

**EKSTRAKSI FLAVONOID DAUN MENIRAN MENGGUNAKAN PELARUT  
NATURAL DEEP EUTECTIC SOLVENT BERBASIS KOLIN KLORIDA-ASAM  
DENGAN ULTRASOUND ASSISTED EXTRACTION**

Yulianita, Zaldy Rusli\*, Usep Suhendar, Zulfa Masrani  
Program Studi Farmasi, FMIPA Universitas Pakuan, Bogor  
\* Korespondensi penulis : zaldy.rusli@unpak.ac.id

Diterima : 2 Desember 2021

Direvisi : 28 April 2022

Disetujui : 3 Juni 2022

Copyright © 2022 Universitas Pakuan



FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi is licensed under a  
Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License

**ABSTRAK**

Penggunaan pelarut organik masih umum digunakan untuk menarik senyawa aktif, diantaranya adalah flavonoid yang berperan dalam kesehatan manusia sebagai antioksidan, antikanker, dan antidepresan. Akan tetapi, penggunaan pelarut organik sebenarnya berbahaya bagi kesehatan, karena dapat mempengaruhi sistem saraf pusat dan perifer, sistem reproduksi, menginduksi kanker, dan lain-lain. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pelarut terbaik dari beberapa kombinasi *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) dan metode ekstraksi daun meniran terhadap kadar flavonoid. Pengujian kadar flavonoid dilakukan dengan metode penambahan  $AlCl_3$ . Hasil penelitian diperoleh kadar flavonoid terbaik pada pelarut NADES 2 yaitu kombinasi Kolin Klorida-Asam Oksalat dengan kondisi ekstraksi optimum pada suhu  $48^{\circ}C$ , waktu 60 menit dan rasio pelarut NADES:Air 90% sebesar 1,4161% . Berdasarkan penelitian ini, diketahui bahwa ekstraksi menggunakan pelarut NADES tersebut lebih baik dibandingkan metode konvensional dan kombinasi pelarut NADES lainnya.

**Kata kunci:** daun meniran; NADES; UAE; flavonoid

**EXTRACTION OF FLAVONOID LEVELS OF  
MENIRAN (*Phyllanthus niruri L.*) LEAVES USING NATURAL DEEP EUTECTIC  
SOLVENT CHOLINE CHLORIDE-ACID WITH ULTRASOUND A  
SSISTED EXTRACTION**

**ABSTRACT**

*The use of solvents that are still commonly used to attract active compounds, including flavonoids that play a role in human health as antioxidants, anticancer, and antidepressants. However, the use of organic solvents is actually harmful, because it can affect the central and peripheral systems, reproductive system, induce health, and others. This study aims to determine the best solvent from several combination of NADES (Natural Deep Eutectic Solvent) and the optimum conditions for extracting meniran leaves on flavonoids levels. Testing of flavonoid levels was carried out by the method of adding  $AlCl_3$ . The result showed that the best flavonoid levels in NADES 2 solvent were the combination of Choline Chloride-Oxalic Acid with optimum extraction conditions at  $48^{\circ}C$ , 60 minutes and a 90% NADES:Water ratio of 1.4161%. Based on this research, it*

*is known that extraction using NADES solvent is better than conventional methods and other combination NADES solvents.*

**Keywords:** *flavonoids; NADES; UAE; Phyllanthus niruri*

## **PENDAHULUAN**

*Phyllanthus niruri* L. atau biasa dikenal meniran, merupakan tanaman herba yang sudah diketahui memiliki banyak manfaat dalam bidang pengobatan. Salah satu manfaat dari tanaman ini adalah yaitu sebagai perawatan batu ginjal, batu empedu dan penyakit lain yang berhubungan dengan hati (Harish & Shivanandappa, 2006). *Phyllanthus niruri* L. memiliki berbagai senyawa bioaktif seperti lignan, polifenol, flavonoid, alkaloid, triterpene dan fenil propanoid (Bagalkotkar *et al.*, 2006). Meniran kemudian diambil senyawa aktifnya untuk mengatasi berbagai penyakit yang disebabkan oleh kerusakan sel akibat radikal bebas seperti penyakit iskemik (stroke dan jantung), hipertensi, dan juga penyakit degeneratif lain (Tambunan dkk., 2019).

Dari penelitian (Utami dkk., 2020) menunjukkan hasil kadar flavonoid pada ekstrak etanol 70% daun iler menggunakan metode ekstraksi UAE adalah 0,62% sedangkan metode ekstraksi maserasi adalah 0,41%. Dalam mengurangi dampak buruk akibat penggunaan pelarut organik maka pelarut bisa diganti menggunakan pelarut hijau atau NADES (*Natural Deep Eutectic Solvent*). Pelarut hijau atau NADES belakangan banyak dikembangkan karena memiliki keuntungan yaitu ramah lingkungan dan aman untuk dikonsumsi (*foodgrade*) (Ahmad dkk., 2018).

Berdasarkan penelitian tersebut, maka dilakukan penelitian mengenai pengaruh penggunaan pelarut NADES Kolin Klorida-Asam terhadap nilai kadar flavonoid.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat**

Alat yang digunakan adalah alat-alat gelas (Pyrex), alumunium foil, cawan uap, botol maserasi, kain batis, kertas saring (Whatman®), krus, kuvet, timbangan analitik (LabPro®), oven (Mettler®), tanur (Ney®), sarung tangan, spatel, spektrofotometer UV-Vis (Genesys UV-Vis®), *sonicator* (Daihan®), botol semprot, dan alat penunjang lainnya.

### **Bahan**

Bahan yang digunakan antara lain serbuk daun meniran (*Phyllanthus niruri* L.), Aquadest, Etanol 70% (Merck®), Kolin Klorida (Xi'an Rongsheng®), Asam Askorbat (CSPC Weisheng®), Asam Laktat (Corbion Purac®), Asam Malat (Fuso Chemical®), Asam Oksalat (Merck®), Asam Sitrat (Weifang Ensign®), Asam Tartrat (Merck®), Kuersetin, Kloralhidrat, Natrium asetat, Alumunium klorida, Natrium Klorida, besi (III) klorida, gelatin, serbuk Mg dan Zn, Asam klorida, Pereaksi Mayer, Pereaksi Bouchardat, dan Pereaksi Dragendroff.

### **Uji Mutu Simplisia**

#### **Pengujian Makroskopik dan Mikroskopik**

Pengujian makroskopik dilakukan untuk melihat karakter dari bagian tanaman. Pengujian mikroskopik dilakukan untuk mengamati fragmen pengenalan yang merupakan komponen spesifik untuk mengidentifikasi suatu tanaman.

#### **Susut Pengeringan**

Ditimbang saksama 2 gram simplisia dalam botol timbang tertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada

suhu 105 °C dan ditara. Bahan diratakan dalam botol timbang dengan menggoyangkan botol, hingga merupakan lapisan setebal lebih kurang 5 sampai 10 mm. Botol dimasukkan ke dalam oven, buka tutupnya, dan dikeringkan pada suhu 105 °C hingga bobot tetap. Sebelum setiap pengeringan, botol dibiarkan dalam keadaan tertutup mendingin di dalam eksikator hingga suhu ruang.

#### ***Kadar Abu***

Ditimbang saksama 2 gram bahan uji yang telah dihaluskan dan dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijar dan ditara. Dipijarkan perlahan-lahan pada suhu 800 °C hingga arang habis, dinginkan dan ditimbang.

#### **Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Cair Daun Meniran**

##### ***Pembuatan Larutan Pereaksi***

##### **a. Larutan Natrium Asetat 1M**

Natrium asetat 1 M dibuat dengan cara ditimbang tepat 8,2 g natrium asetat, kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan aquades sampai tanda batas lalu diaduk hingga homogen.

##### **b. Larutan Alumunium Klorida 10%**

Alumunium klorida 10% dibuat dengan cara ditimbang tepat 10 g alumunium klorida, kemudian dimasukkan ke labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan natrium asetat hingga larut, kemudian ditambahkan dengan aquades sampai tanda batas lalu dihomogenkan.

##### **c. Larutan Blanko**

Larutan blanko terdiri dari campuran 3 mL metanol, 0,1 mL alumunium klorida 10% dan 0,1 mL natrium asetat 1 M dan ditambahkan aquades sampai tanda batas, kemudian dihomogenkan dalam labu ukur 10 mL.

##### **d. Larutan Standar Kuersetin**

Larutan standar kuersetin dengan konsentrasi 1000 ppm, dimasukkan 10 mg

kuersetin ke dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan metanol hingga 10 mL. Larutan standar kuersetin harus selalu baru.

#### ***Penentuan Panjang Gelombang Maksimal Kuersetin***

Dipipet 1 mL larutan standar kuersetin dengan konsentrasi 100 ppm kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan 0,1 mL alumunium klorida 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, 3 mL metanol dan ditambahkan dengan aquades sampai tanda batas, dikocok hingga homogen. Didiamkan selama 30 menit, kemudian diukur absorbansi sampel pada panjang gelombang 400-500 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Krisyanella et al., 2013).

#### ***Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Kuersetin***

Dipipet 1 mL larutan standar kuersetin 100 ppm lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL ditambahkan 3 mL metanol, 0,1 mL alumunium klorida 10%, dan 0,1 mL natrium asetat 1 M kemudian ditambahkan aquades sampai batas. Kemudian dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu kamar. Diukur serapan pada panjang gelombang 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 dan 60 menit sehingga didapat waktu inkubasi yang stabil.

#### ***Pembuatan kurva kalibrasi kuersetin***

Dibuat deret standar kuersetin 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm dari larutan 1000 ppm. Sebanyak 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1 mL larutan standar kuersetin dipipet kedalam labu ukur masing-masing 10 mL kemudian ditambahkan 3 mL metanol, lalu ditambahkan 0,1 mL alumunium klorida 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M lalu ditambahkan aquades sampai tanda batas, dikocok, homogenkan dan inkubasi selama waktu optimum pada suhu kamar. Larutan diukur absorbansinya dengan

spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Nilai absorbansi yang diperoleh dari pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis didapatkan regresi linier ( $y = bx + a$ ). Persamaan regresi linier ini akan digunakan untuk mengukur kadar flavonoid total dengan  $y$  sebagai nilai absorbansi dalam persamaan.

**Penentuan kadar flavonoid**

Dipipet 5 mL ekstrak cair dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml kemudian ditambahkan metanol hingga tanda batas dan dihomogenkan. Kemudian dipipet 1 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan 3 mL methanol, 0,1 mL alumunium klorida 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M dan ditambahkan aquades sampai tanda batas, dikocok, homogenkan, dan inkubasi selama waktu optimum pada suhu kamar. Kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Setiani dkk., 2017). Kadar flavonoid dihitung dengan menggunakan rumus 1.

**Pembuatan Pelarut NADES Kolin Klorida-Asam**

$$\text{Kadar Flavonoid (\%)} = \frac{\text{ppm} \times \text{volume (mL)} \times \text{fp} \times 10^{-3}}{\text{Bobot simplisia (gr)}} \times 100 \tag{1}$$

**Tabel 2.** Skrining Awal NADES-UAE

Jenis	Komponen NADES	Rasio (mol)	Waktu (menit)	Suhu (°C)	Rasio NADES:Air (%)
NADES-1	Kolin Klorida : Asam Laktat	1:1			
NADES-2	Kolin Klorida : Asam Oksalat	1:1			
NADES-3	Kolin Klorida : Asam Sitrat	1:2	30'	40°	70%
NADES-4	Kolin Klorida : Asam Askorbat	1:1			
NADES-5	Kolin Klorida : Asam Tartrat	1:1			
NADES-6	Kolin Klorida : Asam Malat	1:1			

Pembuatan pelarut NADES dengan beberapa kombinasi yang ada pada Tabel 1. NADES yang sudah dicampurkan, kemudian dilarutkan di atas *hot plate* dengan bantuan *magnetic stirrer* pada suhu 80°C.

**Tabel 1.** Rasio Campuran NADES

Jenis	Komponen	Rasio (mol)
NADES-1	ChCl-A.Laktat	1:1
NADES-2	ChCl-A.Oksalat	1:1
NADES-3	ChCl-A.Sitrat	1:1
NADES-4	ChCl-A.Askorbat	1:1
NADES-5	ChCl-A.Tartrat	1:1
NADES-6	ChCl-A.Malat	1:1

Keterangan: ChCl : Kolin Klorida

**Skrining NADES**

Sebanyak 1 gram simplisia daun meniran dilarutkan dalam 10 ml pelarut NADES, kemudian dimasukkan ke dalam *sonicator bath* dan dilakukan ekstraksi sesuai dengan Tabel 2. Hasil ekstraksi dienap tuangkan. Dilakukan analisis kadar flavonoid dari Filtrat ekstrak. Hasil skrining awal dianalisis secara statistik dengan SPSS.

### Optimasi Ekstraksi

Dari campuran NADES-UAE terbaik, dilakukan optimasi ekstraksi menggunakan RSM CCD (*Central Composite Design*) pada *Design Expert software* untuk mengetahui kondisi optimum. Rancangan optimasi dapat dilihat pada Tabel 3. Hasil ekstraksi dienap tuangkan untuk dilakukan analisis kadar flavonoid dari Filtrat ekstrak.

**Tabel 3.** Rancangan Optimasi Ekstraksi

Run	Suhu (°C)	Waktu (Menit)	Rasio NADES:Air (%)
1	60	60	90
2	40	30	70
3	40	30	70
4	25	10	50
5	40	10	70
6	25	10	90
7	60	10	90
8	60	30	70
9	40	30	90
10	40	60	70
11	60	10	50
12	60	60	50
13	40	30	70
14	40	30	70
15	40	30	50
16	40	30	70
17	25	60	50
18	25	60	90
19	40	30	70
20	25	30	70

### Verifikasi Kondisi Optimum

Sampel dibuat pada kondisi optimum yang diperoleh dari *Design Expert software* dan dilakukan pengulangan sebanyak 6 kali.

## HASIL DAN PEMBAHASAN


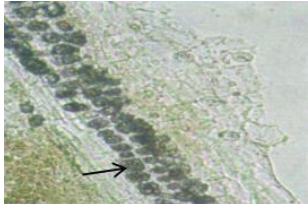
### Uji Mutu Simplisia

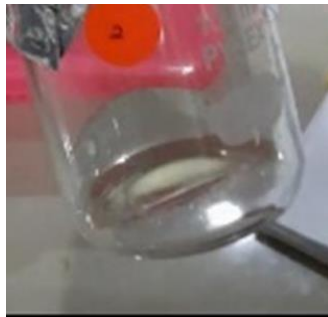
Pengujian makroskopik terhadap simplisia yang dilakukan meliputi warna, bau dan rasa. Hasilnya yaitu simplisia berwarna hijau, bau khas aromatik serta rasa pahit dan kelat. Hasil uji mikroskopik terhadap simplisia dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100 (Tabel 4). Hasil kadar air dan kadar abu memenuhi syarat yang ditetapkan di dalam Farmakope Herbal Edisi II (Departemen Kesehatan RI, 2017).

### Pembuatan Pelarut NADES Kolin Klorida-Asam

NADES yang berbentuk kristal dilarutkan sesuai dengan perhitungan yang sudah didapatkan hingga terbentuk larutan bening dan tidak terdapat kristal. Hasilnya, pelarut NADES yang tepat akan membentuk cairan jernih dan stabil, seperti NADES 2, 3 5 dan 6 (Gambar 1). Komponen penyusun yang tidak tepat menyebabkan cairan tersebut tidak stabil, seperti NADES 1 dan 4 (Gambar 2), akan membentuk endapan serta dapat kembali menjadi bentuk padat, sehingga NADES akan terlihat keruh (Ahmad dkk., 2020). Oleh karena itu, NADES 1 dan 4 tidak dilanjutkan ke proses pengujian kadar flavonoid.

**Tabel 4.** Uji Mutu Simplisia

Parameter	Hasil	Pembanding (Departemen Kesehatan RI, 2017)
Warna	Hijau kekuningan	Hijau kekuningan
Bau	Khas aromatik	Khas
Rasa	Pahit dan kelat	Pahit
Mikroskopik		
Susut Pengerinan	7,80 ± 0,28	10%
Kadar abu	6,25 ± 0,13	7,2%



(a)



(b)

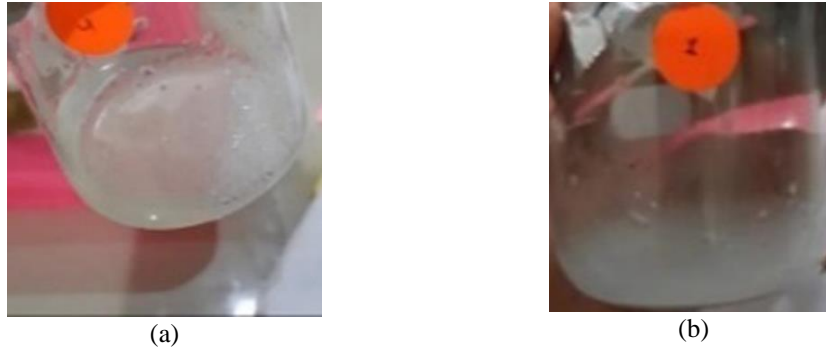


(c)



(d)

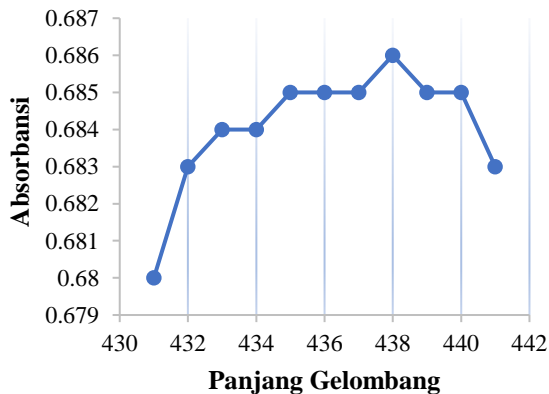
**Gambar 1.** Hasil pembuatan pelarut NADES 2 (a), NADES 3 (b), NADES 5 (c), dan NADES 6 (d) yang membentuk larutan bening



**Gambar 2.** Hasil pembuatan pelarut NADES 1 (a) dan NADES 4 (b) yang membentuk kristal pada suhu ruang.

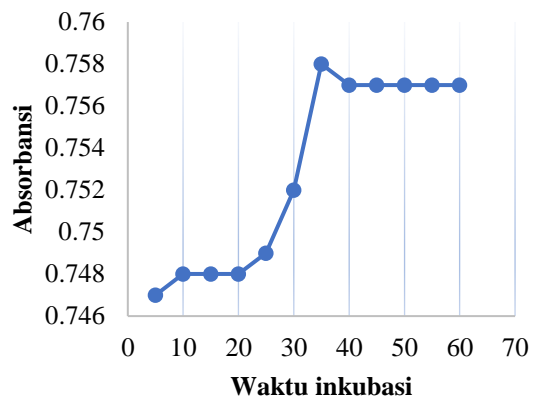
**Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Cair Daun Meniran**  
*Optimasi Kondisi Pengukuran*

Optimasi kondisi pengukuran dilakukan dengan menentukan panjang gelombang maksimal kuersetin dan waktu inkubasi optimum. Penentuan Panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui serapan maksimal dari larutan uji. Larutan uji merupakan hasil reaksi antara senyawa flavonoid dengan senyawa aluminium klorida, dimana akan membentuk senyawa kompleks aluminium-flavonoid. Flavonoid yang digunakan dalam penentuan Panjang gelombang maksimum adalah senyawa kuersetin. Panjang gelombang maksimal larutan uji diperoleh pada 438 nm dengan absorbansi 0,686 (Gambar 3).



**Gambar 3.** Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan waktu inkubasi bertujuan untuk mengetahui lama waktu yang dibutuhkan sebuah zat dapat bereaksi dengan maksimal dan stabil. Waktu inkubasi optimum yang didapatkan yaitu pada waktu ke-35 menit (Gambar 4).

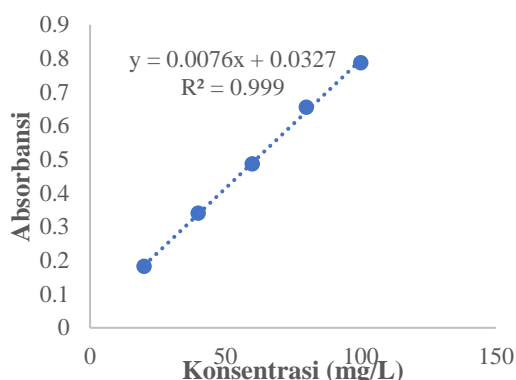


**Gambar 4.** Penentuan Waktu Inkubasi

**Kurva Kalibrasi Kuersetin**

Pembuatan kurva kalibrasi kuersetin bertujuan untuk menentukan akurasi dari pembacaan yang ditampilkan instrument untuk mencapai ketelusuran dalam pengukuran sampel. Berdasarkan hasil didapatkan persamaan regresi linier  $y = 0,0076x + 0,0327$  dengan nilai koefisien determinasi ( $r^2$ ) 0,999. Nilai koefisien determinasi yang diperoleh menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang sangat kuat (99.9%) antara absorbansi dan konsentrasi, sehingga konsentrasi dapat ditentukan berdasarkan

nilai absorbansi. Hasil dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Kurva Kalibrasi

### Hasil Skrining NADES

Skrining NADES dilakukan untuk menentukan pelarut NADES terbaik dalam mengekstraksi senyawa flavonoid dari daun meniran. Penentuan kadar flavonoid dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 438 dengan waktu inkubasi selama 35 menit. Kadar flavonoid yang menggunakan pelarut NADES dengan metode ekstraksi UAE lebih besar dibandingkan menggunakan pelarut metanol dengan metode ekstraksi maserasi. Hal ini dikarenakan proses ekstraksi pada ekstrak NADES menggunakan gelombang ultrasonik yang dapat menarik zat aktif lebih banyak, penggunaan pelarut NADES juga mempengaruhi kadar flavonoid. NADES memiliki kemampuan yang tinggi untuk mengekstrak senyawa flavonoid, hal ini terkait dengan interaksi ikatan hidrogen yang terjalin antara senyawa flavonoid dengan molekul NADES.

Hasil pengolahan data analisis ragam ANOVA menggunakan SPSS, menunjukkan adanya perbedaan nyata dengan nilai sig yang didapat adalah 0,001 ( $P < 0,05$ ) pada perlakuan perbedaan pelarut terhadap kadar flavonoid sehingga dilakukan uji lanjut Duncan. Hasil skrining NADES dapat dilihat pada Tabel 5. Hasil skrining NADES menunjukkan bahwa kadar flavonoid

terbaik adalah dengan menggunakan pelarut NADES 2.

Tabel 5. Skrining NADES

Perlakuan	Kadar Flavonoid (%)
UAE NADES 2	0,63 ± 0,01 <sup>a</sup>
UAE NADES 3	0,56 ± 0,02 <sup>b</sup>
UAE NADES 5	0,53 ± 0,02 <sup>b</sup>
UAE NADES 6	0,55 ± 0,03 <sup>b</sup>
Maserasi	0,25 ± 0,01 <sup>c</sup>

### Hasil Optimasi Ekstraksi

Optimasi dilakukan untuk menentukan kondisi ekstraksi paling optimal dalam mengekstraksi senyawa flavonoid dari daun meniran. Hasil optimasi menggunakan *Desain Expert 12* dengan metode RSM (*Response Surface Methodology*) dan desain CCD digunakan untuk mengetahui efek dari variabel berupa suhu, waktu dan rasio pelarut terhadap respon kadar flavonoid ekstrak daun meniran. Model yang disarankan *Desain Expert* adalah *quadratic*. Berdasarkan hasil pengujian ANOVA dengan menggunakan model *quadratic* seperti pada Tabel 6.

Hasil uji anova dengan model linier nilai *p-value* yang didapatkan 0,0003 atau  $< 0,05$  dimana hasil ini menunjukkan model signifikan terhadap respon. Pada nilai ketidaksesuaian atau *Lack of Fit* didapatkan nilai *p-value* 0,3588 atau  $> 0,05$  dimana hasil ini menunjukkan tidak signifikan, hal ini memberikan gambaran baik untuk kesesuaian model dengan respon kadar flavonoid ekstrak daun meniran. Pada nilai  $R^2$  (koefisien determinasi) didapatkan hasil sebesar 0,9303, hal ini memberikan gambaran baik bahwa variable suhu dan waktu ekstraksi memberikan pengaruh 93,03% terhadap kadar flavonoid, sedangkan 6,97% dipengaruhi oleh faktor lain yang tidak ada dalam model. Pada nilai rasio *adequate precision* didapatkan sebesar 12,3560 yang menunjukkan nilai yang sangat baik karena lebih besar dari 4.



**Tabel 6.** Hasil Uji Anova

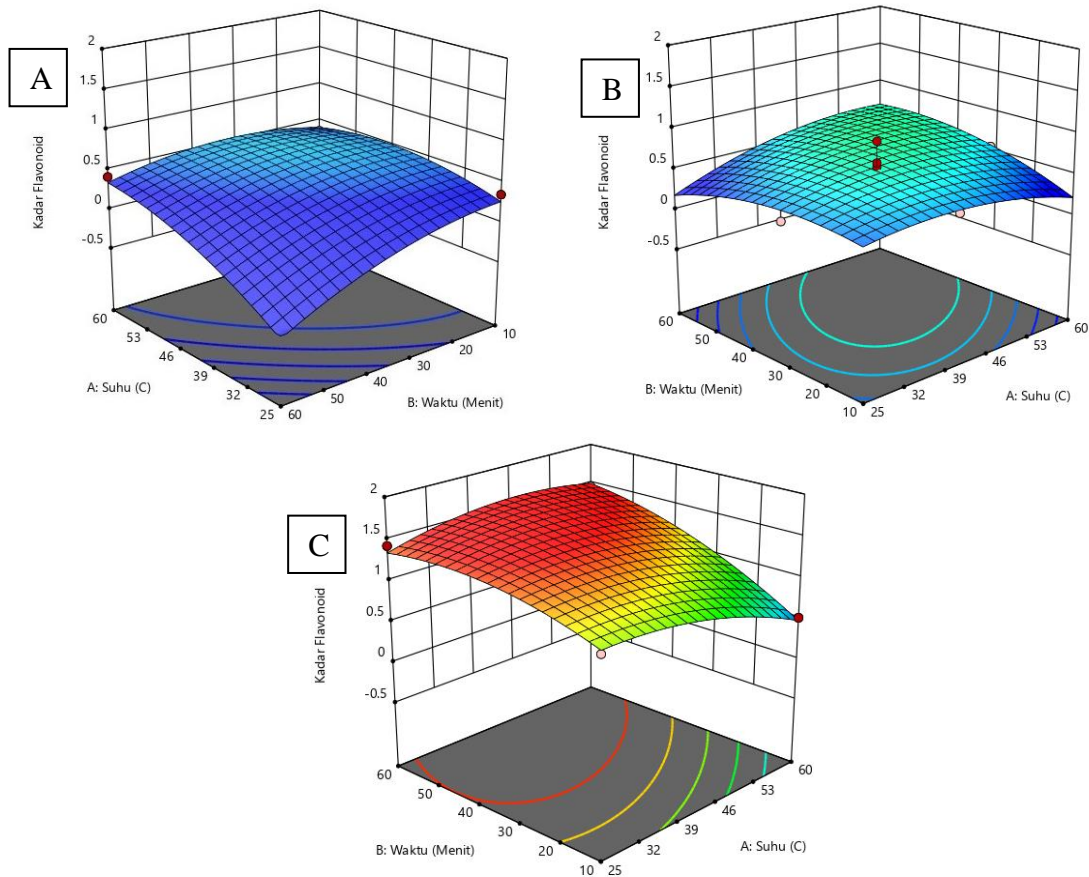
Parameter	Results
p-value (Model)	0,0003
p-value ( <i>Lack of fit</i> )	0,3588
<i>Linearity</i> (R <sup>2</sup> )	0,9303
Adequate precision	12,3560
Regression model formula (y)	$y = 0,565655 + 0,071780 \cdot X_1 - 0,034237 \cdot X_2 - 0,050029 \cdot X_3 + 0,000420 \cdot X_1 \cdot X_2 - 0,000521 \cdot X_1 \cdot X_3 + 0,000536 \cdot X_2 \cdot X_3 - 0,000540 \cdot X_1^2 - 0,000272 \cdot X_2^2 + 0,000556 \cdot X_3^2$

Keterangan: X<sub>1</sub> = Suhu ekstraksi; X<sub>2</sub> = Waktu ekstraksi; X<sub>3</sub> = Rasio pelarut NADES

Berdasarkan analisis dengan metode CCD diperoleh persamaan yang digambarkan dengan *Regression Model Formula*. Persamaan ini digunakan untuk mengetahui respon kadar flavonoid ekstrak daun meniran dengan variable suhu, variable waktu, dan variable rasio pelarut. Persamaan tersebut menunjukkan bahwa kadar flavonoid ekstrak daun meniran berbanding lurus terhadap variabel suhu, interaksi suhu dan waktu, interaksi waktu dan rasio serta interaksi antara rasio. Kadar flavonoid ekstrak daun meniran berbanding terbalik terhadap variabel waktu, rasio pelarut, interaksi suhu dan rasio, interaksi antara suhu, dan interaksi antara waktu. Apabila suhu ekstraksi dinaikkan maka kadar flavonoid ekstrak daun meniran akan meningkat dengan estimasi nilai kenaikan 0,071780%. Apabila waktu ekstraksi dinaikkan maka kadar flavonoid ekstrak daun meniran akan menurun dengan estimasi nilai penurunan 0,034237%.

Model yang diperoleh dapat dilihat dalam bentuk grafik 3D (tiga dimensi) seperti pada Gambar 3. Grafik 3D tersebut menggambarkan kondisi optimum dari model yang digunakan yaitu berbentuk kuadratik dengan titik optimum berada ditengah dan ditunjukkan dengan warna

merah pada kubah yang diikuti dengan warna hijau dan biru yang menandakan adanya penurunan kadar. Pada gambar 6a terlihat sedikit berbentuk kuadratik dengan kubah berwarna biru, hasil ini menunjukkan belum didapatkan hasil kadar flavonoid yang optimum dikarenakan belum terlihat adanya warna merah pada kubah. Pada gambar 6b terlihat sedikit berbentuk kuadratik dengan kubah berwarna hijau diikuti warna biru, hasil gambar 6b sedikit lebih baik dari gambar 3a dikarenakan ada peningkatan kadar meskipun belum mendapatkan hasil kadar flavonoid yang optimum. Sedangkan pada gambar 6c terlihat sedikit berbentuk kuadratik dengan kubah berwarna merah yang diartikan dengan adanya titik optimum kadar flavonoid. Dari proses optimasi dan grafik yang dihasilkan menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu, waktu dan rasio maka kadar flavonoid yang dihasilkan semakin besar. Hal ini disebabkan karena semakin lama waktu ekstraksi semakin lama sampel terpapar gelombang ultrasonic dari UAE, mengakibatkan pecahnya dinding sel pada sampel sehingga mengeluarkan zat terlarut ke dalam pelarut (Azmi dkk., 2015).



**Gambar 6.** Grafik interaksi antara suhu dan waktu dengan rasio 70% (a), 80% (b), dan 90% (c)

Berdasarkan hasil didapatkan kondisi ekstraksi terbaik yaitu dengan menggunakan rasio NADES 90% diekstraksi dengan UAE pada suhu 48°C dalam waktu 60 menit dan nilai *desirability* atau tingkat kepercayaan yang didapat yaitu 1,000. Nilai *desirability* mendekati 1 adalah nilai yang paling

diinginkan dapat ditunjukkan oleh model karena semakin menunjukkan nilai ketepatan optimasi (Ratnawati dkk., 2018). Kondisi ekstraksi hasil optimasi kemudian dilakukan verifikasi menggunakan hasil yang didapat dari desain. Kondisi ekstraksi hasil optimasi dapat dilihat pada Tabel 7.

**Tabel 7.** Kondisi Ekstraksi Optimum

Number	Suhu	Waktu	Rasio	Kadar Flavonoid (%)	Desirability
1	48.000	60.000	90.000	1.588	1.000

### Hasil Verifikasi

Hasil verifikasi nilai kadar flavonoid ekstrak daun meniran dengan 6 kali pengulangan didapatkan semua data masuk dalam rentang 95% *Confidence Interval* (CI). Nilai 95% *Confidence Interval* (CI) menunjukkan bahwa 95% data respon sampel yang terukur berada pada selang tersebut (Verschuuren, 2014). Hasil pengujian yang berada pada kisaran prediksi selang kepercayaan sehingga model yang digunakan dapat memprediksi respon dengan baik. Hasil verifikasi kondisi ekstraksi dengan suhu 48°C, waktu 60 menit, dan rasio pelarut 90% yang menggunakan NADES 2 (asam oksalat) didapatkan kadar flavonoid rata-rata 1,4161% ± 0,0410 (Tabel 8). Hasil ini lebih baik dibandingkan dengan menggunakan metode maserasi dan UAE dengan pelarut etanol 70% yang dilakukan oleh (Utami dkk., 2020) dengan hasil secara berturut-turut adalah 0,41% dan 0,62%.

**Tabel 8.** Hasil Verifikasi

Kadar Flavonoid (%)	95% CI low	95% CI high
1,4161 ± 0,0410	1,2869	1,8889

### SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa pelarut NADES yang paling banyak mengekstraksi senyawa flavonoid dari daun meniran adalah NADES 2 (ChCl-Asam Oksalat) dengan kadar flavonoid 0,63% dan kondisi ekstraksi yang paling optimal dalam mengekstraksi senyawa flavonoid dari daun meniran adalah pada waktu 60 menit, suhu 48°C dan rasio pelarut 90% dengan kadar flavonoid 1,4161%.

### DAFTAR PUSTAKA

Ahmad, I., Pertiwi, A. S., Kembaren, Y. H., Rahman, A., & Mun'im, A. (2018).

Application of natural deep eutectic solvent-based ultrasonic assisted extraction of total polyphenolic and caffeine content from coffee beans (*Coffea Beans L.*) for instant food products. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(8), 138–143.

<https://doi.org/10.7324/JAPS.2018.8819>

Ahmad, I., Yusniah, A., Nur, Y., Prabowo, W. C., & Herman. (2020). Pengayaan Polifenol Total dari Daun Kadamba Menggunakan Metode Ekstraksi Berbantu Mikrowave Berbasis Pelarut Hijau. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 6(2), 338–346. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2020.v6.i2.15035>

Aliefa Nur Azmi, Y. (2015). Ekstraksi Antosianin Buah Murbei (*Morus alba L.*) Metode Ultrasonic Bath (Kajian Waktu Dan Rasio Bahan : Pelarut). *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(2), 773–783.

Bagalkotkar, G., Sagineedu, S. R., Saad, M. S., & Stanslas, J. (2006). Phytochemicals from *Phyllanthus niruri* Linn. and their pharmacological properties: a review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 58(12), 1559–1570. <https://doi.org/10.1211/jpp.58.12.0001>

Departemen Kesehatan RI. (2008). Farmakope Herbal Indonesia. In *Kementrian Kesehatan RI* (1st ed.).

Departemen Kesehatan RI. (2020). Farmakope Indonesia Edisi VI. In *Kementrian Kesehatan RI*.

Harish, R., & Shivanandappa, T. (2006). Antioxidant activity and hepatoprotective potential of *Phyllanthus niruri*. *Food Chemistry*, 95(2), 180–185. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem>.

- 2004.11.049
- Krisyanella, Susilawati, N., & Rivai, H. (2013). Pembuatan dan karakterisasi serta penentuan kadar flavonoid dari ekstrak kering herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.). *Jurnal Farmasi Higea*, 5(1), 9–19.
- Ratnawati, S. E., Ekantari, N., Pradipta, R. W., & Paramita, B. L. (2018). The Application of Response Surface Methodology (RSM) on the Optimization of Catfish Bone Calcium Extraction. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, 20(1), 41. <https://doi.org/10.22146/jfs.35663>
- Setiani, L. A., Sari, B. L., Indriani, L., & Jupersio. (2017). Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol 70% Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Dengan Metode Maserasi Dan MAE (Microwave Assisted Extraction). *Ekp*, 13(3), 1576–1580.
- Tambunan, R. M., Swandiny, G. F., & Zaidan, S. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol 70 % Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) Terstandar. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 12(2), 60–64.
- Utami, N. F., Suhendar, U., Sutanto, D., & Nurdayanty, S. M. (2020). Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi Pada Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Iler (*Plectranthus scutellarioides*). *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(1), 76–83. <https://doi.org/10.33751/jf.v10i1.2069>
- Verschuuren, G. (2014). *Excel 2013 for Scientists*. Holy Macro Books.