

Ekstraksi Daun Kejibeling (*Strobilanthes crispus*) dengan Metode *Continuous Ultrasound-Assisted Enzymatic Extraction*: Pengaruh Temperatur dan Konsentrasi Enzim

Extraction of Kejibeling (Strobilanthes crispus) Leaves using the Continuous Ultrasound-Assisted Enzymatic Extraction Method: Effect of Temperature and Enzyme Concentration

Randi Sitorus, Tania Surya Utami*, Yuswan Muharam, Rita Arbianti, Naufal Azrizal Prasetyo

Program Studi Teknik Kimia, Universitas Indonesia, Depok, 16424, Indonesia

*Email: nana@che.ui.ac.id, muharam@che.ui.ac.id

Article history:

Diterima : 2 Juli 2024
Direvisi : 20 Agustus 2024
Disetujui : 21 Agustus 2024
Mulai online : 28 September 2024

E-ISSN: 2337-4888

How to cite:

Randi Sitorus, Tania Surya Utami, Yuswan Muharam, Rita Arbianti, Naufal Azrizal Prasetyo. (2024). Ekstraksi Daun Kejibeling (*Strobilanthes crispus*) dengan Metode *Continuous Ultrasound-Assisted Enzymatic Extraction*: Pengaruh Temperatur dan Konsentrasi Enzim. Jurnal Teknik Kimia USU, 13(2), 138-145.

ABSTRAK

Metode *continuous ultrasound-assisted enzymatic extraction* (CUAEE) telah menjadi teknik yang menjanjikan dalam ekstraksi senyawa bioaktif dari bahan tanaman. Dalam penelitian ini, ekstraksi daun kejibeling (*Strobilanthes crispus*) dilakukan menggunakan metode CUAEE untuk mengoptimalkan hasil ekstrak. Rancangan percobaan melibatkan parameter ekstraksi yaitu ukuran partikel daun ($d \leq 0,177$ mm), konsentrasi etanol (50%), waktu ekstraksi (180 menit), dan variasi parameter yaitu temperatur (30 °C, 40 °C, 50 °C, dan 60 °C), serta konsentrasi enzim selulase 3% dan 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi optimal untuk CUAEE tercapai pada temperatur 60 °C dengan konsentrasi enzim 5%, menghasilkan kadar *total phenolic content* (TPC) sebesar 12,097 mg EAG/g serbuk daun kering dan kadar *total flavonoid content* (TFC) sebesar 2,291 EK/g serbuk daun kering. Data yang diperoleh menunjukkan bahwa metode *continuous ultrasound-assisted enzymatic extraction* memiliki potensi untuk aplikasi produksi asam fenolik dan flavonoid dalam skala besar.

Kata kunci: *continuous ultrasound-assisted enzymatic extraction, strobilanthes crispus, total flavonoid content, total phenolic content*

ABSTRACT

Continuous ultrasound-assisted enzymatic extraction (CUAEE) method has become a promising technique for extracting bioactive compounds from plant materials. In this study, the extraction of kejibeling (*Strobilanthes crispus*) leaves was carried out using the CUAEE method to optimize the extract yield. The experimental design involved extraction parameters including leaf particle size ($d \leq 0,177$ mm), ethanol concentration (50%), extraction time (180 minutes), and varying parameters such as temperature (30 °C, 40 °C, 50 °C, and 60 °C), as well as cellulase enzyme concentration of 3% and 5%. The results showed that the optimal conditions for CUAEE were achieved at a temperature of 60 °C with an enzyme-solid ratio of 5%, producing a total phenolic content (TPC) of 12,097 mg EAG/g dry leaf powder and a total flavonoid content (TFC) of 2,291 EK/g dry leaf powder. The data obtained indicate that the continuous ultrasound-assisted enzymatic extraction method has the potential for large-scale production of phenolic acids and flavonoids.

Keyword: *continuous ultrasound-assisted enzymatic extraction, strobilanthes crispus, total flavonoid content, total phenolic content*



This work is licensed under a Creative Commons
Attribution-ShareAlike 4.0 International.
<https://doi.org/10.32734/jtk.v13i2.17151>

1. Pendahuluan

Tanaman kejobeling (*Strobilanthes crispus*) merupakan tanaman asli dari Indonesia dan Malaysia [1]. Kejobeling telah digunakan secara luas sebagai tanaman pengobatan alternatif pada wilayah Asia Tenggara. Tanaman ini berkhasiat sebagai anti-angiogenesis [2], antihiperglikemik, antioksidan [3], menurunkan level kolesterol darah [4], anti-inflamasi, antiproliferasi [5], antihiperkolesterol [6], *neuro-protective* dan *cardioprotective* [7].

Penggunaan metode ekstraksi hijau telah dikembangkan untuk mengambil senyawa aktif dari daun kejobeling, seperti metode superkritik CO₂ [8], hidrodistilasi, *microwave-assisted hydrodistillation* [9] dan *ultrasound-assisted enzymatic extraction* (UAEE). UAEE merupakan kombinasi dari metode *ultrasound-assisted extraction* (UAE) dan *enzyme-assisted extraction* (EAE). *Continuous ultrasound-assisted enzymatic extraction* (CUAEE) telah terbukti sebagai metode ekstraksi yang sederhana, cepat, efisien, dan ekonomis. Hidrolisis enzimatis dengan enzim selulase menghasilkan kemampuan degradasi atau menghancurkan dinding sel tanaman sehingga pelepasan fitokimia menjadi lebih baik dan ekstraksi senyawa aktif lebih mudah [10]. Metode CUAEE, yakni metode UAEE dengan sistem kontinu yang terbukti dapat meningkatkan kemampuan antioksidan, waktu ekstraksi yang lebih singkat, volume pelarut organik lebih sedikit, dan dapat mengatasi masalah pada lingkungan [11].

Pada studi yang dilakukan oleh Arbianti [12], penelitian dengan metode UAE, UAEE, *ultrasound-assisted enzymatic aqueous two phase extraction* (UAE-ATPE) bertahap, dan UAE-ATPE simultan dilakukan pada temperatur 27 °C dan rasio enzim-padatan 70 mg/g serbuk daun kering. Hasil tertinggi yang didapatkan adalah dengan metode hidrolisis/UAE-ATPE simultan dengan kadar *total phenolic content* (TPC) dan *total flavonoid content* (TFC) masing-masing 5,717 dan 3,332 mg/g serbuk daun kering. Metode UAEE memiliki kadar TPC dan TFC masing-masing sebesar 4,493 dan 1,001 mg/g serbuk daun kering. Dalam penelitian ini, metode ekstraksi yang digunakan adalah CUAEE, yakni metode UAEE dengan sistem kontinu dan dilakukan variasi pada temperatur dan konsentrasi enzim ekstraksi. Enzim digunakan untuk mendegradasi dinding sel tanaman dan meningkatkan permeabilitas dinding sel. Perusakan dinding sel tanaman menyebabkan mudahnya ekstraksi senyawa aktif sehingga meningkatkan *yield* ekstraksi senyawa aktif [13].

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh temperatur dan konsentrasi enzim pada proses ekstraksi asam fenolik dan flavonoid dari daun kejobeling menggunakan metode CUAEE. Ekstraksi tanpa ultrasonik dilakukan sebagai perbandingan hasil dengan metode yang digunakan. Konsentrasi asam fenolik dan flavonoid yang dihasilkan merupakan parameter pengujian, yang dinyatakan dengan kadar TPC dan TFC.

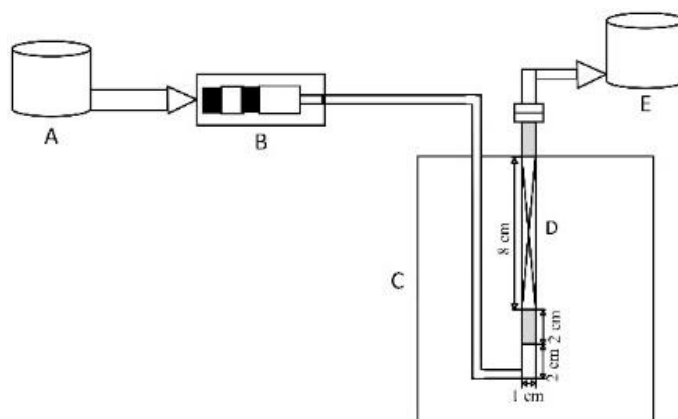
2. Metode

Alat dan Bahan

Daun kejobeling diperoleh dari Kabupaten Kulon Progo di Daerah Istimewa Yogyakarta. Daun dicuci, dikeringkan, dihancurkan, diayak dengan ayakan 80 mesh ($d \leq 0,177$ mm), dan disimpan dalam wadah tertutup. Enzim selulase diperoleh dari Sigma-Aldrich Chemicals. Etanol diperoleh dari PT. Smart Lab Indonesia. Sonikator yang digunakan yaitu penangas ultrasonik Ovan dengan frekuensi 40 kHz. Spektrofotometer UV-VIS yang digunakan adalah spektrofotometer Shidmazu tipe UV-1280.

Prosedur Eksperimen

Sebanyak 2,5 g daun kejobeling kering yang berukuran diameter $\leq 0,177$ mm dimasukkan ke dalam kolom ekstraktor yang berukuran diameter 1 cm dan tinggi 8 cm. Ekstraktor yang digunakan direndam pada penangas ultrasonik yang berisi air sebagai media penghantar sonikasi dan temperatur. Enzim selulase dengan konsentrasi enzim 3% dan 5% dimasukkan ke dalam larutan 50% etanol. Pelarut dipertahankan pada pH 4,5-5,5 dengan menambahkan larutan *buffer phosphate* K₂HPO₄, KH₂PO₄, dan akuades. *Syringe pump* mengalirkan pelarut secara kontinu menuju kolom dengan laju alir 1 mL/menit. Sonikator digunakan sebagai sumber gelombang ultrasonik selama 180 menit pada frekuensi 40 kHz. Enzim selulase *Aspergillus niger* memiliki temperatur aktivasi 37 °C. Sedangkan rentang maksimal temperatur 60 °C digunakan untuk mencegah penguapan etanol dimana etanol yang digunakan sebagai pelarut memiliki titik didih rendah yaitu 78,4 °C. Sehingga pada proses ekstraksi CUAEE ini, dilakukan beberapa variasi temperatur yaitu pada temperatur 30, 40, 50 dan 60 °C [14]. Ekstraksi diulang tanpa menggunakan sonikator pada temperatur 30 °C.



Gambar 1. Rangkaian Percobaan CUAEE. Inlet Pelarut (A), Syringe Pump (B), Penangas Ultrasonik (C), Kolom Ekstraktor (D), dan Outlet Ekstrak (E).

Analisis Total Phenolic Content (TPC)

Total Phenolic Content diperoleh dengan metode folin-ciocalteu menggunakan spektrofotometer UV-VIS berdasarkan penelitian Arbianti [12] yang dimodifikasi. Secara singkat, 1 mL sampel ekstrak dilarutkan dalam 9 mL etanol. Kemudian ditambahkan 2,5 mL Folin Ciocalteu 10% dan Na_2CO_3 7,5% sebanyak 2 mL ke dalam 0,5 mL larutan ekstrak. Setelah diinkubasi selama 10 menit pada temperatur ruang, absorbansi larutan dibaca panjang gelombang 765 nm. Kurva kalibrasi dibuat dengan menggenerasi sejumlah asam galat. Rendemen diukur dalam milligram ekuivalen asam galat (mg EAG) per gram padatan kering daun kejobeling.

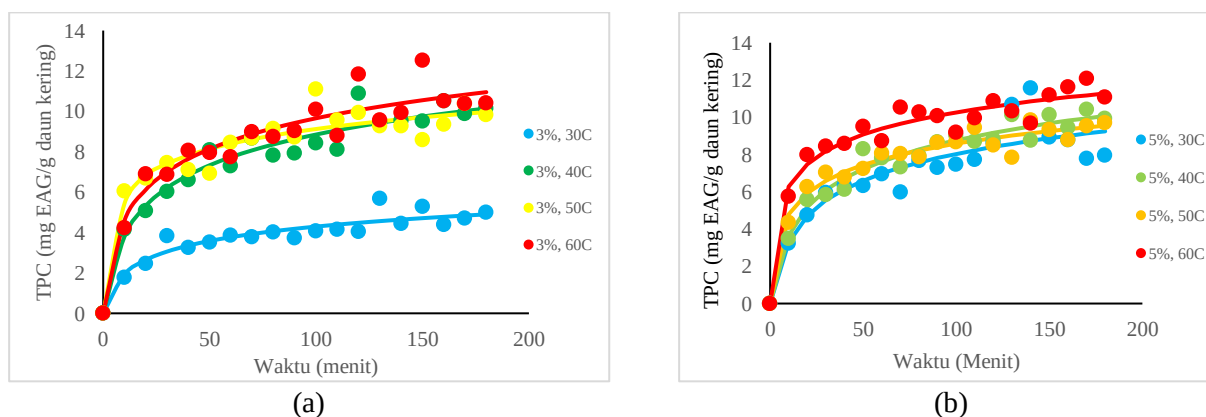
Analisis Total Flavonoid Content (TFC)

Total Flavonoid Content diperoleh menggunakan spektrofotometer UV-VIS berdasarkan penelitian Arbianti [12] yang dimodifikasi. Secara singkat, 1 mL sampel ekstrak dilarutkan dalam 9 mL etanol. Kemudian ditambahkan 0,1 mL larutan AlCl_3 10% dan 0,1 mL larutan CH_3COOK 1 M ke dalam 0,5 mL larutan ekstrak. 2,8 mL akuades ditambahkan ke dalam larutan dan digoyang menggunakan vortex selama 1 menit. Setelah didiamkan selama 30 menit pada temperatur ruang, absorbansi larutan dibaca pada panjang gelombang 434 nm. Kurva kalibrasi dibuat dengan menggenerasi sejumlah kuersetin. Rendemen diukur dalam milligram ekuivalen kuersetin (mg EK) per gram padatan kering daun kejobeling.

3. Hasil

Pengaruh Temperatur Ekstraksi Terhadap Kadar TPC

Grafik yang mempresentasikan kadar TPC hasil eksperimen ekstraksi daun kejobeling menggunakan metode CUAEE dapat dilihat pada Gambar 2 dan 3.



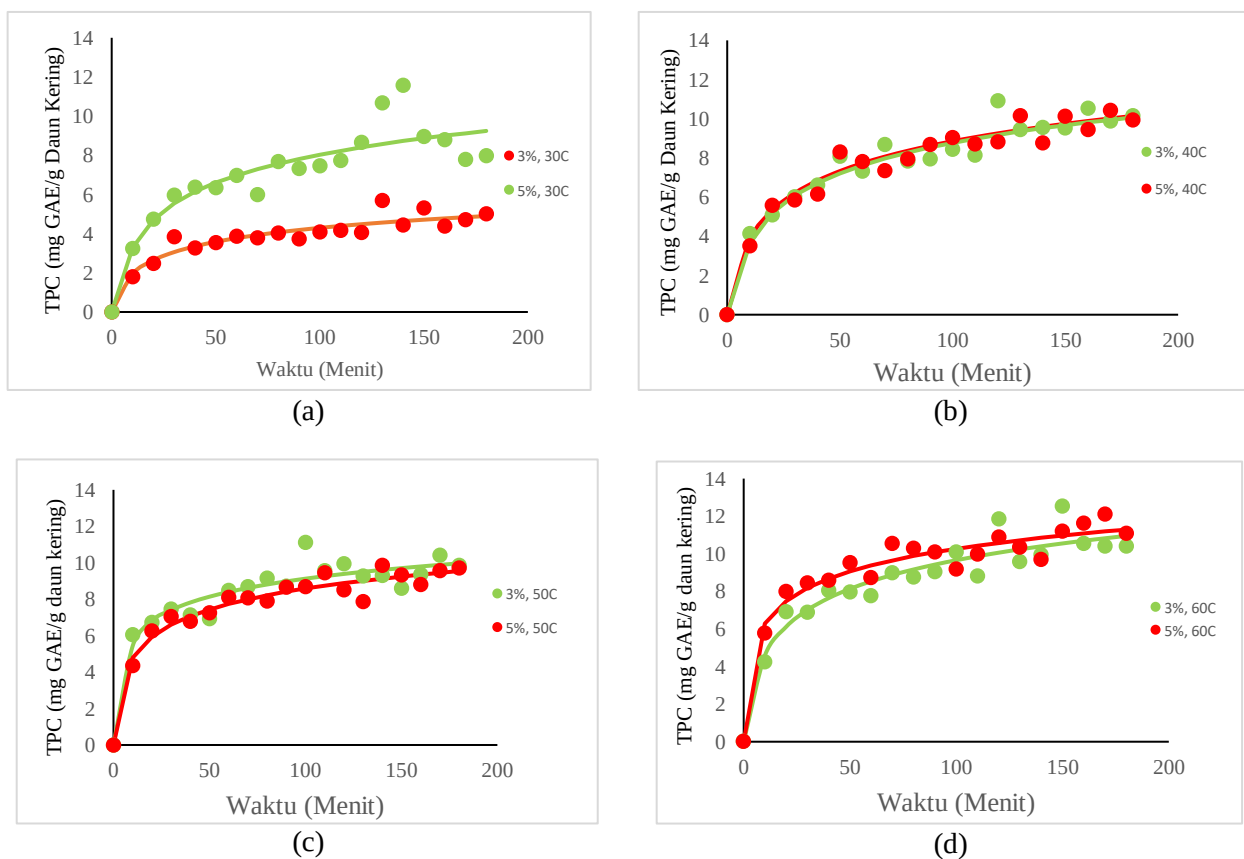
Gambar 2. Pengaruh temperatur ekstraksi terhadap kadar TPC pada konsentrasi enzim (a) 3% dan (b) 5%

Penentuan kadar TPC dilakukan untuk membandingkan penggunaan temperatur ekstraksi dan enzim yang berbeda dengan waktu pengambilan sampel dilakukan setiap 10 menit selama 180 menit. Ekstrak daun kejobeling ditampung dalam wadah terus menerus sehingga diperoleh nilai kadar TPC secara akumulasi. Suplai pelarut dilakukan menggunakan *syringe pump* secara stabil ke dalam ekstraktor.

Gambar 2 merepresentasikan hubungan antara temperatur pada proses ekstraksi dengan kadar TPC pada enzim-padatan 3% dan 5%. Hasil yang didapat pada penelitian ini adalah temperatur ekstraksi berpengaruh secara langsung terhadap kadar TPC yang didapat, dimana kadar TPC akan meningkat seiring dengan meningkatnya temperatur pada proses ekstraksi. Pada percobaan ini, didapatkan temperatur optimum adalah 60 °C dengan kadar TPC sebesar 10,528 mg EAG/g serbuk daun kering untuk konsentrasi enzim sebesar 3% dan 12,097 mg EAG/ g serbuk daun kering untuk konsentrasi enzim 5%. Hasil ini didukung dengan penelitian ekstraksi bahan alam yang dilakukan oleh Margaretta et al. [15] yaitu ekstraksi pandan wangi berupa asam fenolik dengan pelarut etanol 96%. Hasil penelitiannya menunjukkan perolehan kadar TPC optimum pada waktu ekstraksi 5,5 jam dengan temperatur 70 °C. Pada temperatur yang semakin tinggi, viskositas larutan akan turun. Dengan viskositas yang rendah, maka tahanan perpindahan massa akan semakin kecil sehingga lebih mudah terekstrak. Selain itu, dengan temperatur ekstraksi yang tinggi, jaringan dinding sel partikel padatan akan melunak sehingga memudahkan perpindahan asam fenolik ke larutan [15]. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Angelina [14], temperatur optimum ekstraksi daun kejobeling dengan metode UAEE yang didapatkan yaitu pada temperatur 30 °C, dimana apabila di bawah temperatur tersebut, enzim selulase belum bekerja secara optimal.

Pengaruh Konsentrasi Enzim Terhadap Kadar TPC

Gambar 3 merupakan grafik yang merepresentasikan pengaruh konsentrasi enzim terhadap hasil eksperimen proses ekstraksi asam fenolik dari daun kejobeling dengan menggunakan metode CUAEE.



Gambar 3. Pengaruh konsentrasi enzim terhadap TPC pada temperatur (a) 30 °C, (b) 40 °C, (c) 50 °C, dan (d) 60 °C

Berdasarkan Gambar 3, dapat dilihat variasi enzim secara tidak langsung mempengaruhi total asam fenolik. Pada temperatur 30 °C, dengan adanya penambahan enzim, kadar TPC yang dihasilkan meningkat. Pada temperatur 30, 40, 50, dan 60 °C, penambahan konsentrasi enzim pada pelarut tidak berpengaruh secara signifikan, sehingga hasil TPC cenderung mirip. Menurut Yazdi dkk. [16], penambahan enzim dalam jumlah tertentu dapat meningkatkan *yield* ekstraksi senyawa fenolik dari kulit pistachio hijau hingga 22%, namun penambahan enzim selanjutnya tidak meningkatkan *yield* ekstraksi secara signifikan. Pada penelitian ini, pada temperatur 30 °C konsentrasi enzim yang optimal sebesar 5%. Peningkatan temperatur menjadi 40 °C, 50 °C,

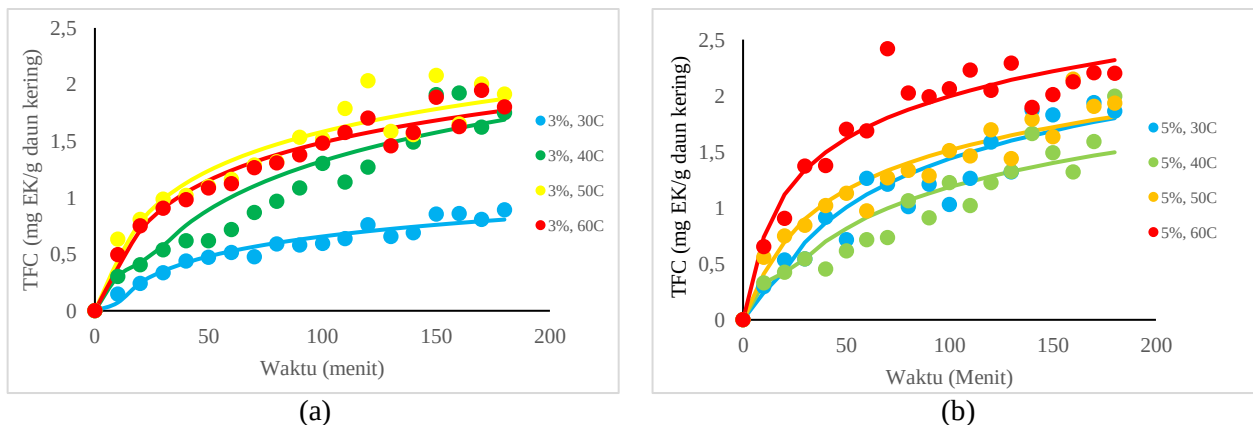
dan 60 °C dengan konsentrasi enzim 3% sudah optimal, penambahan enzim tidak menunjukkan perubahan yang signifikan.

Menurut penelitian Huang dkk. [17], *yield* ekstraksi flavonoid dari residu *Illicium verum* meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi enzim selulase yang digunakan sampai batas tertentu. Hal ini disebabkan oleh larutan enzim yang terlalu viskos atau memiliki konsentrasi yang tinggi tidak efektif dalam proses reaksi enzimatik.

Dalam penelitian ini, konsentrasi enzim pada 30 °C mempengaruhi *yield* ekstraksi. *Yield* ekstraksi meningkat dengan adanya penambahan konsentrasi enzim. Pada temperatur yang lebih tinggi, penambahan enzim tidak mempengaruhi *yield* TPC yang dihasilkan. Hasil yang terjadi ini dapat disebabkan oleh pelarut yang digunakan sudah jenuh dengan enzim yang digunakan sehingga penambahan enzim tidak mempengaruhi *yield* TPC pada temperatur yang berbeda.

Pengaruh Temperatur Ekstraksi Terhadap Kadar TFC

Grafik yang mempresentasikan kadar TFC hasil eksperimen ekstraksi daun kejobeling menggunakan metode CUAEE dapat dilihat pada Gambar 4.



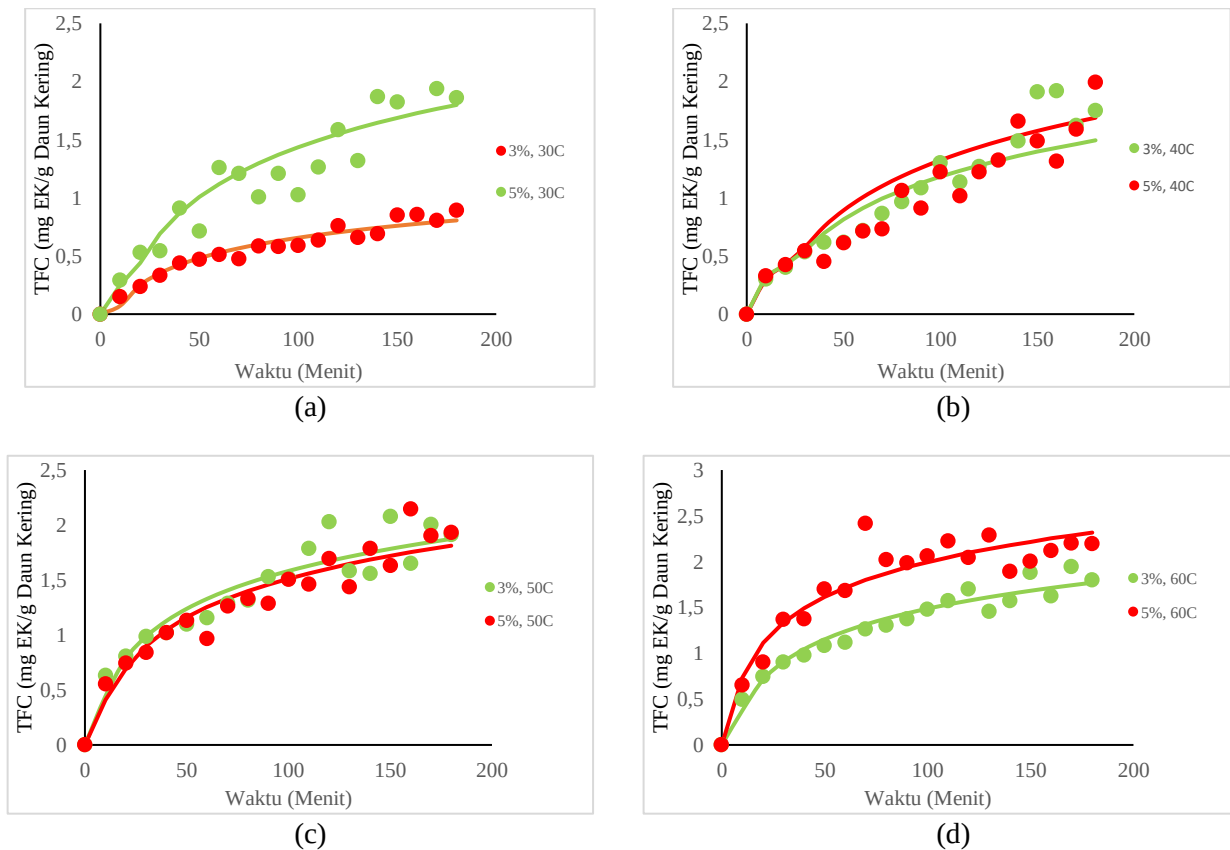
Gambar 4. Pengaruh temperatur ekstraksi terhadap kadar TFC pada konsentrasi enzim (a) 3% dan (b) 5%

Gambar 4 memperlihatkan hubungan antara waktu ekstraksi dengan kadar TFC pada berbagai variasi temperatur 30, 40, 50 dan 60 °C. Hasil menunjukkan bahwa pada temperatur yang lebih rendah, kadar TFC yang dihasilkan juga lebih sedikit. Semakin tinggi temperatur ekstraksi yang digunakan, kadar TFC secara keseluruhan semakin meningkat. Pada Gambar 4 dapat dilihat bahwa kadar TFC optimum pada temperatur 60 °C dengan kadar TFC akhir sebanyak 1,977 mg EK/g serbuk daun kering tercapai selama 170 menit proses ekstraksi. Kadar TFC meningkat hingga temperatur 50 °C, namun peningkatan temperatur selanjutnya tidak signifikan menaikkan kadar TFC yang diperoleh. Pada Gambar 4 nilai kadar TFC tertinggi yaitu pada temperatur 60 °C yaitu 2,292 mg EK/g serbuk daun kering pada waktu 130 menit.

Menurut Poedjiadi and Supriyanti [18] penggunaan enzim selulase *Aspergillus niger* dalam proses ekstraksi dengan menggunakan berbagai variasi temperatur akan mempengaruhi ekstrak yang dihasilkan. Seperti protein, perilaku kimia enzim dapat terdenaturasi pada temperatur tertentu, dan kondisi ekstrim lainnya. Pemanfaatan enzim terbatas pada rentang temperatur dan pH tertentu. Adanya kenaikan temperatur di luar rentang menyebabkan enzim terdenaturasi. Apabila terdenaturasi, maka bagian aktif enzim akan terganggu dan dengan demikian konsentrasi efektif enzim menjadi berkurang dan kecepatan reaksinya pun akan menurun.

Pengaruh Konsentrasi Enzim Terhadap Kadar TFC

Gambar 5 merupakan grafik yang merepresentasikan data pengaruh konsentrasi enzim terhadap hasil eksperimen proses ekstraksi kadar TFC dari daun kejobeling dengan menggunakan metode CUAEE.



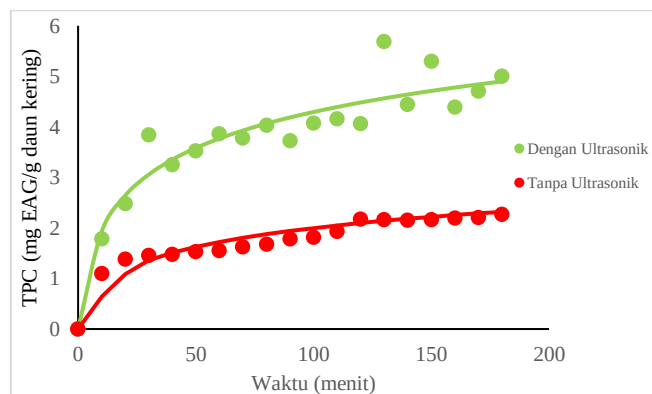
Gambar 5. Pengaruh konsentrasi enzim terhadap TFC pada temperatur (a) 30 °C, (b) 40 °C, (c) 50 °C, dan (d) 60 °C

Berdasarkan Gambar 5, dapat dilihat variasi konsentrasi enzim secara tidak langsung mempengaruhi total asam fenolik. Dengan penambahan enzim, kadar TFC yang dihasilkan cenderung meningkat. Menurut Angelina dkk. [14], apabila enzim yang digunakan terlalu banyak maka tidak akan efektif untuk melakukan reaksi enzimatik karena pada konsentrasi tertentu, enzim akan menjadi jenuh dan peningkatan konsentrasinya tidak akan memberikan efek apapun karena bukan merupakan *limiting factor* terhadap laju reaksi. Menurut Saeed dkk. [19] *yield* ekstraksi flavonoid dari *Gymnema Sylvestre* meningkat seiring dengan meningkatnya koonsentrasi enzim selulase yang digunakan sampai batas tertentu. Hal ini disebabkan karena larutan enzim yang terlalu viskos atau memiliki konsentrasi yang tinggi tidak efektif dalam proses reaksi enzimatik.

Dalam penelitian ini, penambahan konsentrasi enzim pada temperatur 30 °C mengubah nilai TFC keseluruhan. Pada temperatur yang lebih tinggi, perbedaan nilai TFC yang dihasilkan dengan penambahan konsentrasi enzim cenderung mirip. Hal ini dapat disebabkan karena kurangnya waktu tinggal pelarut pada sistem reaktor kontinyu sehingga penambahan konsentrasi enzim tidak mengubah nilai TFC secara signifikan. Penambahan temperatur tidak dapat mencerminkan perubahan kadar TFC yang dihasilkan, meskipun beberapa penelitian menggunakan parameter temperatur optimum untuk menentukan aktivitas enzim [20].

Pengaruh Ultrasonik Terhadap Kadar TPC

Pada Gambar 6, efek ultrasonik pada ekstraksi CUAEE dipelajari dengan membandingkan hasil kadar TPC yang diperoleh dengan ekstraksi menggunakan ultrasonik dan tanpa bantuan ultrasonik yang dilakukan pada temperatur 30 °C dan frekuensi 40 kHz. Hasil yang diperoleh yaitu ekstraksi dengan bantuan ultrasonik menunjukkan kadar TPC yang lebih tinggi daripada ekstraksi tanpa ultrasonik. Berdasarkan Gambar 6, ekstraksi dengan ultrasonik dan enzim menghasilkan kadar TPC maksimum yang lebih tinggi yaitu sebesar 5,175 mg EAG/g serbuk daun kering pada waktu 150 menit, sedangkan tanpa ultrasonik kadar TPC maksimum yang diperoleh adalah sebesar 2,266 mg EAG/g serbuk daun kering pada waktu 180 menit. Hal ini disebabkan penggunaan ultrasonik menyebabkan perubahan permukaan menjadi lebih hancur yang menyebabkan bahan aktif lebih mudah dibawa oleh pelarutnya [14].



Gambar 6. Kadar TPC dengan Ultrasonik dan Tanpa Ultrasonik

Gelombang mekanik yang diperoleh dari ultrasonik yaitu berupa siklus kompresi dan penghalusan menyebar melalui induksi media padat maupun cair yang menyebabkan pelepasan maupun perubahan posisi molekul-molekul penyusunnya [21]. Perubahan posisi ini dilaporkan oleh Puri dkk. [13], yang menyatakan bahwa permukaan dinding sel berubah akibat perlakuan ultrasonik dan hidrolisis oleh enzim. Perubahan struktur molekul diamati dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) pada struktur daun keji beling sebelum ekstraksi, setelah ekstraksi dengan ultrasonik, setelah hidrolisis enzimatis dan setelah hidrolisis enzimatis diikuti dengan ultrasonik [13]. Hasil menunjukkan permukaan dinding sel daun keji beling setelah hidrolisis enzimatis yang diikuti dengan ultrasonik lebih hancur daripada hanya hidrolisis enzimatis saja. Kehancuran permukaan dinding sel daun ini menyebabkan banyak bahan aktif yang dapat diekstrak dan dibawa oleh pelarut [13] sehingga kadar TPC yang diperoleh lebih tinggi pada penggunaan ultrasonik daripada ekstraksi tanpa ultrasonik.

4. Kesimpulan

Pada penelitian ini, ekstraksi asam fenolik dan flavonoid dari daun keji beling dengan metode *Continuous Ultrasound-Assisted Enzymatic Extraction* telah dilakukan. Kondisi optimum yaitu pada temperatur 60 °C dengan konsentrasi enzim 5%, menghasilkan kadar TPC maksimum sebesar 12,097 mg EAG/g serbuk daun kering dan kadar TFC sebesar 2,291 EK/g serbuk daun kering. Data yang diperoleh menunjukkan bahwa teknologi *continuous ultrasound-assisted enzymatic extraction* memiliki potensi untuk digunakan pada produksi asam fenolik dan flavonoid dalam skala besar.

5. Konflik Kepentingan

Semua penulis tidak memiliki konflik kepentingan (*conflict of interest*) pada publikasi artikel ini.

Daftar Pustaka

- [1] V. Ramadhani, R. Rusdi, Z. Azizah, and H. Rivai, "Overview of phytochemicals and pharmacological activity of keji beling plant (*Strobilanthes crispus* Bl.)," *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Medicine*, vol. 6, no. 7, pp. 25–39, Jul. 2021, doi: 10.47760/ijpsm.2021.v06i07.003.
- [2] N. S. Muslim, K. W. Ng, A. Itam, Z. D. Nassar, Z. Ismail, and A. M. S. A. Majid, "Evaluation of cytotoxic, anti-angiogenic and antioxidant properties of standardized extracts of *strobilanthes crispus* leaves," *International Journal of Pharmacology*, vol. 6, no. 5, pp. 591–591, 2010.
- [3] N. A. Norfarizan-Hanoon, R. Asmah, M. Y. Rokiah, O. Fauziah, and H. Faridah, "Antihyperglycemic, hypolipidemic and antioxidant enzymes effect of *strobilanthes crispus* juice in normal and streptozotocin-induced diabetic male and female rats," *International Journal of Pharmacology*, vol. 5, no. 3, pp. 200–207, 2009.
- [4] F. Abd Rachman, P. Kadar Kolesterol Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar, and S. Ardiansyah, "Ekstrak Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus* L.) Untuk Penurunan Kadar Kolesterol Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar," *Journal of Medical Laboratory Science Technology*, vol. 2, no. 1, pp. 1-5, Jul. 2019, doi: 10.21070/medicra.v2i1.1648.
- [5] D. Lin *et al.*, "An overview of plant phenolic compounds and their importance in human nutrition and management of type 2 diabetes," Oct. 01, 2016, *MDPI AG*. doi: 10.3390/molecules21101374.

- [6] P. K. Ningtyas, T. S. Utami, Y. Muharam, and R. Arbianti, “Extraction of phenolic compounds from *strobilanthes crispus* with continuous ultrasound assisted extraction as antihypercholesterol drug preparation,” in *AIP Conference Proceedings*, American Institute of Physics Inc., Sep. 2023. doi: 10.1063/5.0165014.
- [7] A. Ullah *et al.*, “Important flavonoids and their role as a therapeutic agent,” Nov. 01, 2020, *MDPI AG*. doi: 10.3390/molecules25225243.
- [8] M. S. Liza *et al.*, “Supercritical carbon dioxide extraction of bioactive flavonoid from *Strobilanthes crispus* (Pecah Kaca),” Jun. 01, 2010, *Institution of Chemical Engineers*. doi: 10.1016/j.fbp.2009.02.001.
- [9] L. Y. Yong, “Composition and Biological Activities of *Strobilanthes Crispus* Leaves for Essential Oils Extracted by Hydrodistillation (HD) and Microwave-Assisted Hydrodistillation (MAHD) Methods,” 2016.
- [10] M. P. Casas and H. Domínguez González, “Enzyme-Assisted Aqueous Extraction Processes,” in *Water Extraction of Bioactive Compounds: From Plants to Drug Development*, Elsevier, 2017, pp. 333–368. doi: 10.1016/B978-0-12-809380-1.00013-9.
- [11] Z. Pan, W. Qu, H. Ma, G. G. Atungulu, and T. H. McHugh, “Continuous and pulsed ultrasound-assisted extractions of antioxidants from pomegranate peel,” *Ultrason Sonochem*, vol. 19, no. 2, pp. 365–372, 2012, doi: 10.1016/j.ultsonch.2011.05.015.
- [12] R. Arbianti, H. Ningsih, N. F. Putri, T. S. Utami, Y. Muharam, and Slamet, “A comparative study of sequential and simultaneous enzymatic and ultrasound-assisted aqueous two-phase extraction for anticholesterol compounds from *Strobilanthes crispus* leaves,” *Pak J Pharm Sci*, vol. 37, no. 2, p. 265, 2024, doi: 10.36721/PJPS.2024.37.2.REG.265-274.1.
- [13] M. Puri, D. Sharma, and C. J. Barrow, “Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants,” *Trends in Biotechnology*, vol. 30, no. 1, pp. 37–44, Jan. 2012, doi: 10.1016/j.tibtech.2011.06.014.
- [14] Angelina, M. Yumna, Abdullah, R. Arbianti, T. S. Utami, and H. Hermansyah, “The usage of enzyme in ultrasound-assisted enzymatic extraction method and its effect on yield extract from Keji Beling (*Strobilanthes crispus*.) leaves,” in *E3S Web of Conferences*, EDP Sciences, Nov. 2018. doi: 10.1051/e3sconf/20186703002.
- [15] S. Margaretta, S. D. Handayani, N. Indraswati, and H. Hindarso, “Ekstraksi senyawa phenolic pandanus amaryllifolius roxb. sebagai antioksidan alami.” *Widya Teknik*, vol. 10, no. 1, pp. 21–30, 2011, doi: 10.33508/wt.v10i1.157.
- [16] A. P. Ghandahari Yazdi, M. Barzegar, M. A. Sahari, and H. Ahmadi Gavlighi, “Optimization of the enzyme-assisted aqueous extraction of phenolic compounds from pistachio green hull,” *Food Sci Nutr*, vol. 7, no. 1, pp. 356–366, Jan. 2019, doi: 10.1002/fsn3.900.
- [17] D. Huang, X. Zhou, J. Si, X. Gong, and S. Wang, “Studies on cellulase-ultrasonic assisted extraction technology for flavonoids from *Illicium verum* residues,” *Chem Cent J*, vol. 10, no. 1, Sep. 2016, doi: 10.1186/s13065-016-0202-z.
- [18] A. Poedjiadi, M. Wirahadikusuma, and D. Kunia, *Dasar-dasar biokimia*, XI. Jakarta: UI-Press, 1994.
- [19] R. Saeed, D. Ahmed, and M. Mushtaq, “Ultrasound-aided enzyme-assisted efficient extraction of bioactive compounds from *Gymnema sylvestre* and optimization as per response surface methodology,” *Sustain Chem Pharm*, vol. 29, p. 100818, Oct. 2022, doi: 10.1016/j.scp.2022.100818.
- [20] I. Hanifah, “Optimasi selulase pada enzyme assisted extraction lemak dari caulerpa lentillifera menggunakan response surface methodology,” *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, vol. 13, no. 1, pp. 19–37, Apr. 2021, doi: 10.29244/jitkt.v13i1.32654.
- [21] K. Kumar, S. Srivastav, and V. S. Sharanagat, “Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review,” Jan. 01, 2021, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.ultsonch.2020.105325.