *et al.*, 2025).

Penelitian yang dilakukan oleh Sholihah *et al.*, (2021) menunjukkan bahwa kondisi terbaik untuk mengekstraksi antosianin dari beras hitam varietas sirampog dengan bantuan metode UAE diperoleh pada konsentrasi bahan sebesar 5 g/L selama 25 menit. Pada kondisi ini ekstrak yang dihasilkan mengandung antosianin sebanyak 456 mg/100 g dan total fenol sebesar 6400 mg/100 g. Penelitian ini menunjukkan bahwa metode UAE efektif untuk mengekstraksi antosianin dan total fenol pada beras hitam.

Berdasarkan teori mengenai stabilitas antosianin, mekanisme kavitasi pada 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 UAE terhadap kualitas ekstrak beras hitam (*Oryza sativa L. indica*).

### **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 asetat (Emsure).

#### **Ekstraksi Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE)**

Sebanyak 10 g serbuk beras hitam 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 beras hitam (*Oryza sativa L. indica*) 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 beras hitam (*Oryza sativa L. indica*) 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 beras hitam (*Oryza sativa L. indica*) 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 beras hitam (*Oryza sativa L. indica*) sebanyak 1 ml dipipet, ditambahkan 0,5 ml larutan FeCl<sub>3</sub> 5%. Jika terbentuk warna hijau kehitaman dan biru tua berarti mengandung tanin (Tulnisa et al., 2025).

### e. Identifikasi Saponin

Ekstrak beras hitam (*Oryza sativa L. indica*) 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 beras hitam (*Oryza sativa L. indica*) 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 (Zahroh & Agustini, 2021):

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

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

$\epsilon$  : 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 IC<sub>50</sub> 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

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah beras hitam (*Oryza sativa L. indica*). Beras hitam diperoleh dari petani di Desa Sangen, Gumul, Karangnongko, Klaten dengan koordinat (Lat-7.697359, Long 110.539202). Determinasi beras hitam (*Oryza sativa L. indica*) dilakukan di B2P2TOOT (Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional) Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah dengan nomor determinasi (TL.02.04/D.XI.6/34484.949/2025). Tujuan dilakukan determinasi untuk mengetahui kebenaran dari sampel beras hitam (*Oryza sativa L. indica*) yang akan digunakan untuk penelitian agar menghindari kesalahan dan tercampurnya bahan dengan tanaman lain dalam pengumpulan sampel, setelah dilakukan determinasi didapatkan hasil tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar beras hitam (*Oryza sativa L. indica*).

### Pembuatan Simplisia

Sebanyak 1500 g beras hitam (*Oryza sativa L. indica*) yang telah dikumpulkan dilakukan sortasi basah untuk memisahkan beras hitam dari kotoran fisik seperti kerikil. Kemudian pencucian dengan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan residu-residu yang menempel pada beras hitam (*Oryza sativa L. indica*), setelah bersih dilanjutkan dengan proses pengeringan. Pengeringan dilakukan dengan menggunakan lemari pengering dengan suhu 40°C. Tujuan dilakukan pengeringan adalah untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme dan memperpanjang masa simpan. Setelah itu dilanjutkan dengan tahap sortasi kering,

kemudian dilakukan penyerbukan menggunakan blender. Penyerbukan dilakukan dengan tujuan memperkecil partikel beras hitam (*Oryza sativa L. indica*) sehingga mudah kontak dengan pelarut dan penyaringnya dapat berlangsung secara efektif. Serbuk kemudian diayak dengan pengayak nomor 40 mesh hasil serbuk sebanyak 401,1 dari 1003,80 g bobot simplisia kering dengan nilai rendemen 66,92%.

### **Ekstraksi**

Metode yang digunakan untuk ekstraksi pada penelitian ini adalah metode UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*). Metode ini bekerja berdasarkan perambatan gelombang ultrasonik melalui suatu medium yang menghasilkan getaran mekanik. Penggunaan metode *Ultrasound Assisted Extraction* karena memiliki waktu proses lebih singkat dan kualitas produk yang lebih baik, dan mampu meningkatkan rendemen ekstrak. UAE bisa meningkatkan rendemen ekstraksi karena efek kavitasi dari gelombang ultrasonik yang merusak dinding sel, mempermudah pelepasan komponen target ke dalam pelarut (Romes et al., 2020).

Serbuk beras hitam (*Oryza sativa L. indica*) ditimbang masing-masing 10 g kemudian di ekstraksi menggunakan metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) 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 17,8%. Nilai rendemen ini menunjukkan bahwa metode UAE efektif dalam mengekstraksi komponen terlarut dari matriks beras hitam.

Penggunaan metode UAE untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi melalui efek kavitasi gelombang ultrasonik. Gelombang ultrasonik mampu merusak dinding sel bahan tanaman sehingga mempercepat difusi pelarut ke dalam matriks sel dan meningkatkan pelepasan senyawa target. UAE merupakan metode ekstraksi yang unggul karena dapat meningkatkan rendemen dan aktivitas senyawa bioaktif dengan waktu ekstraksi yang lebih singkat (Putri et al., 2025).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Khairi et al., (2023) rendemen ekstrak beras hitam dengan menggunakan metode maserasi diperoleh persen rendemen sebesar 5,01%. Pada penelitian Shaliha et al., (2025) ekstrak beras hitam menggunakan metode maserasi diperoleh rendemen sebesar 6,82%. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan metode UAE dapat meningkatkan rendemen.

### **Skrining Fitokimia**

Skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol beras hitam (*Oryza sativa L. indica*) dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan golongan senyawa alkaloid, flavonoid, antosianin, tanin, saponin, serta steroid dan triterpenoid menggunakan metode uji tabung. Hasil pengujian

menunjukkan adanya variasi reaksi positif dan negatif yang ditandai dengan perubahan warna atau terbentuknya endapan setelah penambahan pereaksi tertentu.

**Tabel 1.** Skrining Fitokimia Beras Hitam.

| Senyawa      | Pereaksi                  | Tanda Positif   | Hasil Pengamatan                      | Keterangan |
|--------------|---------------------------|---|---------------------------------------|------------|
| Alkaloid     | <i>Mayer</i>              | Endapan kuning atau putih                               | Terbentuk endapan putih               | +          |
| Alkaloid     | <i>Dragendroff</i>        | Endapan coklat atau endapan merah                       | Terbentuk endapan coklat kemerahan    | +          |
| Alkaloid     | <i>Wagner</i>             | Endapan coklat  | Terbentuk endapan coklat              | +          |
| Flavonoid    | Mg+HCL p                  | Perubahan warna merah, kuning, jingga hingga merah ungu | Terjadi perubahan warna menjadi merah | +          |
| Antosianin   | NaOH                      | Terjadi perubahan warna menjadi hijau atau biru         | Terbentuk warna hijau                 | +          |
| Antosianin   | HCl                       | Terbentuk warna merah                                   | Terbentuk warna merah                 | +          |
| Tanin        | FeCl <sub>3</sub> 5%      | Terbentuk warna hijau, biru, atau hitam kehijauan       | Terbentuk warna hijau kehitaman       | +          |
| Saponin      | Akuades                   | Terbentuk busa stabil (tidak hilang selama 30 detik)    | Terbentuk busa yang stabil            | +          |
| Steroid      | <i>Lieberman Burchard</i> | Terbentuk warna hijau atau biru                         | Tidak terbentuk warna hijau atau biru | -          |
| Triterpenoid | <i>Lieberman Burchard</i> | Terbentuk warna merah atau ungu                         | Terbentuk warna merah                 | +          |

Berdasarkan hasil pengamatan ekstrak etanol beras hitam menunjukkan hasil positif terhadap uji alkaloid dengan pereaksi *Mayer*, *Dragendroff*, dan *Wagner*. Uji flavonoid memberikan hasil positif dengan terbentuknya warna merah setelah penambahan magnesium dan HCl pekat. Uji antosianin menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya warna merah pada penambahan HCl dan perubahan warna menjadi hijau pada penambahan NaOH. Selain itu, ekstrak juga menunjukkan hasil positif pada uji tanin dengan terbentuknya warna hijau kehitaman setelah penambahan FeCl<sub>3</sub> 5%, serta uji saponin dengan terbentuknya busa stabil. Uji steroid menunjukkan hasil negatif karena tidak terbentuk warna hijau atau biru, sedangkan uji triterpenoid menunjukkan hasil positif dengan munculnya warna merah setelah penambahan pereaksi *Lieberman Burchard*. Secara keseluruhan, hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol beras hitam (*Oryza sativa L. indica*) mengandung alkaloid, flavonoid, antosianin, tanin, saponin, dan triterpenoid, namun tidak mengandung steroid.

### Penetapan Kadar Antosianin dan Aktivitas Antioksidan

**Tabel 2.** 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                     | 236,43±2,516               | 68,71±0,420                 |

Penetapan kadar antosianin total menggunakan metode diferensial pH menghasilkan nilai sebesar 236,43 mg/100 g sampel. Penentuan kadar antosianin didasarkan pada prinsip pH diferensial, yaitu perbedaan bentuk struktur dan intensitas warna antosianin pada kondisi pH yang berbeda. Pada pH 1,0 antosianin berada dalam bentuk kation flavilium yang stabil dan

berwarna merah intens sehingga menunjukkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang sekitar 520 nm. Pada pH 4,5, struktur antosianin berubah menjadi bentuk hemiketal bersifat tidak berwarna atau berwarna sangat lemah, sehingga absorbansinya menurun (Rahmah et al., 2023).

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. Menurut penelitian yang dilakukan Zahroh & Agustini, (2021) diperoleh kandungan total antosianin yeast beras hitam bervariasi antara lain, sebesar 60,132 mg/100g, 127,045 mg/100g, 47,566 mg/100g, dan 29,790 mg/100g.

Aktivitas antioksidan ekstrak ditentukan menggunakan metode ABTS dan diperoleh nilai 68,71 ppm pada panjang gelombang 734 nm dengan waktu inkubasi 30 menit. Prinsip pengujian metode ABTS adalah mengukur daya peredaman terhadap radikal ABTS. Pada pengujian antioksidan dengan metode ABTS ini kalium persulfat digunakan untuk mengoksidasi ABTS menjadi radikal ABTS yang stabil untuk uji. Perlakuan inkubasi selama 6-12 jam dilakukan untuk membentuk warna radikal ABTS yang stabil (Mingle & Newsome, 2020).

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS mengandalkan kemampuan senyawa antioksidan untuk mendonorkan proton atau elektronnya, sehingga dapat menghentikan atau menangkap reaksi oksidasi radikal bebas (*Free Radical Scavenger*). Dalam proses ini, sampel akan memberikan elektron kepada radikal ABTS yang kekurangan kation. Pada pengujian ABTS, perubahan warna larutan ABTS dari biru kehijauan menjadi tidak berwarna menunjukkan adanya aktivitas antioksidan. Semakin besar perubahan warna yang terjadi, maka semakin tinggi kemampuan peredaman radikal oleh senyawa dalam sampel (Kurniasih et al., 2022).

Nilai 68,71 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. Penelitian yang dilakukan oleh Khatun & Mollah, (2024) menunjukkan bahwa ekstrak antioksidan beras hitam tergolong kuat dan dapat menetralkan radikal bebas ABTS secara efektif dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 99,73  $\mu\text{g/mL}$  (99,73 ppm).

Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak beras hitam yang diperoleh melalui metode UAE memiliki kandungan antosianin yang tinggi dan aktivitas antioksidan yang kuat. 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 fungsional dan nutrasetikal.

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) dengan pelarut etanol 70% yang diasamkan HCl 1%, rasio 1:15 (b/v), waktu 30 menit, dan frekuensi 42 kHz mampu menghasilkan rendemen ekstrak beras hitam sebesar 17,8%. Ekstrak terbukti mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, antosianin, tanin, saponin, dan triterpenoid. Kadar antosianin total yang diperoleh sebesar 236,43 mg/100 g sampel, serta aktivitas antioksidan metode ABTS sebesar 68,71 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

- Alfian, M. A. (2021). *Budidaya padi hitam (Oryza sativa L. indica) dengan metode tanam jajar legowo 4:1 di Teaching Farm Politeknik Negeri Lampung* [Laporan]. Politeknik Negeri Lampung.
- Arifa, A. H., Syamsir, E., & Budijanto, S. (2021). Karakterisasi fisikokimia beras hitam (*Oryza sativa L.*) dari Jawa Barat, Indonesia. *AgriTECH*, 41(1), 15–23. <https://doi.org/10.22146/agritech.53307>

- Devi, L. M., Das, A. B., & Badwaik, L. S. (2024). Ultrasound-assisted extraction of anthocyanin from black rice bran and its encapsulation by complex coacervation. *Food Hydrocolloids for Health*, 5, 100174. <https://doi.org/10.1016/j.fhfh.2023.100174>
- Dewi, A. R., & Wihandani, D. M. (2025). Kandungan dan aktivitas antioksidan senyawa antosianin pada beras hitam: Sebuah tinjauan literatur. *Medicina*, 56(2), 86–90. <https://doi.org/10.15562/medicina.v56i2.1395>
- Febriani, Y., Ihsan, E. A., & Ardyati, S. (2021). Analisis fitokimia dan karakterisasi senyawa antosianin ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas*) sebagai bahan dasar lulur hasil budidaya daerah Jenggik Lombok. *Jurnal Farmasi Klinis dan Sains Bahan Alam*, 1(1), 1–6.
- Fitriyah, D., Ayu, D. P., Puspita, S. D., Yuanta, Y., & Ubaidillah, M. (2022). Analisis kandungan senyawa bioaktif, nutrisi, dan aktivitas antioksidan pada minuman ekstrak beras hitam. *Arteri: Jurnal Ilmu Kesehatan*, 3(1), 21–30. <https://doi.org/10.37148/arteri.v3i1.204>
- Habibie, A. (2021). *Optimasi kondisi ekstraksi dari jahe merah (Zingiber officinale) menggunakan metode ultrasound assisted extraction (UAE)/response surface methodology (RSM)* [Skripsi]. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Khairi, N., Hapiwaty, S., Yusuf, S., & Indrisari, M. (2023). Pengukuran parameter spesifik dan nonspesifik ekstrak etanol beras hitam (*Oryza sativa* L. indica) asal Toraja. *Jurnal Katalisator*, 8(2), 464–478.
- Khatun, S., & Mollah, M. M. I. (2024). Analysis of black rice and some other cereal grains for protein, sugar, polyphenols, antioxidant, and anti-inflammatory properties. *Journal of Agriculture and Food Research*, 16, 101121. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101121>
- Kim, J., Ryu, J., Lee, S. H., Kim, J. H., Kim, D., Ha, T. H., & Kim, S. H. (2025). Evaluation of anthocyanin profiling, total phenolic and flavonoid content, and antioxidant activity of Korean *Rubus* accessions for functional food applications and breeding. *Foods*, 14, 1012.
- Kurniasih, Y., Khasanah, K., Yuinita, V., Alawiyah, L., & Wijayanti, P. (2022). Aktivitas antioksidan ekstrak serbuk bekatul menggunakan metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *Jurnal Ilmu Farmasi*, 13(2), 82–90.
- Mingle, C. E., & Newsome, A. L. (2020). An amended potassium persulfate ABTS antioxidant assay used for medicinal plant extracts revealed variable antioxidant capacity based upon plant extraction process. *bioRxiv*.

- Nathanael, F., Syafira, G., Fitriani, F., & Ferdinan, H. (2025). Pengaruh jenis pelarut terhadap ekstraksi antioksidan kulit manggis menggunakan metode sonikasi ultrasound: Review artikel. *Jurnal Pengabdian Masyarakat dan Riset Pendidikan*, 3(4), 2497–2501. <https://doi.org/10.31004/jerkin.v3i4.713>
- Poli, A. R., Katja, D. G., & Aritonang, H. F. (2022). Potensi antioksidan ekstrak dari kulit biji mataoa (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst). *Jurnal Unsrat*, 15(1).
- Priska, M., Peni, N., Carvallo, L., & Ngapa, Y. D. (2024). Review: Antosianin dan pemanfaatannya. *Hypertension Research*, 47(11), 3193–3199. <https://doi.org/10.1038/s41440-024-01907-0>
- Purwaniati, P., Arif, A. R., & Yuliantini, A. (2020). Analisis kadar antosianin total pada sediaan bunga telang (*Clitoria ternatea*) dengan metode pH diferensial menggunakan spektrofotometri visible. *Jurnal Farmagazine*, 7(1), 18–23.
- Putri, I. D., Utami, A., Rahmatia, L., & Enriyani, R. (2025). Optimasi ultrasound-assisted extraction pada rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* Valetton) serta potensinya sebagai antioksidan dan antimikroba. [Data jurnal belum lengkap].
- Raharjo, O. W. (2023). Penentuan kadar total flavonoid dari ekstrak dan fraksi daun bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) dan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS dan FRAP [Skripsi/tesis].
- Rahmah, S., Ramdan, K., & Lestari, R. (2023). Determination of anthocyanin content of purple sweet potato (*Ipomoea batatas L.*) extract using the differential pH method. *Jurnal Kesehatan*, 10(2), 65–70.
- Romes, N. B., Hamid, M. A., Hashim, S. E., & Abdul, R. (2020). Statistical modelling of ultrasonic-aided extraction of *Elaeis guineensis* leaves for better-quality yield and total phenolic content. *Indonesian Journal of Chemistry*, 19(3), 811–826. <https://doi.org/10.22146/ijc.41603>
- Safitri, M. (2025). Tinjauan: Efektivitas metode sonikasi dalam ekstraksi senyawa bioaktif dari limbah kulit buah. *TAPE: Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, 2(1), 1–6. <https://doi.org/10.59005/jthp.v2i1.620>
- Shaliha, I., Anjani, D. R., & Fauzi, F. M. (2025). Pembuatan sediaan masker gel peel-off beras hitam (*Oryza sativa L.*) dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. *Journal of Pharmacy and Nutritional Research*, 1(1), 26–42.
- Sholihah, A., Aini, N., & Dwiyantri, H. (2021). Optimasi ekstraksi antosianin pada beras hitam Sirampog menggunakan metode ultrasound-assisted extraction (UAE). *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 10(3), 71–76.

- Suliantini, N. W. S., Sudika, I. W., Aryana, I. G. P. M., & Masintan. (2025). Parameter genetik dan potensi hasil beberapa galur mutan padi sawah beras hitam. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Agrokomplek*, 4(2), 611–619.
- Susiloningrum, D., & Sari, D. E. M. (2021). Uji aktivitas antioksidan dan penetapan kadar flavonoid total ekstrak temu mangga (*Curcuma mangga* Valetton & Zijp) dengan variasi konsentrasi pelarut. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 5(2), 115–121.
- Susiloningrum, D., & Sari, D. E. M. (2023). Optimasi suhu ultrasound-assisted extraction (UAE) terhadap nilai sun protection factor (SPF) ekstrak rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.) sebagai kandidat bahan aktif tabir surya. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 7(1), 58–66. <https://doi.org/10.31596/cjp.v7i1.207>
- Tri, R., Yasni, S., Muhandri, T., & Yuliani, S. (2022). Pengaruh metode ekstraksi terhadap kualitas ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Unitek*, 15(2), 198–211. <https://doi.org/10.52072/unitek.v15i2.389>
- 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.
- Yuliawati, K. M., Maulana, I. T., & Rusdi, B. (2021). Penggunaan metode respons permukaan dalam optimasi metode ekstraksi karbohidrat dari kulit nanas (*Ananas comosus*). *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 5(1), 52–61.
- Zahroh, F., & Agustini, R. (2021). Penentuan kandungan total antosianin yeast beras hitam (*Oryza sativa* L. indica) menggunakan metode pH diferensial. *Unesa Journal of Chemistry*, 10(2), 200–208. <https://doi.org/10.26740/ujc.v10n2.p200-208>