

Perbandingan Kadar Metabolit Sekunder pada Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Menggunakan Pelarut NADES dan Organik

A Comparative Study of Metabolite Properties in Moringa oleifera Extract Prepared by NADES and Organic Solvents

Andiri Niza Syarifah^{1*}, Via Rifkia², Primayanti Nurul Ilmi³, Innayah Marda Hidayyah
Tulloh⁴, Khayla Shifa Azzahra⁵

¹Pendidikan Profesi Apoteker, Fakultas Kedokteran, Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta

^{2,3,4,5}Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta

*Corresponding Author: andiri@upnvj.ac.id

Abstrak

Latar Belakang: Daun kelor (*Moringa oleifera*) merupakan pangan fungsional dan obat herbal yang telah digunakan selama ribuan tahun untuk berbagai kondisi kesehatan. Senyawa Polifenol (fenolik dan flavonoid) merupakan metabolit utama yang berperan penting sebagai antioksidan untuk pencegahan dan pengobatan penyakit. **Tujuan:** Penelitian ini menggunakan *Natural Deep Eutectic Solvents* (NADES) dengan ekstraksi *Ultrasound-Assisted Extraction* untuk menciptakan metode ekstraksi yang efektif dan berkelanjutan bagi senyawa fenolik dan flavonoid dari daun kelor. **Metode:** Kombinasi Kolin klorida dengan Urea dan Gliserol dalam rasio molar 1:2 digunakan dalam eksperimen ini. Ekstrak metanol dan etanol pada kondisi yang sama disiapkan sebagai pembanding. Penetapan Kadar Fenol Total (TPC) dievaluasi menggunakan reagen Folin-Ciocalteu, sedangkan Penetapan Kadar Flavonoid Total (TFC) menggunakan uji kolorimetri dengan Spektrofotometri UV-Vis. Untuk ekstraksi, rasio sampel terhadap pelarut adalah 1:20. Suhu diatur pada 50°C selama 50 menit. **Hasil:** Terdapat 4 sampel dalam penelitian ini, yaitu ekstrak etanol, ekstrak metanol, ekstrak NADES kolin klorida-gliserol (NADES CG), dan ekstrak NADES kolin klorida-urea (NADES CU). **Kesimpulan:** Hasil penelitian menunjukkan tidak ada perbedaan nilai TFC yang signifikan antara ekstrak NADES dan ekstrak organik. Sementara itu, TPC dari pelarut organik menunjukkan nilai tertinggi dibandingkan ekstrak NADES. pH dan viskositas dari NADES memiliki pengaruh penting terhadap hasil ekstraksi fenolik dan flavonoid

Kata kunci: Fenolik; Flavonoid; NADES; Kelor; Pelarut

Abstract

Background: *Moringa oleifera* leaves is functional food and herbal medicine that already used thousand years for various condition. Polyphenols (phenolic and flavonoid) are the main metabolite for important roles such as antioxidant for prevention and treatment diseases. **Objectives:** This study used *Natural Deep Eutectic Solvents* (NADES) with ultrasound-assisted extraction to create an effective and sustainable extraction method for phenolics and flavonoids from *Moringa oleifera*. **Methods:** Combination of Choline chloride with Urea and Glycerol in 1: 2 molar ratios have been used for the experiment. Methanol and ethanol extract in a same condition was prepared as comparison. Total Phenolic Contents (TPC) has been evaluated using Folin-Ciocalteu reagents, whereas the Total Flavonoid Content (TFC) used colorimetric assay by Spectrophotometry Uv-Vis. For extraction, the ratio of sample to solvent was 1:20. For 50 minutes, the temperature was set to 50°C. **Results:** There were 4 sample in this study such as ethanol extract, methanol extract, NADES choline chloride-glycerol (NADES CG) extract and NADES choline chloride-urea (NADES CU) extract. **Conclusions:** The result showed no significant values in TFC of NADES extract and organic extract. Meanwhile, TPC of organic solvent showed the highest value than NADES extract. The pH and viscosity of the NADES have an important effect on the phenolic and flavonoid extraction result.

Keywords: Phenolic, Flavonoid, NADES, *Moringa oleifera*; Solvent

*Corresponding author: Andiri Niza Syarifah, Fakultas Kedokteran, Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta, Indonesia.

E-mail : andiri@upnvj.ac.id

Doi : 10.35451/jfm.v9i1.4028

Received : September 30, 2026, Accepted: October 13, 2026, Published: October 30, 2026

Copyright: © 2026 Andiri Niza Syarifah (s). Creative Commons License This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

1. PENDAHULUAN

Daun Kelor (*Moringa oleifera*) menunjukkan potensi yang menjanjikan sebagai tanaman untuk mengatasi berbagai kondisi kesehatan. Di negara-negara Asia Tenggara, daun kelor dimanfaatkan sebagai obat herbal tradisional untuk pencegahan dan pengobatan sejumlah penyakit (1). Secara tradisional, daun kelor telah dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia baik sebagai sayuran bergizi maupun sebagai bahan aplikasi obat dan kosmetik (2). Berbagai penelitian juga telah dilakukan untuk meningkatkan pemanfaatan daun kelor seperti menjadi masker anti-aging (3), sediaan salep luka bakar (4) hingga potensinya dalam meningkatkan kadar hemoglobin yang di uji secara in vivo (5). Daun kelor banyak tumbuh di daerah tropis dan subtropis serta mengandung berbagai komponen kimia, termasuk asam amino, polisakarida, terpenoid, sterol, tanin, saponin, flavonoid, alkaloid, antraknon, dan lainnya (6,7).

Saat ini, pelarut organik seperti etanol, metanol, kloroform, dan etil asetat umumnya digunakan dalam penelitian, meskipun memiliki risiko terhadap lingkungan. Sebagai contoh, penelitian sebelumnya melaporkan kadar flavonoid total sebesar 2,71% pada kelor yang diekstraksi dengan etanol 70%, sementara penelitian lain menemukan kadar flavonoid total sebesar 245,771 mg/kg (8,9). Masalah utamanya adalah kurangnya metode ekstraksi yang tepat dan prosedur ekstraksi yang belum berpengalaman yang diterapkan pada daun kelor. Oleh karena itu, sangat penting untuk mengembangkan metode ekstraksi yang sangat efektif dan ramah lingkungan untuk metabolit yang diekstraksi dari daun kelor serta mengevaluasi kualitas ekstrak secara menyeluruh (10).

Metode ekstraksi sangat penting untuk memaksimalkan potensi dan manfaat bahan alam (11). Salah satu inovasi terbaru dalam teknik ekstraksi adalah penggunaan pelarut hijau, khususnya *Natural Deep Eutectic Solvents* (NADES), yang menguntungkan bagi lingkungan (12). NADES menunjukkan beberapa sifat yang menguntungkan, termasuk volatilitas yang rendah, kapasitas ekstraksi yang luas, dan stabilitas termal. Selain itu, NADES bersifat tidak beracun, ramah lingkungan, tidak mudah terbakar, dan memiliki kapasitas pelarutan yang tinggi (13). NADES diproduksi secara sederhana dengan mencampurkan *Hydrogen Bond Acceptor* (HBA) dengan *Hydrogen Bond Donor* (HBD) dalam rasio molar yang sesuai. Pelarut ini telah terbukti efektif mengekstraksi metabolit sekunder dari tanaman, seperti flavonoid, fenolik, alkaloid, terpenoid, berbagai polisakarida, dan lainnya (14–16). Dibandingkan pelarut organik yang beracun, mudah terbakar, volatil, dan merusak ekosistem, pelarut NADES yang lebih ramah lingkungan menjadi salah satu alternatif yang sedang banyak dikembangkan untuk kebutuhan ekstraksi (17,18).

NADES telah dilaporkan untuk ekstraksi fenol dan flavonoid. Kombinasi NADES kolin klorida dan gliserol mengekstraksi kandungan polifenol sekitar 70 mg GAE/g berat kering (*dry weight*) dari *Mentha pulegium* (19). Selain itu, kombinasi kolin klorida dan urea telah digunakan untuk ekstraksi daun beluntas (*Pluchea indica*) dan dilaporkan memiliki kandungan fenol dan flavonoid masing-masing sebesar $71,380 \pm 1,907$ mg GAE/g dan $9,713 \pm 0,243$ mg QUE/g (14). Tujuan dari penelitian ini adalah mengidentifikasi kombinasi NADES yang optimal dari pilihan kandidat dengan tujuan mengekstraksi fenol dan flavonoid yang tidak berbeda signifikan dibandingkan dengan pelarut organik (metanol dan etanol).

2. METODE

Bahan

Daun kelor kering (PT Akademia Inovasi Indonesia), metanol, etanol, kolin klorida, urea, gliserol, Aqua pro injection (API), standar asam galat, standar kuersetin, natrium hidroksida, reagen Folin-Ciocalteu, aluminium klorida, dan natrium asetat

Alat

Timbangan analitik, Blender, labu ukur, alat gelas, kertas saring, Spektrofotometer UV-Vis, Sentrifugasi, *Hot plate*

Prosedur

Determinasi Tanaman

Determinasi daun kelor kering dilakukan di PT Akademia Inovasi Indonesia (Sukaraja, Kabupaten Bogor, Jawa Barat) dengan nomor surat hasil determinasi 018/DT.AVIN/IX/2025.

Pembuatan NADES

Dalam penelitian ini, NADES digabungkan dengan kolin klorida sebagai akseptor ikatan hidrogen (HBA). Gliserol dan urea digunakan sebagai donor ikatan hidrogen (HBD). Rasio molaritas yang digunakan adalah 1:2, dengan kadar air 30%. Campuran digabungkan dalam wadah kaca dan dipanaskan pada suhu 80°C hingga menjadi cairan jernih (20).

Proses Ekstraksi

Ekstraksi berbantu ultrasonik (*Ultrasound-assisted extraction* / UAE) dilakukan selama 45 menit pada suhu 50°C. Rasio serbuk terhadap pelarut adalah 1:20. Ekstrak NADES dipisahkan dari ekstrak yang diperoleh menggunakan sentrifugasi dan filtrasi (21).

Uji Kadar Fenol Total

Pengujian kadar fenol total dijelaskan dalam Farmakope Herbal Indonesia dengan sedikit modifikasi. Pengujian ini digunakan untuk menentukan kadar fenolik dari masing-masing ekstrak. Sebanyak 1,0 ml ekstrak dilarutkan dalam metanol p.a. dalam labu ukur 10 ml. Setelah itu, ekstrak dianalisis dan dicampur selama 8 menit dengan 5,0 ml reagen Folin-Ciocalteu. Kemudian 4,0 ml natrium hidroksida 1% ditambahkan, dan campuran didiamkan pada suhu ruang selama satu jam. Absorbansi dari masing-masing larutan uji diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis (20).

Uji Kadar Flavonoid Total

Masing-masing sampel diambil sebanyak 1,0 ml, kemudian ditambahkan 1,5 ml etanol, 0,1 ml aluminium klorida 10%, dan 0,1 ml natrium asetat 1M. Selanjutnya, ditambahkan 2,8 ml WFI (*Water for Injection*). Campuran didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Absorbansi ditentukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang optimum (22).

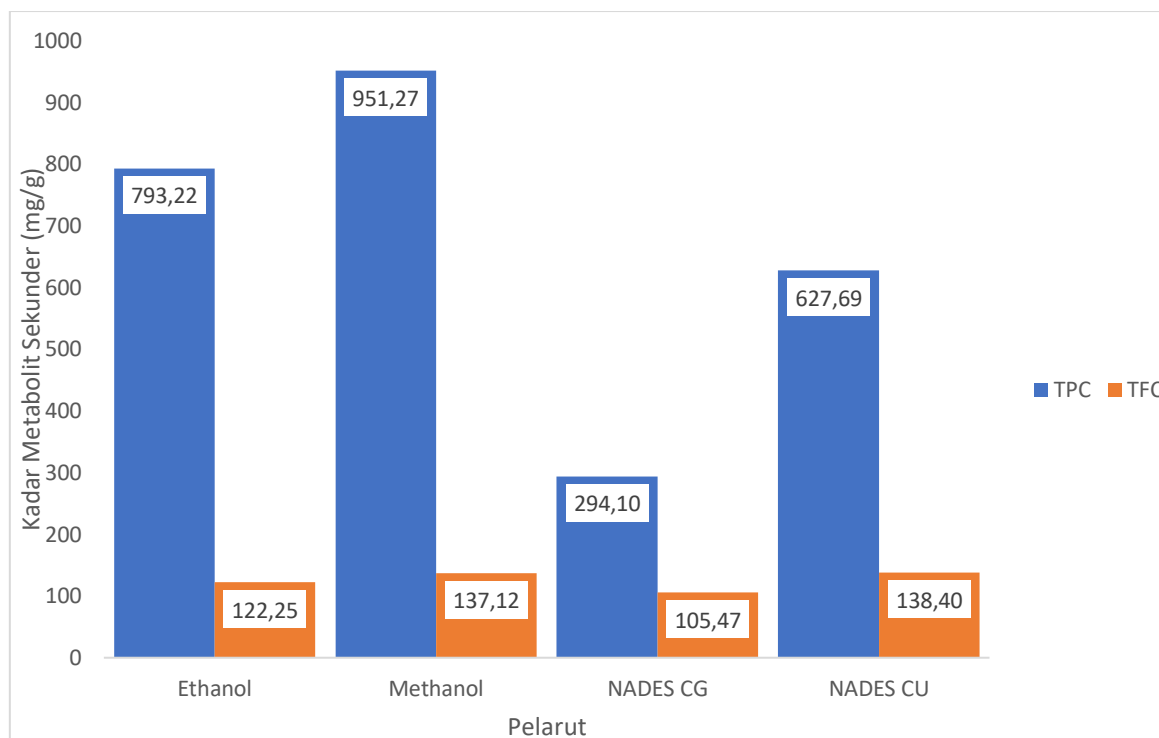
3. HASIL

Penelitian ini menggunakan dua jenis kombinasi *Natural Deep Eutectic Solvents* (NADES) untuk ekstraksi *Moringa oleifera*. Kolin klorida digunakan sebagai akseptor ikatan hidrogen (*Hydrogen Bond Acceptor* / HBA), sedangkan urea dan gliserol digunakan sebagai donor ikatan hidrogen (*Hydrogen Bond Donor* / HBD). Hasil preparasi NADES disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pembuatan Pelarut NADES

Singkatan	HBA	HBD	Rasio Molaritas	Air	Bentuk
Nades CG	Kolin klorida	Gliserol	1:2	30%	Cairan bening
Nades CU		Urea	1:2	30%	Cairan bening

Penetapan kadar fenol dan flavonoid menggunakan baku pembanding asam galat dan kuersetin dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Kurva kalibrasi standar asam galat menunjukkan hubungan yang linier dengan persamaan $y = 0,0118x + 0,0511$ dan $R = 0,9965$, sedangkan standar kuersetin linier dengan $y = 0,0059x + 0,0642$ dan $R = 0,9958$. Hasil penetapan kadar fenol dan flavonoid pada berbagai pelarut dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Kadar Fenol dan Flavonoid pada berbagai pelarut

Hasil analisis statistik menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan pada TFC antara pelarut NADES dan pelarut organik, khususnya pada kombinasi NADES Kolin klorida dan Urea (NADES CU). Namun, TPC dari pelarut organik menunjukkan hasil yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak NADES.

4. PEMBAHASAN

Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) telah mendapat perhatian luas sebagai generasi baru pelarut hijau karena berbagai keunggulan khasnya, seperti proses sintesis yang sederhana, ketersediaan bahan baku yang hemat biaya, dan sifatnya yang ramah lingkungan (23). NADES dibentuk melalui penggabungan dua atau tiga komponen yang berinteraksi melalui ikatan hidrogen hingga menciptakan campuran eutektik (24). Karakteristik utama pelarut ini adalah titik lelehnya yang sangat rendah pada komposisi eutektik, yaitu jauh lebih rendah dibandingkan titik leleh dari masing-masing komponen penyusunnya (HBA dan HBD) (25). Tren penelitian penggunaan pelarut NADES didominasi oleh penggunaan garam amonium kuarterner, khususnya kolin klorida (ChCl), sebagai akseptor ikatan hidrogen (HBA) (26). Kolin klorida banyak dipilih karena harganya yang terjangkau, tidak beracun, dan mudah terurai secara hayati (*biodegradable*) (27).

Penggunaan kombinasi kolin klorida dan urea sebagai NADES terbukti efektif untuk ekstraksi polifenol (fenolik dan flavonoid). Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa NADES Kolin klorida-Urea (1:2) mampu mengekstraksi senyawa fenolik dan flavonoid dalam jumlah yang lebih tinggi dibandingkan kombinasi NADES lainnya (14). Di sisi lain, kombinasi kolin klorida dan gliserol juga diketahui memiliki potensi signifikan dalam mengekstraksi senyawa fenolik (28). Untuk menjaga konsistensi, seluruh proses ekstraksi sampel dilakukan pada hari yang sama menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) dengan kondisi operasional yang seragam (rasio sampel-pelarut 1:20, suhu 50°C, selama 50 menit). Penambahan air ke dalam campuran NADES dilakukan sebelum proses ekstraksi dengan tujuan menurunkan tingkat viskositas pelarut sehingga meningkatkan efisiensi ekstraksi (26).

Meskipun Kadar Fenol Total dari ekstrak NADES daun kelor mencatatkan nilai yang lebih rendah dibandingkan pelarut organik konvensional (metanol dan etanol), Kadar Flavonoid Total dari ekstrak NADES CU menunjukkan kinerja dan efektivitas yang setara serta menjanjikan dalam mengekstraksi daun kelor. NADES menawarkan berbagai keuntungan ekologis dan teknis, seperti biaya produksi yang rendah, ramah lingkungan, stabilitas pelarut

yang baik, toksisitas minimal, dan sifat yang mudah terurai (29). Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini konsisten dengan penelitian pada daun beluntas (*Pluchea indica*), di mana kombinasi NADES CU juga memberikan performa terbaik dalam penarikan kadar fenol dan flavonoid total dalam proses ekstraksi tanaman obat (14). Kapasitas pelarut dalam mengekstraksi metabolit sekunder tanaman sangat dipengaruhi oleh polaritasnya. Selain itu, derajat keasaman (pH) dan viskositas dari NADES memegang peranan penting terhadap hasil ekstraksi polifenol (30). Senyawa polifenol (fenolik dan flavonoid) cenderung terperoleh secara maksimal pada kondisi pH pelarut yang tinggi (>8) serta tingkat viskositas yang rendah (14).

5. KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan kemampuan pelarut NADES dalam proses ekstraksi senyawa fenol dan flavonoid. Kombinasi NADES CU tidak menunjukkan perbedaan signifikan dalam mengekstraksi senyawa flavonoid pada daun kelor yang mengindikasikan potensinya sebagai pelarut berkelanjutan untuk pengembangan di masa depan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas pendanaan dari Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta untuk pendanaan internal, khususnya dengan nomor kontrak 032/UN61.4/LIT.RISTA/2024.

DAFTAR PUSTAKA

1. Abdallah M, Machina F, S. I. Antibacterial activity of *Moringa Oleifera* methanolic leaves extracts against some Gram positive and Gram negative bacterial isolates. *Microbes Infect Dis*. 2020 Aug 31;0(0):0–0. doi:10.21608/mid.2020.37760.1045
2. Dhakad AK, Ikram M, Sharma S, Khan S, Pandey VV, Singh A. Biological, nutritional, and therapeutic significance of *Moringa oleifera* Lam. *Phytother Res*. 2019 Nov;33(11):2870–903. doi:10.1002/ptr.6475
3. Nurussakinah N, Fhitriana S, Khairani TN, Utari S. *Moringa* Leaf (*Moringa oleifera* L.) Ethanol Extract Clay Mask Formulation As Anti-Aging. *J Farm JFM*. 2023 Oct 31;6(1):1–8. doi:10.35451/jfm.v6i1.1193
4. Agustina H. Sediaan Salep Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam) Sebagai Penyembuhan Luka Bakar Topikal Pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). Vol. 1. 2018;1.
5. Zulfikri, Nasution PR, Ernoviya. Effectiveness of Ethanol Extract of *Moringa* (*Moringa Oleifera* L.) Leaves on Increasing Hemoglobin (Hb) Levels in White Mice. *J Farm JFM*. 2026 Apr 30;8(2):705–12. doi:10.35451/by8j7q85
6. Srivastava R, Bhardwaj N, Jain SK, Metya AK, Parambil JV. Unveiling the potential of acetic acid-based hydrophobic natural deep eutectic solvents for phytochemical extraction. *J Mol Liq*. 2024;408. Located at: Scopus. doi:10.1016/j.molliq.2024.125314
7. Abdelmoumene W, Belyagoubi-Benhammou N, Kaid Z, Dich A, Belyagoubi L. Synergistic antioxidant properties of phenolic bioactives in algerian sahara herbal remedies for cancer treatment: A focus on *Moringa oleifera*, *Ephedra alata*, *Anabasis articulata*, and *Atriplex halimus*. *South Afr J Bot*. 2025 Nov;186:37–48. doi:10.1016/j.sajb.2025.08.034
8. Rifkia V, Prabowo I. Pengaruh Variasi Suhu dan Waktu terhadap Rendemen dan Kadar Total Flavonoid pada Ekstraksi Daun *Moringa oleifera* Lam. dengan Metode Ultrasonik. *Pharm J Farm Indones Pharm J Indones*. 2020 Dec 31;17(2):387. doi:10.30595/pharmacy.v17i2.7752
9. Yulistirani SA, Islam MB. Metode Ekstraksi Untuk Perolehan Kandungan Flavonoid Tertinggi Dari Ekstrak Daun Kelor. Vol. 8. 2019;8(2).
10. Peng W, Wang L, Wang X, Wang Y, Wang W, Huang J, et al. Efficient polyphenol extraction from *Moringa oleifera* Lam. leaves using natural deep eutectic solvents: COSMO-RS screening, ANN-GA optimization and antioxidant activity evaluation. *LWT*. 2025 May;223:117687. doi:10.1016/j.lwt.2025.117687
11. Kharbach M, Marmouzi I, El Jemli M, Bouklouze A, Vander Heyden Y. Recent advances in untargeted and targeted approaches applied in herbal-extracts and essential-oils fingerprinting - A review. *J Pharm Biomed Anal*. 2020 Jan;177:112849. doi:10.1016/j.jpba.2019.112849
12. Antileo-Laurie J, Olate-Olave V, Fehrmann-Riquelme V, Anabalón-Alvarez C, Cid-Carrillo L, Campanini-Salinas J, et al. Natural Deep Eutectic Solvent (NaDES) Extraction, HPLC-DAD Analysis, and Antioxidant Activity of Chilean *Ugni molinae* Turcz. *Fruits. Antioxidants*. 2025 Oct 14;14(10):1234. doi:10.3390/antiox14101234
13. Peng W, Wang X, Wang W, Wang Y, Huang J, Zhou R, et al. Comparison, optimization and antioxidant activity of ultrasound-assisted natural deep eutectic solvents extraction and traditional method: A greener route for extraction of flavonoid from *Moringa oleifera* Lam. leaves. *Ultrason Sonochem*. 2024

- Oct;109:107003. doi:10.1016/j.ultsonch.2024.107003
14. Hikmawanti NPE, Saputri FC, Yanuar A, Jantan I, Ningrum RA, Juanssilfero AB, et al. Choline chloride-urea-based natural deep eutectic solvent for highly efficient extraction of polyphenolic antioxidants from *Pluchea indica* (L.) Less leaves. *Arab J Chem*. 2024 Feb;17(2):105537. doi:10.1016/j.arabjc.2023.105537
15. Ivkovic D, Cvijetic I, Radoicic A, Stojkovic-Filipovic J, Trifkovic J, Krstic Ristivojevic M, et al. NADES-Based Extracts of Selected Medicinal Herbs as Promising Formulations for Cosmetic Usage. *Processes*. 2024 May 13;12(5):992. doi:10.3390/pr12050992
16. Rahman MK, Fachriyah E, Kusriani D. Ekstraksi Daun Salam Berbasis Natural Deep Eutectic Solvent dan Pemanfaatannya sebagai Antioksidan. *Greensphere J Environ Chem*. 2023 Jan 16;2(2):7–12. doi:10.14710/gjec.2022.16569
17. Antileo-Laurie J, Olate-Olave V, Fehrmann-Riquelme V, Anabalón-Alvarez C, Cid-Carrillo L, Campanini-Salinas J, et al. Natural Deep Eutectic Solvent (NaDES) Extraction, HPLC-DAD Analysis, and Antioxidant Activity of Chilean *Ugni molinae* Turcz. *Fruits. Antioxidants*. 2025;14(10). Located at: Scopus. doi:10.3390/antiox14101234
18. Sebbah T, Yahia I, Cunha E, Riazi A, Amorim CG, Rodriguez-Diaz JM, et al. Enhanced Extraction and Separation with HPLC-DAD of Phenolic and Flavonoid Antioxidants from *Portulaca oleracea* L. Leaves Using Tailored Terpenoid-Based NADES: Comparative Assessment of Antiradical and Antimicrobial Activities. *Antioxidants*. 2025;14(2). Located at: Scopus. doi:10.3390/antiox14020132
19. Soukaina K, Safa Z, Soukaina H, Hicham C, Bouchra C. Choline chloride-based deep eutectic solvents (NADES): Potential use as green extraction media for polyphenols from *Mentha pulegium*, antioxidant activity, and antifungal activity. *Microchem J*. 2024 Apr;199:110174. doi:10.1016/j.microc.2024.110174
20. Syarifah AN, Suryadi H, Mun'im A. Total Phenolic Content of Natural Deep Eutectic Solvent (NADES) Extraction in *Comfrey* (*Symphytum officinale*). *J Aisyah J Ilmu Kesehat*. 2022 Jul 25;7(3):937–40. doi:10.30604/jika.v7i3.789
21. Sakti AS, Saputri FC, Mun'im A. Optimization of choline chloride-glycerol based natural deep eutectic solvent for extraction bioactive substances from *Cinnamomum burmannii* barks and *Caesalpinia sappan* heartwoods. *Heliyon*. 2019 Dec;5(12):e02915. doi:10.1016/j.heliyon.2019.e02915
22. Nurlinda N, Handayani V, Rasyid FA. Spectrophotometric Determination of Total Flavonoid Content in *Biancaea Sappan* (*Caesalpinia sappan* L.) Leaves. *J Fitofarmaka Indones*. 2021 Mar 4;8(3):1–4. doi:10.33096/jffi.v8i3.712
23. Angelia A, Agustina AR, Fatimah U, Oktaviyanti ND. Optimization of Flavonoid Extraction and Tyrosinase Inhibitory Activity from *Rhodomyrtus tomentosa* Leaves Using NADES-Based Ultrasound-Assisted Extraction. *Trop J Nat Prod Res*. 2026;10(2):7080–6. Located at: Scopus. doi:10.26538/tjnpr/v10i2.10
24. Mahaindran A, Meng XQ, Tee LH, Chua BL, Oh KS. A New Green Solvent: Synthesis and Characterization of Natural-Deep-Eutectic-Solvent (NADES) for Application on Aqueous-Two-Phase System (ATPS) for Extraction of Anthocyanin. *Mater Sci Forum*. 2023 Dec 22;1111:105–10. doi:10.4028/p-mUmd2p
25. Lakshmi Papa Rao G, Mandal A, Pal N. Choline chloride-Urea based deep eutectic Solvent: Characterization, interfacial behavior and Synergism in binary (surfactant) systems. *Chem Phys*. 2025 Jan;588:112496. doi:10.1016/j.chemphys.2024.112496
26. Ferreira ASD, Craveiro R, Duarte AR, Barreiros S, Cabrita EJ, Paiva A. Effect of water on the structure and dynamics of choline chloride/glycerol eutectic systems. *J Mol Liq*. 2021 Nov;342:117463. doi:10.1016/j.molliq.2021.117463
27. James K, Long H, O'Hara I, Williams B, Moghaddam L. Bio-based film development: Harnessing alginate and fucoidan extracted from *Ascophyllum nodosum* with glycerol and choline chloride-based solvent. *Food Hydrocoll*. 2024 Aug;153:110013. doi:10.1016/j.foodhyd.2024.110013
28. Bonacci S, Di Gioia ML, Costanzo P, Maiuolo L, Tallarico S, Nardi M. Natural Deep Eutectic Solvent as Extraction Media for the Main Phenolic Compounds from Olive Oil Processing Wastes. *Antioxidants*. 2020 Jun 11;9(6):513. doi:10.3390/antiox9060513
29. Ivkovic D, Cvijetic I, Radoicic A, Stojkovic-Filipovic J, Trifkovic J, Krstic Ristivojevic M, et al. NADES-Based Extracts of Selected Medicinal Herbs as Promising Formulations for Cosmetic Usage. *Processes*. 2024;12(5). Located at: Scopus. doi:10.3390/pr12050992
30. Wu L, Chen Z, Li S, Wang L, Zhang J. Eco-friendly and high-efficient extraction of natural antioxidants from *Polygonum aviculare* leaves using tailor-made deep eutectic solvents as extractants. *Sep Purif Technol*. 2021 May;262:118339. doi:10.1016/j.seppur.2021.118339