



Pengaruh Metode Pengeringan terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak *Stevia rebaudiana* Bertoni melalui Ekstraksi Berbantuan Gelombang Mikro

Wahyu Darmawan

Mahasiswa Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Esa Unggul, Jalan Arjuna Utara No. 9, Kebon Jeruk, Jakarta 11510, Indonesia

Harizal*

Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Esa Unggul, Jalan Arjuna Utara No. 9, Kebon Jeruk, Jakarta 11510, Indonesia

Putu Gita Maya Widyaswari Mahayasih

Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Esa Unggul, Jalan Arjuna Utara No. 9, Kebon Jeruk, Jakarta 11510, Indonesia

*Korespondensi penulis: harizal@esaunggul.ac.id

Abstract. *Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) is a traditional medicinal plant widely recognized as natural sweetener. Stevia plant extracts are known to have antioxidant, antidiabetic, anti-inflammatory and anticancer activities. This study aims to determine the effect of the drying method on the antioxidant activity of stevia extract obtained using the microwave-assisted extraction method. The research was carried out in several stages including sorting and separating the parts of the stevia plant (leaves, stems, and roots), drying samples using different drying methods (direct sunlight, indirect sunlight, and dehydrators), characterizing the simplicia (water content and ash content), extraction using microwaves, phytochemical tests, and antioxidant activity testing using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging method. Overall, the stevia plant which was dried using different methods and extracted using the microwave-assisted extraction method had very weak antioxidant activity with the highest IC₅₀ value obtained from stevia leaf extract which was dried with dehydrator of 363.49 µg/mL.*

Keywords: *antioxidant, drying method, microwave-assisted extraction, Stevia rebaudiana Bertoni.*

Abstrak. *Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang dikenal luas sebagai sumber pemanis alami. Ekstrak tanaman stevia diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antidiabetes, antiinflamasi, dan antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh metode pengeringan terhadap aktivitas antioksidan ekstrak stevia yang diekstrak dengan menggunakan metode ekstraksi berbantuan gelombang mikro. Penelitian dilakukan dengan dalam beberapa tahap diantaranya sortasi dan pemisahan bagian tumbuhan stevia (daun, batang, dan akar), pengeringan sampel dengan menggunakan metode pengeringan yang berbeda (sinar matahari langsung, sinar matahari tidak langsung, dan dehidrator), karakterisasi simplisia (uji kadar air dan kadar abu), ekstraksi dengan menggunakan gelombang mikro, uji*

*Corresponding author, harizal@esaunggul.ac.id

fitokimia, dan uji aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Secara keseluruhan, tanaman stevia yang dikeringkan dengan metode yang berbeda dan diekstrak menggunakan metode ekstraksi berbantuan gelombang mikro memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah dengan nilai IC₅₀ tertinggi diperoleh dari ekstrak daun stevia yang dikeringkan dengan dehidrator sebesar 363,49 µg/mL.

Kata kunci: antioksidan, metode pengeringan, ekstraksi berbantuan gelombang mikro, *Stevia rebaudiana* Bertoni.

LATAR BELAKANG

Radikal bebas merupakan spesi reaktif yang memiliki setidaknya satu elektron tidak berpasangan. Spesi radikal bebas memiliki kecenderungan bereaksi dengan molekul lain untuk mencapai kestabilan. Spesi radikal bebas sangat berbahaya bagi tubuh karena dapat stress oksidatif dan berbagai penyakit degeneratif seperti seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini dan penyakit lainnya (Martemucci et al., 2022). Untuk memitigasi terjadinya stress oksidatif, manusia perlu mengonsumsi makanan, minuman, atau suplemen alami yang mengandung antioksidan yang berasal dari tumbuhan atau hewan (Pisoschi et al., 2021).

Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) merupakan salah satu jenis tanaman dari famili Asteraceae yang mengandung beberapa senyawa turunan diterpenoid glikosida seperti steviosida dan rebaudiosida A. Senyawa-senyawa tersebut sering digunakan sebagai pemanis alami dan diketahui memiliki rentang kemanisan yang berbeda berkisar antara 140 hingga 400 kali lebih manis dibandingkan sukrosa (Three et al., 2015). Selain sebagai pemanis alami, stevia juga diketahui memiliki aktivitas biologis lain seperti antidiabetes, antihipertensi, antikanker, antimikroba, antiinflamasi, dan antioksidan (Latarissa et al., 2020).

Semua bagian tumbuhan stevia memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi (Singh et al., 2012). Aktivitas antioksidan ini berasal dari kandungan bahan aktif yang terkandung dalam tumbuhan stevia seperti diterpenoid, triterpenoid glikosida, polifenol, flavonoid, dan lain-lain (Jyoti et al., 2018). Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan ekstrak stevia antara lain asal tumbuhan, kondisi kultur, dan varian tumbuhan (Myint et al., 2020). Selain itu, tiap bagian tumbuhan stevia

(akar, batang, daun, dan bunga) juga memiliki aktivitas antioksidan yang berbeda. Penelitian oleh Singh dkk., (2012) menunjukkan bahwa akar stevia memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi dibandingkan dengan bagian stevia yang lain (Singh et al., 2012). Pada penelitian lain, bagian akar dan daun stevia menunjukkan aktivitas antioksidan yang paling tinggi dibandingkan dengan bagian tumbuhan yang lain (Arnold, 2015). Dari penelitian-penelitian tersebut, studi tentang perbandingan aktivitas antioksidan bagian tumbuhan stevia yang berasal dari Indonesia sejauh ini masih belum dilakukan sehingga perlu diteliti kembali.

Ekstraksi stevia umumnya dilakukan pada bagian daun karena diketahui mengandung diterpenoid glikosida dengan kadar yang lebih tinggi. Secara umum, efisiensi ekstraksi stevia dipengaruhi oleh metode ekstraksi yang digunakan, jenis pelarut, waktu ekstraksi, pH, tekanan dan temperatur, ukuran partikel serbuk simplisia, dan metode pengeringan (Myint et al., 2020). Berbagai metode telah digunakan untuk untuk mengekstraksi simplisia stevia antara maserasi (Muanda et al., 2011), Soxhletasi (Singh et al., 2012), ekstraksi berbantuan ultrasonik (Periche et al., 2015), ekstraksi berbantuan gelombang mikro (Yildiz-Ozturk et al., 2015), ekstraksi cair bertekanan (Periche et al., 2015), dan ekstraksi cairan superkritis (Carbonell-Capella et al., 2017) dengan menggunakan pelarut air, etanol, atau campuran keduanya. Diantara penelitian-penelitian yang telah dilakukan, penggunaan metode nonkonvensional untuk mengekstraksi bagian batang dan akar sangat jarang dilakukan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat bagaimana efektivitas penggunaan metode tersebut pada ekstraksi bagian tumbuhan yang berbeda.

Metode ekstraksi berbantuan gelombang mikro (MAE) merupakan salah satu metode ekstraksi nonkonvensional yang melibatkan penggunaan gelombang mikro untuk memanaskan campuran pelarut dan sampel sehingga dapat memisahkan analit dari matriks sampel. MAE memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan metode konvensional antara lain waktu ekstraksi yang lebih cepat, penggunaan pelarut yang lebih sedikit, selektivitas yang lebih tinggi, pemanasan yang lebih terkendali, dan lebih ramah lingkungan (Li et al., 2019). Beberapa penelitian terkait penggunaan MAE pada ekstraksi stevia (terutama pada bagian daun) telah dilaporkan dengan menggunakan pelarut air, etanol, atau campuran keduanya (Ciulu et al., 2017; Periche et al., 2015; Yildiz-Ozturk et

al., 2015). Penelitian oleh Periche dkk. (2015) menunjukkan bahwa ekstrak stevia dengan metode MAE memiliki rerata waktu ekstraksi yang jauh lebih cepat dan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak yang diperoleh dengan metode konvensional (Periche et al., 2015). Di antara penelitian-penelitian tersebut, pengaruh metode pengeringan dalam ekstraksi stevia (akar, batang, dan daun) dengan metode MAE belum pernah dilakukan sehingga variabel ini perlu diteliti lebih lanjut untuk meningkatkan efisiensi ekstraksinya.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi microplate 96 well, alat gelas dasar (Pyrex), penangas air (Grant, Sub Aqua Pro 34 L), oven gelombang mikro dengan daya keluaran 450 W dan frekuensi gelombang mikro 2450 MHz (Sharp, R-21D0(S)-IN), neraca analitik (Shanghai Sunny Hengping Scientific Instrument, FA224), *grinder* (Faithful, FW177), spektrofotometer UV-VIS (Jasco, V-780).

Sampel tumbuhan stevia (*Stevia rebaudiana* B) diperoleh dari pembudidaya tanaman obat keluarga di wilayah Ciapus, Kecamatan Ciomas, Bogor. Pelarut dan reagent yang digunakan pada penelitian ini antara lain 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) dari Sigma-Aldrich, asam askorbat, metanol, HCl pekat, reagen Dragendorff, MgSO₄, dan FeCl₃ dari Merck, serta etanol 96% dan akuades dari distributor lokal.

Penyiapan Sampel

Determinasi tanaman stevia dilakukan di Laboratorium Botani, Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah, Bogor - Cibinong. Sampel stevia disortasi, dicuci, dipisahkan bagian-bagiannya (daun, batang, dan akar), dan dipotong secukupnya. Pengeringan sampel kemudian dilakukan melalui tiga metode antara lain pengeringan dengan sinar matahari secara langsung (L) selama 24 jam, pengeringan dengan sinar matahari secara tidak langsung (ditutup dengan kain hitam) selama 24 jam (K), dan pengeringan dengan dehidrator pada suhu 40°C selama 24 jam (D). Sampel kering kembali ditimbang, dihaluskan dengan *grinder*, dan diayak dengan ayakan berukuran 40 mesh. Serbuk simplisia disimpan dalam wadah tertutup hingga digunakan pada tahapan selanjutnya.

Penetapan Kadar Air dan Kadar Abu

1. Penetapan kadar air

Sebanyak 2 g sampel dipanaskan di dalam oven pada temperatur 100°C selama 60 menit, didinginkan di dalam desikator selama 15 menit, dan ditimbang hingga didapatkan bobot konstan. Uji penetapan kadar air dilakukan secara triplo.

2. Penetapan kadar abu

Sebanyak 2 g sampel dipanaskan hingga temperatur 550°C di dalam tanur, didinginkan dalam desikator, dan ditimbang kembali hingga didapatkan bobot konstan. Uji penetapan kadar abu dilakukan secara duplo.

Metode Ekstraksi Stevia

Masing-masing bagian tumbuhan stevia (akar, batang dan daun) disuspensikan dengan etanol 96% dengan rasio 1:7 dengan rincian daun (24 g : 140 mL), batang (16 g : 112 mL), dan akar (4 g : 28 mL). Masing-masing suspensi dipanaskan dengan oven gelombang mikro selama 15 menit dengan mode *medium-low*, dan didinginkan hingga temperatur ruang. Campuran ekstrak disaring menggunakan kertas saring, dan diuapkan dengan *rotary evaporator* pada temperatur 40°C, dan dilanjutkan dengan pengeringan menggunakan penangas uap (Yulianti et al., 2014).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi beberapa kelompok senyawa yang terdapat pada ekstrak stevia yang dihasilkan. Pada penelitian ini, kelompok senyawa yang diidentifikasi antara lain alkaloid melalui uji Mayer dan uji Dragendroff, flavonoid melalui uji Shinoda, saponin melalui uji busa, dan tannin dengan menggunakan uji Braymer sesuai dengan prosedur yang tercantum pada penelitian sebelumnya (Shaikh & Patil, 2020).

Uji Aktivitas Antioksidan melalui Metode Peredaman Radikal DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak stevia dan asam askorbat (standar antioksidan) dilakukan dengan metode peredaman radikal DPPH. Masing-masing larutan asam askorbat (15, 20, 25, 30, dan 35 mg/L), ekstrak stevia (100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 mg/L), dan blanko (metanol) dipipet sebanyak 80 µL ke dalam microplate 96 well.

Ke dalam masing-masing larutan, ditambahkan sebanyak 120 μL larutan DPPH 50 mg/L, dikocok selama 1 menit, dan diinkubasi selama 30 menit pada kondisi gelap di temperature 37°C. Absorbansi tiap campuran diukur pada panjang gelombang 515 nm dengan tiga kali pengulangan (triplo).

Penentuan nilai persen inhibisi dari masing-masing larutan ekstrak stevia dan asam askorbat dilakukan dengan menggunakan rumus berikut.

$$\text{Persen inhibisi (\%)} = \left(\frac{A_{\text{blanko}} - A_{\text{uji}}}{A_{\text{blanko}}} \right) \times 100\%$$

dimana A_{blanko} merupakan absorbansi larutan blanko dan A_{uji} merupakan absorbansi larutan ekstrak stevia dan asam askorbat pada berbagai konsentrasi. Nilai IC_{50} untuk ekstrak stevia (akar, batang, dan daun) dan asam askorbat dihitung menggunakan persamaan regresi linier ($y = ax + b$) dimana variabel x merupakan konsentrasi (mg/L) dan variabel y merupakan persen inhibisi (%). Dari persamaan yang diperoleh, nilai IC_{50} dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{IC}_{50} = \frac{50 - b}{a}$$

dimana b merupakan konstanta dan a merupakan nilai gradien pada persamaan regresi linier.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi dan Karakterisasi Simplisia

Preparasi simplisia kering dilakukan menggunakan 3 metode pengeringan antara lain pengeringan menggunakan sinar matahari secara langsung (L), pengeringan dengan sinar matahari secara tidak langsung (tertutup kain hitam) (K), serta pengeringan dengan dehidrator pada temperatur 40°C (D). Simplisia kering yang dihasilkan dikarakterisasi dengan uji kadar air dan kadar abu. Persentase penyusutan bobot, kadar air, dan kadar abu dari simplisia dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Data persentase susut pengeringan, kadar air, dan kadar abu simplisia

Sample	Metode pengeringan	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Susut pengeringan (%)	Kadar air (%)	Kadar Abu (%)
Daun	L	133	23,71	82,17	10,09 \pm 2,86	13,76 \pm 0,76
	K	133	24,97	81,22	10,39 \pm 2,99	15,19 \pm 0,13
	D	133	27,47	79,34	9,02 \pm 0,51	9,78 \pm 0,41

Batang	L	70	19,87	71,62	10,20 ± 1,77	13,34 ± 0,40
	K	70	17,18	75,45	10,75 ± 2,85	15,69 ± 0,10
	D	70	18,24	73,94	9,37 ± 0,71	9,38 ± 0,26
Akar	L	35	4,32	87,66	10,50 ± 1,76	12,75 ± 0,17
	K	35	4,18	88,05	10,73 ± 1,52	14,87 ± 0,12
	D	35	4,18	88,06	9,71 ± 0,65	12,72 ± 0,16

*Keterangan:L = Pengeringan dengan sinar matahari langsung, K = Pengeringan dengan sinar matahari secara tidak langsung (tertutup kain hitam), D = Pengeringan dengan dehidrator

Dari hasil yang tercantum pada Tabel 1, didapatkan metode pengeringan dengan dehidrator dengan suhu 40°C lebih baik dibandingkan dengan penjemuran di bawah sinar matahari langsung dan sinar matahari secara tidak langsung (tertutup kain hitam). Pengeringan bagian tanaman stevia yang dikeringkan dengan dehidrator memiliki kadar air terendah sebesar 9,02; 9,37; dan 9,71% untuk sampel daun, batang, dan akar. Di sisi lain, pengeringan dengan dehidrator juga menghasilkan kadar abu yang sesuai sebesar 9,78; 9,38; dan 12,72% pada sampel daun, batang, dan akar.

Menurut SNI 01-4086-1996, rentang kadar abu produk stevia adalah sebesar 3-10%. Jika dilihat dari beberapa perlakuan pada pengeringan simplisia, perlakuan menggunakan dehidrator diketahui telah memenuhi persyaratan tersebut terkecuali pada bagian akar. Di sisi lain, pengeringan dengan sinar matahari langsung dan tidak langsung (tertutup kain hitam) tidak memenuhi standar SNI karena nilai rata-rata diatas 10%. Kadar abu dalam simplisia menggambarkan unsur mineral yang terkandung dalam simplisia dimana kadar abu merupakan sisa yang tertinggal bila sampel dibakar sempurna di dalam tanur pada suhu 550°C selama 3 jam (Chandra, 2015).

Ekstraksi Stevia dan Skrining Fitokimia

Proses ekstraksi stevia dilakukan dengan menggunakan metode berbantuan gelombang mikro (MAE) dan pelarut etanol 96%. Metode MAE memiliki keunggulan antara lain meminimalkan penggunaan pelarut, waktu ekstraksi yang lebih singkat, dan relative lebih ramah lingkungan (Yildiz-Ozturk et al., 2015) . Ekstrak daun stevia yang memiliki nilai rendemen yang paling besar berada pada sample daun adalah pada metode pengeringan sinar matahari secara tidak langsung (tertutup kain hitam) sebesar 41,58%. Untuk ekstrak batang stevia, rendemen ekstrak paling besar berada pada simplisia batang yang dikeringkan dengan dehidrator sebesar 9,63%. Adapun pada bagian ekstrak akar, rendemen tertinggi diperoleh pada metode pengeringan dehidrator sebesar 15,03%.

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui gambaran umum terkait keberadaan empat golongan senyawa (alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin) pada ekstrak yang diperoleh. Hasil skrining fitokimia pada ekstrak tiga bagian stevia (daun, batang, dan akar) yang dikeringkan dengan tiga metode pengeringan yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rendemen ekstraksi dan skrining fitokimia

No	Sampel	MP	m _s (g)	m _e (g)	Rendemen (%)	Alkaloid		Flavonoid	Saponin	Tanin
						Mayer	Dragendrof			
1	Daun	L	23,31	9,24	39,63	+	+	+	+	+
		K	24,66	10,26	41,59	+	+	+	+	+
		D	24,11	9,38	38,89	+	+	+	+	+
2	Batang	L	15,95	1,47	9,19	+	+	+	+	+
		K	16,42	1,32	8,04	+	+	+	+	+
		D	16,31	1,57	9,64	+	+	+	+	+
3	Akar	L	4,67	0,62	13,20	+	+	+	+	+
		K	4,22	0,62	14,74	+	+	+	+	+
		D	4,15	0,62	15,03	+	+	+	+	+

Keterangan: MP = metode pengeringan; m_s = massa sampel; m_e = massa ekstrak

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Stevia

Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak tiga bagian stevia (daun, batang, dan akar) yang dikeringkan dengan tiga metode pengeringan dilakukan dengan menggunakan metode peredaman DPPH (Tabel 3). Dari data tersebut, disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan yang paling baik dari metode pengeringan paling bagus adalah pengeringan menggunakan dehidrator, dan bagian tanaman stevia yang memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi adalah bagian daun terutama yang diberi perlakuan menggunakan dehidrator (IC₅₀ 363,49 µg/mL). Nilai IC₅₀ dari ekstrak stevia yang diperoleh dengan variasi metode pengeringan dan bagian tanaman (daun, batang dan akar) memiliki nilai rata-rata > 200 µg/mL dimana dapat diartikan memiliki aktivitas antioksidan lemah.

Rendahnya aktivitas antioksidan ekstrak stevia pada penelitian ini kemungkinan terjadi akibat adanya degradasi polifenol. Terdapat beberapa faktor yang dapat menyebabkan terjadinya degradasi polifenol diantaranya temperatur ekstraksi, radiasi UV, dan keberadaan senyawa tertentu seperti asam askorbat dan asam sitrat. Penelitian oleh Liazid dkk., (2007) menunjukkan bahwa senyawa polifenol mengalami degradasi pada temperatur 100°C selama pemanasan dengan menggunakan gelombang mikro (Liazid et al., 2007). Selain itu, keberadaan asam askorbat dan asam sitrat diketahui dapat mempercepat degradasi polifenol (Volf et al., 2014). Pada penelitian yang berbeda, Chan

dkk., (2011) menyimpulkan bahwa penggunaan MAE yang dengan daya yang tinggi dapat mengakibatkan terjadinya degradasi termal pada senyawa aktif seperti flavonoid dan polifenol (Chan et al., 2011). Oleh karenanya, pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan optimasi temperatur dan daya gelombang mikro untuk mendapatkan ekstrak dengan aktivitas antioksidan yang tinggi.

Tabel 3. Nilai Aktivitas antioksidan ekstrak stevia dan asam askorbat dengan metode peredaman radikal DPPH

No	Sample	Metode pengeringan	IC ₅₀ (mg/L)	Aktivitas antioksidan
1	Daun	L	674,52	Lemah
		K	943,24	Lemah
		D	363,49	Lemah
2	Batang	L	1285,85	Lemah
		K	1189,82	Lemah
		D	616,07	Lemah
3	Akar	L	1670,87	Lemah
		K	2081,18	Lemah
		D	949,09	Lemah
4	Asam askorbat	-	25,71	Sangat Kuat

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan yang sudah dijelaskan, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% stevia (daun, batang, dan akar) yang dikeringkan dengan berbagai metode pengeringan dan diekstraksi dengan MAE. Ekstrak dengan nilai IC₅₀ tertinggi diperoleh dari ekstrak daun stevia yang dikeringkan dengan dehidrator sebesar 363,49 mg/L. Rendahnya aktivitas antioksidan pada ekstrak stevia kemungkinan terjadi akibat adanya degradasi senyawa aktif seperti flavonoid dan polifenol.

Saran

Pada penelitian selanjutnya, perlu dilakukan kadar senyawa aktif (polifenol dan flavonoid) yang terdapat di dalam ekstrak stevia (*Stevia rebaudiana* B.) dan mengaitkannya dengan aktivitas antioksidan. Pada metode pengekstraksian, perlu dilakukan optimasi lebih lanjut untuk memastikan suhu yang digunakan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Esa Unggul atas fasilitas dan bantuan dana dalam pengerjaan penelitian ini.

DAFTAR REFERENSI

- Arnold, R. (2015). Comparative study of antioxidant activity of methanolic and ethanolic extracts of stevia. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4(1), 1474–1488.
- Carbonell-Capella, J. M., Šic Žlabur, J., Rimac Brnčić, S., Barba, F. J., Grimi, N., Koubaa, M., Brnčić, M., & Vorobiev, E. (2017). Electrotechnologies, microwaves, and ultrasounds combined with binary mixtures of ethanol and water to extract steviol glycosides and antioxidant compounds from *Stevia rebaudiana* leaves. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(5), 1–8. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13179>
- Chan, C. H., Yusoff, R., Ngoh, G. C., & Kung, F. W. L. (2011). Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants. *Journal of Chromatography A*, 1218(37), 6213–6225. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.07.040>
- Chandra, A. (2015). Studi awal ekstraksi batch daun *Stevia rebaudiana* dengan variabel jenis pelarut dan temperatur ekstraksi. In A. D. Setyawan, Sugiyarto, A. Pitoyo, U. E. Hernawan, & A. Widiastuti (Eds.), *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia* (Vol. 1, Issue 1, pp. 114–119). Masyarakat Biodiversitas Indonesia. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m010119>
- Ciulu, M., Quirantes-piné, R., Spano, N., Sanna, G., Borrás-linares, I., & Segura-carretero, A. (2017). Industrial crops & products evaluation of new extraction approaches to obtain phenolic compound-rich extracts from *Stevia rebaudiana* leaves. *Industrial Crops & Products*, 108(April), 106–112. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.024>
- Jyoti, J., Kaur, M., Mishra, V., & Mittal, A. (2018). Sweet future of stevia: A magical sweetener. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(2), 36–42. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i2.20295>
- Latarissa, I. R., Barliana, M. I., & Lestari, K. (2020). A comprehensive review of *Stevia rebaudiana* effects on human health and its mechanism. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*, 10(2), 91–95.
- Li, H., Zhao, Z., Xiouras, C., Stefanidis, G. D., Li, X., & Gao, X. (2019). Fundamentals and applications of microwave heating to chemicals separation processes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 114(August), 109316. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109316>
- Liazid, A., Palma, M., Brigui, J., & Barroso, C. G. (2007). Investigation on phenolic compounds stability during microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography A*, 1140(1–2), 29–34. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.11.040>
- Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D'andrea, L., Napolitano, P., & D'Alessandro, A. G. (2022). Free radical properties, source and targets, antioxidant consumption and health. *Oxygen*, 2(2), 48–78. <https://doi.org/10.3390/oxygen2020006>
- Muanda, F. N., Soulimani, R., Diop, B., & Dicko, A. (2011). Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from *Stevia*

- rebaudiana Bertoni leaves. *LWT - Food Science and Technology*, 44(9), 1865–1872. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.12.002>
- Myint, K. zar, Wu, K., Xia, Y., Fan, Y., Shen, J., Zhang, P., & Gu, J. (2020). Polyphenols from *Stevia rebaudiana* (Bertoni) leaves and their functional properties. *Journal of Food Science*, 85(2), 240–248. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15017>
- Periche, A., Castelló, M. L., Heredia, A., & Escriche, I. (2015). Influence of drying method on steviol glycosides and antioxidants in *Stevia rebaudiana* leaves. *Food Chemistry*, 172, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.029>
- Pisoschi, A. M., Pop, A., Iordache, F., Stanca, L., Predoi, G., & Serban, A. I. (2021). Oxidative stress mitigation by antioxidants - An overview on their chemistry and influences on health status. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 209, 112891. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112891>
- Shaikh, J. R., & Patil, M. (2020). Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *International Journal of Chemical Studies*, 8(2), 603–608. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834>
- Singh, S., Garg, V., Yadav, D., & Sharma, N. (2012). In vitro antioxidative and antibacterial activities of various parts of *Stevia rebaudiana* (Bertoni). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(3), 468–473.
- Three, A., Latifah, W., Hidayati, N., Sofyan, A., Fuadi, A. M., & Harismah, K. (2015). Preparation of modified jelly by using sweet potato and stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) as non calorie sweetener. *University Research Colloquium*, 171–175.
- Volf, I., Ignat, I., Neamtu, M., & Popa, V. I. (2014). Thermal stability, antioxidant activity, and photo-oxidation of natural polyphenols. *Chemical Papers*, 68(1), 121–129. <https://doi.org/10.2478/s11696-013-0417-6>
- Yildiz-Ozturk, E., Nalbantsoy, A., Tag, O., & Yesil-Celiktas, O. (2015). A comparative study on extraction processes of *Stevia rebaudiana* leaves with emphasis on antioxidant, cytotoxic and nitric oxide inhibition activities. *Industrial Crops and Products*, 77, 961–971. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.10.010>
- Yulianti, D., Susilo, B., & Yulianingsih, R. (2014). Pengaruh lama ekstraksi dan konsentrasi pelarut etanol terhadap sifat fisika-kimia ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dengan metode microwave assisted extraction (MAE). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*, 2(1), 35–41.