

ANALISIS BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea*) DENGAN VARIASI Ph METODE LIQUID CHROMATOGRAPH-TANDEM MASS SPECTROMETRY (LC-MS/MS)

Sumartini, Yusep Ikrawan, Fauzan Miftah Muntaha.

Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Pasundan, Jl. Dr.Setiabudi No. 93, Bandung, 40153, Indonesia

E-mail: tinitafsil@yahoo.com

Abstrak

Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui pH optimum dan kandungan senyawa aktif pada bunga telang (*Clitoria ternatea*). Manfaat dari penelitian adalah untuk memberikan informasi kepada masyarakat luas mengenai kandungan bunga telang sehingga dapat di maksimalkan penggunaannya. Penelitian ini meliputi penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Pada penelitian pendahuluan dilakukan analisis aktivitas antioksidan pada ekstrak bunga telang kering dengan berbagai pH yaitu 4, 5 dan 6 untuk menentukan aktivitas antioksidan terkuat. Pada penelitian utama digunakan instrument LC-MS/MS untuk mengetahui kandungan senyawa apa yang ada dalam ekstrak bunga telang. Hasil penelitian pendahuluan yaitu aktivitas antioksidan terkuat pada ekstrak bunga telang kering pH 6 dengan aktivitas antioksidan sebesar 344,17 ppm. Hasil penelitian utama ekstrak bunga telang memiliki 12 antosianin 18 flavonol dan 11 flavon.

Abstract

The purpose of this research is to find out the optimum pH and content of active compounds in the butterfly pea (*Clitoria ternatea*). The benefit of this research is to provide information to the general public about the contents of the telang flower so that its use can be maximized. This research includes preliminary research and main research. In the preliminary study an antioxidant activity analysis was carried out on dried butterfly pea flower extracts with various pH 4, 5 and 6 to determine the strongest antioxidant activity. In the main research, LC-MS / MS instrument was used to find out what compounds are in the butterfly pea extract. Preliminary research results are the strongest antioxidant activity in dried butterfly pea extracts pH 6 with antioxidant activity of 344.17 ppm. The main research results of butterfly pea extract have 12 anthocyanin 18 flavonols and 11 flavones.

Keyword: Butterfly pea, HPLC, LC-MS/MS, pH, butterfly pea extract, antioxidant. Etanol, Flavonoid

1. Pendahuluan

Bunga telang (*Clitoria Terenatea*) adalah bunga yang mengandung tinggi antioksidan yang biasanya tumbuh di pekarangan rumah, hutan atau bahkan pinggiran kebun. Bunga telang yang tinggi antioksidan lebih dikenal oleh masyarakat sebagai tanaman obat, umumnya bunga telang dimanfaatkan sebagai obat mata, obat untuk menghilangkan dahak pada bronkitis kronis, menurunkan demam, serta iritasi kandungan kemih dan saluran kencing. (Suarna, 2005)

Bunga telang di Indonesia biasanya digunakan sebagai pewarna makanan atau juga merebus bunga secara langsung untuk dijadikan obat herbal sehingga belum populer di kalangan masyarakat untuk dijadikan produk lebih lanjut. Hingga saat ini penelitian untuk pengembangan bunga telang belum banyak dilakukan karena banyak yang belum mengetahui manfaat dari bunga telang. Pemanfaatan bunga telang dalam bidang pangan telah dilakukan di beberapa negara. Warna biru dari bunga telang telah dimanfaatkan sebagai pewarna biru pada ketan di Malaysia. Bunga telang juga dimakan sebagai sayuran di Kerala (India) dan di Filipina (Lee, 2011).

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif yang membentuk radikal bebas tidak reaktif yang tidak stabil. Antioksidan merupakan semua bahan yang dapat menunda atau mencegah kerusakan akibat oksidasi pada molekul sasaran. Dalam pengertian kimia antioksidan adalah senyawa-senyawa pemberi elektron, tetapi dalam pengertian biologis lebih luas lagi, yaitu semua senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan, termasuk enzim-enzim dan protein-protein pengikat logam. Beberapa penelitian juga mengungkapkan peran dari stress oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas dalam berbagai penyakit yang berbahaya, seperti penyakit kanker, penyakit yang berhubungan dengan kardiovaskular, dan penyakit degeneratif. Penelitian-penelitian tersebut juga menyampaikan bahwa antioksidan memiliki nilai terapeutik pada penyakit-penyakit tersebut (Barhe dan Tchouya, 2014).

Antioksidan dapat diperoleh dalam bentuk sintesis dan alami. Antioksidan sintesis seperti butylatedhydroxytoluene (BHT), butylated hidroksianisol (BHA), dan ters-butylhydroquinone (TBHQ) secara efektif dapat menghambat oksidasi. Antioksidan sintesis bersifat karsinogenik dalam

jangka tertentu dapat menyebabkan racun dalam tubuh, sehingga dibutuhkan antioksidan alami yang lebih aman. Antioksidan alami dapat ditemukan pada sayur-sayuran yang mengandung fitokimia, seperti flavonoid, isoflavin, flavon, antosianin, dan vitamin C.

Radikal bebas terbentuk dalam tubuh secara terus menerus, baik melalui proses metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan gizi, serta akibat respons terhadap pengaruh dari luar tubuh, seperti polusi lingkungan, ultraviolet (UV), dan asap rokok. Pembentukan radikal bebas secara alami terjadi di dalam tubuh, yang merupakan hasil samping dari proses metabolisme tubuh.

Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang mempunyai elektron tidak berpasangan. Elektron tidak berpasangan tersebut menyebabkan radikal bebas sangat reaktif yang kemudian akan menangkap atau mengambil elektron dari senyawa lain seperti protein, lipid, karbohidrat, dan DNA untuk menetralkan diri. Radikal bebas dapat masuk ke dalam tubuh dan menyerang sel-sel yang sehat dan menyebabkan sel-sel tersebut kehilangan fungsi dan strukturnya. Akumulasi dari kerusakan tersebut berkontribusi terhadap beberapa penyakit dan menyebabkan kondisi yang biasa disebut sebagai penuaan dini (Liochev, 2013).

Metode untuk menganalisa antioksidan adalah HPLC merupakan teknik pemisahan yang diterima secara luas untuk analisis dan pemurnian senyawa tertentu dalam suatu sampel (Gandjar dan Rohman, 2007). HPLC memiliki kemajuan dalam teknologi kolom, sistem pompa tekanan tinggi, dan detektor yang sensitif sehingga HPLC menjadi suatu sistem pemisahan dengan kecepatan dan efisiensi yang tinggi (Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan RI, 1995). Metode HPLC bersifat selektif dan sensitif sehingga cocok digunakan dalam analisis kuantitatif beberapa senyawa secara simultan. Kelebihan metode HPLC inilah yang dimanfaatkan oleh peneliti untuk memisahkan antioksidan dari senyawa-senyawa lainnya dalam bunga telang (Khopkar, 1990).

2. Bahan dan Metode Penelitian

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga telang berumur 4-6 minggu yang diperoleh dari daerah Jogjakarta, etanol, dan asam sitrat

Bahan kimia yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan yaitu 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH).

Alat yang digunakan untuk ekstraksi bunga telang adalah Timbangan digital dengan merk Mettler Toledo, baskom, gelas kimia 500ml, gelas ukur 100ml, corong, kertas saring, kertas karbon, *vacuum evaporator* dengan merk Buchi, spektrofotometer Uv-Visible dengan merk Genesis 20, dan *Liquid Chromatograph-tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)*.

Penelitian pendahuluan yang dilakukan yaitu mengetahui hasil ekstraksi bunga telang kering dengan hanya menggunakan pelarut etanol. Lama ekstraksi yang akan dilakukan yaitu dengan lama waktu 24 jam dengan variasi pH 4, 5 dan 6. Respon pada penelitian pendahuluan adalah analisis aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.

Penelitian utama yaitu meliputi pembuatan ekstrak bunga telang dan untuk mengetahui senyawa aktif dalam bunga telang menggunakan instrumen LC-MS/MS.

3. Hasil dan Pembahasan

Penelitian pendahuluan yang dilakukan yaitu mengetahui hasil ekstraksi bunga telang kering dengan hanya menggunakan pelarut etanol. Respon pada penelitian pendahuluan adalah analisis aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.

Tabel 1. Data Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Telang pH 4

Konsentrasi (ppm)	Rata-Rata Nilai Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
0	0.790	0	106,863
100	0.715	9.494	
200	0.587	25.696	
300	0.488	38.225	
400	0.389	50.759	

Tabel 2. Data Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Telang pH 5

Konsentrasi (ppm)	Rata-Rata Nilai Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
0	0.792	0	94.104
100	0.705	10.985	
200	0.572	27.778	
300	0.473	40.278	
400	0.366	53.788	

Tabel 2. Data Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Telang pH 6

Konsentrasi (ppm)	Rata-Rata Nilai Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
0	0.802	0	64,477
100	0.695	13.342	
200	0.561	30.050	
300	0.451	43.766	
400	0.340	57.606	

Berdasarkan data hasil analisis aktivitas antioksidan, diperoleh nilai IC₅₀ pada ekstrak bunga telang kering pH 4 yaitu 392.77 ppm, nilai IC₅₀ ekstrak bunga telang kering pH 5 yaitu 370.87 ppm dan nilai IC₅₀ pada ekstrak bunga telang kering pH 6 yaitu 344.13 ppm. Nilai IC₅₀ menunjukkan konsentrasi larutan sampel yang mampu mereduksi

aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} semakin tinggi aktivitas antioksidan sampel tersebut (Wirani, 2017). Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH dapat dilihat pada tabel 15.

Tabel 3. Tingkat Kekuatan Antioksidan dengan Metode DPPH

Nilai IC_{50} (ppm)	Tingkat Aktivitas Antioksidan
151-200	Lemah
100-150	Sedang
50-100	Kuat
<50	Sangat Kuat

Sumber : Blois, 1958 dalam Mohamad Hasan Furqon, 2016

Hasil analisis aktivitas antioksidan ekstrak bunga telang kering pH 4 menurut tabel 1. menunjukkan aktivitas yang sangat lemah dengan rentan nilai $IC_{50} >200$ ppm. Hal ini disebabkan karena kadar air pada bunga masih tinggi. Kadar air yang cukup tinggi pada suatu bahan menyebabkan senyawa antioksidan yang terdapat pada bahan akan semakin sedikit nilainya karena kandungan air lebih banyak dari pada kandungan senyawa antioksidan. Aktivitas antioksidan akan semakin kuat apabila kandungan air bahan dikurangi (Rakhmawati dalam Wirani, 2017). Kadar air yang tinggi juga dapat menyebabkan senyawa flavonoid teroksidasi sehingga menurunkan aktivitas antioksidan.

Penyebab lain rendahnya aktivitas antioksidan pada daun segar yaitu karena flavonoid yang terkandung dalam bahan segar masih berikatan dengan gugus glikosida. Gugus glikosida yang berikatan dengan flavonoid dapat menurunkan aktivitas antioksidan (Tiaraswara, 2015). Menurut Harbone (1996) flavonoid dalam tumbuhan sering terdapat sebagai glikosida (flavonoid glikosida) dan jarang sekali ditemukan dalam bentuk tunggal atau aglikol flavonoid.

Menurut fukumoto dan Mazza (2000) dalam Tiaraswara (2015) aktivitas antioksidan akan meningkat dengan bertambahnya gugus hidroksi dan menurun dengan adanya gugus glikosida.

Hasil analisis aktivitas antioksidan ekstrak daun bunga telang pH 6 tabel 3. Menunjukkan aktivitas yang kuat dibandingkan dengan pH lainnya dengan nilai yaitu 344.13 ppm. Hal ini disebabkan karena antioksidan pada bunga telang maksimal pada pH 6-8 yang menyebabkan warna menjadi biru. Salah satu faktor yang mempengaruhi warna dari antosianin adalah perubahan pH. Sifat asam akan menyebabkan warna antosianin menjadi merah, sedangkan sifat basa menyebabkan antosianin menjadi biru. Selain faktor perubahan pH, konsentrasi pigmen, adanya campuran dengan senyawa-senyawa lain, jumlah gugus hidroksi dan metoksi juga mempengaruhi warna antosianin (Satyatama, 2008).

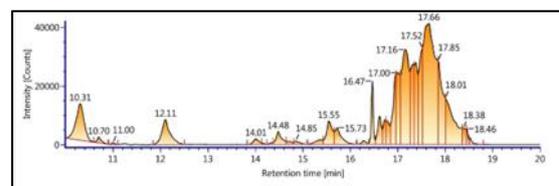
Menurut penelitian Muhamad Yamin (2017) penggunaan suhu 500 pada pengeringan teh herbal ketepeng cina menunjukkan kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang tinggi karena senyawa tersebut tahan terhadap panas, tetapi semakin lama pengeringan menyebabkan senyawa fenolik dan flavonoid berkurang karena semakin lama panas kontak dengan bahan yang menyebabkan senyawa fenolik dan flavonoid mengalami kerusakan dan dapat menurunkan aktivitas antioksidan.

Aktivitas antioksidan pada ekstrak bunga telang kering lebih rendah karena terjadi proses oksidasi enzimatis pada bunga.(Rohdiana, 2001).

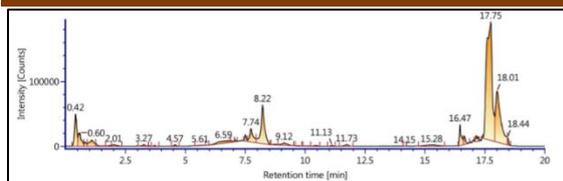
Proses pengeringan menyebabkan daun kontak dengan udara langsung yang menyebabkan senyawa antioksidan mengalami kerusakan. Selain penggunaan panas antioksidan juga akan mengalami kerusakan apabila kontak langsung dengan udara sehingga menyebabkan senyawa yang bersifat antioksidan teroksidasi dan terdegradasi sehingga menurunkan aktivitasnya (Burda dan Oleszek dalam Tiaraswara, 2015).

Perubahan warna dari merah melalui ungu ke biru adalah ciri dari antosianin yang mengandung gugus-gugus hidroksil bebas pada cincin B dan terletak bersebelahan seperti lazimnya ditemukan pada glikosida dari sianidin dan delphinidin. Oleh karena itu glikosida dari pelarginidin tidak memperlihatkan perubahan warna yang menyolok. Fenomena ini dapat digunakan untuk mengenal pola hidroksilasi dari cincin B dari molekul antosianin yang dipisahkan dari suatu jaringan tumbuhan. Antosianin atau antosianidin diuraikan oleh basa, dimana struktur flavilium putus pada atom oksigen dari cincin piroksinium, menghasilkan dua fragmen, yaitu floroglusinol dan turunan asam benzoat. Penguraian ini dapat dilakukan bila antosianin atau antosianidin dipanaskan dengan larutan barium hidroksida atau Natrium Hidroksida.

Antosianin atau antosianidin yang tidak mengandung gugus-gugus hidroksil bebas dan terikat bersebelahan, bereaksi dengan hidrogen peroksida menghasilkan turunan asam benzoat. Reaksi penguraian oleh hidrogen peroksida ini terjadi karena pemutusan ikatan antara C-2 dan atom C-3 dari cincin piroksinium.



Gambar 1. Grafik Kromatogram LC-MS/MS Ekstrak Bunga Telang Negatif



Gambar 2. Grafik Kromatogram LC-MS/MS Ekstrak Bunga Telang Positif

LC-MS/MS merupakan salah satu teknik analisis dengan resolusi tinggi dan dapat digunakan dalam analisis kuantitatif maupun analisis struktural sehingga dapat memberikan pendekatan yang sangat berguna dalam menentukan profil suatu metabolit. MZ mine mencakup semua tahapan pada tahap pemrosesan data awal kromatogram LC-MS/MS dan utamanya digunakan dalam tujuan metabolomik seperti pengidentifikasian suatu senyawa dalam suatu sampel (Katajama dan Oresic, 2005). MZ mine mengolah kromatogram LC-MS/MS menjadi bentuk mass array. Mass array adalah matriks data tiga dimensi yang mengandung informasi massa akurat dari puncak terdeteksi, waktu retensi, dan intensitas puncak (Tanaka et al. 2011).

Pendugaan identifikasi metabolit dilakukan dengan membandingkan nilai massa akurat puncak terdeteksi hasil mass array dengan nilai massa akurat senyawa pigmen yang terdapat pada Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (www.kegg.jp). Analisis LC-MS/MS dengan teknik ionisasi umumnya menghasilkan ion molekuler $[M+H]^+$ atau $[M+H]^-$ bergantung pada beberapa faktor seperti sifat kimia analat, polaritas tegangan ESI, sifat matriks, dan komposisi pelarut sehingga tidak mudah untuk memprediksi muatan ion yang dihasilkan dalam perlakuan (Halket, 2005)

Hasil identifikasi LC-MS/MS secara semi kuantitatif ekstrak metanol bunga telang menunjukkan adanya senyawa-senyawa aktif berupa pigmen dan non pigmen. Cairan pelarut yang digunakan yaitu metanol. Digunakan metanol karena efektif dalam proses ekstraksi dibandingkan dengan yang lain. Sebenarnya metanol ini bersifat toksik tapi karena tanaman tersebut dalam hal ini bunga telang tidak diketahui kandungan senyawanya maka digunakan metanol karena bersifat semi polar karena zat aktif yang akan diambil komponen kimianya belum diketahui sifat kepolarannya apakah polar ataukah non polar maka dengan itu digunakan metanol.

Efektif dalam hal ini bahwa ekstrak metanol mampu menarik komponen kimia pada zat aktif melalui prinsip ekstraksi yaitu difusi-osmosis atau osmosis-difusi. Dimana cairan penyari masuk dalam zat aktif pada suatu wadah yang diberikan tekanan dalam hal ini pengadukan maka cairan penyari kan berosmosis masuk kedalam sel pada zat aktif sehingga terjadi perbedaan konsentrasi didalam sel dan diluar sel, sehingga konsentrasi didalam sel lebih tinggi sehingga komponen kimianya terdesak keluar maka cairan penyari yang bersatu dengan zat

aktif akan keluar sehingga disini terjadi proses difusi (Syahrul, 2014).

Suatu tanaman dalam mempertahankan kelangsungan hidupnya selalu melakukan metabolisme primer. Hasil metabolisme primer ini berupa metabolit primer seperti karbohidrat, protein, lemak, vitamin dan mineral. Disamping adanya metabolisme primer, tanaman juga melakukan metabolisme sekunder yang mana metabolit primer sebagai prekursoranya. Metabolisme sekunder dilakukan tanaman dalam mempertahankan hidupnya dari serangan biotik dan abiotik disekitar tumbuhnya. Hasil metabolisme sekunder berupa metabolit sekunder seperti senyawa – senyawa fenol, penil propanoid, saponin, terpenoid, alkaloid, tanin, steroid dan flavonoid.

Flavonoid adalah senyawa yang terdiri dari 15 atom karbon yang umumnya tersebar di dunia tumbuhan. Lebih dari 2000 flavonoid yang berasal dari tumbuhan telah diidentifikasi, tetapi ada tiga kelompok yang umum dipelajari, yaitu antosianin, flavanol, dan flavon. Antosianin (dari bahasa Yunani anthos, bunga dan kyanos, biru-tua) adalah pigmen berwarna yang umumnya terdapat di bunga berwarna merah, ungu, dan biru. Pigmen ini juga terdapat di berbagai bagian tumbuhan lain misalnya, buah tertentu, batang, daun dan bahkan akar. Flavonoid sering terdapat di sel epidermis. Sebagian besar flavonoid tersimpan di vakuola sel tumbuhan walaupun tempat sintesisnya ada di luar vakuola. (Hahlbrock, 1981).

Flavon merupakan molekul dengan berat rendah fitokimia polifenol, berasal dari metabolisme sekunder tanaman. Flavona dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai kelas, yaitu: Flavanol (Quercetin, Kaempferol, Myricetin, Fisetin), Flavones (Luteolin, Apigenin), Flavanon (Hesperetin, Naringenin), Glikosida flavonoid (Astragalin, Rutin), Flavonoligans (Sibilinin), Flavans (Catechin, Epicatechin), Isoflavon (Genistein, Daidzein), Anthocyanidins (Cyanidin, Delphinidin), Aurones (Leptosidin, Aureusidin), Leucoanthocyanidis (Terasacidin), Neoflavonoids (Coutareagenin, Dalbergin). Semua kelas flavon merupakan pemeran dalam berbagai kegiatan biologis (Singh, 2014).

Quercetin adalah pigmen dari tumbuhan (flavonoid). Flavonoid adalah bahan kimia tertentu yang terdapat pada tanaman, yang disebut fitonutrien, dan memiliki berbagai manfaat untuk kesehatan. Quercetin adalah senyawa kelompok flavanol terbesar, quercetin dan glikosidanya berada dalam jumlah sekitar 60-75% dari flavonoid. Quercetin dipercaya dapat melindungi tubuh dari beberapa jenis penyakit degenerative dengan cara mencegah terjadinya proses peroksidasi lemak. Quercetin memperlihatkan kemampuan mencegah proses oksidasi dari Low Density Lipoproteins (LDL) dengan cara menangkap radikal bebas.

Quercetin paling sering dikonsumsi untuk mengobati kondisi jantung dan pembuluh darah dan mencegah kanker. Suplemen tersebut juga biasanya digunakan untuk mengatasi radang sendi, infeksi kandung kemih, dan diabetes. (Resi, 2009).

Kempferol suatu flavonoid golongan flavon, yang telah banyak diteliti memiliki potensi antioksidan dan proteksi selular. Senyawa ini juga telah banyak diteliti memiliki efek antiproliferasi pada berbagai tipe sel kanker antara lain; kanker paru, leukemia, esophangial, prostat, mulut, dan kanker kolon. Kaempferol terbukti mempunyai aktivitas antibakteri namun belum diketahui pasti bagaimana mekanismenya. Struktur kaempferol hampir mirip dengan quercetin sehingga dapat diasumsikan bahwa mekanisme hambatnya terhadap pertumbuhan bakteri sama dengan quercetin yaitu menghambat sintesis DNA (Lim et al., 2007).

Secara kimia antosianin merupakan turunan struktur aromatik tunggal, yaitu sianidin, dan semuanya terbentuk dari pigmen sianidin dengan penambahan atau pengurangan gugus hidroksil, metilasi dan glikosilasi (Harborne 2005). Antosianin adalah senyawa yang bersifat amfoter, yaitu memiliki kemampuan untuk bereaksi baik dengan asam maupun dengan basa. Dalam media asam antosianin berwarna merah, dan pada media basa berubah menjadi ungu dan biru (Man 1997).

Menthoside. termasuk family Labiatae yang memiliki kandungan bahan aktif, aroma yang khas. Mentoside dalam penelitian menyatakan bahwa *Mentha spp* memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan untuk penghambatan radikal bebas.

Luteolin adalah flavon, sejenis flavonoid, dengan penampilan kristal berwarna kuning. Luteolin adalah senyawa pewarna kuning utama yang diperoleh dari tanaman *Reseda luteola*, yang telah digunakan sebagai sumber pewarna dan juga sebagai antiinflamasi (Murray R, 2009)

Antosianidin termasuk jenis flavonoid yang utama yang banyak ditemukan di alam dalam bentuk 3 atau 3,5 - glikosida disebut antosianin. Antosianin adalah senyawa- senyawa yang berperan dalam memberikan warna merah, ungu, dan biru pada kelopak bunga dan buah. Sianin adalah bentuk antosianin dan antosianidin terurai. (Parwata, 2016) Gambar 16. Kromatogram Senyawa Isohyperoside Isohyperoside adalah flavonoid, sejenis senyawa kimia. Ini adalah kuersetin 3-O-glukosida . Isoquercetin dapat diisolasi dari berbagai jenis tumbuhan termasuk *Mangifera indica* (mangga) Isoquercetin juga merupakan antioksidan yang sangat baik dan juga berfungsi untuk menurunkan tekanan darah . (Arifin, 2018)

Isoharmnetin termasuk jenis flavonol. Isoharmnetin dapat melindungi sel CaCo-2 yang terdapat pada saluran pencernaan dari oksidasi rantai ganda DNA dan bersifat antioksidan. Aglikon

flavonol utama yang diproduksi oleh tanaman adalah quercetin, myricetin, kaempferol dan isorhamnetin. Sementara sejumlah lebih terbatas buah-buahan dan sayur-sayuran mengandung flavon struktural terkait apigenin dan luteolin. Dalam jaringan tanaman, flavonol dan flavon ditemukan konjugasi gula, terutama glukosa, rhamnosa dan rutinose (Hollman, 1998).

Nevadensin merupakan beberapa jenis flavonoid. Flavonoid memiliki efek menghambat ACE (Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor) sehingga angiotensin I tidak diubah menjadi angiotensin II. Hal ini membuat pembuluh darah tidak mengalami vasokonstriksi namun justru vasodilatasi, tahanan perifer total menurun. Juga menimbulkan berkurangnya sekresi hormon aldosteron dan ADH (Anti Diuretic Hormone) yang menyebabkan peningkatan ekskresi air dan garam. Keadaan-keadaan tersebut akan menurunkan tekanan darah. Guyton & Hall, 2017)

Schaftoside berfungsi sebagai penghambat makan atau bersifat toksik langsung terhadap serangga. Senyawa ini menjadi faktor penting bagi ketahanan suatu varietas (Iswanto, 2016)

Methoxydaidzein adalah senyawa alami yang ditemukan secara eksklusif dalam kacang kedelai dan kacang-kacangan lainnya dan secara struktural termasuk dalam kelas senyawa yang dikenal sebagai isoflavon . Daidzein dan isoflavon lainnya diproduksi di tanaman melalui jalur fenilpropanoid dari metabolisme sekunder dan digunakan sebagai pembawa sinyal, dan respons pertahanan terhadap serangan patogen. Pada manusia, penelitian terbaru menunjukkan kemampuan menggunakan daidzein dalam pengobatan untuk meredakan menopause, osteoporosis, kolesterol darah, dan menurunkan risiko beberapa kanker terkait hormon, dan penyakit jantung. (Jung, 1999)

Apigenin adalah komponen flavonoid pada seledri yang utama, dan ianya adalah termasuk ke dalam golongan flavon. Ketika dalam tubuh, apiin iaitu glikosida flavonoid, asam lambung dapat menghidrolisis senyawa ini menjadi gula dan aglikon apigenin. Dari proses hidrolisis apiin, apigenin telah terbentuk, dan proses ini dibantu oleh asam lambung (HCl) (Soedibyo, 1998).

Robinetin antioksidan adalah komponen flavonoid memiliki potensi antioksidan dan proteksi selular. Kaempferol terbukti mempunyai aktivitas antibakteri namun belum diketahui pasti bagaimana mekanismenya. Struktur kaempferol hampir mirip dengan quercetin sehingga dapat diasumsikan bahwa mekanisme hambatnya terhadap pertumbuhan bakteri sama dengan quercetin yaitu menghambat sintesis DNA

Adenosin merupakan nukleosida purin yang terbentuk dari pemecahan adenosin trifosfat (ATP). ATP merupakan sumber energi utama dari sel untuk sistem transpor dan banyak enzim. Kebanyakan ATP diubah menjadi ADP, yang akan dihidrolisis

lebih jauh menjadi AMP. Banyak ADP dan AMP di refosforilasi dalam mitokondria dengan menggunakan enzim dengan bantuan oksigen. Jika banyak ATP yang dihidrolisis dan tidak terlalu banyak oksigen, maka beberapa AMP akan diubah menjadi adenosin menggunakan enzim.

Trigonelline merupakan hormon tanaman yang memiliki sifat antara lain anti kanker, anti migrain, antiseptik, hipokolesterolemik, hipoglikemik dan antipiretik (Martin et al, 1997).

Cairan pelarut yang digunakan yaitu metanol. Digunakan metanol karena efektif dalam proses ekstraksi dibandingkan dengan yang lain. Sebenarnya metanol ini bersifat toksik tapi karena tanaman tersebut dalam hal ini bunga telang tidak diketahui kandungan senyawanya maka digunakan metanol karena bersifat semi polar karena zat aktif yang akan diambil komponen kimianya belum diketahui sifat kepolarannya apakah polar ataukah non polar maka dengan itu digunakan metanol.

Efektif dalam hal ini bahwa ekstrak metanol mampu menarik komponen kimia pada zat aktif melalui prinsip ekstraksi yaitu difusi-osmosis atau osmosis-difusi. Dimana cairan penyari masukkan dalam zat aktif pada suatu wadah yang diberikan tekanan dalam hal ini pengadukan maka cairan penyari kan berosmosis masuk kedalam sel pada zat aktif sehingga terjadi perbedaan konsentrasi didalam sel dan diluar sel, sehingga konsentrasi didalam sel lebih tinggi sehingga komponen kimianya terdesak keluar maka cairan penyari yang bersatu dengan zat aktif akan keluar sehingga disini terjadi proses difusi.

Dasar-dasar dan syarat-syarat pemilihan cairan penyari yaitu ada beberapa factor yang harus diperhatikan yaitu jenis senyawa yang akan ditarik atau kandungan kimia pada zat aktif dan cairan penyari yang digunakan (pelarut yang digunakan) dalam hal ini tingkat kepolarannya. Tidak toksik, murah, mudah terbakar, ramah lingkungan mudah didapat.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut.

1. Hasil penelitian pendahuluan pada ekstrak kering bunga telang pada pH 4 menggunakan metanol dengan hasil analisis aktivitas antioksidan yaitu 392.91 ppm. Ekstrak kering bunga telang pada pH 5 dengan aktivitas antioksidan yaitu 371.00 ppm. Ekstrak kering bunga telang pada pH 6 dan aktivitas antioksidan dengan 344.37 ppm.
2. Hasil penelitian utama ekstrak bunga telang pada pH 6 yang diuji dengan instrumen LC-MS/MS mengandung senyawa aktif yaitu 12 antosianin diantaranya yaitu cyanidin, Isoquercetin, Cyanin dan kaempferol 18 flavonol yaitu quercetin, Schaftoside, Trigonelline, Robinetin, Isohyperoside dan 11 flavon yaitu menthoside luteloin, Grosvenorine, Limocitrin dan viscumnoside

Daftar Pustaka

1. Agilent Technologies, (2001), Agilent LC-MS Primer. U.S.A
2. Ana, Z., Berta, K. L., Budiayati, S. (2012), Ekstraksi dan Analisis Zat Warna Biru Bunga Telang (*Clitoria Ternatea*) Sebagai Pewarna Alami, Universitas Diponegoro: Semarang.
3. Arifin B. 2018, STRUKTUR, BIOAKTIVITAS DAN ANTIOKSIDAN FLAVONOID, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas. Padang.
4. Anastasia, F, V, S.(2012). Validasi Metode dan Penetapan Kadar Kuersetin Total dalam Daun Teh Segar (*Camellia sinensis*O.K.), Teh Hijau, dan Teh Hitam dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) Fase Terbalik. Skripsi Fakultas Farmasi. Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
5. AOAC. (1995). Official Methods of Analysis of the Analytical Chemists. Edition Association of Official Analytical Chemists:Washington DC.
6. Barhe, T.A. and Tchouya, G.R., 2014, Comparative Study of the Anti-oxidant Activity of the Total Polyphenols Extracted from *Hibiscus Sabdariffa* L. *Glycinemax* L. Merr., Yellow Tea and Red Wine through Reaction with DPPH Free Radical, Arabian Journal of Chemistry.
7. Bowers LD. (1989) High-performance liquid chromatography/mass spectrometry: state of the art for the drug analysis laboratory. Clin Chem.
8. Covey TR, Lee ED, Henion JD. (1986). High-speed liquid chromatography tandem mass spectrometry for the determination of drugs in biological samples. Anal Chem
9. Dalimartha, S. (2009). Atlas Tumbuhan Obat Jilid 6. Jakarta: PT Pustaka Bunda.
10. Ginting, Karisma. (2012). Validasi Metode LC-MS/MS untuk Penentuan Senyawa Asam trans, trans-Mukonat, Asam Hippurat, Asam 2-metil Hippurat, Asam 3-metil Hippurat, Asam 4-metil Hippurat dalam Urin sebagai Biomarker Paparan Benzena, Toluena, dan Xilena. Universitas Indonesia, Bogor.
11. Guyton A. C., Hall J. E. 1997. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 9. Jakarta
12. Hollman PC, Katan MB (1998). "Health effects and bioavailability of dietary flavonols."
13. Harborne, J.B. 1996. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Terbitan Kedua. ITB. Bandung.
14. Hahlbrock K. 1981. Flavonoids. dalam The Biochemistry of Plants, Vol. 7: Secondary Plant Products. New York: Academic Press.

15. Halket JM, Waterman D, Przyborowska AM, Patel RK. 2005. Chemical derivatization and mass spectral libraries in metabolic profiling by GC/MS and LC/MS. *Journal of Experimental*
16. Iswanto, H. (2016). Peran Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman Padi. Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, Subang, Jawa Barat, Indonesia.
17. Jung W, Yu O, Lau SMC, O'Keefe DP, Odell J, Fader G, McGonigle B. 1999. Identification and expression of isoflavone synthase, the key enzyme for biosynthesis of isoflavones in legumes. *Bioteknologi Alam*
18. Khopkar, S.M. (2008). Konsep Dasar Kimia Analitik. Jakarta : UI Press
19. Lee, M. P., Abdullah, R., dan Hung, K. L. 2011. Thermal Degradation of Blue Anthocyanin Extract of Clitoria ternatea Flower. International Conference on Biotechnology and Food Science.
20. Liochev, S.I., 2013, Reactive Oxygen Species and the Free Radical Theory of Aging, *Free Radical Biology and Medicine*.
21. Man, J. M. de. 1997. Kimia Makanan. ITB. Bandung
22. Martin, M.J., pables, F., Belle, M.A., Gonzales, A.G., 1997, Determination of trigonelline in green and roasted coffee from single column ionic chromatography, *Fresenius J Anal Chem*
23. Mailandari, M. (2012). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Garcinia kyda Roxb. Dengan Metode DPPH dan Identifikasi Senyawa Kimia Fraksi yang Aktif. *Journal*. Depok: Universitas Indonesia.
24. Michael Vogeser, Christoph Seger. (2018). A decade of HPLC-MS/MS in the routine clinical laboratory-goals for futher development. *Clinical Biochemistry*
25. Mardiah, Arifah R, Reki W.A, dan Sawami. 2009. Budidaya dan Pengolahan Rosela si merah segudang manfaat. Jakarta: Agromedia pustaka.
26. Murray R. K., Granner Daryl K., Rodwell Victor W., 2009. Biokimia Harper, (Andri Hartono). Edisi 27. Penerbit Buku Kedokteran, EGC. Jakarta.
27. Najafian L, Babji AS. 2014. Production of bioactive peptides using enzymatic hydrolysis and identification antioxidative peptides from patin (*Pangasius sutchi*) sarcoplasmic protein hydrolysate. *Journal of Functional Food*.
28. Ou, B., Huang, D.J., Woodill, M.H., Flanagan, J.A., and Deemer, E.K., 2002, Analysis of Antioxidant Activities of Common Vegetables Employing Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP). *Assays: A Comparative Study, J. Agric. Food Chem*
29. Parwata, I. 2016, Flavonoid. *Journal FMIPA*. Denpasar: Universitas Udayana.
30. Pratama, Yosi. (2013). Pemanfaatan Ekstrak Daun Jati (*Tectona grandis* Linn. F.) sebagai Indikator Titrasi Asam-Basa. Skripsi Fakultas MIPA Jurusan Kimia Universitas Negeri Semarang. Semarang.
31. Resi A. 2009, MAKALAH KIMIA ORGANIK BAHAN ALAM FLAVONOID (Quercetin). Tesis Fakultas MIPA universitas Hasanudin. Semarang
32. Rohdiana, D. (2001). Aktivitas Daya Tangkap Radikal Polifenol dalam Daun Teh. *Majalah Jurnal Indonesia*.
33. Soedibyo, M., Dalimartha, S. 1998. Perawatan Rambut dengan Tumbuhan Obat dan Diet Suplemen. Jakarta
34. Suarna IW. 2005. Kembang telang (*Clitoria ternatea*) tanaman pakan dan penutup tanah. Lokakarya Nasional Tanaman Pakan Ternak. Bogor (Indonesia): Puslitbang Peternakan.
35. Siagian A. 2002. Bahan Tambahan Makanan. Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Sumatera Utara.
36. Singh, M.; Kaur, M.; Silakari, O. Flavones: An Important Scaffold for Medicinal Chemistry. *Eur. J. Med. Chem.* 2014
37. Sunardi, K.I., 2007, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi*, L.) terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH), Seminar Nasional Teknologi Pangan. Jakarta.
38. Supratman, U., 2010, Elusidasi Struktur Senyawa Organik. Widya Padjajaran: Bandung
39. Sutedi, Endang. (2013). Potensi Kembang Telang (*Clitoria ternatea*) Sebagai Tanaman Pakan Ternak. Skripsi Fakultas Peternakan. Bogor.
40. Stevenson, P.C., F.M. Kimmins, R.J. Grayer, and S. Raveendranath. 1996. Schaftosides from rice phloem as feeding inhibitors and resistance factors to brown planthopper, *Nilaparvata lugens*.
41. Tanaka K, Li F, Morikawa K, Nobukawa T, Kadota S. 2011. Analysis of biosynthetic fluctuations of cultured *Taxus* seedling using a metabolomic approach. *Phytochemistry*. 72:1760-1766.
42. Reyhan, Muhammad. (2017). Karakterisasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Pigmen Telur Keong Mas (*Pomacea canaliculata*). Skripsi Fakultas Teknologi Pangan. Institut Pertanian Bogor: Bogor.

43. Rohman, A. Gandjar, I.G. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Pustaka Pelajar :Yogyakarta.
44. Winarsih, Sri.(2018), Identifikasi Senyawa Aktif Crude Ekstrak Bunga Lawang (*Illicium verum*) dan Uji Antimikrobia Pembusuk Dari Daging Ayam Broiler. Universitas Muhammadiyah Malang, Malang.
45. Wirani, R. (2017). Kajian Perbandingan Daun dengan Ampas Buah Black Mulberry (*Morus Nigra*. L) Terhadap Karakteristik Teh Celup. Tugas Akhir. Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknik Universitas Pasundan. Bandung.
46. Yeni M. (2013), Penyiapan Material Acuan Untuk Penentuan Trigonelline Dalam Biji Kopi Hijau Menggunakan HPTLC. Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Jember.
47. Zheng W. and Wang S.Y., 2009. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. *J.Agric.Food Chem*, ACS Publications: Washington D.C.