

Optimasi *Ultrasound Assisted Extraction* Senyawa Flavonoid dari Daun Meniran Menggunakan *Natural Deep Eutectic Solvent*

Zaldy Rusli*, Yulianita, Nanda Putri Amalia

Program Studi Farmasi, FMIPA Universitas Pakuan, Jalan Pakuan PO BOX 452, Bogor 16143

*Corresponding author: zaldy.rusli@unpak.ac.id

Submit: November 1st, 2023

Revised: December 2th, 2023

Accept: December 16th, 2023

Copyright © 2023 Universitas Pakuan



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

ABSTRAK

Meniran (*Phyllanthus niruri*) merupakan salah satu tanaman yang banyak digunakan sebagai bahan dalam pengobatan tradisional. Meniran mengandung senyawa flavonoid yang dapat bertindak sebagai antioksidan. Ekstraksi senyawa flavonoid umumnya menggunakan pelarut organik, namun penggunaan pelarut organik dapat membahayakan bagi manusia dan lingkungan, sehingga mendorong penggunaan pelarut lain yang lebih ramah lingkungan, salah satunya adalah *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kombinasi NADES dari kolin klorida dengan beberapa gula alkohol dan menentukan kondisi ekstraksi optimum yang dapat menghasilkan ekstrak dengan kadar flavonoid terbaik. Kombinasi NADES yang digunakan adalah kolin klorida dan beberapa gula alkohol. Ekstraksi dilakukan dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE). Analisis kadar flavonoid dilakukan dengan menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi $AlCl_3$. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi NADES 1 yaitu Kolin Klorida-Gliserol menghasilkan kadar flavonoid terbaik dibandingkan dengan kombinasi NADES lainnya dengan kadar flavonoid sebesar 1,965 mg QE/g ekstrak cair dengan kondisi optimum yang didapatkan pada waktu 42 menit, suhu 60 °C dan rasio NADES 90 %.

Kata Kunci: Meniran; flavonoid; NADES; UAE

Optimization of Flavonoid Compounds From Meniran Leaves Using Natural Deep Eutectic Solvent and Ultrasound Assisted Extraction

ABSTRACT

Meniran (Phyllanthus niruri) is one of the plants that is widely used as an ingredient in traditional medicine. Flavonoids compounds in meniran can act as antioxidants. Extraction of flavonoid compounds generally used organic solvents, but the use of organic solvents can be harmful to humans and the environment, thereby encouraging the use of other, more environmentally friendly solvents, one of which is Natural Deep Eutectic Solvent (NADES). This study aims to determine the combination of NADES and optimized the extraction process which can produce extracts with the best flavonoid levels. The combination of NADES used is choline chloride and several sugar alcohols. Extraction is carried out using the Ultrasound Assisted Extraction method. The Analysis of flavonoid levels is carried out using the colorimetric method with $AlCl_3$ as a reagent. The results showed that the combination of NADES 1 (Choline Chloride-Glycerol) produced the best flavonoid levels compared to other NADES combinations with flavonoid levels of 1,965 mg QE / g of liquid extract with optimum conditions obtained at 42 minutes, temperature 60 °C and NADES ratio of 90 %.

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

PENDAHULUAN

Meniran (*Phyllanthus niruri*) merupakan tanaman yang dapat ditemui di beberapa negara baik tropis maupun subtropis, dan sudah sejak lama digunakan dalam pengobatan tradisional untuk berbagai penyakit. Meniran dapat digunakan sebagai pengobatan batu ginjal, hepatitis, menurunkan demam dan meningkatkan kekebalan tubuh (Kaur, Kaur, & Sirhindi, 2017). Senyawa yang terkandung dalam *Phyllanthus niruri* antara lain senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, tannin, dan fenolik (Kaur, Kaur, & Sirhindi, 2017), sedangkan lignan yang diisolasi dari *Phyllanthus niruri* antara lain filantin, hipofilantin, nirantin, lintetralin, filteralin, isonirtetralin, hinokinin, isolintetralin (Kaur *et al.*, 2017). Pengambilan senyawa flavonoid yang terdapat di dalam suatu tumbuhan dapat dipengaruhi oleh beberapa hal, seperti jenis pelarut dan metode ekstraksi.

Beberapa pelarut organik konvensional yang biasa digunakan dalam ekstraksi tumbuhan, antara lain n-heksana, etil asetat, aseton, etanol, dan metanol, dan pelarut yang lain memiliki sifat mudah menguap. Akan tetapi, penggunaan pelarut organik dapat berdampak buruk bagi lingkungan (Abubakar & Haque, 2020). Salah satu solusi untuk pengganti pelarut organik tersebut adalah *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES). NADES mempunyai beberapa keunggulan seperti persiapan yang mudah, viskositas yang dapat disesuaikan, dan mempunyai sifat fisikokimia yang baik. Dibandingkan dengan pelarut organik, NADES tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar sehingga aman untuk lingkungan (Zhang *et al.*, 2012).

Metode ekstraksi juga dapat berperan dalam mengoptimalkan pengambilan senyawa flavonoid dari tumbuhan. Metode ekstraksi secara garis besar dibagi menjadi dua kelompok, yaitu konvensional (maserasi, refluks, soklet) dan modern seperti ultrasonik, *microwave*, *supercritical fluid*, dan lain-lain. Pemilihan metode ekstraksi yang sesuai dilakukan agar dapat menghindari *thermal degradation* dari senyawa fenolik, seperti flavonoid (Tzanova *et al.*, 2020). Ekstraksi dengan menggunakan

ultrasonik (UAE) telah digunakan dalam ekstraksi senyawa termolabil seperti antosianin (golongan flavonoid) dari bunga, karena waktu ekstraksi yang singkat dan menghindari paparan suhu tinggi (Ebrahim, Kershi, & Butnariub, 2014). UAE juga merupakan teknik ekstraksi yang ramah lingkungan dan ekonomis dibandingkan teknik konvensional. Manfaat utamanya adalah penurunan waktu ekstraksi dan pemrosesan, jumlah energi dan pelarut yang digunakan, unit operasi, dan emisi CO₂ (Chemat *et al.*, 2016). Penggunaan gelombang ultrasonik dalam ekstraksi juga memiliki kekurangan, yaitu penggunaan gelombang ultrasonik yang tinggi dapat menghasilkan pembentukan radikal bebas dan perubahan pada komponen yang diekstraksi, sehingga untuk menghindari hal tersebut, maka parameter UAE seperti suhu, waktu, polaritas dan jumlah pelarut harus dioptimasi (Ameer, Shahbaz, & Kwon, 2017).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, wadah maserasi, cawan uap, kertas saring, kurs, pipet tetes, mikroskop, timbangan analitik, kuvet, oven, spatel, spektrofotometer UV-Vis, *sonicator*, dan alat penunjang lainnya.

Bahan yang digunakan adalah serbuk daun meniran (*Phyllanthus niruri*), aquadest, etanol 70 %, kolin klorida, gliserol, glukosa, fruktosa, sorbitol, sukrosa, maltosa, propilenglikol, aluminium klorida, kuersetin, natrium asetat, natrium klorida, besi (III) klorida, serbuk mg, serbuk zn, gelatin, pereaksi Mayer, pereaksi Bouchardat, dan Pereaksi Dragendroff.

Karakterisasi Simplisia

Uji mutu simplisia meliputi pengujian makroskopik, mikroskopik, kadar air, dan kadar abu (Depkes, 2017). Uji makroskopik dilakukan dengan mengamati dan mendeskripsikan bagian tanaman, sedangkan uji mikroskopik dilakukan dengan mengamati fragmen pengenal dari tanaman menggunakan mikroskop dengan derajat pembesaran yang disesuaikan. Kadar air

dan kadar abu dilakukan secara gravimetri dengan tiga ulangan.

Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Cair Daun Meniran

Penetapan kadar flavonoid dilakukan menggunakan metode Depkes (2017), yang meliputi analisis standar dan sampel menggunakan spektrofotometer sinar tampak. Analisis standar dan sampel dilakukan menggunakan panjang gelombang maksimum dan waktu inkubasi optimum yang ditentukan pada penelitian ini. Analisis standar dilakukan menggunakan teknik kurva kalibrasi. Serapan dari deret standar dimasukkan sebagai sumbu y dan konsentrasi sebagai sumbu x, dengan fungsi linier akan diperoleh persamaan kurva kalibrasi $y = bx + a$. Persamaan tersebut digunakan untuk menghitung konsentrasi larutan sampel (x) berdasarkan nilai absorbansi larutan sampel (y) dengan menggunakan persamaan 1.

Skrining NADES (Natural Deep Eutectic Solvent)

Preparasi NADES dilakukan dengan mencampurkan kombinasi antara HBA dan HBD dengan rasio yang telah ditentukan (Tabel 1), kemudian larutan diaduk pada suhu 80 °C hingga mencair menggunakan *magnetic stirrer*.

Skrining NADES dilakukan dengan mengekstraksi 1 g simplisia menggunakan 10 mL pelarut NADES, menggunakan sonikator dengan kondisi yang tercantum dalam Tabel 2. Kemudian masing-masing ekstrak cair dianalisis kadar flavonoid menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan tiga kali pengulangan.

$$\text{Kadar Flavonoid (\%)} = \frac{x (\mu\text{g/mL}) \times \text{volume (mL)} \times \text{fp} \times 10^{-6}}{\text{Bobot simplisia (g)}} \times 100 \% \tag{1}$$

Tabel 2. Skrining Awal NADES

Jenis	Komponen	Rasio NADES	Waktu	Suhu	Rasio NADES-Air
NADES-1	ChCl : Gliserol	1:1			
NADES-2	ChCl : Glukosa	1:1			
NADES-3	ChCl : Fruktosa	1:1			
NADES-4	ChCl : Sorbitol	1:2	30 Menit	40 °C	70 %
NADES-5	ChCl : Sukrosa	1:2			
NADES-6	ChCl : Maltosa	1:2			
NADES-7	ChCl: Propilen glikol	1:2			

Tabel 1. Rasio Kombinasi NADES

Jenis	Kombinasi HBA dan HBD	Rasio Molar
NADES-1	ChCl-Fruktosa	1:1
NADES-2	ChCl-Glukosa	1:1
NADES-3	ChCl-Gliserol	1:1
NADES-4	ChCl-Sorbitol	1:2
NADES-5	ChCl-Sukrosa	1:2
NADES-6	ChCl-Maltosa	1:2
NADES-7	ChCl-Propilen Glikol	1:2

Keterangan: ChCl (Kolin Klorida)

Optimasi Ekstraksi dengan Metode Response Surface Methodology

Optimasi dilakukan dengan menggunakan metode RSM desain *Central Composite Design* (CCD) menggunakan kombinasi NADES terbaik hasil dari skrining. Optimasi dilakukan terhadap waktu (10, 30 dan 60 menit), suhu (25, 40 dan 60), dan rasio NADES-Air (50-50, 70-30 dan 90-10). Rancangan optimasi dapat dilihat pada Tabel 3. Kemudian dianalisis kadar flavonoid menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Analisis dan Verifikasi Hasil Optimasi

Analisis skrining dilakukan dengan uji deskriptif, dengan melakukan uji normalitas terlebih dahulu. Jika data terdistribusi normal, maka hasil dianalisis menggunakan *analysis of variance* (ANOVA), sedangkan jika data tidak terdistribusi normal, maka hasil dianalisis menggunakan uji non-parametrik. Hasil optimasi diolah menggunakan aplikasi *Design Expert 11*, meliputi analisis, optimisasi dan verifikasi.

Tabel 3. Desain Optimasi Ekstraksi

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

Tabel 4. Uji Mutu Simplisia

Parameter	Hasil	Pembanding (Kemenkes RI, 2017).
Warna	Hijau kekuningan	Hijau kekuningan
Bau	Khas aromatik	Khas
Rasa	Pahit dan Kelat	Pahit
Mikroskopik		
Kadar Air	7,562 ± 0,057	10 %
Kadar Abu	4,151 ± 0,054	7,2 %

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Simplisia

Pada uji makroskopik dilakukan uji organoleptik untuk mendeskripsikan rasa, bau dan juga warna dari simplisia serbuk meniran. Hasil pengujian simplisia berwarna hijau dengan bau khas aromatik dan memiliki rasa pahit dan kelat. Pada uji mikroskopik dilakukan dengan perbesaran 400x (Tabel 4). Untuk hasil kadar air dan kadar abu telah memenuhi persyaratan yang ditetapkan di dalam Farmakope Herbal Edisi II (Depkes, 2017). Nilai kadar air dan kadar abu yang diperoleh dalam penelitian ini lebih baik dibandingkan nilai kadar air (7,80 %) dan kadar abu (6,25 %) penelitian sebelumnya (Yulianita *et al.*, 2022).

Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Cair Daun Meniran

Pada penelitian ini penetapan kadar flavonoid ekstrak daun meniran menggunakan metode kolorimetri dengan $AlCl_3$ sebagai pereaksi. Pengamatan pada metode ini berdasarkan serapan cahaya dari larutan yang berwarna menggunakan alat *Spectrofotometer Visible*. Reaksi antara senyawa flavonoid dengan $AlCl_3$ akan membentuk senyawa kompleks yang berwarna kuning. Warna kuning yang terlihat dapat diukur menggunakan *Spectrofotometer Visible* pada panjang gelombang 435 nm (Fredette, 2018). Hasil analisis panjang gelombang maksimal diperoleh panjang gelombang 438 nm. Jika dibandingkan dengan panjang gelombang teoretis (435 nm), maka terjadi pergeseran panjang gelombang ke kanan atau pergeseran batokromik sebanyak 3 nm.

Senyawa flavonoid memerlukan waktu untuk dapat bereaksi setimbang dengan $AlCl_3$, yang ditunjukkan dengan nilai serapan yang maksimal dan stabil. Waktu yang dibutuhkan oleh suatu zat agar dapat bereaksi secara maksimal dan stabil disebut dengan waktu inkubasi optimum. Hasil analisis waktu inkubasi optimum menunjukkan bahwa terjadi reaksi antara flavonoid dan $AlCl_3$ berjalan lambat, karena membutuhkan waktu 40 menit untuk mencapai nilai serapan yang maksimum. Nilai

serapan yang stabil pada menit ke-40 hingga menit ke-60, menandakan bahwa reaksi antara senyawa flavonoid dengan $AlCl_3$ sudah dalam keadaan setimbang.

Tujuan dari pembuatan larutan standar adalah untuk mengukur keakuratan data yang diperoleh. Berdasarkan hasil dari pengukuran serapan larutan standar kuersetin diperoleh persamaan regresi linear $y = 0,0763x + 0,00327$ dengan koefisien determinasi (r^2) sebesar 0,999. Nilai koefisien determinasi (r^2) sebesar 0,999 menunjukkan adanya hubungan yang sangat kuat antara serapan dan konsentrasi, sehingga persamaan regresi linier dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi senyawa analit berdasarkan nilai serapan larutan sampel.

Skrining NADES

Tujuan dilakukannya skrining NADES yaitu untuk menentukan kombinasi pelarut NADES yang terbaik dalam mengekstraksi senyawa flavonoid dari daun meniran. Pada pembuatan NADES terdapat dua campuran NADES yang membentuk kristal yaitu kombinasi NADES 5 (Kolin Klorida-Sorbitol) dan NADES 6 (Kolin Klorida-Maltosa). Kombinasi NADES yang membentuk kristal disebabkan karena rasio molar komposisi NADES yang tidak setimbang. Rasio molar HBA dan HBD merupakan faktor penting dalam pembuatan NADES, yang dapat mempengaruhi stabilitas dan sifat fisikokimia dari NADES (Lu *et al.*, 2016). Kombinasi NADES yang membentuk kristal tidak digunakan dalam penelitian ini.

Berdasarkan hasil dari skrining didapatkan bahwa kadar flavonoid dengan pelarut NADES dengan metode ekstraksi UAE lebih baik dibandingkan dengan menggunakan metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 70 %. Diketahui NADES memiliki kemampuan dalam mengekstraksi senyawa flavonoid, dikarenakan terdapat ikatan hidrogen yang terjalin antara senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun meniran dengan molekul NADES (Dai, Verpoorte, & Choi, 2018). Selain itu, penggunaan metode ekstraksi UAE juga dapat mempengaruhi kadar

flavonoid, hal ini dikarenakan ekstraksi menggunakan bantuan dari gelombang ultrasonik sehingga dapat menarik senyawa flavonoid lebih baik (MacLean *et al.*, 2021).

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa terdapat pengaruh komposisi pelarut NADES terhadap kadar flavonoid ekstrak daun meniran dengan nilai signifikansi $p < 0,05$ sehingga dilakukan uji lanjut Duncan. Dari uji lanjut Duncan dapat disimpulkan bahwa setiap jenis NADES memberikan pengaruh yang berbeda. Data pada Tabel 5 menunjukkan bahwa NADES 1 (Kolin Klorida-Glisrol) memiliki kadar flavonoid tertinggi yaitu sebesar 1,747 mg *Quercetin Equivalen* (QE)/g, sehingga selanjutnya dilakukan proses optimasi dan verifikasi untuk mendapatkan kondisi optimum dari NADES 1.

Tabel 5. Skirining NADES

Pelarut	Kadar Flavonoid mgQE/g
NADES 1-UAE	1,747 ± 0,007 ^a
NADES 2-UAE	1,427 ± 0,048 ^b
NADES 3-UAE	1,121 ± 0,130 ^c
NADES 4-UAE	0,510 ± 0,040 ^d
NADES 7-UAE	1,592 ± 0,077 ^e
Maserasi	0,390 ± 0,010

Optimasi Proses Ekstraksi

Optimasi dilakukan untuk mengoptimalkan proses ekstraksi meniran menggunakan kombinasi NADES terbaik dengan menggunakan *Central Composite Design* (CCD) dan metode RSM. Parameter

yang dioptimasi adalah suhu, waktu, dan rasio pelarut terhadap respon, yaitu kadar flavonoid. Dari pengujian ANOVA model yang disarankan yakni *quadratic* (Tabel 6).

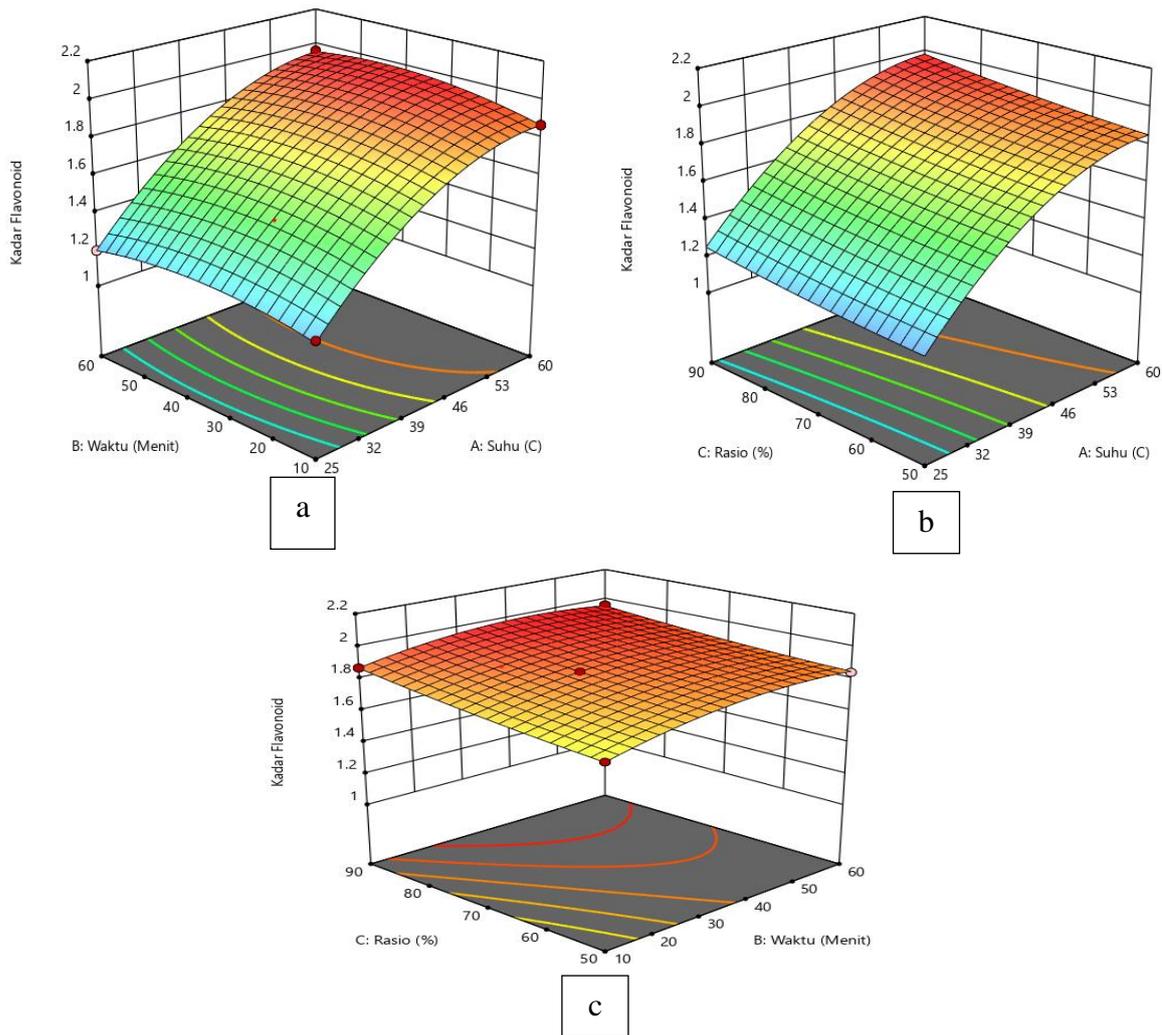
Hasil dari pengujian ANOVA terhadap parameter dan respon menghasilkan model yang *significant* dengan *p-value* sebesar 0,0001 atau $< 0,05$ yang menunjukkan bahwa terdapat parameter yang memberikan pengaruh nyata terhadap kadar flavonoid hasil ekstraksi. Terdapat pula *Lack of fit* yang menunjukkan adanya ketidaksesuaian antara model dengan data perlakuan dengan *p-value* 0,6005 dimana nilai ini lebih dari $p > 0,05$ atau tidak signifikan, hal ini menunjukkan adanya kesesuaian model dengan respon kadar flavonoid ekstrak daun meniran. *Linearity* (R^2) dari model adalah sebesar 0,9988, hasil ini menunjukkan bahwa parameter dan respon memberikan pengaruh sebesar 99,88 %, sedangkan 0,12 % dipengaruhi oleh faktor lain yang tidak berada di dalam model.

Persamaan pada Tabel 6 merupakan persamaan *actual* dan dapat digunakan untuk memprediksi kadar flavonoid. Koefisien yang bernilai positif menunjukkan bahwa kadar flavonoid berbanding lurus dengan parameter-parameter analisis, sedangkan koefisien yang bernilai negatif menunjukkan bahwa kadar flavonoid berbanding terbalik dengan parameter-parameter analisis. Persamaan ini hanya dapat digunakan untuk desain optimasi seperti pada penelitian ini.

Tabel 6. Hasil ANOVA Optimasi

Factors	Results
<i>p-value</i> (Model)	0.0001
<i>p-value</i> (Lack of fit)	0,6005
<i>Linearity</i> (R^2)	0.9988
<i>Adjusted R²</i>	0.9976
<i>Predicted R²</i>	0.9945
<i>Regression model formula</i>	$y = -0,307415 + 0,064418 * A + 0,008772 * B - 0,001655 * C + 0,000045 * A * B + 0,000023 * A * C - 0,000029 * B * C - 0,000559 * A^2 - 0,000102 * B^2 + 0,000033 * C^2$

Keterangan: A = Suhu, B = Waktu, C= Rasio



Gambar 1. Grafik interaksi suhu-waktu(a), suhu-rasio (b), waktu-rasio (c) terhadap kadar flavonoid.

Model yang diperoleh tersaji dalam bentuk grafik 3D (Gambar 4). Bentuk grafik yang tepat untuk menggambarkan kondisi optimal yakni seperti parabola atau kubah dengan titik optimalnya berada di tengah dan ditandai dengan warna merah pada kubah yang diikuti dengan warna hijau dan orange yang menandakan adanya penurunan kadar. Pada gambar 4 menunjukkan bahwa semakin lama waktu maka dapat meningkatkan hasil ekstraksi, hal ini dapat dilihat dari titik optimal yang berada ditengah, sedangkan untuk suhu dan rasio belum diketahui titik optimalnya, terlihat dari model grafik 3D yang belum berbentuk seperti parabola.

RSM memprediksi kadar flavonoid optimum dapat diperoleh pada suhu ekstraksi 60 °C, waktu ekstraksi 42 menit dengan rasio 90 % dengan nilai *desirability* sebesar 1.000, memiliki nilai kadar flavonoid sebesar 1.983 mg QE/g. Nilai *desirability* yang mendekati 1 merupakan nilai yang paling baik, karena semakin menunjukkan nilai akurasi yang tinggi (Behera *et al.*, 2018). Hasil prediksi kondisi ekstraksi hasil optimasi diverifikasi berdasarkan hasil pengukuran.

Verifikasi Kondisi Optimum

Tujuan dilakukannya verifikasi yaitu untuk mengkonfirmasi kembali hasil prediksi RSM pada kondisi optimum dengan melakukan

pengujian ulang sebanyak 6 kali. Hasil verifikasi kondisi optimum ekstraksi dengan waktu 42 menit, suhu 60 °C dengan rasio NADES 90 % menggunakan kombinasi NADES 1 (Kolin Klorida-Gliserol) didapatkan kadar rata-rata sebesar 1,965 mg QE/g \pm 0,005. Hasil verifikasi menunjukkan bahwa desain optimasi untuk memprediksi kadar flavonoid optimum dapat digunakan dengan tingkat kepercayaan 95 %. Hal ini dikarenakan hasil verifikasi terhadap kondisi optimum berada pada *Confidence Interval low* dan *high* (1,958–2,008). Kondisi optimum ini juga menunjukkan bahwa NADES-1 (kolin klorida-gliserol) dan UAE dapat mengekstraksi senyawa flavonoid yang lebih baik dari penelitian sebelumnya (Yulianita *et al.*, 2022), menggunakan kombinasi kolin klorida-asam oksalat dengan metode UAE dengan kadar flavonoid sebesar 1,4161 mg QE/g.

KESIMPULAN

NADES dengan kombinasi antara kolin klorida dan gliserol lebih baik dari kombinasi yang lain dalam penelitian ini. Kombinasi NADES tersebut lebih baik dalam mengekstraksi senyawa flavonoid, dengan kondisi optimum yaitu ekstraksi dilakukan selama 42 menit, dengan suhu 60 °C, dan menggunakan rasio NADES-Air sebesar 90 %, dapat menghasilkan ekstrak cair dengan kadar flavonoid sebesar 1,965 mg QE/g. Kadar flavonoid yang dihasilkan masih dapat ditingkatkan dengan melakukan proses pemekatan yang sesuai.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM), Universitas Pakuan (Nomor Kontrak: 141/LPPM-UP/IX/KPT/2023) yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Abubakar, A., & Haque, M. (2020). Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for

Experimental Purposes. *J. Pharm. Bioallied Sci.*, 12, 1-10.

Alegantina, S., Setyorini, H. A., & Triwahyuni, T. (2015). Pengujian Mutu dan Penetapan Kadar Filantin Pada Ekstrak Etanol Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* linn). *Buletin Penelitian Kesehatan*, 43(1), 11-16.

Ameer, K., Shahbaz, H., & Kwon, J. (2017). Green Extraction Methods for Polyphenols from Plant Matrices and. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 295-315.

Behera, S. K., Meena, H., Chakraborty, S., & Meikap, B. C. (2018). Application of response surface methodology (RSM) for optimization of leaching parameters for ash reduction from low-grade coal. *International Journal of Mining Science and Technology*, 28(4), 621-629.

Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.-G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.-S., & Abert-Vian, M. (2016). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications A Review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540-560.

Dai, Y., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2018). Natural deep eutectic solvents providing enhanced stability of natural colorants from safflower (*Carthamus tinctorius*). *Food Chemistry*, 159, 116-121.

Depkes. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia* (2nd ed.). Jakarta, Indonesia: Kemenkes RI.

Ebrahim, N., Kershi, M., & Butnariub, M. (2014). Antioxidant Activity and Anthocyanin Content in Flower of *Mirabilis*. *World Appl. Sci. J.*, 247-251.

Fredette, T. (2018, April). *Light and Color*. Retrieved October 31, 2023, from Hanna Instrument: <https://blog.hannainst.com/basics-of-spectrophotometry>

- Kaur, N., Kaur, B., & Sirhindi, G. (2017). Phytochemistry and Pharmacology of *Phyllanthus niruri* L.: A Review. *Phytother Res*, 31(7), 980-1004.
- Lu, C., Cao, J., Wang, N., & Su, E. (2016). Significantly improving the solubility of non-steroidal anti-inflammatory drugs in deep eutectic solvents for potential non-aqueous liquid administration. *Med Chem Comm*, 955-959.
- MacLean, A. M., Silva, Y. P., Jiao, G., & Brooks, M. S. (2021). Ultrasound-Assisted Extraction of Anthocyanins from Haskap (*Lonicera caerulea* L.) Berries Using a Deep Eutectic Solvent (DES) DES Extraction of Anthocyanins from Haskap Berries. *Food Technol Biotechnol*, 59(1), 56-62.
- Oktaviyanti, N. D., Kartini, K., Hadiyat, M. A., Rachmawati, E., Wijaya, A. C., Hayun, H., et al. (2020). A green extraction design for enhancing flavonoid compounds from *Ixora javanica* flowers using a deep eutectic solvent. *Royal Society open science*, 7(10), 201116.
- Tzanova, M., Aranasov, V., Yaneva, Z., Ivanova, D., & Dinev, T. (2020). Selectivity of Current Extraction Techniques for Flavonoids from Plant Materials. *Processes*, 8, 1222.
- Yulianita, ..., Rusli, Z., Suhendar, U., & Masrani, Z. (2022). Ekstraksi Flavonoid Daun Meniran Menggunakan Pelarut Natural Deep Eutectic Solvent Berbasis Kolin Klorida-Asam Dengan Ultrasound Assisted Extraction. *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 46-57.
- Zhang, Q., De Oliveira Vigier, K., Royer, S., & Jérôme, F. (2012). Deep eutectic solvents: syntheses, properties and applications. *Chemical Society Reviews*, 41, 7108-7146.