

**Profil LC-MS/MS dan Kadar Fenolik Total Ekstrak Bunga Telang dan Rosela
Sebagai Kandidat Inhibitor NPC1L1**

**LC-MS/MS Profile and Total Phenolic Content of Telang Flower Extract and Roselle
as NPC1L1 Inhibitor Candidate**

Erna Susanti^{1*}, Meiria Istianasari²

^{1,2} Pharmacy and Food Analyst Academy of Putra Indonesia Malang, Malang, Indonesia

Article Info

Article History:

Received: June 7, 2022

Accepted: October 17, 2022

Published: October 31, 2022

*) Corresponding author:

E-mail: abiyatur@gmail.com

How to cite this article:

Susanti E, Istianasari M. (2022). LC-MS/MS Profile and Total Phenolic Content of Telang Flower Extract and Roselle as NPC1L1 Inhibitor Candidate. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*, 8(3): 164-169

<https://doi.org/10.19184/ams.v8i3.32080>

Abstrak

Penghambatan atherogenesis dapat dilakukan melalui beberapa mekanisme salah satunya melalui penghambatan absorpsi kolesterol intestinal melalui penghambatan NPC1L1. Aktivitas ekstrak bunga telang dalam mengatasi berbagai permasalahan penyakit degeneratif terutama kardiovaskuler sudah banyak dibuktikan dengan penelitian ilmiah. Begitu juga terkait aktivitas bunga rosella. Penelitian sebelumnya yang dilakukan peneliti menunjukkan potensi ekstrak bunga rosella sebagai agonis LXR salah satu jalur yang berperan pada hambatan NPC1L1. Kombinasi kedua ekstrak tersebut diharapkan dapat meningkatkan aktivitasnya sebagai kandidat inhibitor NPC1L1. Tujuan penelitian ini adalah berdasarkan hasil penentuan kadar fenolik total serta karakterisasi senyawa aktif dengan LC MS/MS ekstrak bunga telang dan rosella diharapkan dapat dikembangkan menjadi penelitian lanjutan secara *in vivo* untuk menguatkan bukti ilmiahnya sehingga dapat dikembangkan menjadi sediaan fitofarmaka. Metode analisis instrumentasi dengan LC-MS/MS untuk mengidentifikasi kandungan senyawa aktif sehingga didapatkan ekstrak bunga telang dan rosela yang terstandarisasi. Demikian juga dengan metode Folin Ciocalteu dapat digunakan untuk penentuan kadar total fenolik dalam ekstrak yang dianalisis. Kadar fenolik total berdasarkan urutan terbesar adalah ekstrak bunga rosella ungu ($114,129.35 \pm 266.20 \mu\text{g GAE}$), kombinasi ekstrak rosella ungu dan bunga telang ($101,760.58 \pm 116.09 \mu\text{g GAE}$), ekstrak bunga telang ($90,477.41 \pm 107.38 \mu\text{g GAE}$) dan ekstrak bunga rosella merah ($84,601.00 \pm 266.91 \mu\text{g GAE}$). Kombinasi ekstrak menunjukkan kadar fenolik total yang berkurang dibandingkan dengan ekstrak tunggalnya. Kandungan fenolat pada masing-masing ekstrak mempengaruhi total fenolik pada kombinasi ekstrak. Teridentifikasi 8 senyawa antosinin baik pada ekstrak bunga telang maupun ekstrak Bunga Rosella. Kesimpulan penelitian ini adalah ekstrak bunga telang dan bunga rosella potensial dikembangkan sebagai kandidat inhibitor NPC1L1

Kata Kunci: Inhibitor NPC1L1, ekstrak bunga telang, Rosela, fenolik total, LC-MS/MS, atherogenesis.

Abstract

Inhibition of atherogenesis can be done through several mechanisms, one of which is through inhibition of intestinal cholesterol absorption through inhibition of NPC1L1. The activity of Telang flower extract in overcoming various problems of degenerative diseases, especially cardiovascular disease, has been proven by many scientific studies. Likewise, related to the activity of Rosella flowers. Previous research conducted by researchers showed the potential of Rosella flower extract as an LXR agonist, one of the pathways that play a role in NPC1L1 inhibition. The combination of the two extracts is expected to increase its activity as a candidate for NPC1L1 inhibitor. The study was based



on the results of the determination of total phenolic levels and the characterization of the active compounds with LC MS/MS extracts of telang flower and rosella, which are expected to be developed into further research in vivo to strengthen scientific evidence so that they can be developed into phytopharmaca preparations. Instrumentation analysis method with LC-MS/MS to identify the content of active compounds and determination of total phenolic content with Folin ciocalteu in order to obtain standardized extracts of telang flower and roselle. The total phenolic content based on the largest order was purple rosella flower extract ($114.129.35 \pm 266.20$ g GAE), a combination of purple rosella and telang flower extract ($101.760.58 \pm 116.09$ g GAE), telang flower extract ($90.477.41 \pm 107.38$ g GAE) and extract red rosella flowers ($84,601.00 \pm 266.91$ g GAE). The combination of extracts showed reduced total phenolic content compared to the single extract. The phenolic content in each extract affected the total phenolic in the combination of extracts. 8 anthocinin compounds were identified in both the telang flower extract and the rosella flower extract.

Keywords: NPC1L1 inhibitor, telang , extract, Roselle, total phenolics, LC-MS/MS, atherogenesis

Pendahuluan

Aktivitas ekstrak bunga telang dalam mengatasi berbagai permasalahan penyakit degeneratif sudah banyak dibuktikan dengan penelitian ilmiah (Alfrian, et al 2013; Karuna, et al, 2013). Beberapa penelitian yang terkait aktivitas bunga telang antara lain penelitian Ponnusammy menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak bunga telang tertinggi dibandingkan dengan 15 jenis ekstrak bunga lain (Ponnusamy S, et al, 2014). Daisy menjelaskan juga terkait aktivitas antidiabetic dari ekstrak air bunga telang telah dibuktikan dengan pemberian ekstrak air bunga telang pada dosis 400 mg/kg berat badan secara oral. Efek tersebut ditunjukkan oleh menurunnya glukosa serum dan glikosilasi hemoglobin pada tikus percobaan. Efek lain dari ekstrak bunga telang dapat meningkatkan insulin serum dan glikogen otot hati dan tulang (Daisy et al., 2009). Penelitian lain oleh Nair et al menunjukkan bahwa ekstrak bunga telang memiliki aktifitas antiinflamasi pada *cell line* makrofag RAW 264.7 (Nair et al. 2015). Menurut Shen et al kandungan bioaktif bunga segar Bunga Telang yang bersifat lipofilik (kelompok fitosterol dan asam lemak) lebih banyak dibanding kandungan hidrofilik (antosianin dan flavonol glikosida) yaitu sebesar 27,67 dan 11,08 mg/100 g bunga segar (Shen et al., 2016). Kandungan senyawa fenol dalam ekstrak kering Bunga Telang menurut penelitian Singh et al antara antara 53-460 mg ekuivalen asam galat (Singh et al., 2018).

Sedangkan penelitian aktivitas Rosella antara lain oleh Mahadevan et al menunjukkan hambatan radikal anion superoksida sebesar 70±80% ekstrak rosella aktivitas pada dosis 1000µg (Mahadevan et al. 2009; Al-hashimi, Alaa G. 2012). Rosella juga memiliki aktivitas antiinflamasi menurut penelitian Dianasari & Fajrin hambatan inflamasi sebesar 22,03; 31,48; dan 31,93%. Senyawa antosianin salah satu kandungan dari ekstrak rosella mampu meningkatkan sekresi insulin (Dianasari & Fajrin 2015). Efek lain terhadap tekanan darah ditunjukkan oleh penelitian Kusumastuti dengan pemberian teh rosella dapat menurunkan tekanan darah sistolik dan diastolic (Kusumastuti 2014).

Penelitian terkait aktivitas kombinasi kedua ekstrak tersebut antara lain adalah penelitian Adisakwatana dimana kombinasi kedua ekstrak tersebut meningkatkan penghambatan enzim α -amilase (Adisakwatana et al., 2012). Efek hipoglikemik juga

ditunjukkan oleh kombinasi bunga telang dan buah delima (*Punica gratum*) yang setara dengan obat diabetes metformin (Borikar et al., 2018). Hasil penelitian ini meningkatkan eksplorasi aktivitas kombinasi dari beberapa ekstrak bunga telang dengan ekstrak sumber antosianin lain. Berdasarkan keberagaman aktivitas farmakologi dari kedua ekstrak tersebut sangat dimungkinkan keduanya memiliki aktivitas sebagai penghambat absorpsi kolesterol intestinal atau dikenal sebagai inhibitor NPC1L1 sebagai protein kunci yang berperan pada proses tersebut. Polifenol berhubungan dengan aktivitas sebagai inhibitor NPC1L1 berdasar penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa luteolin and quercetin menunjukkan efek penghambatan NPC1L1 yang sama dengan Ezetimibe.

Berdasarkan latar belakang di atas diperlukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas potensial dari kombinasi ekstrak bunga telang dan rosella sebagai inhibitor NPC1L1 berdasarkan hasil penentuan kadar fenolik total serta karakterisasi profil senyawa aktif dengan LC/ MS-MS. Selanjutnya dari hasil penelitian ini dapat dikembangkan penelitian in vivo maupun insilico sebagai bukti ilmiah yang mendukung aktivitasnya sebagai inhibitor NPC1L1.

Metode

Penelitian ini termasuk jenis penelitian deskriptif analitik yang bertujuan untuk mendapatkan karakteristik profil senyawa aktif ekstrak bunga telang dan rosella serta kadar total fenolik. Instrumen analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa aktif yang digunakan dalam penelitian ini adalah LC-MS/MS dan Spektrofotometri UV-Vis. Persetujuan etik penelitian telah didapatkan dari LPPM Akfar Putra Indonesia Malang dengan No.39/ B.2/LPPM Aka.Akfar.PIM/VIII/2021.

Pembuatan Larutan Induk Asam Galat

Sebanyak 50 mg asam galat dilarutkan dengan etanol p.a sampai 50 mL sehingga konsentrasi larutan induk 2000 mg/L. Kemudian larutan diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 40, 60, 80, 100 dan 120 mg/L.

Pembuatan Larutan Sampel

Larutan induk dibuat dalam konsentrasi 2000 mg/L dengan cara

100 mg ekstrak ditambahkan etanol p.a sampai volume 50 mL.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Absorbansi larutan standar diukur pada panjang gelombang 500 sd 800 nm untuk menentukan panjang gelombang maksimal. Preparasi larutan standar adalah sebagai berikut : 0,1 mL larutan standar ditambah 1 mL reagen Folin-Ciocalteu (1:10 v/v air), didiamkan 5 menit. Campuran ditambah 0,8 mL Na₂CO₃ (75 g/L air) didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang.

Pembuatan Kurva Kalibrasi

Penentuan kurva kalibrasi dilakukan dengan proses yang sama seperti tahapan pada penentuan panjang gelombang maksimum dengan menyiapkan 7 seri konsentrasi yang berbeda.

Pengujian Polifenol Total

Larutan sampel disiapkan dengan memipet 0,1 mL ditambah 1 mL reagen Folin-Ciocalteu (1:10 v/v air), didiamkan 5 menit kemudian ditambah 0,8 mL Na₂CO₃ (75 g/L air) didiamkan 30 menit pada suhu ruang. Dilakukan pengukuran absorbansi. Kandungan polifenol total dinyatakan dalam mg GAE (ekuivalensi asam galat) dalam 1 gram ekstrak.

Hasil

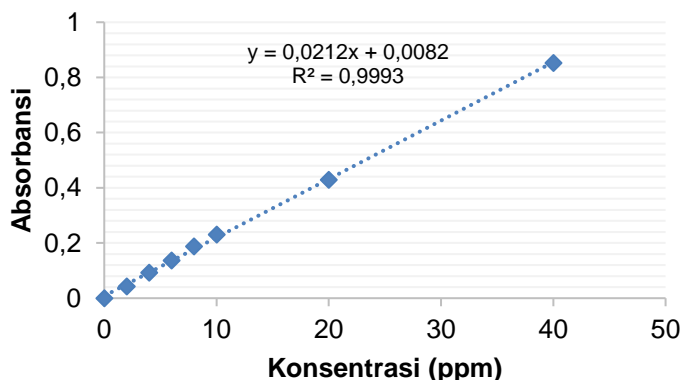
Karakteristik simplisia dan ekstrak baik ekstrak Bunga Telang maupun ekstrak Bunga Rosella menunjukkan ciri- ciri simplisia serta ekstrak sesuai dengan Farmakope Herbal Ed II tahun 2017. Rendemen yang diperoleh juga memenuhi syarat sesuai dengan referensi tersebut.

Penentuan Kurva Standart TPC (Total Phenolic Content)

Standar yang digunakan pada penentuan kadar fenolik total adalah asam galat dengan konsentrasi baku kerja 2 sd 40 ppm. Data absorbansi baku kerja dengan 2 replikasi dapat dilihat pada Tabel 3. sedangkan kurva standart dapat dilihat di Gambar 1.

Penentuan Kadar Fenolik Total

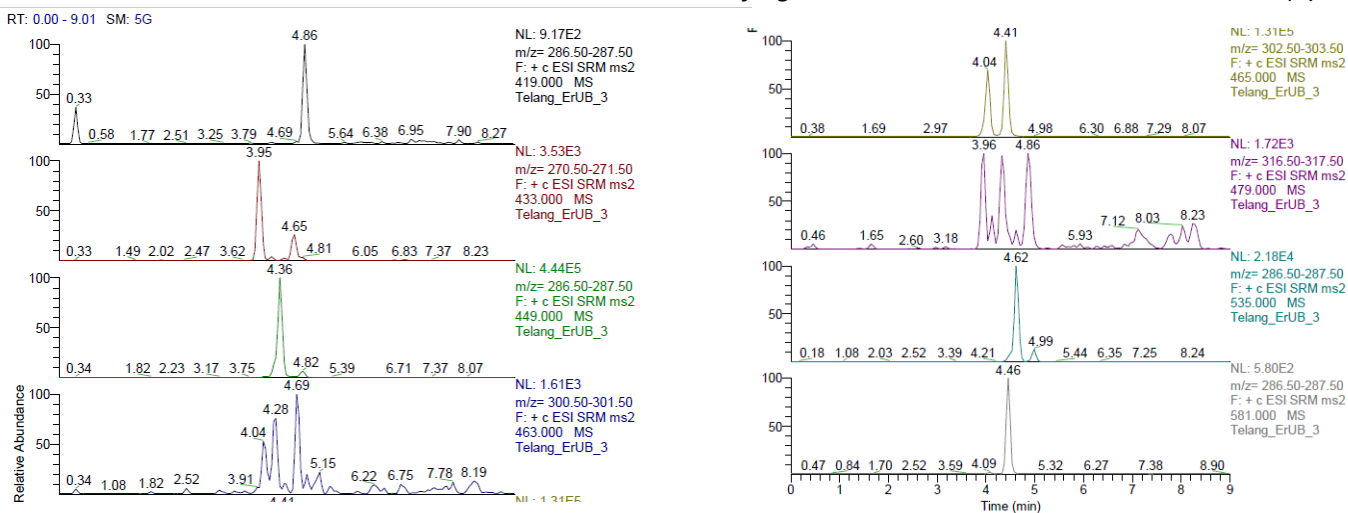
Kadar Fenolik Total Ekstrak bunga telang dan ekstrak bunga rosella berikut kombinasinya dapat dilihat pada Tabel 4. Hasil penentuan kadar total fenolik menunjukkan hasil dengan urutan terbesar adalah ekstrak bunga rosella ungu, kombinasi ekstrak rosella ungu dan bunga telang, ekstrak bunga telang, dan ekstrak bunga rosella merah.



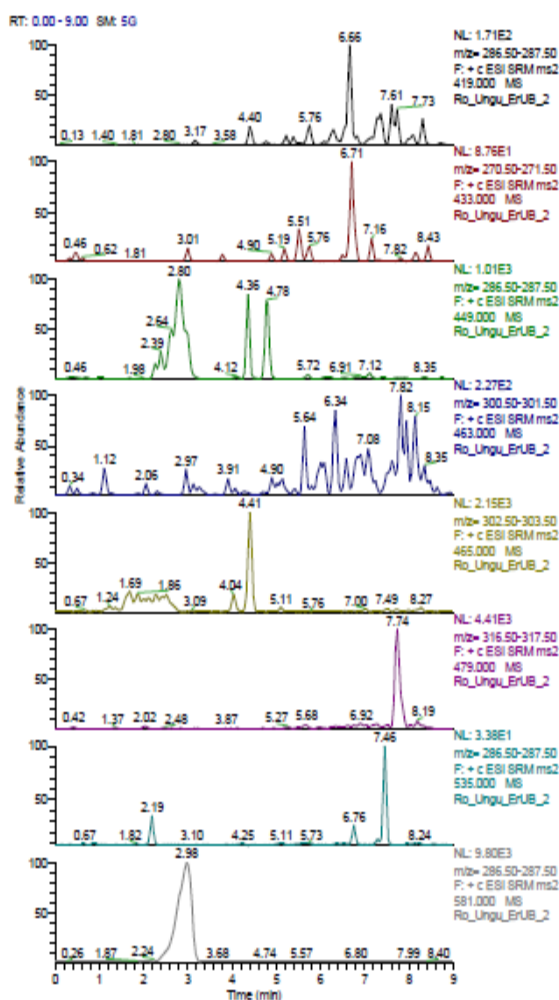
Gambar 1. Kurva kalibrasi Kadar Fenolik Total ekuivalen dengan Asam Galat

Tabel 1. Kadar Fenolik Total Ekstrak bunga telang dan ekstrak bunga rosella berikut kombinasinya

	E*G/F (µg/ml)	TPC (mg GAE)
1 Rosela Merah	6,930.66	84.701
	6,938.92	84.803
	6,897.64	84.298
	rata-rata	84.601 ± 0.267
2 Bunga Telang	16,040.57	90.353
	16,073.58	90.539
	16,073.58	90.539
	rata-rata	90.477 ± 0.107
3 Rosela Ungu	12,226.89	114.821
	12,276.42	114.283
	12,276.42	114.283
	rata-rata	114.129 ± 0.266
4 Kombinasi Bunga Telang & Rosela Ungu		101.760
	14,472.17	101.876
	14,488.68	101.644
	14,455.66	101.644
	rata-rata	101.760 ± 0.116



Gambar 2. Profil LC MS/MS ekstrak bunga telang



Gambar 3. Profil LC MS/MS ekstrak bunga rosela

Pembahasan

LC-MS/MS dapat digunakan sebagai analisis kualitatif. Identifikasi suatu senyawa dalam ekstrak dapat ditentukan dengan data M/Z yang merupakan kromatogram hasil LC-MS/MS. Teknik analisis ini menunjukkan resolusi tinggi sehingga identifikasi metabolit sekunder dalam ekstrak tanaman dapat dilakukan dengan tepat (Katajama dan Oresic, 2005)

Sifat kimia analit sangat berpengaruh terhadap hasil analisis

dengan LC-MS/MS. Metode ini menggunakan teknik ionisasi umumnya menghasilkan ion molekuler ([M+H]⁺ atau [M+H]⁻). Faktor lain yang berpengaruh terhadap hasil analisis ini adalah polaritas dan komposisi pelarut. Sifat matriks yang dianalisis juga berpengaruh terhadap hasil analisis selain tegangan ESI yang digunakan (Halket, 2005). Hasil karakterisasi LC-MS/MS ekstrak etanol bunga telang menunjukkan metabolit sekunder dengan 8 karakteristik yang berbeda. Berdasarkan data teridentifikasi golongan antosianin yaitu Cyanidin 3,5-O- diglucosida,

Cyanidin3-O-sophorosida, Cyanidin3-O-glucosida, Cyanidin3-O-rutinosida, Cyanidin3-O-xylosylrutinosida, pelargonidin 3-O-glucosylrutinosida, pelargonidin 3-O-rutinosida, pelargonidin 3-O-glucosida. Metabolit golongan antosianin yang terdeteksi adalah Cairan pelarut yang digunakan yaitu etanol. Etanol yang digunakan dapat menyari komponen aktif dalam sampel karena sifat polaritasnya. Hasil identifikasi LC-MS/MS menunjukkan komponen utama dalam ekstrak adalah senyawa antosianin.

Menurut Harborne 2005, Antosianin merupakan derivat sianidin yang mengalami metilasi maupun glikosilasi. Jumlah gugus hidroksil membedakan karakteristik dari antosianin (Harborne 2005). Man 1997 menyebutkan bahwa Antosianin berubah warna jika berada pada kondisi asam maupun basa. Antosianin juga bersifat amfoter (Man 1997). Warna merah pada buah disebabkan karena kandungan antosianin. Hasil penelitian Parwata 2016 menunjukkan bahwa antosianin utama ekstrak bunga telang pada pH 6 yang diuji dengan instrumen LC-MS/MS mengandung senyawa aktif yaitu 12 antosianin. Antosianin merupakan golongan flavonoid. Jenis flavonoid di alam yang telah teridentifikasi lebih dari 2000 jenis. Secara structural flavonoid merupakan struktur kimia dengan 15 atom karbon. Dari segi bahasa antosianin berarti pigmen berwarna dalam bunga atau buah. Metabolit sekunder lain yang banyak ada dalam tanaman adalah Flavon yang banyak berperan dalam aktivitas farmakologi.

Antosianin bunga telang memiliki kekhasan tersendiri karena mengandung dua gugus asil dengan delphinidin sebagai aglikonnya. Sifat antosianin ini lebih stabil dibandingkan antosianin yang tidak terasilasi. Antosianin tersebut adalah ternatin. Teridentifikasi ternatin A1, A2, A3, B1, B2, B3, B4, D1, dan D2 serta 6 jenis ternatin lain yaitu C1, C2, C3, C4, C5, D3, Preternatin A3 dan C4 (Da-Costa-Rocha et al, 2014; Riaz G, Chopra R. 2018). Ternatin A1 merupakan struktur antosianin yang paling kompleks (Terahara et al., 1990) sedangkan ternatin B2 dan B1 merupakan senyawa yang terbanyak ada dalam Bunga Telang (Riaz G, Chopra R. 2018). Aktivitas antioksidan antosianin terkenal paling tinggi. Kandungan gugus hidroksil dan gula tekonjugasi memiliki peran penting dalam aktivitasnya sebagai antioksidan. Kandungan gugus tersebut memiliki kemampuan menyumbang hidrogen kepada radikal bebas sehingga lebih stabil dan dapat meredam aktivitas radikal bebas.

Komponen bioaktif pada bunga telang yang lain yang diperkirakan memiliki manfaat fungsional adalah fenol. Kandungan utamanya adalah fitosterol, asam lemak, antosianin dan flavonol glikosida (Shen et al., 2016). Kandungan total fenol antara 53- 460 mg ekuivalen asam galat/ gram ekstrak kering (Adisakwattana et al., 2012; Chayaratanasin et al., 2015; Singh et al., 2018).

Chayaratanasin menyebutkan kandungan flavonoid rata-rata 11.2 mg ekuivalen katekin tiap gram ekstrak kering (Chayaratanasin et al., 2015). Flavonoid 25,8 mg setara kuersetin per gram ekstrak (Singh et al., 2018). Flavonol, antosianidin, flavanol, dan flavon merupakan 4 komponen utama flavonoid pada bunga telang (Da-Costa-Rocha et al, 2014). Kaempferol 3-glikosida kandungannya sekitar 87% total flavonol glikosida (Da-Costa-Rocha, et al, 2014). Salah satu kelompok lain dari golongan flavonoid ini adalah Quercetin dimana kandungannya sekitar 60-75% dari flavonoid. Aktivitas antioksidan Quercetin berperan pada penghambatan penyakit degeneratif karena efek

antioksidan yang dimilikinya. Hambatan peroksidasi lemak serta oksidasi Low Density Lipoproteins (LDL) merupakan mekanisme utama dalam pencegahan penyakit degeneratif.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Kadar fenolik total berdasarkan urutan terbesar adalah ekstrak bunga rosella ungu (114.129 ± 0.266 mg GAE), kombinasi ekstrak rosella ungu dan bunga telang (101.760 ± 0.116 mg GAE), ekstrak bunga telang (90.477 ± 0.107 mg GAE) dan ekstrak bunga rosella merah (84.601 ± 0.266 g mg GAE)
2. Kombinasi ekstrak menunjukkan kadar fenolik total yang berkurang dibandingkan dengan ekstrak tunggalnya. Kandungan fenolat pada masing- masing ekstrak mempengaruhi total fenolik pada kombinasi ekstrak.
3. Teridentifikasi 8 senyawa antosin baik pada ekstrak bunga telang maupun ekstrak Bunga Rosella.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan pada penelitian ini.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Akafarma Putra Indonesia Malang yang telah mendanai penelitian ini melalui program Penelitian Dosen tahun 2021.

Kontribusi Penulis

Erna Susanti : konseptualisasi penelitian, penulisan naskah, pengumpulan data penelitian, revisi naskah. Meiria Istiana sari : pengambilan sampel, pengumpulan data penelitian, penyusunan data penelitian.

References

- Afrians, K. 2013. Potensi ekstrak kelopak rosella dalam mencegah aterosklerosis. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689-1699. <http://eprints.umm.ac.id/id/eprint/48378>
- Al-hashimi, Alaa G. 2012. Antioxidant and Antibacterial Activities of Hibiscus Sabdariffa L . Extracts. *African Journal of Food Science* Vol. 6(21) pp. 506-511, DOI: 10.5897/AJFS12.099
- Adisakwattana S, Ruengsamran T, Kampa P, Sompong W, 2012, In vitro inhibitory effects of plant-based foods and their combinations on intestinal α -glucosidase and pancreatic α -amylase, *Jul 31;12:110*. doi: 10.1186/1472-6882-12-110.
- Borikar SP, Kallewar N, 2018, Dried flower powder combination of Clitoria ternatea and Punica granatum demonstrated analogous anti-hyperglycemic potential as compared with standard drug metformin: In vivo study in Sprague

- Dawley rats, Journal of Applied Pharmaceutical Science 8(11):75-79 . DOI:10.7324/JAPS.2018.81111.
- Chayaratanasin P, 2015, Inhibitory effect of *Clitoria ternatea* flower petal extract on fructose-induced protein glycation and oxidation-dependent damages to albumin in vitro, BMC Complementary and Alternative Medicine 15(1) DOI:10.1186/s12906-015-0546-2
- Da-Costa-Rocha, I. B. A phytochemical and pharmacological review. Food Chemistry. 2014. Dec 15;165:424-43. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.05.002
- Da-Costa-Rocha I, Bonnlaender B, Sievers H, Pischel I, Heinrich M, 2014, *Hibiscus sabdariffa* L. - a phytochemical and pharmacological review. Food Chemistry Dec 15;165:424-43. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.05.002.
- Dianasari, D& Fajrin, FA 2015, Uji aktivitas antidiabetes ekstrak air kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) pada tikus dengan metode induksi aloksan, Jurnal Farmasi Sains dan Terapan, 2(1):54±58. DOI: <https://doi.org/10.33508/jfst.v2i1.812>
- Daisy, P., Santosh, K. & Rajathi, M., 2009. Hypoglycemic Effects of *Clitoria ternatea* Linn. (Fabaceae) in Alloxan-induced Diabetes in Rats. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 8(5), pp. 393-398.
- Kusumastuti, IR 2014, Roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) effects on lowering blood pressure as treatment for hypertension, Journal Majority, 3(7):70±74. <https://jjuke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/majority/article/view/480/481>
- Ponnusamy S, Gnanaraj WE, Antonisamy JM., 2014, Flavonoid Profile Of *Clitoria Ternatea* Linn, Traditional Medicine Journal, 19(1), ISSN : 1410-5918 <https://doi.org/10.22146/tradmedj.8083>
- Mahadevan, N, Shivali, P&Kamboj 2009, *Hibiscus sabdariffa* Linn., An overview, Natural Product Radiance, 8(1):77±83.
- Nurfardilla SA, Saputri FC, Harahap Y, 2020, Pharmacokinetic Herb-Drug Interaction between *Hibiscus sabdariffa* Calyces Aqueous Extract and Captopril in Rats <https://doi.org/10.1155/2020/5013898>
- Nair, V. et al., 2015. Protective Role of Ternatin Anthocyanins and Quercetin Glycosides from Butterfly Pea (*Clitoria ternatea* Leguminosae) Blue Flower Petals against Lipopolysaccharide (LPS)-Induced Inflammation in Macrophage Cells. J. of Agricultural and Food Chemistry, 63, pp. 6355–6365 DOI: 10.1021/acs.jafc.5b00928
- Riaz G, Chopra R. 2018, A review on phytochemistry and therapeutic uses of *Hibiscus sabdariffa* L., Biomed Pharmacother. 2018 Jun;102:575-586. doi: 10.1016/j.biopha.2018.03.023.
- Shen, Y. et al., 2016. Butterfly pea (*Clitoria ternatea*) seed and petal extracts decreased HEP2 carcinoma cell viability. International Journal of Food Science and Technology, 51, pp. 1860– 1868 <https://doi.org/10.1111/ijfs.13158>
- Vankar, P. S. & Srivastava, J., 2010. Evaluation of Anthocyanin Content in Red and Blue Flowers. International Journal of Food Engineering, 6(4), pp. Article 7.
- Savic IM, Nikolic VD, Savic IM, Nikolic LB, Jovic MD, 2014, The qualitative analysis of the green tea extract using ESI-MS method. Adv Technol, 3(1): 30-7. <https://scindeks-clanci.ceon.rs/data/pdf/2217-9712/2014/2217-97121401030S.pdf>
- Karuna A. Talpate, Uma A. Bhosale, Mandar R. Zambare, Rahul Somani, 2013, Antihyperglycemic and antioxidant activity of *Clitoria ternatea* Linn. on streptozotocin-induced diabetic rats, Oct-Dec; 34(4): 433–439. doi: 10.4103/0974-8520.127730