

## EKSTRAKSI INDIGO DARI DAUN *STROBILANTHES CUSIA* DAN KAJIAN PEMBENTUKAN KOMPLEKS DENGAN ION $Ni^{2+}$

Cepi Kurniawan

Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Negeri Semarang  
Sekaran, Gunung Pati, Kota Semarang, Jawa Tengah 50229

E-mail: [kurniawan.cepi@mail.unnes.ac.id](mailto:kurniawan.cepi@mail.unnes.ac.id)

Received : 9 Oktober 2019; revised : 1 November 2019; accepted : 2 Juli 2020

### ABSTRAK

**EKSTRAKSI INDIGO DARI DAUN *STROBILANTHES CUSIA* DAN KAJIAN PEMBENTUKAN KOMPLEKS DENGAN ION  $Ni^{2+}$ .** Kajian ekstraksi zat warna alam indigo dari tanaman *Strobilanthes cusia* telah dilakukan. Ekstraksi dilakukan dengan metode fermentasi daun dan batang *Strobilanthes cusia* selama 48 jam diikuti oleh oksidasi dalam suasana basa. Indigo tidak dapat diperoleh secara langsung dari tanaman, melainkan sebagai senyawa glukosa indoksil. Ekstrak *Strobilanthes cusia* mengandung dua zat warna didalamnya yaitu indigo (biru) dan indirubin (merah). Pemisahan dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis dan kolom. Variasi pelarut terbaik yaitu campuran dari kloroform:n-heksana:metanol (8:5:0,5) karena menghasilkan pemisahan baik. Pemisahan ini menghasilkan nilai  $R_f$  sebesar 0,2 untuk indigo dan indirubin 0,428. 1 kg daun *strobilanthes cusia* menghasilkan 195 mg pewarna indigo dan 89 mg indirubin. Senyawa indigo memiliki serapan maksimum pada 600 nm. Puncak serapan pada 800 nm teramati ketika indigo dicampurkan dengan  $Ni^{2+}$ . Keberadaan puncak ini mengindikasikan pembentukan senyawa kompleks antara indigo dengan ion  $Ni^{2+}$ . Dari penelitian ini, diperoleh juga bahwa senyawa Ni-Indigo berpotensi sebagai pewarna pada sel surya.

Kata Kunci: *Strobilanthes cusia*, indigo, kompleks Ni-Indigo, sel surya tersensitasi zat warna.

### ABSTRACT

**EXTRACTION OF INDIGO FROM *STROBILANTHES CUSIA* LEAVES AND ITS COMPLEX COMPOUND FORMATION WITH  $Ni^{2+}$  ION.** Extraction of *Strobilanthes cusia* plants to obtain indigo natural dyes has been conducted. Extraction was conducted by oxidative fermentation. Indigo dye cannot be obtained directly from plants, it present in the form of indoxyl glucose form. *Strobilanthes cusia* extract contains two different dyes, indigo (blue) and indirubin (red). Separation was done by TLC as well as column chromatography method. The best variety of solvents is a mixture of chloroform: n-hexane: methanol (8: 5: 0.5) because it produces good separation. A 1 kg fresh leaves of *strobilanthes* provide 195 mg of indigo dyes and 89 mg indirubin. An indigo dye has a strong absorption peak at 600 nm. However, new peak was observed at 800 nm in the presence of  $Ni^{2+}$ . The result indicate the formation of complex compound of Ni-Indigo. Two molecules of indigo were predicted to bind one  $Ni^{2+}$  ion. The behavior of Ni-Indigo has been studied as a sensitizer of solar cells.

Keywords: *Strobilanthes cusia*, indigo, Ni-Indigo complexes, Dye Sensitized Solar Cells.

### PENDAHULUAN

Manfaat dari pewarna alami mulai banyak diminati oleh para peneliti. Indigo adalah salah satu pewarna alami yang sangat menarik dan dijuluki sebagai "King of Dye". India merupakan negara dengan produksi pewarna indigo terbesar di dunia, akan tetapi pada abad ke 18 banyak negara yang bisa membuat pewarna indigo sintetis. Jika dibandingkan antara pewarna indigo sintesis dengan alami kemurnian dari pewarna sintesis bisa mencapai 90% dan untuk alami baru bisa mencapai 20% sampai 90% (Bechtold, 2009).

Indigo tidak didapatkan langsung dari tumbuhan akan tetapi merupakan hasil produk

dari prekursor glukosida indol. Indoksil merupakan prekursor dari indigo yang akan menghasilkan glukosida indikan (indoksil- $\beta$ -glukosida) (Gilbert & David, 2001). Indigo terbentuk dari indikan melalui proses fermentasi, kemudian dioksidasi. Isatin pada umumnya diproduksi dari indoksil dan menghasilkan oksigen sebagai produk samping. Kondensasi indoksil dengan isatin akan menghasilkan indirubin, yang memiliki warna merah muda dan memiliki struktur hampir sama dengan indigo (Laitonjam & Sujata, 2011).

Saat ini sudah banyak pemanfaatan pewarna indigo dalam bentuk derivatnya, sebagai contoh indigo untuk *dyeing cotton fabric* (Pathak & Madamwar, 2010), pewarna celana

jeans, pewarna batik, ozon filter untuk pendeteksi gas, dan isoindigo sebagai sensitizer sel surya (Gang et al., 2014). Salah satu tanaman yang mengandung zat warna indigo yaitu *Strobilanthes cusia* (Liau, Jong, Lee, & Chen, 2007).

Terdapat beberapa metode ekstraksi pewarna indigo dari tanaman. Pada penelitian (Hou & Liang, 2006) ekstraksi indigo dari *Baphicacanthus cusia* menggunakan fermentasi oksidatif. Hasil analisis kadar indigo menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) diperoleh kemurnian 96,9%. Selain itu, metode maserasi dari potongan-potongan kecil daun nila segar juga telah dilakukan. Metode ini juga dinilai dapat meningkatkan kadar indigo. Selain metode, kondisi tanaman juga mempengaruhi aktivitas oksidasi dari enzim  $\beta$ -glukosidase dan akan menurun jika terkena panas dan kekeringan (Chanayath, Lhieochaiphant, & Phutrakul, 2002).

Senyawa kompleks atau biasa disebut kompleks koordinasi adalah senyawa yang mengandung ion logam yang dikelilingi oleh ligan dengan ikatan koordinasi. Senyawa kompleks dapat berupa molekul netral, kation kompleks, maupun anion kompleks. Indigo merupakan senyawa yang berpotensi sebagai ligan karena memiliki gugus C=O dan N-H. Keberadaan gugus ini memberikan peluang pembentukan ikatan kovalen koordinasi dengan logam-logam transisi, termasuk Nikel.

Senyawa kompleks Indigo masih sangat jarang dilaporkan, terutama untuk digunakan pada devais elektronik seperti sensor, organic *light emitting diode* (OLED), dan *dye sensitized solar cells* (DSSCs, sel surya tersensitasi zat warna). Maka, dalam penelitian ini dikaji ekstraksi indigo dari tanaman dan turunan senyawa kompleksnya dengan ion logam  $Ni^{2+}$ .

## METODE

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi alat neraca analitik dan alat-alat gelas, *spektrofotometer UV-Vis* (*Spectroquant pharo 300*), *Spektrometer Fourier Transform Infrared* (*Spektrum 100-Perkin Elmer*), PanAlytics XRD. Sedangkan bahan yang digunakan untuk karakterisasi diantaranya aquades, kloroform 99,5% (Merck), *n-hexane* 95% (Merck), metanol 99,5% (Merck),  $NiCl_2 \cdot 5H_2O$  (Merck) dan KCl (Sigma-Aldrich), PET-ITO (Polietilen terftalat-indium tin oxide).

Ekstraksi zat warna dilakukan dengan memotong-motong daun kemudian merendam dalam air selama 48 jam. Selanjutnya larutan ekstrak dipisahkan dari bahan padat untuk

kemudian diatur pH nya dengan penambahan  $Ca(OH)_2$  sampai pH=11. Larutan tersebut diaerasi selama 15 menit. Langkah selanjutnya adalah mendinginkan selama semalam selanjutnya mengambil endapan dan mengeringkan sampai masa konstan, pada suhu  $100^\circ C$  (Chanayath et al., 2002).

Pemisahan awal dilakukan dengan kromatografi lapis tipis dengan variasi pelarut dari kloroform, n-heksana, dan metanol. Selanjutnya digunakan kolom silika untuk pemisahan.

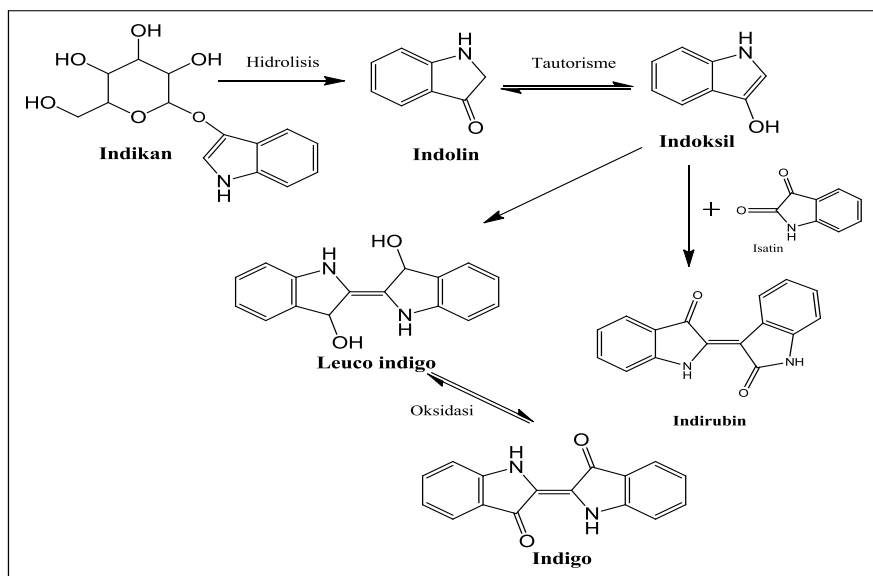
Fraksi pertama digunakan untuk perlakuan selanjutnya. Metalasi Ni-indigo dengan perbandingan pada fraksi mol. Metalasi dilakukan dengan cara mencampurkan logam yang diperoleh dari melarutkan  $NiCl_2 \cdot 5H_2O$  dan ekstrak dari *Strobilanthes cusia*. Larutan indigo dibuat dengan konsentrasi  $10^{-4}$  M dalam pelarut kloroform. Campuran kemudian didiamkan selama 1 malam untuk kemudian dilakukan pengukuran dan karakterisasi

Indigo dan Ni-Indigo kemudian dideposisikan pada substrat ITO dengan metode doctor-blade. Kemudian diukur arusnya dalam sel elektrokimia dengan elektroda pembanding Ag/AgCl dan elektroda *counter Pt*. Elektrolit yang digunakan adalah KCl 1M dengan penyinaran lampu UV 10 watt. Dilakukan pengukuran linier sweep voltammetry pada rentang 0-0.65 V dengan scan rate  $10\text{ mVcm}^{-1}$ .

## HASIL DAN PEMBAHASAN

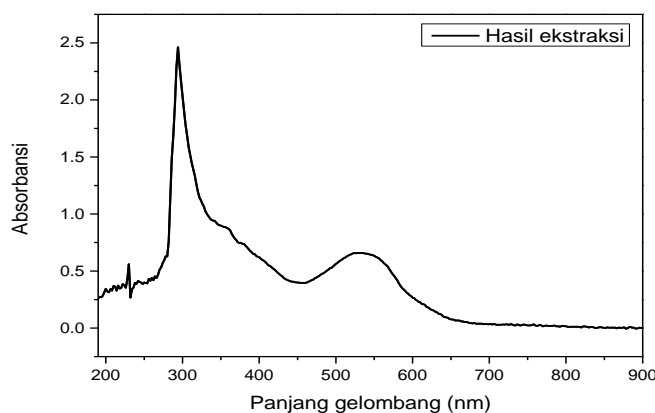
### Ekstraksi dan Pemurnian

Indigo tidak dapat diperoleh langsung dari tanaman, akan tetapi harus melalui beberapa tahap sampai akhirnya terbentuk pewarna biru indigo. Senyawa yang terkandung dalam tanaman *Strobilanthes cusia* sebelum terbentuk indigo adalah glukosa indoksil. Pertama glukosa indoksil dihidrolisis oleh enzim  $\beta$ -glukosidase yang dihasilkan dari perendaman daun dalam air. Perendaman dilakukan selama dua hari, hal ini dikarenakan dalam waktu tiga proses hidrolisis dapat berjalan dengan optimal (Chanayath et al., 2002). Indigo merupakan pewarna yang tidak larut dalam air. Penambahan larutan  $Ca(OH)_2$  sampai pH 11 dilakukan agar proses oksidasi basa yang menjadikan indigo sebagai leuco indigo. Proses ini terjadi sebelum terbentuknya indigo sehingga dapat larut dalam air dan terjadi sebelum pewarnaan. Selanjutnya leuco indigo di oksidasi oleh air dan terbentuk pewarna indigo (Sharma & Chandraprabha, 2016). Reaksi yang terjadi dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Mekanisme pembentukan Indigo dari tanaman *Strobilanthes cusia*.

Sebelum pemurnian, serbuk indigo diperoleh sebanyak 50 gram dari 1 kg daun segar. Spektrum absorbansi UV-Vis dari ekstrak ini dalam pelarut kloroform ditunjukkan pada Gambar 2. Spektrum tersebut menunjukkan adanya absorbansi pada panjang gelombang 294 nm dan 534 nm. Absorbansi pada 294 nm menunjukkan adanya transisi elektronik dari  $\pi \rightarrow \pi^*$ . Sedangkan pada panjang gelombang 534 nm menunjukkan adanya transisi elektronik dari  $n \rightarrow \pi^*$  yang mengindikasikan keberadaan gugus ikatan C=C terkonjugasi. Hal ini mengonfirmasi keberadaan indigo dalam sample. Puncak panjang gelombang 500 nm memiliki puncak yang lebar, hal ini dikarenakan dalam ekstrak tumbuhan *Strobilanthes cusia* masih terdapat dua zat warna yaitu indigo dan indirubin (Chanayath et al., 2002).



Gambar 2. Spektrum ekstrak *Strobilanthes cusia* dalam pelarut kloroform

Zat warna yang dihasilkan masih terdapat warna campuran antara warna biru indigo dengan warna merah indirubin (Laitonjam & Sujata, 2011). Oleh karena itu, perlu dilakukan pemurnian. Pemurnian zat warna indigo yang diperoleh dari tanaman *Strobilanthes cusia* dilakukan dengan metode kromatografi kolom.

Berdasarkan hasil kromatografi lapis tipis dihasilkan pemisahan yang lebih baik setelah dilakukan variasi pelarut. Terlihat adanya pemisahan antara warna biru dan merah dengan jarak yg lebih jauh. Akan tetapi dari setiap variasi masih tertinggal sisa dari penotolan. Hal ini dapat mengganggu dalam proses pemisahan nantinya. Kemudian dilakukan variasi yang terakhir yaitu dengan menambahkan metanol

dalam campuran. Menurut beberapa penelitian indirubin dapat larut dalam metanol (Chanayath et al., 2002). Campuran antara kloroform:n-heksana:metanol dengan perbandingan 8:5:0,5. Kromatogram yang menunjukkan pemisahan antara indigo dengan indirubin yang baik, hal ini dapat dilihat pada Gambar 3. Nilai dari  $R_f$  untuk campuran terakhir yaitu indigo 0,2 dan indirubin 0,428.

Pemisahan yang terjadi antara indigo dan indirubin masih bersisa zat pewarna pada bekas totolan. Hal ini dapat mengganggu dalam melakukan kolom kromatografi dikarenakan pemisahan masih bisa terus berlanjut apabila zat warna indigo yang memiliki  $R_f$  lebih besar bisa bercampur dengan indirubin yang memiliki

Rf lebih kecil. Oleh sebab itu tidak dilakukan kolom kromatografi dalam jumlah yang banyak (Gambar 4). Zat yang bersisa dalam kolom dimungkinkan berasal dari penambahan  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  dalam tahap fermentasi.



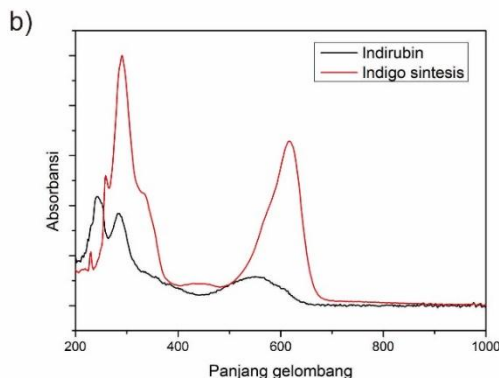
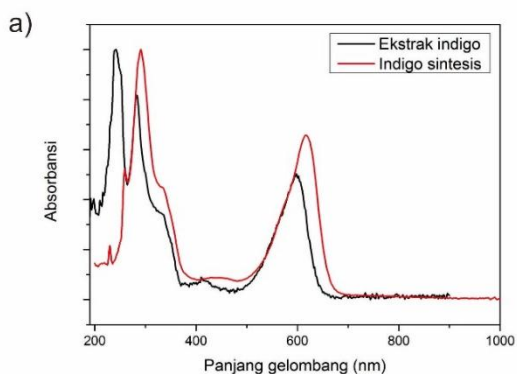
Gambar 3. Kromatogram dari ekstrak *Strobilanthes cusia* dengan perbandingan kloroform:n-heksana:metanol (8:5:0,5).

Hasil dari kromatografi kolom menunjukkan bahwa untuk 1 kg daun *Strobilanthes cusia* menghasilkan 195 mg pewarna indigo dan 89 mg indirubin. Sampel

hasil pemisahan selanjutnya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Spektrum yang dihasilkan dari indigo murni dibandingkan dengan indigo sintesis, dan didapatkan adanya persamaan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 600 nm. Adanya sedikit pergeseran dipengaruhi oleh penggunaan pelarut yang berbeda. Spektrum dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 4. Kromatogram kolom dari ekstrak *Strobilanthes cusia* dengan perbandingan kloroform:n-heksana:metanol (8:4,5:0,5).



Gambar 5. Spektrum ekstrak *Strobilanthes cusia* a) zat warna indigo, b) indirubin.

Sedangkan zat warna indirubin murni didapat spektra yang berbeda, hal ini terkonfirmasi bahwa dalam ekstrak *Strobilanthes cusia* memiliki campuran warna antara indirubin dengan indigo. Pada spektrum indirubin panjang adanya serapan pada panjang gelombang 500 nm menunjukkan adanya transisi dari  $\pi \rightarrow \pi^*$ . Berdasarkan spektrum pada Gambar 6 terlihat adanya sedikit perbedaan antara zat warna indigo dengan indirubin. Absorbansi maksimum untuk sampel indigo ada pada panjang gelombang 600 nm dan 294 nm. Pada panjang gelombang 600 nm menunjukkan adanya transisi elektronik dari  $n \rightarrow \pi^*$ , dan pada panjang gelombang 294 nm termasuk dalam transisi elektronik dari  $\pi \rightarrow \pi^*$ . Selain itu transisi  $\pi \rightarrow \pi^*$  juga menunjukkan adanya struktur aromatik pada ligan indigo (Blackburn, Bechtold, & John, 2009).

Selanjutnya analisis dilakukan menggunakan FTIR, data pengukuran FTIR ada pada Gambar 6. Terlihat adanya puncak pada bilangan gelombang  $3384 \text{ cm}^{-1}$  dan  $3278 \text{ cm}^{-1}$ , dari puncak terlihat seperti adanya dua

puncak yang bergabung menjadi satu. Pada bilangan gelombang tersebut terkonfirmasi merupakan vibrasi dari ikatan N-H dan O-H. Vibrasi N-H merupakan gugus fungsi yang berasal dari zat warna indigo dan indirubin, akan tetapi munculnya puncak pada bilangan  $3384 \text{ cm}^{-1}$  diduga kuat merupakan dari ikatan O-H dari  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . Selain itu munculnya puncak pada bilangan gelombang  $1798 \text{ cm}^{-1}$  merupakan vibrasi dari ikatan C=O. Puncak pada bilangan gelombang  $1627 \text{ cm}^{-1}$  merupakan vibrasi dari ikatan C-N, dan puncak pada bilangan gelombang  $1400 \text{ cm}^{-1}$  terkonfirmasi untuk ikatan C=C. Adapun munculnya puncak pada bilangan gelombang di bawah  $1000 \text{ cm}^{-1}$  merupakan identitas dari ikatan benzena (Wahyuningsih et al., 2017) (Comlekcioglu, Efe, & Karaman, 2015) (Rajan & Cindrella, 2018).

#### Pembentukan Kompleks Ni-Indigo

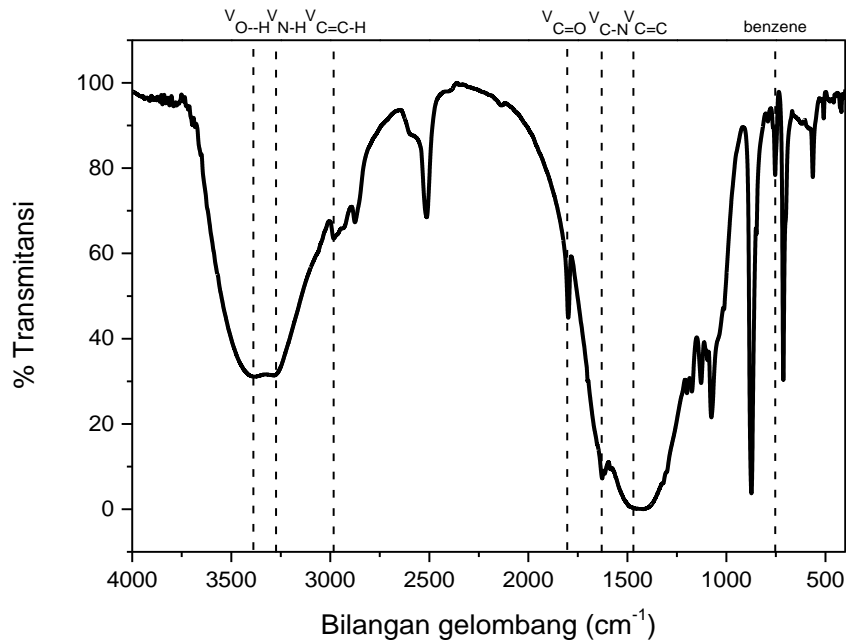
Senyawa hasil sintesis ditentukan komposisi kompleksnya dengan menggunakan metode JOB dan analisa kualitatif identifikasi anion. Senyawa hasil sintesis ditentukan

komposisi kompleksnya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Larutan kompleks  $\text{NiCl}_2 \cdot 10^{-4} \text{ M}$  direaksikan dengan larutan indigo dengan konsentrasi yang sama dan volume berbeda.

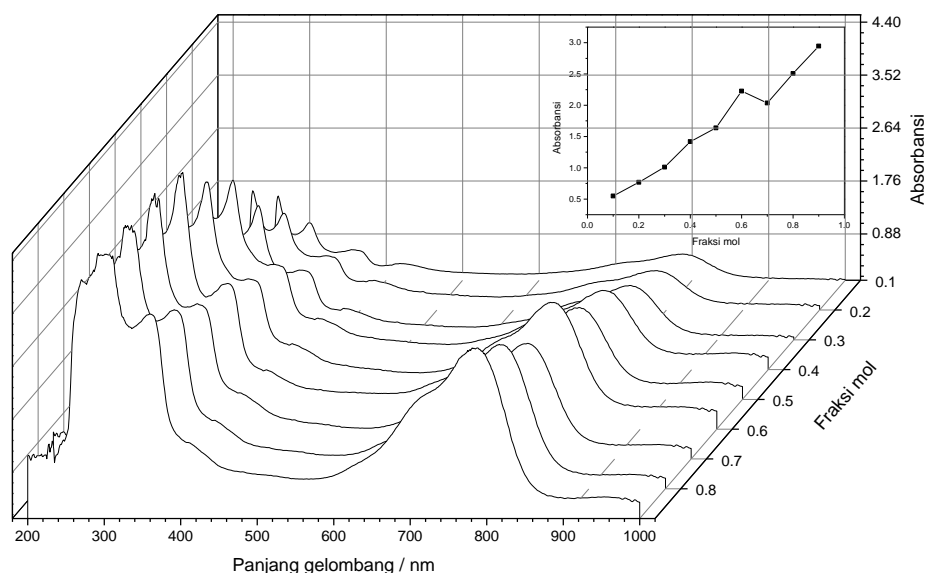
Sintesis dengan pewarna alami dilakukan menggunakan metode JOB dan didapat perbandingan yang menunjukkan bahwa ion  $\text{Ni}^{2+}$  dapat berikatan dengan indigo. Berdasarkan Gambar 7, puncak baru muncul pada panjang gelombang 800 nm. Hal ini menunjukkan adanya pembentukan senyawa kompleks antara logam dengan ligan indigo. Panjang gelombang yang absorbansinya mencapai absorbansi tertinggi ini yang disebut dengan panjang gelombang maksimum. Besarnya absorbansi pada sampel tidak selalu meningkat tetapi mengalami kenaikan hingga absorbansi optimal kemudian mengalami penurunan, hal ini diakibatkan karena reaksi yang terjadi pada campuran sudah melampaui kesetimbangan. Dapat pula diketahui bahwa semakin besar fraksi mol indigo, maka absorbansinya pada panjang gelombang yang sama juga semakin besar. Akan tetapi pada fraksi mol tertentu, absorbansinya menurun.

Dari hasil perhitungan nilai Y, didapatkan nilai Y maks sebesar 2,22 pada fraksi mol (X) 0,6. Sehingga dapat diketahui nilai X maks sebesar 0,6 dan dengan menggunakan persamaan  $n = \frac{x}{1-x}$ , diperoleh besarnya  $n = 3/2$ .

Sehingga dapat disimpulkan bahwa pada percobaan ini, komposisi ligan indigo yang terikat dalam kompleks yang terbentuk adalah sebanyak 2 buah ligan. Sehingga rumus senyawa dari kompleks Ni-indigo yang terbentuk adalah  $[\text{Ni}(\text{Indigo})_2\text{Cl}_2]$ . Keberadaan Cl- dikonfirmasi sebagai inner-sphere ligand karena tidak membentuk endapan putih dalam penambahan  $\text{AgNO}_3 \cdot 0,1\text{M}$ .

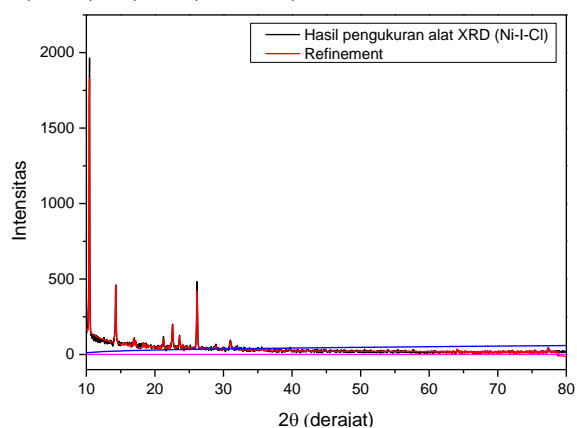


Gambar 6. Spektrum IR untuk ekstrak indigo dari *Strobilanthes cusia*.



Gambar 7. Spektrum merode JOB dalam penentuan perbandingan antara logam Ni dengan ligan indigo pada konsentrasi  $10^{-4}$  M (DMSO).

Gambar 9 menunjukkan pola difraksi sinar X (XRD) serbuk Ni-Indigo. Berdasarkan pengukuran XRD untuk senyawa Ni-Indigo dilakukan metode *Retrield Refinement* dengan space group *P 1* dan dihasilkan parameter unit sel yaitu  $a = 13,3926 \text{ \AA}$ ,  $b = 13,5971 \text{ \AA}$ ,  $c = 13,7759 \text{ \AA}$ ,  $\alpha = 65,8069^\circ$ ,  $\beta = 62,8155^\circ$ ,  $\gamma = 77,5115^\circ$ ,  $V = 2034,2028 \text{ \AA}^3$ ,  $Z = 2$ . Adapun intensitas tertinggi pada derajat  $10,459^\circ$ , selain itu ada puncak yang memiliki intensitas sedang sampai rendah  $14,286^\circ$ ;  $26,134^\circ$ ;  $22,541^\circ$ ;  $23,611^\circ$ ;  $21,238^\circ$ ; dan  $31,0311^\circ$ .

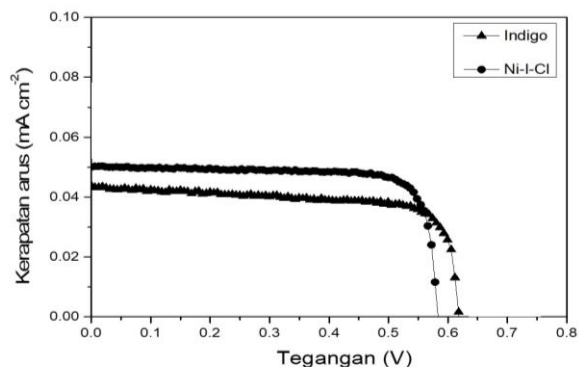


Gambar 8. Pola difraksi sinar-X serbuk Ni-Indigo

### Pengujian fotoaktivitas

Senyawa Ni-Indigo berpotensi sebagai zat warna pada solar sel tersensitasi zat warna. Pada penelitian ini *photocurrent* dari indigo dan Ni-indigo di ukur pada penyinaran lampu Xenon 10 watt. Hasil pengukuran arus dapat dilihat pada Gambar 9. *Photocurrent* merupakan arus yang dihasilkan akibat transisi elektronik pada senyawa foto-elektroaktif seperti indigo. *Open circuit potential* sebesar  $41 \text{ uAcm}^{-1}$  untuk indigo dan  $52 \text{ uAcm}^{-1}$  untuk Ni-Indigo. Sebelum

dimetalasi, arus cenderung menurun seiring dengan naiknya potensial. Ion  $\text{Ni}^{2+}$  menstabilkan arus yang dihasilkan dengan mekanisme pembentukan kompleks. Sehingga transfer muatan dari zat warna ke substrat ITO berlangsung dengan baik.



Gambar 9. Rapat arus indigo dan Ni-Indigo pada penyinaran lampu Xenon 10 watt.

### KESIMPULAN

Pewarna indigo dapat diekstraksi dari tanaman *Strobilanthes cusia* dengan metode fermentasi. Untuk mendapatkan indigo dengan kemurnian yang baik diperlukan ekstraksi lanjut dengan pelarut yang digunakan untuk memisahkan zat warna antara indigo dan indirubin dan diperoleh perbandingan kloroform:n-heksana:metanol (8:5:0,5) dengan nilai *Rf* untuk campuran terakhir yaitu indigo 0,2 dan indirubin 0,428. Metalasi dengan logam Ni diperoleh fraksi mol terbaik yaitu 0,6 yaitu dengan absorbansi 2,22 dan perbandingan antara indigo:logam (3:2). Aktivitas *photocurrent* mengindikasikan bahwa baik Indigo maupun Ni-Indigo berpotensi sebagai pewarna pada solar sel berbasis semikonduktor.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi atas pendanaan riset dengan judul **Metalasi dan transmetalasi zat warna alam sebagai pemanen energi matahari pada sel surya tahun anggaran 2018-2019.**

## DAFTAR PUSTAKA

- Blackburn, R. S., Bechtold, T., & John, P. (2009). The development of indigo reduction methods and pre-reduced indigo products. *Coloration Technology*, 125(4), 193-207. doi:10.1111/j.1478-4408.2009.00197.x
- Chanayath, N., Lhieochaiphant, S., & Phutrakul, S. (2002). Pigment Extraction Techniques from the Leaves of *Indigofera tinctoria* Linn. and *Baphicacanthus cusia* Brem. and Chemical Structure Analysis of Their Major Components. *CMU Journal*, 1(2), 149.
- Comlekcioglu, N., Efe, L., & Karaman, S. (2015). Extraction of Indigo from Some *Isatis* species and Dyeing Standardization Using Low-technology Methods. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 58(1), 96-102. doi:10.1590/s1516-8913201502658
- Gang, W., Haijun, T., Yiping, Z., Yingying, W., Zhubin, H., Guipeng, Y., & Chunyue, P. (2014). Series of D- $\pi$ -A system based on isoindigo dyes for DSSC: Synthesis, electrochemical and photovoltaic properties. *Synthetic Metals*, 187, 17-23. doi:10.1016/j.synthmet.2013.09.039
- Gilbert, K. G., & David, C. T. (2001). Dyes from plants: Past usage, present understanding and potential. *Plant Growth Regulation*, 34, 57-69.
- Hou, H., & Liang, S. (2006). Determination of indirubin and indigo in *baphicacanthus cusia* (nees) bremek by HPLC. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 29(7), 681-682.
- Laitonjam, W., & Sujata, W. (2011). Comparative study of the major components of the indigo dye obtained from *Strobilanthes flaccidifolius* Nees. and *Indigofera tinctoria* Linn. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 3(7), 108-116.
- Liau, B. C., Jong, T. T., Lee, M. R., & Chen, S. S. (2007). LC-APCI-MS method for detection and analysis of tryptanthrin, indigo, and indirubin in daqingye and banlangen. *J Pharm Biomed Anal*, 43(1), 346-351. doi:10.1016/j.jpba.2006.06.029
- Pathak, H., & Madamwar, D. (2010). Biosynthesis of Indigo Dye by Newly Isolated Naphthalene-Degrading Strain *Pseudomonas* sp. HOB1 and its Application in Dyeing Cotton Fabric. *Appl Biochem Biotechnol*, 160, 1616-1626. doi:10.1007/s12010-009-8638-4
- Rajan, A. K., & Cindrella, L. (2018). Studies on new natural dye sensitizers from *Indigofera tinctoria* in dye-sensitized solar cells. *Optical Material*, 88, 39-47. doi:10.1016/j.optmat.2018.11.016
- Sharma, S., & Chandraprabha, M. N. (2016). Present Status of Plant Derived Indigo Dye - A REVIEW. *International Journal of Research in Engineering and Technology*, 05(17), 2321-7308.
- Wahyuningsih, S., Ramelan, A. H., Wardani, D. K., Aini, F. N., Sari, P. L., Tamtama, B. P. N., & Kristiawan, Y. R. (2017). Indigo Dye Derived from *Indigofera Tinctoria* as Natural Food Colorant. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 193, 012048. doi:10.1088/1757-899x/193/1/012048