

OPTIMALISASI PELARUT EKSTRAKSI BUAH WOLFBERRY (*LYCIUM RUTHENICUM MURRAY*) DENGAN METODE *SIMPLEX LATTICE DESIGN*

Rollando Rollando^{1*}, Muhammad Hilmi Afthoni², Ardi Fitra Setiawan¹

¹ Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ma Chung, Malang, Jawa Timur, Indonesia.

² Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jember, Jember, Jawa Timur, Indonesia.

*E-mail : ro.llando@machung.ac.id

ABSTRAK

Wolfberry (*Lycium ruthenicum* Murray) merupakan buah yang kaya akan senyawa bioaktif, seperti flavonoid, antosianin, polifenol, dan polisakarida, yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan kuat. Optimalisasi proses ekstraksi diperlukan untuk memaksimalkan perolehan komponen aktif tersebut. Penelitian ini bertujuan menentukan komposisi pelarut terbaik untuk ekstraksi senyawa bioaktif buah wolfberry menggunakan metode *Simplex Lattice Design* (SLD). Ekstraksi dilakukan dengan teknik ultrasonik menggunakan tiga jenis pelarut, yaitu metanol, etanol, dan petroleum eter, dengan variasi komposisi yang dianalisis menggunakan perangkat lunak *Design Expert 12*. Hasil optimasi menunjukkan bahwa kombinasi pelarut optimum diperoleh pada komposisi 0% metanol, 43% etanol, dan 56-57% petroleum eter (43,50 mL etanol dan 56,50 mL petroleum eter), dengan rendemen ekstrak sebesar 16,58%, kandungan flavonoid total 159,02 mg kuersetin ekuivalen/g ekstrak, serta aktivitas antioksidan sebesar 135,44 ppm, dengan nilai *desirability* 0,66432. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa pemilihan dan komposisi pelarut yang tepat, khususnya kombinasi etanol-petroleum eter tanpa metanol, berperan penting dalam meningkatkan efisiensi ekstraksi senyawa bioaktif wolfberry dan berpotensi diaplikasikan dalam pengembangan produk berbasis antioksidan alami.

Kata Kunci: Antioksidan, *Lycium ruthenicum* Murray, Optimasi, Pelarut, Simplex Lattice Design, wolfberry.

ABSTRACT

Wolfberry (*Lycium ruthenicum* Murray) is a fruit rich in bioactive compounds such as flavonoids, anthocyanins, polyphenols, and polysaccharides, which are known to exhibit strong antioxidant activity. Optimization of the extraction process is required to maximize the yield of these active components. This study aimed to determine the optimal solvent composition for extracting bioactive compounds from wolfberry using the Simplex Lattice Design (SLD) method. Ultrasonic-assisted extraction was performed using three solvents, namely methanol, ethanol, and petroleum ether, with various compositions analyzed using Design Expert 12 software. The optimization results indicated that the optimum solvent mixture consisted of 0% methanol, 43% ethanol, and 56–57% petroleum ether (43.50 mL ethanol and 56.50 mL petroleum ether), yielding an extract recovery of 16.58%, total flavonoid content of 159.02 mg quercetin equivalent/g extract, and antioxidant activity of 135.44 ppm, with a desirability value of 0.66432. These findings demonstrate that appropriate solvent selection and composition, particularly the ethanol, petroleum ether combination without methanol, play a crucial role in enhancing the efficiency of bioactive compound extraction from wolfberry and hold potential for application in the development of natural antioxidant-based products.

Keywords: Antioxidant, *Lycium ruthenicum* Murray, Optimization, Solvent, Simplex Lattice Design, wolfberry.

PENDAHULUAN

Lycium ruthenicum Murray, yang dikenal sebagai wolfberry atau goji berry hitam, merupakan tanaman obat dari famili *Solanaceae* yang berasal dari kawasan Asia Tengah dan memiliki berbagai khasiat kesehatan (Wang *et al.*, 2021). Tanaman ini umumnya tumbuh di wilayah gurun, daerah pegunungan, serta area berpasir di sepanjang jalan, dan mampu berkembang pada ketinggian antara 400 hingga 3.900 meter di atas permukaan laut (Luo *et al.*, 2021). Wolfberry telah lama dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional untuk mengatasi berbagai gangguan kesehatan, seperti diabetes, anemia, gangguan penglihatan, impotensi, hingga penyakit paru-paru (Fan *et al.*, 2022). Di Tiongkok, buah ini dikenal dengan sebutan “Gouqizi” yang secara harfiah berarti buah beri yang lezat, dan telah digunakan dalam pengobatan tradisional Tiongkok sejak tahun 100 M (Li *et al.*, 2021).

Khasiat antioksidan dari wolfberry dikaitkan dengan kandungan senyawa bioaktifnya, termasuk polifenol, polisakarida, antosianin, dan flavonoid, yang diketahui berperan penting dalam aktivitas antioksidan (Zong *et al.*, 2020). Studi sebelumnya telah melakukan ekstraksi buah wolfberry menggunakan pelarut etanol, yang menghasilkan rendemen sebesar 1,2% (Ilić *et al.*, 2020). Uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak etanol menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 362,4 ppm, dengan kandungan flavonoid total sebesar 233,47 $\mu\text{g/g}$ ekstrak (T *et al.*, 2017). Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa penggunaan etanol sebagai pelarut tunggal belum mampu mengekstraksi senyawa bioaktif secara optimal, sehingga menyebabkan aktivitas antioksidan dan kandungan flavonoid yang diperoleh belum maksimal. Oleh karena itu, penelitian ini menerapkan metode ekstraksi ultrasonik, yang dipilih karena kemampuannya dalam meningkatkan kandungan antioksidan dengan waktu ekstraksi yang relatif singkat (Peng *et al.*, 2023).

Proses optimasi pelarut menjadi penting untuk menentukan jenis dan komposisi pelarut yang paling efektif dalam mengekstraksi senyawa flavonoid dari buah wolfberry (Zhang *et al.*, 2022). Dalam penelitian ini digunakan kombinasi metanol, etanol, dan petroleum eter sebagai pelarut. Tujuan dari optimasi ini adalah untuk memperoleh kombinasi pelarut yang memberikan rendemen terbaik, kandungan flavonoid total tertinggi, serta aktivitas antioksidan yang optimal.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Penelitian ini menggunakan berbagai peralatan laboratorium, antara lain pisau, blender, ayakan, kertas saring, saringan, nampan, dan neraca analitik (Ohaus, New Jersey, USA). Selain itu, digunakan alat-alat gelas, pipet tetes, mikropipet (Socorex Isba, Switzerland), pipet volumetrik, botol vial, tabung reaksi, batang pengaduk, termometer, spektrofotometer UV-Vis (V-730, Jasco, Japan), serta perangkat pembersih ultrasonik (cleaning bath ultrasonic).

Buah *Lycium ruthenicum* Murray (wolfberry) dari Sichuan, Tiongkok digunakan sebagai bahan utama. Ekstraksi dilakukan menggunakan etanol, metanol, dan petroleum eter (Merck, Jerman). Aktivitas antioksidan dianalisis dengan reagen DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dari Merck, Jerman.

METODE PENELITIAN

Preparasi Simplisia

Buah wolfberry (*Lycium ruthenicum* Murray) matang berwarna hitam digunakan sebagai sampel. Buah dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama tiga hari, lalu dihaluskan dengan blender hingga diperoleh serbuk berukuran halus, guna meningkatkan luas kontak dengan pelarut dan efisiensi ekstraksi.

Ekstraksi dengan Ultrasonik

Ekstraksi dilakukan dengan mencampurkan 100 g serbuk buah wolfberry ke dalam wadah yang telah berisi campuran pelarut berupa etanol, metanol, dan petroleum eter sebanyak 100 mL, dengan variasi komposisi sebagaimana tercantum pada Tabel 1. Proses ini dilanjutkan menggunakan bantuan alat ekstraksi ultrasonik selama 90 menit guna meningkatkan efisiensi pemisahan senyawa bioaktif dari matriks bahan (Meng *et al.*, 2022).

Pembuatan Larutan Standar Kuersetin

Larutan stok kuersetin 100 ppm dibuat dengan melarutkan 2,5 mg kuersetin dalam 25 mL metanol. Dari larutan stok tersebut disiapkan seri konsentrasi 30-70 ppm. Setiap 0,5 mL larutan direaksikan dengan AlCl_3 10%, natrium asetat 1 M, dan akuades, lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400–800 nm (Cheng & Huang, 2018).

Penetapan Kandungan Flavonoid Total

Sebanyak 20 mg ekstrak buah wolfberry dilarutkan dalam 10 mL etanol sehingga diperoleh konsentrasi 2000 ppm, lalu disentrifugasi. Sebanyak 0,5 mL supernatan direaksikan dengan AlCl_3 10%, natrium asetat 1 M, dan akuades, kemudian diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi diukur pada 437,55 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil dinyatakan sebagai gram kuersetin ekuivalen per gram ekstrak (Zawawi *et al.*, 2021).

Uji Aktivitas Antioksidan dengan metode DPPH

Larutan stok dengan konsentrasi 500 ppm disiapkan dengan melarutkan 5 mg ekstrak buah wolfberry dalam metanol hingga homogen, kemudian volume larutan disesuaikan hingga 10 mL. Selanjutnya, larutan sampel dibuat dalam variasi konsentrasi antara 100 hingga 300 ppm. Masing-masing sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C dalam kondisi gelap. Setelah inkubasi, absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Khorasani Esmaeili *et al.*, 2015).

Formula Optimasi

Penelitian ini merupakan studi eksperimental dengan simplisia buah wolfberry yang diekstraksi menggunakan kombinasi metanol, etanol, dan petroleum eter. Optimasi dilakukan terhadap rendemen, total flavonoid, dan aktivitas antioksidan (metode DPPH), menggunakan *Simplex Lattice Design* pada software Design Expert 12 (Monton *et al.*, 2021).

Variabel bebas meliputi jenis dan rasio pelarut serta konsentrasi sampel dalam uji DPPH. Variabel tergantung mencakup rendemen (%), total flavonoid (mg QE/g), dan aktivitas antioksidan (ppm). Variabel kontrol mencakup asal tanaman, volume pelarut, metode ekstraksi, dan prosedur uji.

Tabel 1. Komposisi pelarut ekstraksi

Komposisi	Metanol	Etanol	Petroleum Eter
1	0,5	0,5	0
2	0	0,5	0,5
3	0,167	0,667	0,167
4	0,5	0	0,5
5	0	0	1
6	0	0	1

7	1	0	0
8	0,667	0,167	0,167
9	0	1	0
10	0	1	0
11	0,333	0,333	0,333
12	1	0	0
13	0,167	0,167	0,667
14	0,5	0,5	0

Analisis Hasil

Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan rasio antara berat ekstrak yang diperoleh dan berat awal biomasa yang digunakan, kemudian dikalikan dengan 100%. Rumus perhitungannya adalah sebagai berikut:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{bobot ekstrak (mg)}}{\text{bobot simplisia (mg)}} \times 100\%$$

Perhitungan untuk penentuan jumlah flavonoid total dapat dilakukan dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Total kadar flavonoid (\%)} = \frac{C \times V \times fp}{g} \times 100\%$$

C= Kesetaraan kuersetin (mg/L)

V= Volume ekstrak yang digunakan (mL)

Fp= Faktor pengenceran

g= Berat sampel yang digunakan (mg)

Parameter uji aktivitas antioksidan ditentukan berdasarkan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration 50*), yaitu konsentrasi senyawa antioksidan yang mampu mereduksi 50% aktivitas radikal bebas DPPH. Untuk memperoleh nilai IC_{50} , diperlukan data persen inhibisi dari hasil pengujian. Persentase inhibisi dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Setelah diperoleh data rendemen, kadar flavonoid total, dan aktivitas antioksidan, analisis dilakukan menggunakan perangkat lunak Design Expert 12. Tujuannya adalah mengevaluasi pengaruh variasi pelarut terhadap masing-masing parameter berdasarkan respon yang dihasilkan. Setiap variabel dianalisis menggunakan metode ANOVA, di mana software akan merekomendasikan model terbaik berdasarkan signifikansi nilai ANOVA. Model yang dipilih adalah yang signifikan secara statistik dan tidak menunjukkan lack of fit yang bermakna. Model tersebut selanjutnya digunakan untuk menghitung koefisien a, b, c, ab, ac, bc, dan abc, sehingga diperoleh persamaan prediktif berikut:

$$Y = a(X_1) + b(X_2) + c(X_3) + ab(X_1)(X_2) + ac(X_1)(X_3) + bc(X_2)(X_3) + abc(X_1)(X_2)(X_3)$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi dan Jumlah Rendemen

Perhitungan rendemen dilakukan menggunakan rumus yang telah ditetapkan sebelumnya. Hasil menunjukkan bahwa pada replikasi pertama, rendemen tertinggi tercapai pada komposisi ke-7, sedangkan pada replikasi kedua dan ketiga, nilai tertinggi diperoleh pada komposisi ke-12,

dengan hasil masing-masing sebesar 23,13%, 21,73%, dan 22,61%. Kedua komposisi tersebut menggunakan pelarut tunggal berupa metanol.

Metanol memiliki polaritas yang lebih tinggi dibandingkan pelarut lain yang digunakan, sehingga lebih mampu mengekstraksi senyawa polar secara efisien (Benkirane *et al.*, 2022). Etanol yang memiliki polaritas lebih rendah dibandingkan metanol lebih efektif untuk mengekstraksi senyawa dengan polaritas menengah (Zreen *et al.*, 2022). Sementara petroleum eter yang bersifat nonpolar dan lebih sesuai untuk mengekstraksi senyawa non-polar, namun kurang efektif dalam mengekstraksi senyawa polar, yang mendominasi kandungan bioaktif dalam wolfberry (Akhtar *et al.*, 2021).

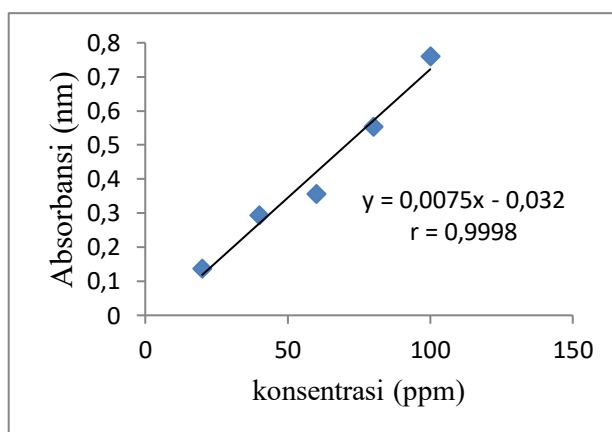
Dengan demikian, metanol cenderung memberikan rendemen lebih tinggi karena kesesuaiannya dengan polaritas senyawa bioaktif dalam buah wolfberry. Meskipun demikian, pemilihan pelarut tetap harus mempertimbangkan sifat senyawa target dan tujuan ekstraksi yang ingin dicapai.

Penetapan Flavonoid Total

Penetapan kadar flavonoid total dilakukan dengan memasukkan nilai absorbansi sampel ke dalam persamaan kurva kalibrasi kuadrat. Kurva kalibrasi menunjukkan hubungan linier antara konsentrasi dan absorbansi, dengan koefisien korelasi mendekati 1, yang mencerminkan linearitas dan akurasi metode yang tinggi.

Hasil penelitian menunjukkan adanya variasi kadar flavonoid antar replikasi. Replikasi pertama dan ketiga menunjukkan kadar tertinggi pada komposisi ke-5, yaitu 279,64 mg QE/g dan 276,76 mg QE/g. Sementara itu, pada replikasi kedua, nilai tertinggi tercatat pada komposisi ke-6 sebesar 271,8 mg QE/g. Kedua komposisi tersebut menggunakan petroleum eter sebagai pelarut tunggal.

Petroleum eter, sebagai pelarut nonpolar efektif mengekstrak senyawa yang bersifat nonpolar hingga semi-polar. Hasil ini mengindikasikan bahwa flavonoid utama dalam buah wolfberry kemungkinan memiliki karakteristik kelarutan yang lebih tinggi dalam pelarut dengan polaritas rendah (Duangjit *et al.*, 2014). Oleh karena itu, komposisi pelarut sangat menentukan keberhasilan ekstraksi flavonoid, meskipun variabel lain seperti suhu, waktu, dan metode juga berkontribusi terhadap hasil akhir.



Gambar 1. Grafik kurva kalibrasi

Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak ditentukan berdasarkan nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi yang mampu mereduksi atau menghambat 50% radikal bebas. Semakin kecil Nilai IC_{50} menunjukkan semakin kuat dan semakin tinggi potensi aktivitas antioksidannya.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa komposisi 1 memiliki nilai IC_{50} terendah, yakni 121,51 ppm, yang termasuk kategori aktivitas antioksidan rendah (100–150 ppm). Meskipun demikian, nilai ini menandakan performa antioksidan yang lebih baik dibandingkan komposisi lain. Sebaliknya, nilai IC_{50} tertinggi ditemukan pada komposisi 6, sebesar 240,01 ppm, yang diklasifikasikan sebagai sangat lemah. Perbedaan ini kemungkinan besar disebabkan oleh variasi jenis dan rasio pelarut, yang memengaruhi jumlah serta jenis senyawa aktif yang terekstraksi (Ghorbani *et al.*, 2021).

Variasi IC_{50} pada tiap komposisi menegaskan bahwa pemilihan pelarut berpengaruh besar terhadap efektivitas antioksidan. Senyawa seperti flavonoid, polifenol, dan antosianin lebih optimal diekstraksi dengan pelarut yang sesuai dengan karakteristiknya. Oleh karena itu, selain mempertimbangkan rendemen dan kandungan flavonoid, aktivitas antioksidan juga menjadi indikator penting dalam menentukan efektivitas proses ekstraksi.

Optimasi Formula

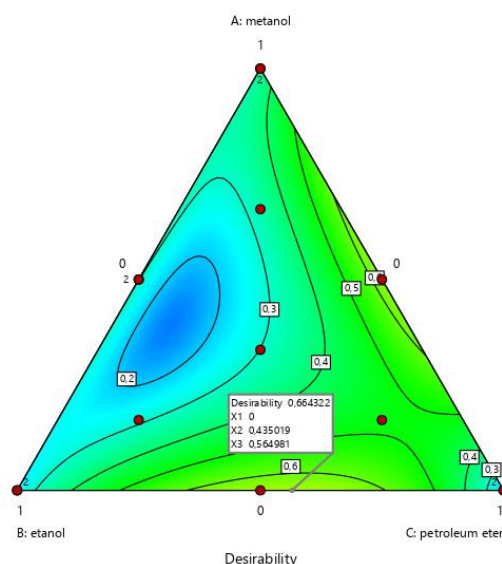
Optimasi pelarut bertujuan untuk menentukan kombinasi pelarut yang paling efektif dalam menghasilkan ekstrak dengan karakteristik terbaik. Tiga parameter utama yang dijadikan respon adalah rendemen (%), kadar flavonoid total (mg QE/g ekstrak), dan aktivitas antioksidan (IC_{50}). Metode optimasi dilakukan menggunakan pendekatan *Simplex Lattice Design*, yakni rancangan berbasis campuran yang melibatkan tiga jenis pelarut: metanol, etanol, dan petroleum eter. Ketiga pelarut ini diuji pada berbagai komposisi untuk mengevaluasi pengaruhnya terhadap ketiga parameter utama. Proses analisis dibantu oleh perangkat lunak *Design-Expert® 12 (Trial Version)* guna menentukan formulasi paling optimal berdasarkan hasil percobaan.

Efektivitas ekstraksi sangat bergantung pada karakteristik pelarut, terutama tingkat kepolaran yang memengaruhi kelarutan senyawa bioaktif. Dengan pendekatan optimasi ini, diharapkan diperoleh komposisi pelarut yang mampu menghasilkan rendemen tinggi, kandungan flavonoid maksimal, dan aktivitas antioksidan terbaik (Lee *et al.*, 2018).

Tabel 2. Variabel bebas dan terikat dalam rancangan *simplex lattice design* untuk menentukan komposisi pelarut optimal

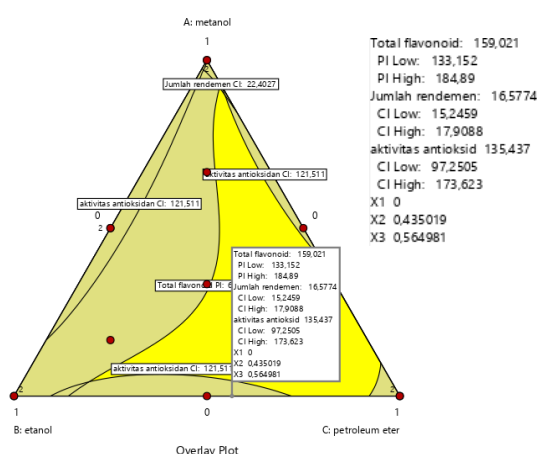
Variabel percobaan		Batasan	
Variabel Bebas	Komposisi Rendah	Komposisi Tinggi	Target
Metanol	0	100%	<i>In range</i>
Etanol	0	100%	<i>In range</i>
Petroleum eter	0	100%	<i>In range</i>
Variabel Terikat	Batas Bawah	Batas Atas	Target
Rendemen	2,17758	22,4027	<i>Maximum</i>
Flavonoid Total	61,1867	270,853	<i>Maximum</i>
Aktivitas Antioksidan	121,511	240,017	<i>Minimize</i>

Analisis menggunakan *Design-Expert® 12 (Trial Version)* menghasilkan nilai *desirability* yang merepresentasikan tingkat optimalitas kombinasi pelarut berdasarkan tiga parameter utama, yaitu rendemen, kadar flavonoid total, dan aktivitas antioksidan. Nilai ini diperoleh melalui metode *overlay plot*, sebagaimana ditampilkan pada Gambar 2 dan Gambar 3.



Gambar 2. Plot kontur tumpang tindih (*superimposed*) dari respon rendemen, kadar flavonoid total, dan aktivitas antioksidan

Visualisasi *superimposed contour plot* membantu dalam mengidentifikasi area optimum, yaitu wilayah kombinasi pelarut yang memberikan keseimbangan terbaik antara seluruh parameter respon. Titik dengan nilai *desirability* tertinggi menunjukkan perbandingan pelarut yang paling efektif dalam mengekstraksi senyawa bioaktif dari buah wolfberry. Nilai *desirability* sebesar 0,66432 menunjukkan bahwa komposisi pelarut terbaik untuk ekstraksi buah wolfberry adalah 43% etanol dan 56% petroleum eter. Komposisi ini menghasilkan rendemen 16,577%, flavonoid total 159,021 mg/g, dan aktivitas antioksidan 135,437 ppm.



Gambar 3. *Overlay Plot Desirability* komposisi perbandingan optimum aktivitas antioksidan

Optimalisasi ini menunjukkan pentingnya pemilihan rasio pelarut yang sesuai dengan polaritas senyawa target. Selain menghasilkan rendemen yang tinggi dan kadar flavonoid yang maksimal, formulasi yang tepat juga berkontribusi terhadap peningkatan aktivitas antioksidan. Pemahaman terhadap titik optimum ini penting sebagai dasar pengembangan metode ekstraksi yang lebih efisien, ekonomis, dan berkelanjutan (Das *et al.*, 2016).

KESIMPULAN

Optimasi komposisi pelarut menghasilkan nilai *desirability* sebesar 0,66432, yang menunjukkan kombinasi pelarut paling efektif untuk ekstraksi buah wolfberry. Komposisi optimal terdiri atas 0% metanol, 43% etanol, dan 56% petroleum eter, dengan rendemen sebesar 16,577%, kadar flavonoid total 159,021 mg kuersetin/g ekstrak, serta aktivitas antioksidan sebesar 135,437 ppm. Hasil ini menegaskan bahwa pemilihan pelarut yang tepat sangat berpengaruh terhadap efisiensi ekstraksi senyawa bioaktif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Ilmu Kesehatan yang telah memberikan dukungan untuk penelitian ini.

REFERENSI

- Akhtar, M.S., Mir, S.R., Said, S.A., Hossain, M.A., Ali, M., 2021. Extraction, isolation and structural characterization of two triterpenoid glycosides from the fruits of *Ficus bengalensis*. *Carbohydr Res* 510, 108444. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2021.108444>
- Benkirane, C., Ben Moumen, A., Fauconnier, M.-L., Belhaj, K., Abid, M., Caid, H.S., Elamrani, A., Mansouri, F., 2022. Bioactive compounds from hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds: optimization of phenolic antioxidant extraction using simplex lattice mixture design and HPLC-DAD/ESI-MS2 analysis. *RSC Adv* 12, 25764–25777. <https://doi.org/10.1039/d2ra04081f>
- Cheng, H., Huang, G., 2018. Extraction, characterisation and antioxidant activity of *Allium sativum* polysaccharide. *Int J Biol Macromol* 114, 415–419. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.156>
- Crespo, Y.A., Bravo Sánchez, L.R., Quintana, Y.G., Cabrera, A.S.T., Bermúdez Del Sol, A., Mayancha, D.M.G., 2019. Evaluation of the synergistic effects of antioxidant activity on mixtures of the essential oil from *Apium graveolens* L., *Thymus vulgaris* L. and *Coriandrum sativum* L. using simplex-lattice design. *Heliyon* 5, e01942. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01942>
- Das, S.K., Khanam, J., Nanda, A., 2016. Optimization of preparation method for ketoprofen-loaded microspheres consisting polymeric blends using simplex lattice mixture design. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 69, 598–608. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.07.010>
- Duangjit, S., Mehr, L.M., Kumpugdee-Vollrath, M., Ngawhirunpat, T., 2014. Role of simplex lattice statistical design in the formulation and optimization of microemulsions for transdermal delivery. *Biol Pharm Bull* 37, 1948–1957. <https://doi.org/10.1248/bpb.b14-00549>
- Fan, H., Ji, Y., Wang, Y., Liu, D., Wei, T., Cao, X., Yang, M., Bai, C., Wang, Z., 2022. Anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murray Inhibit HepG2 Cells Growth, Metastasis and Promote Apoptosis and G2/M Phase Cycle Arrest by Activating the AMPK/mTOR Autophagy Pathway. *Evid Based Complement Alternat Med* 2022, 9609596. <https://doi.org/10.1155/2022/9609596>
- Ghorbani, M., Mohammadi, P., Keshavarzi, M., Saghi, M.H., Mohammadi, M., Shams, A., Aghamohammadhasan, M., 2021. Simultaneous determination of organophosphorus pesticides residues in vegetable, fruit juice, and milk samples with magnetic dispersive micro solid-phase extraction and chromatographic method; recruitment of simplex lattice mixture design for optimization of novel sorbent composites. *Anal Chim Acta* 1178, 338802. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338802>
- Ilić, T., Dodevska, M., Marčetić, M., Božić, D., Kodranov, I., Vidović, B., 2020. Chemical Characterization, Antioxidant and Antimicrobial Properties of Goji Berries Cultivated in Serbia. *Foods* 9, 1614. <https://doi.org/10.3390/foods9111614>

- Khorasani Esmaeili, A., Mat Taha, R., Mohajer, S., Banisalam, B., 2015. Antioxidant Activity and Total Phenolic and Flavonoid Content of Various Solvent Extracts from In Vivo and In Vitro Grown *Trifolium pratense* L. (Red Clover). *Biomed Res Int* 2015, 643285. <https://doi.org/10.1155/2015/643285>
- Lee, K., Kim, C., Oh, K.W., 2018. Single-Layered Microfluidic Network-Based Combinatorial Dilution for Standard *Simplex Lattice Design*. *Micromachines (Basel)* 9, 489. <https://doi.org/10.3390/mi9100489>
- Li, Z.-L., Mi, J., Lu, L., Luo, Q., Liu, X., Yan, Y.-M., Jin, B., Cao, Y.-L., Zeng, X.-X., Ran, L.-W., 2021. The main anthocyanin monomer of *Lycium ruthenicum* Murray induces apoptosis through the ROS/PTEN/PI3K/Akt/caspase 3 signaling pathway in prostate cancer DU-145 cells. *Food Funct* 12, 1818–1828. <https://doi.org/10.1039/d0fo02382e>
- Luo, J., Bian, L.-H., Yao, Z.-W., Wang, X.-M., Li, Q.-Y., Guo, J.-Y., Shi, J.-L., 2021. Anthocyanins in *Lycium ruthenicum* Murray reduce nicotine withdrawal-induced anxiety and craving in mice. *Neurosci Lett* 763, 136152. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.136152>
- Meng, X., Song, L., Han, H., Zhao, J., Zheng, D., 2022. Solvent polarity dependent ESIPT behavior for the novel flavonoid-based solvatofluorochromic chemosensors. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 265, 120383. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.120383>
- Monton, C., Chuanchom, P., Popanit, P., Settharaksa, S., Pathompak, P., 2021. *Simplex Lattice Design* for optimization of the mass ratio of *Curcuma longa* L., *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe and *Curcuma aromatica* Salisb. to maximize curcuminoids content and antioxidant activity. *Acta Pharm* 71, 445–457. <https://doi.org/10.2478/acph-2021-0025>
- Peng, Y., Dong, W., Chen, G., Mi, J., Lu, L., Xie, Z., Xu, W., Zhou, W., Sun, Y., Zeng, X., Cao, Y., Yan, Y., 2023. Anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murray Ameliorated High-Fructose Diet-Induced Neuroinflammation through the Promotion of the Integrity of the Intestinal Barrier and the Proliferation of Lactobacillus. *J Agric Food Chem* 71, 2864–2882. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c06713>
- T, I., X, Y., Ts, B., B, X., 2017. Comparative studies on phenolic profiles, antioxidant capacities and carotenoid contents of red goji berry (*Lycium barbarum*) and black goji berry (*Lycium ruthenicum*). *Chemistry Central journal* 11. <https://doi.org/10.1186/s13065-017-0287-z>
- Wang, Y., Fu, J., Yang, D., 2021. In Situ Stability of Anthocyanins in *Lycium ruthenicum* Murray. *Molecules* 26, 7073. <https://doi.org/10.3390/molecules26237073>
- Zawawi, N., Chong, P.J., Mohd Tom, N.N., Saiful Anuar, N.S., Mohammad, S.M., Ismail, N., Jusoh, A.Z., 2021. Establishing Relationship between Vitamins, Total Phenolic and Total Flavonoid Content and Antioxidant Activities in Various Honey Types. *Molecules* 26, 4399. <https://doi.org/10.3390/molecules26154399>
- Zhang, Y., Bian, S., Hu, J., Liu, G., Peng, S., Chen, H., Jiang, Z., Wang, T., Ye, Q., Zhu, H., 2022. Natural Deep Eutectic Solvent-Based Microwave-Assisted Extraction of Total Flavonoid Compounds from Spent Sweet Potato (*Ipomoea batatas* L.) Leaves: Optimization and Antioxidant and Bacteriostatic Activity. *Molecules* 27, 5985. <https://doi.org/10.3390/molecules27185985>
- Zong, S., Yang, L., Park, H.J., Li, J., 2020. Dietary intake of *Lycium ruthenicum* Murray ethanol extract inhibits colonic inflammation in dextran sulfate sodium-induced murine experimental colitis. *Food Funct* 11, 2924–2937. <https://doi.org/10.1039/d0fo00172d>
- Zreen, Z., Hameed, A., Kiran, S., Farooq, T., Zaroog, M.S., 2022. A Comparative Study of *Diospyros malabarica* (Gaub) Extracts in Various Polarity-Dependent Solvents for Evaluation of Phytoconstituents and Biological Activities. *Biomed Res Int* 2022, 4746223. <https://doi.org/10.1155/2022/4746223>