

## **Metabolite Profiling Bagian Akar, Batang, Daun, Dan Biji *Helianthus annuus* L. Menggunakan UPLC-MS**

**Abdul Hakim, Roihatul Muti'ah, Risma Aprinda, Arief Suryadinata dan Fitrotun Nasikhatul Maslakhah**

Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Correspondence: Roihatul Mutiah

Email: roiha@farmasi.uin-malang.ac.id

Submitted : 17-10-2018, Revised : 01-11-2018, Accepted : 03-12-2018

**ABSTRAK:** Tanaman bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) merupakan salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat herbal untuk penyakit malaria dan sebagai antioksidan. Pemanfaatan suatu tanaman sebagai obat herbal didasarkan pada adanya senyawa kimia yang memiliki efek farmakologis tertentu. Oleh karena itu diperlukan *metabolite profiling* untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam *H. annuus*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui profil metabolit senyawa kimia, senyawa penciri bagian organ, dan senyawa mayor yang terkandung pada bagian akar, batang, daun, dan biji *H. annuus* menggunakan instrumen UPLC-MS. Masing-masing organ tanaman diekstraksi menggunakan etanol 96% dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) sehingga diperoleh ekstrak kental yang selanjutnya dianalisis menggunakan instrumen UPLC-MS. Hasil interpretasi kromatogram UPLC-MS selanjutnya diklasifikasikan menggunakan analisis multivariat *Principal Component Analysis* (PCA) untuk mengetahui efek pengelompokan dan senyawa penciri pada masing-masing organ. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa terdapat perbedaan pada profil metabolit akar, batang, daun, dan biji *H. annuus*. Kadar senyawa mayor pada masing-masing organ tersebut berturut-turut adalah 5,9490%; 5,5558%; 8,6758%; dan 9,2150%.

**Kata kunci:** *metabolite profiling; Helianthus annuus* L.; UPLC-MS

**ABSTRACT:** Sunflower (*Helianthus annuus* L.) is one of the plants that can be used for herbal medicine as anti-malaria and antioxidant. To control the quality of plant as raw material of herbal medicine, we need to analyze the metabolites or chemical compounds found in the plant. One of the techniques for this purpose is the metabolite profiling. Chemical compounds in the plants are obtained from different metabolic processes in each plant organs. The purpose of this study was to obtain the metabolite profile data, to identify the marker and major compound of roots, stems, leaves, and seeds of sunflower using UPLC-MS. Each plant organ was extracted using 96% ethanol by the *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) method. Each extract was then analyzed using the UPLC-MS instrument. The interpretation of the UPLC-MS chromatograms were then classified using multivariate *Principal Component Analysis* (PCA) to determine the grouping effects and characteristic compounds in each organ. Based on the research, it is known that metabolite profiles of roots, stems, leaves, and seeds of sunflower were different and the concentration of major compounds in these parts were 5.9490%; 5.5558%; 8.6758%; and 9.2150%, respectively.

**Keywords:** *metabolite profiling; Helianthus annuus* L.; UPLC-MS

## 1. Pendahuluan

Indonesia merupakan salah satu negara yang kaya akan flora dan fauna yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat baik di bidang sandang, pangan, maupun papan. Selain itu, masyarakat Indonesia banyak memanfaatkan flora dan fauna tersebut sebagai obat alternatif untuk mengatasi berbagai macam penyakit berdasarkan pengalaman empiris dan resep yang diperoleh secara turun-temurun. Bahan obat yang diperoleh dari pemanfaatan flora dan fauna biasa disebut dengan obat tradisional. Menurut Permenkes RI No. 246/Menkes/Per/V/1990, yang dimaksud dengan obat tradisional adalah bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan galenik atau campuran dari bahan-bahan tersebut, yang secara tradisional telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman. Berdasarkan data hasil riset kesehatan dasar 2010, hampir setengah (49,53%) penduduk Indonesia berusia 15 tahun ke atas mengkonsumsi jamu, sekitar 5% (4,36%) mengkonsumsi jamu setiap hari, sedangkan sisanya (45,17%) mengkonsumsi jamu sesekali [1].

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah tanaman bunga matahari (*Helianthus annuus* L.). Beberapa penelitian menunjukkan ekstrak metanol bunga *H. annuus* positif mengandung senyawa terpenoid, seskuiterpen, triterpen, dan steroid [2]. Senyawa yang terkandung pada daun tanaman bunga matahari adalah alkaloid, flavonoid, dan fenol [3]. Batang *H. annuus* mengandung senyawa hemiselulosa yang dapat digunakan sebagai antitumor [4] serta mengandung senyawa alkaloid, fenol, dan flavonoid [3]. Biji *H. annuus* mengandung karbohidrat, flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, fitosterol, steroid, dan minyak atsiri [5]. Sampai saat ini, penelitian-penelitian yang telah dilakukan banyak membahas mengenai golongan senyawa dan kemungkinan adanya efek farmakologi tertentu. Oleh sebab itu, perlu diketahui senyawa apa yang terkandung dalam *H. annuus* sehingga dapat digunakan sebagai acuan dasar untuk penelitian-penelitian selanjutnya.

Untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam *H. annuus* maka diperlukan suatu teknik analisis kandungan metabolitnya. Salah satu teknik analisis yang dapat digunakan adalah analisis *metabolite profiling*. Penggunaan profil metabolit dapat memberikan tampilan komparatif fungsi gen. Profil metabolit memiliki potensi tidak hanya dapat memberikan wawasan lebih dalam proses regulasi yang kompleks, tetapi juga dapat menentukan fenotipe secara langsung [6].

Profil metabolit dari suatu tanaman dapat diketahui dengan bantuan instrumen UPLC-MS (*Ultra Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrophotometer*). Analisis profil metabolit menggunakan UPLC-MS dapat menghasilkan data kuantitatif dan kualitatif. Data kualitatif diperoleh dari penemuan senyawa pada setiap puncak kromatogram dan data kuantitatif diperoleh dari persentase kadar setiap senyawa berdasarkan luas area puncak kromatogram. UPLC-MS merupakan salah satu teknik analisis perkembangan dari teknik LC-MS yang dapat digunakan untuk menganalisis profil metabolit dari suatu sampel. Teknik analisis ini memberikan beberapa kelebihan yaitu hasil kromatogram dengan resolusi tinggi, kuat, dapat diandalkan, pengukuran massa dan informasi struktural yang akurat, serta memungkinkan deteksi metabolit yang luas dari sampel tanaman [7].

Hasil interpretasi kromatogram menggunakan instrumen UPLC-MS selanjutnya dapat dianalisis secara multivariat menggunakan *Principal Component Analysis* (PCA). PCA adalah suatu teknik statistik yang secara linear mengubah bentuk sekumpulan variabel asli menjadi kumpulan variabel yang lebih kecil yang tidak berkorelasi yang dapat mewakili informasi dari kumpulan variabel asli [8]. Tujuan PCA adalah untuk menjelaskan bagian dari variasi dalam kumpulan variabel yang diamati atas dasar beberapa dimensi. Hasil analisis menggunakan PCA berupa keragaman (*variance*), *score plot*, dan *loading plot*. Ketiga atribut tersebut saling melengkapi. Hasil analisis PCA dikatakan baik apabila dengan jumlah komponen utama yang sedikit mampu menggambar-

kan total variasi yang besar [9]. Dalam penelitian ini, *score plot* PCA digunakan untuk melihat efek pengelompokan, sedangkan *loading plot* dapat digunakan untuk menemukan senyawa penciri [10].

## 2. Bahan dan metode

### 2.1. Bahan dan alat

Tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah *H. annuus* yang diperoleh dari taman di salah satu rumah warga di Perumahan "Plaosan Permai" Jl. Teluk Grajakan, Pandanwangi Kota Malang dan Desa Pujon, Kab. Malang, Jawa Timur. Bagian tanaman yang digunakan adalah akar, batang, daun, dan biji. Bagian-bagian tersebut dicuci bersih dengan air mengalir kemudian dideklorinasi dengan bantuan oven suhu 40°C selama 3-5 hari dan dihaluskan menjadi bentuk serbuk. Serbuk yang sudah siap kemudian dianalisis kadar airnya menggunakan *Moisture Content Analyzer*.

Bahan kimia yang digunakan meliputi: etanol teknis 96%, metanol (*hypergrade for UPLC*), asam format (*ultrapure for UPLC*), asetonitril (*hypergrade for UPLC*), dan *water injection 0.05% for UPLC*.

Alat-alat penelitian yang digunakan adalah *Ultrasonic Cleaner* (Sonica), *Rotary Evaporator* (Heidolph), dan instrument UPLC-MS dengan spesifikasi seperti tercantum pada tabel 1.

Analisis menggunakan instrumen UPLC-MS dilakukan di Laboratorium Forensik, Badan Riset dan Kriminal Kepolisian Republik Indonesia, Jakarta Timur.

### 2.2. Ekstraksi

Serbuk simplisia diekstraksi dengan etanol 96% dengan perbandingan 1:20 (b/v) menggunakan bantuan gelombang ultrasonik selama 6 menit. Selanjutnya, hasil ekstraksi disaring dan filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Setelah terbentuk ekstrak yang sedikit kental,

ekstrak dipindahkan ke dalam cawan porselen dan dimasukkan ke dalam oven sampai terbentuk ekstrak kental dengan konsistensi seperti pasta. Selanjutnya, ekstrak ditimbang  $\pm 10$  mg, dimasukkan ke dalam tabung *ependorff* dan siap digunakan untuk analisis selanjutnya.

### 2.3. Metabolite Profiling Menggunakan UPLC-MS

Ditimbang dengan seksama 10,00 mg ekstrak akar, batang, daun, dan biji *H. annuus* kemudian dilarutkan dengan metanol ke dalam labu ukur 10 ml. Ekstrak dalam metanol diambil dengan *microsyringe* sebanyak 5  $\mu$ l untuk selanjutnya diinjeksikan ke tempat sampel dan masuk ke dalam kolom UPLC. Replikasi dilakukan sebanyak 4 kali. Sampel yang berupa cairan akan dirubah menjadi butiran tetesan melewati *needle* yang telah diberi muatan ESI positif (+). Ion-ion yang telah dihasilkan oleh detektor selanjutnya akan dipisahkan oleh analisator Q-ToF. Eluen yang digunakan adalah campuran (A) air:asam format (99,9:0,1) dan (B) asetonitril:asam format (99,9:0,1) dengan sistem elusi gradien sebagaimana tercantum pada tabel 2 dengan kecepatan aliran eluen 0,2 ml/menit. Kromatogram dengan senyawa polar akan muncul terlebih dahulu kemudian diikuti oleh senyawa yang kepolarannya lebih rendah. Hasil pemisahan selanjutnya dibaca oleh detektor QToF-MS sehingga menghasilkan puncak kromatogram. Puncak kromatogram kemudian diinterpretasikan menggunakan aplikasi *Masslynx*.

### 2.4. Analisis Data Multivariat PCA

Hasil interpretasi data dari proses pemisahan menggunakan UPLC-MS selanjutnya dianalisis secara multivariat dengan *Principal Component Analysis* (PCA). Analisis data multivariat dibantu oleh *software* Minitab 17.0. Data yang digunakan adalah nama senyawa dan persentase luas area dari keempat organ *H. annuus*. Hasil analisis berupa *score plot* yang digunakan untuk melihat efek pengelompokan, dan *loading plot* yang

**Tabel 1.** Spesifikasi instrumen UPLC-MS

Instrumen	Spesifikasi	Detail
LC System	ACQUITY UPLC H-Class system (Waters, USA)	UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography)
LC Column	ACQUITY UPLC BEH C18 (1.8 $\mu$ m 2.1 x 50 mm; Waters, USA)	UPLC Column BEH (Ethylene Bridge Hybride)
Mass Spectrometer	Xevo G2-S QToF (Waters, USA)	Quadropole time-of-flight mass spectrometry

**Tabel 2.** Rasio pelarut yang digunakan pada sistem elusi gradien

Waktu (menit)	Campuran A (%)	Campuran B (%)
0,00	95,0	5,0
2,00	75,0	25,0
3,00	75,0	25,0
14,00	0,0	100,0
15,00	0,0	100,0
19,00	95,0	5,0
23,00	95,0	5,0

**Tabel 3.** Rendemen ekstrak *Helianthus annuus*

No.	Organ tanaman	Berat Serbuk (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)
1.	Akar	15,0051	1,5850	10,56
2.	Batang	77,6125	4,3180	5,56
3.	Daun	58,2447	6,8776	11,81
4.	Biji	70,0309	2,9310	4,19

digunakan untuk menemukan senyawa penciri.

### 3. Hasil dan pembahasan

#### 3.1. Ekstraksi Menggunakan Metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE)

Proses ekstraksi pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% karena etanol 96% lebih optimal menarik kandungan senyawa di dalam sel tanaman daripada etanol 70%. Selain itu, campuran etanol dan air merupakan pelarut yang sesuai digunakan untuk menarik senyawa non polar dan polar. Proses ekstraksi dilakukan selama 2 menit dengan tiga kali pengulangan, agar senyawa yang tertarik lebih maksimal daripada hanya satu kali ekstraksi. Selain itu, selama proses ekstraksi penggunaan pelarut dibagi menjadi tiga bagian. Ketika satu bagian pelarut sudah jenuh selanjutnya difiltrasi

untuk memisahkan residu dengan filtrat, residu ditambah pelarut bagian kedua kemudian diekstraksi kembali. Ketika pelarut sudah jenuh kemudian diganti dengan pelarut baru, maka kandungan senyawa yang tertarik lebih optimal daripada tidak ada penggantian pelarut.

Proses ekstraksi menggunakan metode UAE menghasilkan ekstrak berwarna hijau muda pada bagian akar, warna coklat pada bagian biji, warna kuning pada bagian batang, dan hijau tua pada bagian daun. Selanjutnya, filtrat yang telah dipisahkan dengan residu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* untuk menghilangkan pelarut yang masih terkandung di dalam sampel. Prinsip kerja dari *rotary evaporator* adalah penguapan pelarut di bawah tekanan normal [11].

Ekstrak pekat yang dihasilkan dari proses evaporasi selanjutnya dimasukkan ke dalam cawan

dan dioven dengan suhu 40°C sampai didapat ekstrak kental menyerupai pasta (gambar 1). Ekstrak akar dan daun berwarna hijau sedangkan ekstrak batang dan biji berwarna kuning kecoklatan, namun ekstrak bagian biji terlihat memisah menjadi dua fase yaitu minyak yang berwarna kuning jernih dan ekstrak yang berwarna kecoklatan keruh.

Selanjutnya, dihitung rendemen ekstrak kental yang diperoleh. Rendemen adalah perbandingan bobot (kuantitas) ekstrak yang dihasilkan terhadap bobot simplisia yang diekstraksi. Rendemen ekstrak dapat digunakan sebagai parameter mutu ekstrak yang telah dibuat. Rendemen dari masing-masing ekstrak *H. annuus* disajikan dalam tabel 3.

Berdasarkan tabel 3 tersebut dapat diketahui rendemen ekstrak kental dari organ *H. annuus* sangat bervariasi, dimana nilai tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak daun, sedangkan terendah terdapat pada ekstrak biji. Keragaman nilai rendemen dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain, varietas tanaman, umur tanaman, proses pemeliharaan tanaman, faktor lingkungan tempat tumbuh tanaman, proses panen, dan proses pengolahan tanaman [12].

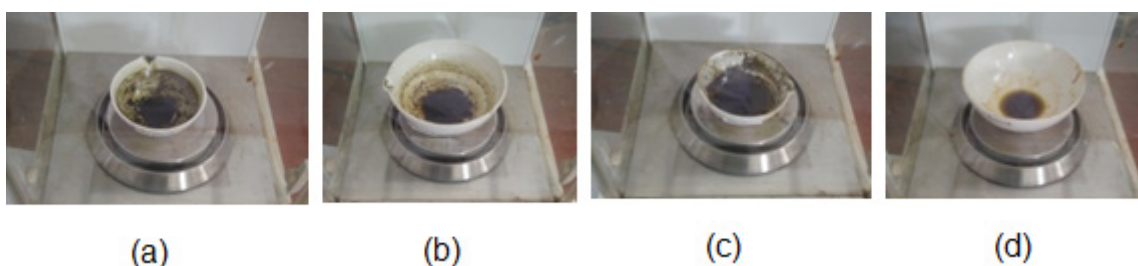
Perbedaan organ pada *H. annuus* dapat menyebabkan perbedaan rendemen ekstrak yang diperoleh dan ada kemungkinan metabolit sekunder pada tiap organ juga berbeda. Metabolit sekunder merupakan senyawa aktif dari tanaman yang memegang peranan penting pada biosintesis dan biodegradasi [13]. Senyawa tersebut terakumulasi pada berbagai tahap pertumbuhan dan tingkat akumulasi berbeda pada berbagai tahap

pertumbuhan. Senyawa yang terakumulasi pada bagian organ di dalam tanah akan berbeda jumlahnya dengan yang terakumulasi pada bagian organ yang tumbuh di atas tanah. Bagian dari tanaman yang berbeda mengandung senyawa kimia yang berbeda pula [14].

### 3.2. Analisis Profil Metabolit Menggunakan UPLC-MS

Analisis profil metabolit *H. annuus* pada penelitian ini menggunakan UPLC-MS. UPLC merupakan salah satu teknik perkembangan kromatografi cair yang digunakan untuk segregasi komponen yang berbeda pada suatu campuran dengan tingkat molekuler mencapai dua mikron partikel analit. Metode analisis menggunakan UPLC dapat mereduksi konsumsi fase gerak sampai dengan 80% dalam waktu yang relatif lebih singkat sekitar 1,5 menit daripada menggunakan HPLC. UPLC-MS yang digunakan pada penelitian ini menggunakan detektor MS dengan sumber ion ESI (+) dan analisator MS berupa Q-ToF. Instrumen tersebut memiliki beberapa keunggulan, yaitu selektif dan sensitif dengan performa resolusi yang tinggi dan cepat sehingga waktu analisis lebih cepat [15].

Analisis profil metabolit *H. annuus* diawali dengan menginjeksikan sampel, kemudian sampel akan memasuki kolom sehingga terjadi proses pemisahan komponen metabolit. Pada penelitian ini fase diam yang digunakan adalah kolom C18 atau oktadesil silika. Kelebihan oktadesil silika sebagai fase diam adalah fase ini mampu memisahkan senyawa-senyawa mulai dari kepolaran yang rendah, sedang, sampai tinggi [16].



**Gambar 1.** Ekstrak akar (a), batang (b), daun (c), dan biji (d) *H. annuus*

Eluen yang digunakan adalah campuran air:asam format (99,9:0,1) (v:v) dan asetonitril:asam format (99,9:0,1) (v:v) dengan sistem elusi gradien, yaitu sistem elusi dimana eluen yang digunakan berubah-ubah komposisinya setiap waktunya. Campuran air dan asam format dengan asetonitril dan asam format merupakan campuran eluen yang memudahkan proses pemisahan di dalam kolom dalam kurun waktu yang cepat yaitu kurang dari 10-15 menit [17]. Kromatogram dengan senyawa polar akan muncul terlebih dahulu kemudian diikuti oleh senyawa yang kepolarannya lebih rendah. Selanjutnya, hasil eluasi dalam kolom menuju ke detektor MS sehingga hasil dapat dibaca dengan mudah.

Sampel yang berupa cairan akan dirubah menjadi tetesan-tetesan kemudian melewati *needle* yang telah diberi muatan ESI (+) menghasilkan ion yang akan dibaca oleh detektor MS. Ion-ion yang telah dihasilkan oleh detektor MS selanjutnya akan dipisahkan oleh analisator Q-ToF. Hasil pemisahan akan muncul sebagai kromatogram yang kemudian diolah menggunakan aplikasi *Masslynx 4.1* sehingga dapat diketahui spektra dari tiap puncak kromatogram [18]. Gambar 2 merupakan kromatogram hasil analisis profil metabolit *H. annuus*.

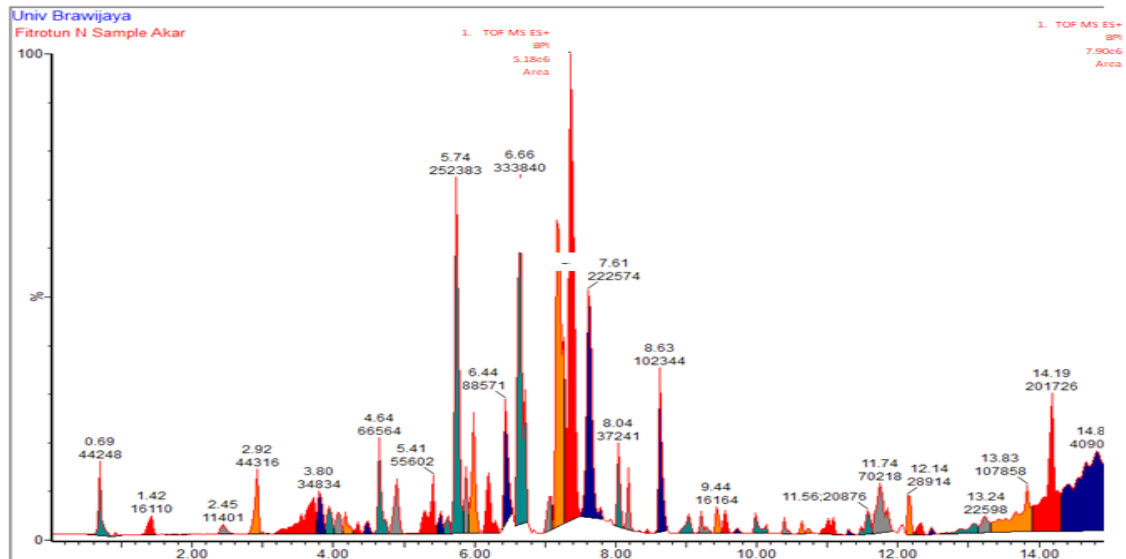
Kromatogram tersebut kemudian diolah menggunakan aplikasi *Masslynx 4.1* sehingga dapat diketahui dan dapat diprediksi rumus molekul tiap senyawa. Setiap satu puncak kromatogram mengindikasikan satu senyawa. Berdasarkan nilai *measured mass* dan *calculated mass* pada spektra maka dapat diketahui prediksi rumus molekul dari spektra tersebut. Nilai dari *measured mass* dan *calculated mass* juga harus dikurangi massa 1 atom H yaitu 1,0078 disebabkan pada saat pemisahan menggunakan kolom terjadi penambahan atom H yang berasal dari penembakan ion ESI (+). Prediksi rumus molekul yang muncul pada data kemudian dipilih yang selisih antara *measured mass* dan *calculated mass*  $\pm 0,0005$ . Prediksi rumus molekul yang telah dipilih selanjutnya dicari dengan bantuan *website*

*chemspider.com*. Rumus molekul yang ditulis pada *website* ini harus dikurangi 1 atom H terlebih dahulu disebabkan pada proses pemisahan terjadi penambahan 1 atom H yang berasal dari penembakan ion ESI (+). Setelah pencarian selesai maka dipilih nomer ID senyawa berdasarkan banyaknya publikasi, kemudian dipilih nama ADC/IUPAC untuk selanjutnya di-*convert* menggunakan aplikasi *Chemdraw Ultra 12.0* sehingga dapat diketahui struktur dari senyawa yang diinginkan.

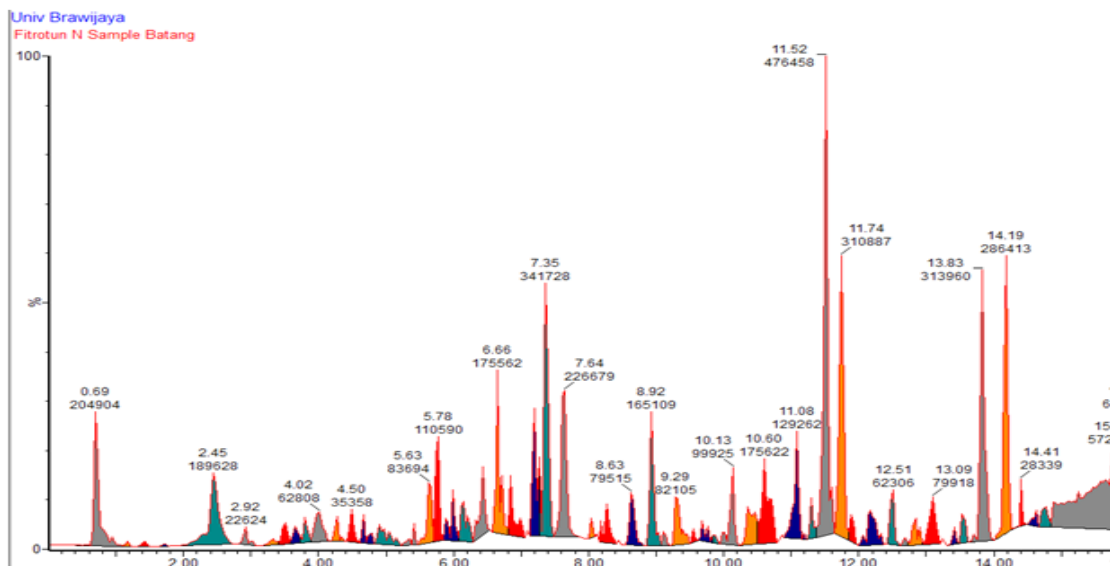
Berdasarkan data hasil interpretasi analisis kandungan senyawa menggunakan UPLC-QToF-MS tersebut dapat diketahui bahwa terdapat 38 senyawa pada ekstrak akar, 38 senyawa pada ekstrak batang, 37 senyawa pada ekstrak daun, dan 29 senyawa pada ekstrak biji (tabel 4-tabel 7).

Berdasarkan data tersebut diketahui terdapat perbedaan profil metabolit pada akar, batang, daun, dan biji *H. annuus* ditandai dengan adanya perbedaan jenis senyawa yang terkandung pada masing-masing organ. Berdasarkan hasil interpretasi data yang telah diperoleh dapat diketahui beberapa senyawa mayor, yaitu senyawa yang memiliki persentase area lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa yang lain. Senyawa mayor pada *H. annuus* adalah sebagai berikut sedangkan spektra dan struktur kimia masing-masing senyawa dapat dilihat pada gambar 3-gambar 6.

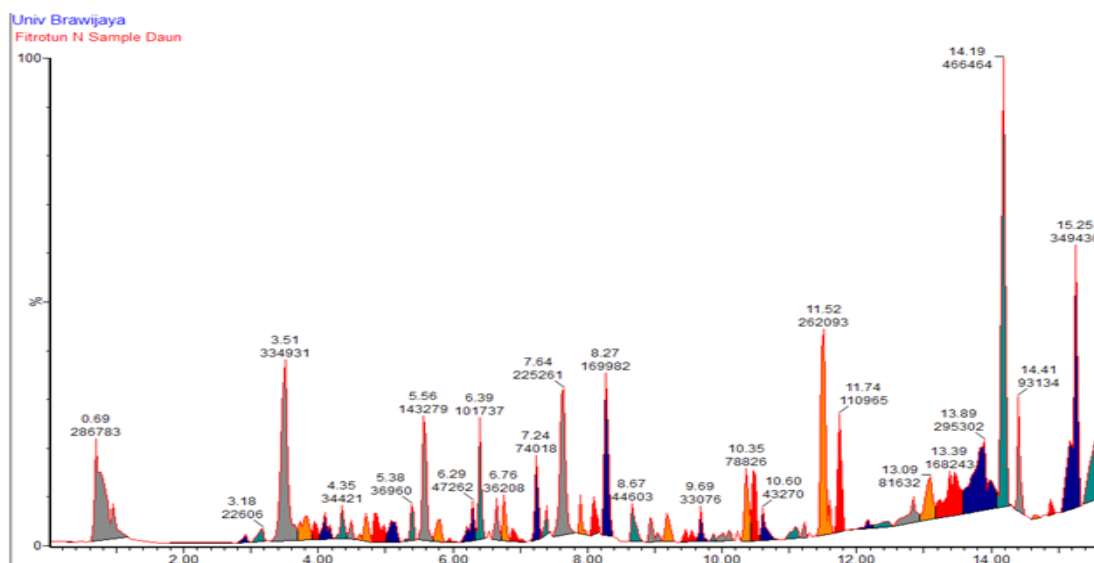
1. Senyawa mayor pada akar adalah Methyl N-({1-[(2,4-diamino-6-pteridinyl)methyl]-2,3-dihydro-1H-indol-5-yl}carbonyl)-5-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-isoindol-2-yl)norvalinate sebesar 5,9490%.
2. Senyawa mayor pada batang adalah N-[(3-{2-[(1S,5S,8aR)-5-(Methoxycarbonyl)-5,8a-dimethyl-2-methylenedecahydro-1-naphthalenyl]ethyl}-2-furyl)methyl]alanine sebanyak 5,5558%.
3. Senyawa mayor pada daun adalah N,N-Dodecyl-1-dodecanamine sebanyak 8,6758%.
4. Senyawa mayor pada bagian biji adalah N,N-Didecyl-2-hydroxypropanamide sebanyak 9,2157%.



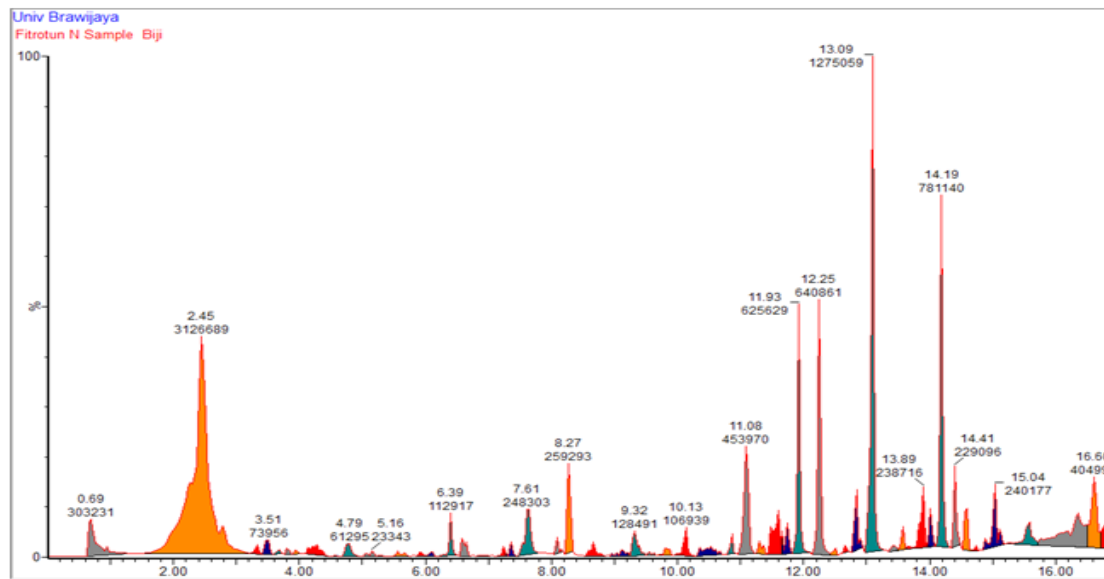
(a)



(b)

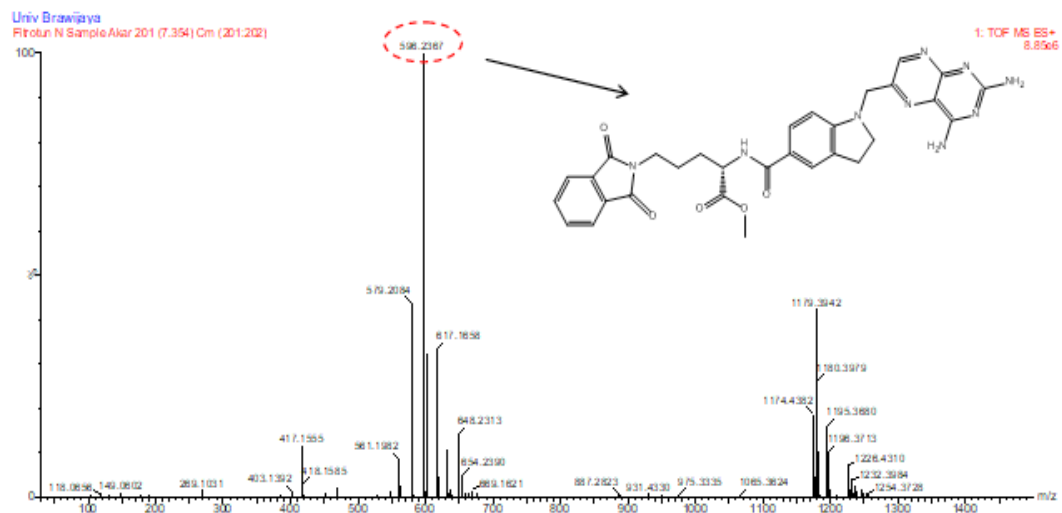


(c)

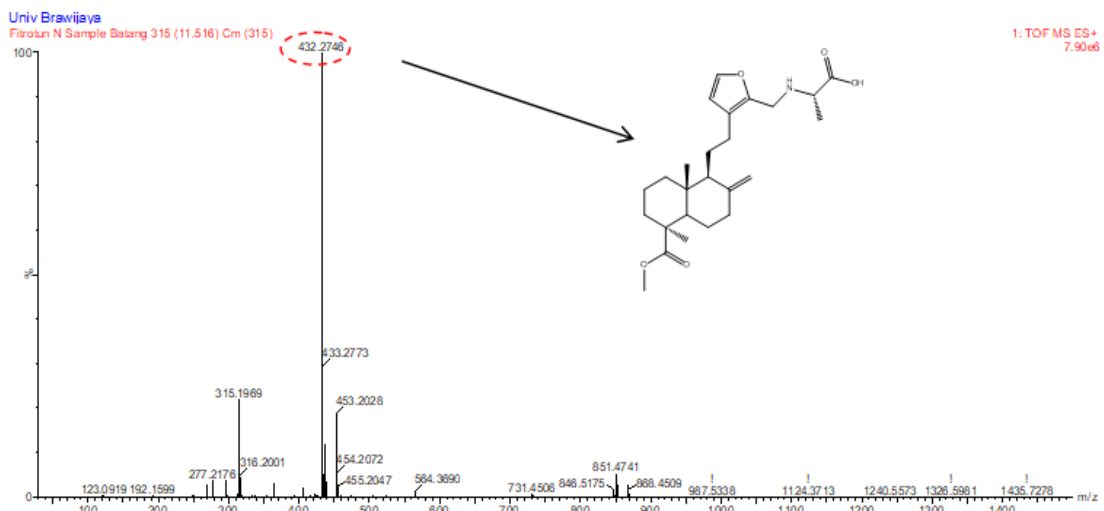


(d)

Gambar 2. Kromatogram UPLC-MS ekstrak akar (a), batang (b), daun (c), dan biji (d) *H. annuus*

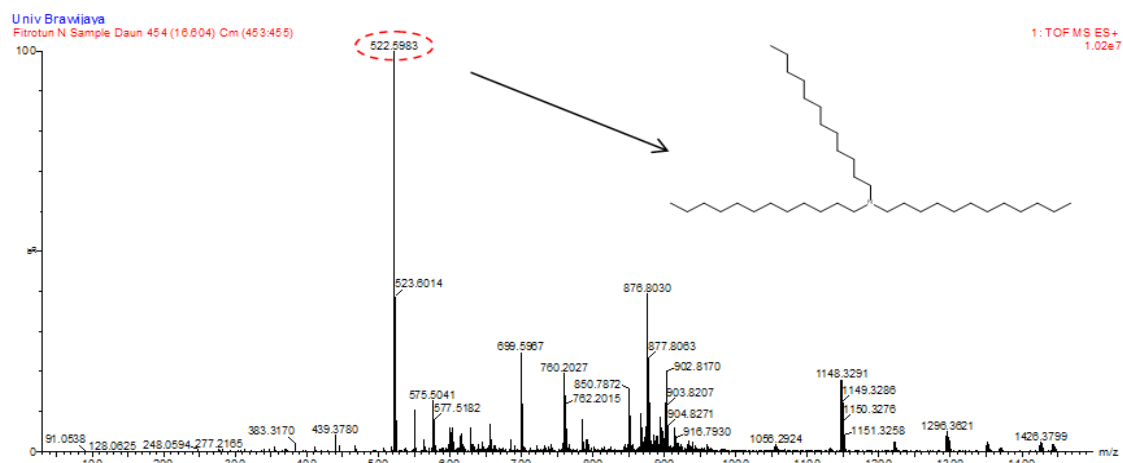


Gambar 3. Spektra dan struktur kimia senyawa mayor pada akar *H. annuus*

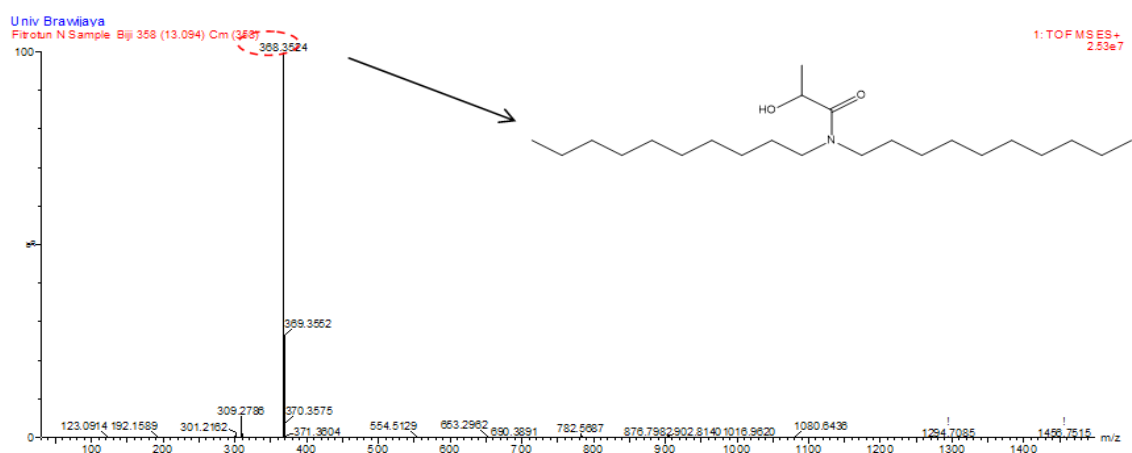


Gambar 4. Spektra dan struktur kimia senyawa mayor pada batang *H. annuus*





Gambar 5. Spektra dan struktur kimia senyawa mayor pada daun *H. annuus*



Gambar 6. Spektra dan struktur kimia senyawa mayor pada biji *H. annuus*

### 3.3. Analisis Multivariat Principal Component Analysis (PCA)

Analisis komponen utama pada dasarnya merupakan teknik reduksi data multivariat, ketika antar variabel terjadi korelasi. Sampel dengan komponen utama yang hampir sama mempunyai sifat fisika-kimia yang hampir sama. Sehingga PCA dapat digunakan untuk pengelompokan [10].

Hasil visualisasi PCA dapat ditampilkan melalui *score plot* dan *loading plot*. *Score plot* menggambarkan kedekatan antar objek (sampel) sedang *loading plot* menggambarkan tentang hubungan antar variabel, yaitu variabel asli dan variabel baru. *Loading plot* memberikan indikasi variabel asli mana yang sangat penting dan dapat mempengaruhi pembentukan variabel

baru. Semakin tinggi nilai *loading plot* dari suatu variabel, maka semakin besar pengaruh variabel tersebut dalam pembentukan *principle component score* [11].

Tujuan PCA adalah untuk menjelaskan bagian dari variasi dalam kumpulan variabel yang diamati atas dasar beberapa dimensi. Dari variabel yang banyak dirubah menjadi sedikit variabel. Tujuan khusus PCA yaitu untuk meringkas pola korelasi antar variabel yang diobservasi, mereduksi sejumlah besar variabel menjadi sejumlah kecil faktor, memberikan sebuah definisi operasional (sebuah persamaan regresi) dimensi pokok penggunaan variabel yang diobservasi serta menguji teori yang mendasarinya [12].

Hasil analisis menggunakan PCA berupa keragaman (*variance*), *score plot*, dan *loading*

**Tabel 4.** Hasil interpretasi data *metabolite profiling* ekstrak akar *H. annuus* menggunakan UPLC-MS

No.	Rt (min.)	Measured Mass	Calculated Mass	Formula	Nama Senyawa
1.	0,1528	-	-	-	Unknown
2.	0,4785	-	-	-	Unknown
3.	0,6292	380,0716	380,0712	C13H20N2O7S2	[(3-Methyl-4-nitrosophenyl)imino]di-2,1-ethanediyil dimethanesulfonate
4.	1,1350	120,0324	120,0324	C6H4N2O	2-hydroxynicotinonitrile
5.	1,4200	444,1251	444,1256	C24H20N4O3S	4-[[[3-(4-Methylphenyl)-4-oxo-3,4-dihydro-2-quinazoliny]sulfonyl]acetyl]amino] benzamide
6.	1,7520	120,0322	120,0324	C6H4N2O	2-hydroxynicotinonitrile
7.	1,8660	120,0322	120,0324	C6H4N2O	2-hydroxynicotinonitrile
8.	2,4490	265,1308	265,1306	C9H21N5O2Cl	Unknown
9.	2,9180	472,1190	472,1186	C20H31O6Cl3	4-Heptylphenyl hexopyranoside - chloroform (1:1)
10.	3,7300	431,2729	431,2731	C18H41NO10	Unknown
11.	3,7990	475,2986	475,2988	C33H37N3	4-{Bis[4-(1-pyrrolidiny)phenyl]methyl}-N,N-dimethyl-1-naphthalenamine
12.	3,9470	519,3243	519,3243	C27H45N5O3S	4-Amino-N3,N5-dicyclohexyl-N5-{1-[(3-methylbutyl)amino]-1-oxo-2-pentanyl}-1,2-thiazole-3,5-dicarboxamide
13.	4,0610	557,1741	557,1737	C24H36N3O7Br	2-{4-[4-(Allyloxy)-3-bromo-5-ethoxybenzyl]-1-piperaziny]-N-(2-methyl-2-propanyl) acetamide ethanedioate (1:1)}
14.	4,1640	448,1014	448,1011	C22H21N6Br	3-Bromo-5-phenyl-N-[[6-(1-pyrrolidiny)-3-pyridiny]methyl]pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-amine
15.	4,3470	602,1987	602,1983		Unknown
16.	4,4960	548,1491	548,1495	C28H26N6O2Cl2	1-(3,4-Dichlorophenyl)-3-[[[4,6-dimethyl-2-pyrimidinyl]amino][4-(2-phenylethoxy) phenyl]amino]methylene)urea
17.	4,6450	542,1992	542,1987	C30H30N4O4S	Unknown
18.	4,8960	532,1568	532,1568	C23H20N10O6	3,5-Bis[[4-amino-6-(2-furylmethyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-triazin-3-yl]amino] benzoic acid
19.	5,1590	120,0322	120,0324	C4H4N2O	2-hydroxynicotinonitrile
20.	5,4110	526,2081	526,2077	C27H26N8O4	3,5-Bis[[4-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)phenyl]carbamoyl]amino]benzoic acid
21.	5,5250	576,1481	576,1479	C37H28O14	2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-8-hydroxy-4-oxo-3,4-dihydro-2H-chromen-7-yl 2,4,6-tri-O-acetyl-β-D-glucopyranoside
22.	5,7420	510,1749	510,1751	C25H26N4O8	2-[[6-Amino-1-benzyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-5-pyrimidinyl](2-methoxyethyl) amino]-2-oxoethyl 2,3-dihydro-1,4-benzodioxine-6-carboxylate
23.	5,8910	552,1846	552,1843	C26H32O13	Methyl (1S,4aS,5R,7S,7aS)-1-(β-D-glucopyranosyloxy)-7-hydroxy-5-[[[2E]-3-(4-hydroxyphenyl)-2-propenoyl]oxy]-7-methyl-1,4a,5,6,7,7a-hexahydrocyclopenta[c] pyran-4-carboxylate
24.	5,9940	536,1888	536,1892	C25H35N6O5Cl2	Unknown
25.	6,2110	594,1967	594,1962	C29H30N4O10	2-Methoxy-4-[(E)-{(4-[[3-nitrobenzoyl]amino]butanoyl)hydrazono)methyl]phenyl 3,4,5-trimethoxybenzoate
26.	6,4400	536,1905	536,1907	C27H28N4O8	Ethyl (2Z)-1-(2-methoxyethyl)-5-oxo-2-[[3,4,5-trimethoxybenzoyl]imino]-1,5-dihydro-2H-dipyrido[1,2-a:2',3'-d]pyrimidine-3-carboxylate
27.	6,6570	536,1886	536,1882	C31H28N4O3S	2-[(1-Benzyl-1H-benzimidazol-2-yl)sulfonyl]-N'-{(E)-[4-(benzyloxy)-3-methoxyphenyl]methylene}acetohydrazide
28.	7,0570	639,2172	639,2167	-	Unknown
29.	7,1710	595,2271	595,2267	C34H29N9S	9-Phenyl-8-[4-[(4-[3-(2-pyridiny)-1H-1,2,4-triazol-5-yl]-1-piperidiny)methyl]phenyl][1,2,4]triazolo[3,4-f][1,6]naphthyridine-3(2H)-thione
30.	7,3540	595,2289	595,2292	C30H29N9O5	Methyl N-((1-[(2,4-diamino-6-pteridiny)methyl]-2,3-dihydro-1H-indol-5-yl) carbonyl)-5-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-isoindol-2-yl)norvalinate
31.	7,6060	258,1480	258,1476	C14H26S2	1,4-Dithiaspiro[4.11]hexadecane
32.	8,0400	675,2202	675,2205	-	Unknown
33.	8,1890	631,2284	631,2279	C32H33N5O9	N-(4-[[[(6S)-2-Methyl-4-oxo-4,6,7,8-tetrahydro-1H-cyclopenta[g]quinazolin-6-yl] (2-propyn-1-yl)amino]benzoyl]-L-γ-glutamyl-D-glutamic acid
34.	8,3370	244,0734	244,0736	C14H12O4	1,4-Naphthalenediyil diacetate
35.	8,4520	637,2946	637,2946	C34H39N9O2S	2-[[3-[4-(4-Benzyl-1-piperaziny)phenyl]-3H-[1,2,3]triazolo[4,5-d]pyrimidin-5-yl] amino]-N-cyclohexyl-N-methylbenzenesulfonamide
36.	8,6350	687,2530	687,2527	C34H41N14	3-Acetyl-3,5,12-trihydroxy-10-methoxy-6,11-dioxo-1,2,3,4,6,11-hexahydro-1-tetraceny 3-amino-4-0-[1-(1-carboxyethoxy)-3-hydroxybutyl]-2,3,6-trideoxyhexopyranoside
37.	9,0350	723,3300	723,3297	C37H57N10S3	Unknown
38.	9,2180	272,1403	272,1404	C12H21N4Ocl	1-[1-(6-Ethoxy-4-pyrimidinyl)-4-piperidiny]methanamine hydrochloride (1:1)
39.	9,4350	241,2772	241,2770	C16H35N	1-Hexadecanamine
40.	9,5490	809,3684	809,3684	C36H59N19	Unknown

No.	Rt (min.)	Measured Mass	Calculated Mass	Formula	Nama Senyawa
41.	9,7320	287,2827	287,2825	C17H37NO2	2-Amino-2-tetradecyl-1,3-propanediol
42.	9,9840	895,4058	895,4059	C62H57NO3S	Unknown
43.	10,3840	981,4466	981,4466	C63H59N5O6	Unknown
44.	10,6470	218,1673	218,1671	C15H22O	(4R,4aS,6R)-6-Isopropenyl-4,4a-dimethyl-4,4a,5,6,7,8-hexahydro-2(3H)-naphthalenone
45.	11,0810	519,3319	519,3322	C29H41N7O2	3-[(4-Cyclohexyl-1-piperazinyl)(1-cyclohexyl-1H-tetrazol-5-yl)methyl]-6-ethoxy-2(1H)-quinolinone
46.	11,2990	294,2191	294,2195	C18H30O3	(10E,12E)-9-Oxo-10,12-octadecadienoic acid
47.	11,5620	495,3334	495,3329	C20H41N13S	Unknown
48.	11,7450	300,1349	319,2148	C19H29NO3	N-[2-(2,2-Dimethyltetrahydro-2H-pyran-4-yl)ethyl]-N-(4-methoxybenzyl)acetamide
49.	12,1450	319,2149	319,2148	C19H29NO3	N-[2-(2,2-Dimethyltetrahydro-2H-pyran-4-yl)ethyl]-N-(4-methoxybenzyl)acetamide
50.	12,3280	401,3511	-	-	Unknown
51.	12,4760	283,3241	283,3239	C19H41N	N-Methyl-1-octadecanamine
52.	13,0590	607,5553	607,5548	C4H4N4OS2Cl3Br4	Unknown
53.	13,2420	607,5538	607,5540	C38H73NO4	(2R)-N-[(2S,3R,4E,13Z)-1,3-Dihydroxy-4,13-docosadien-2-yl]-2-hydroxyhexadecanamide
54.	13,8250	281,2712	-	-	Unknown
55.	14,1910	592,2692	592,2687	-	Unknown
56.	14,8090	875,7937	875,7938	C35N8O0S3Cl3	Unknown
57.	15,7690	662,4464	662,4468	C36H71N2S3Cl	Unknown
58.	16,3860	549,6213	549,6218	CN6O4S4Cl3Br2	Unknown
59.	16,6040	521,5902	521,5900	C36H75N	N,N-Didodecyl-1-dodecanamine
60.	17,3350	875,7953	875,7953	-	Unknown
61.	18,9480	166,0051	166,0046	-	2-Chloropteridine

**Tabel 5.** Hasil interpretasi data *metabolite profiling* ekstrak akar *H. annuus* menggunakan UPLC-MS

No.	Rt (min.)	Measured Mass	Calculated Mass	Formula	Nama Senyawa
1.	0,1528	-	-	-	Unknown
2.	0,2479	-	-	-	Unknown
3.	0,4785	-	-	-	Unknown
4.	1,1690	267,0957	267,0954	C9H17NO8	(6R)-5-Amino-3,5-dideoxy-6-[(1R,2R)-1,2,3-trihydroxypropyl]- $\alpha$ -L-threo-hex-2-ulopyranosonic acid
5.	1,4200	444,1258	444,1253	C17H30N2O5SCl2	Methyl (5R)-5-[(1S,2S)-2-chloro-1-[[[(2S,4R)-1-chloro-4-ethyl-2-piperidinyl]carbonyl]amino]propyl]-1-thio- $\beta$ -L-arabinopyranoside
6.	1,7180	368,1085	368,1081	C13H16N6O7	2,4,6-Trinitrophenol - 4,4,6-trimethyl-1,4-dihydro-2-pyrimidinamine (1:1)
7.	2,4490	265,1315	265,1314	C14H19O4	N-(4-Methoxybenzoyl)leucine
8.	2,9180	472,1168	472,1163	C23H17N8O2Cl	3-(5-Chloro-1-methyl-1H-indol-3-yl)-4-{1-[2-(2H-tetrazol-5-yl)ethyl]-1H-indazol-3-yl}-1H-pyrrole-2,5-dione
9.	3,3300	341,1621	341,1624	H20N17O3Cl	Unknown
10.	3,5130	452,2015	452,2020	C19H28N6O7	Arginyltyrosylaspartic acid
11.	3,6500	431,2716	431,2713	C15H41N7O3S2	Unknown
12.	3,7980	475,3006	475,3006	C21H41N5O7	(1S,2S,3R,4S,6R)-4-Amino-3-[[[(2S,3R)-3-amino-6-(aminomethyl)-3,4-dihydro-2H-pyran-2-yl]oxy]-6-(ethylamino)-2-hydroxycyclohexyl 3-deoxy-4-C-methyl-3-(methylamino)- $\beta$ -L-arabinopyranoside
13.	4,0160	539,2373	539,2376	C27H41N6O6S2	Unknown
14.	4,2790	537,2223	537,2219	C27H39N6O6S2	{3-[(4R,5R)-3,3-Dibutyl-7-(dimethylamino)-4-hydroxy-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahydro-1-benzothiepin-5-yl]phenyl}methanesulfonic acid
15.	4,4960	428,1453	428,1458	C20H16N10O2	N-[(2-[(3-Phenyl[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)oxy]ethyl)-6-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)-3-pyridazinecarboxamide
16.	4,6790	542,2000	542,2000	C25H34O13	4,4'-[1,2-Ethanediy]bis(1H-benzimidazole-1,2-diyl)]bis(1,2,5-oxadiazol-3-amine)
17.	4,8960	510,1730	510,1726	C29H26N4O3S	5-Cyano-6-[(2-[(4-methoxyphenyl)amino]-2-oxoethyl)sulfanyl]-2-methyl-N,4-diphenyl-1,4-dihydro-3-pyridinecarboxamide
18.	5,4110	526,2063	526,2064	C26H30N4O8	Methyl 4-[(4-hydroxy-1-[3-(4-morpholinyl)propyl]-2-(3-nitrophenyl)-5-oxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-3-yl]carbonyl]-3,5-dimethyl-1H-pyrrole-2-carboxylate

No.	Rt (min.)	Measured Mass	Calculated Mass	Formula	Nama Senyawa
19.	5,6280	606,2064	606,2061	C28H34N2O13	(4S,4aS,5aS,6S,12aS)-4-(Dimethylamino)-10-(β-D-galactopyranosyloxy)-3,6,12,12a-tetrahydroxy-6-methyl-1,11-dioxo-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahydro-2-tetracene-carboxamide
20.	5,7760	510,1738	510,1738	C24H30O12	2-Methoxy-4-propionylphenyl 2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranoside
21.	5,9940	536,1907	536,1907	C27H28N4O8	Ethyl (2Z)-1-(2-methoxyethyl)-5-oxo-2-[(3,4,5-trimethoxybenzoyl)imino]-1,5-dihydro-2H-dipyrido[1,2-a:2',3'-d]pyrimidine-3-carboxylate
22.	6,1420	604,1929	604,1925	C22H28N12O7S	2-[6-amino-9-[(2R,3S,5R)-5-(aminomethyl)-3,4-dihydroxy-tetrahydrofuran-2-yl]purin-8-yl]sulfanyl-N-[(2R,4S,5R)-5-(6-aminopurin-9-yl)-3,4-dihydroxy-tetrahydrofuran-2-yl]methyl]acetamide
23.	6,4400	606,2084	606,2080	C14H26N18O10	Unknown
24.	6,6570	536,1904	536,1907	C27H28N4O8	Ethyl (2Z)-1-(2-methoxyethyl)-5-oxo-2-[(3,4,5-trimethoxybenzoyl)imino]-1,5-dihydro-2H-dipyrido[1,2-a:2',3'-d]pyrimidine-3-carboxylate
25.	6,8400	832,2913	832,2912	C61H40N2S	Unknown
26.	7,2060	595,2243	595,2238	C24H33N7O11	L-Asparaginyl-L-tyrosyl-L-asparaginyl-L-alanyl-L-aspartic acid
27.	7,3540	595,2263	595,2265	C28H37N13O13	(5R)-1,2,3,4,5-Penta-O-acetyl-5-C-[(1S)-2-acetyl-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydro-1-isoquinolinyl]-D-xylitol
28.	7,6400	258,1470	258,1467	C13H22O5	2-Methyl-2-propanyl 3,5-dideoxy-2,4-O-isopropylidene-L-erythro-hexuronate
29.	8,0400	675,2154	675,2152	C37H33N5O6S	3-[[4Z]-1,3-Dioxo-4-[[2-{4-[(8-quinolinyl)oxy]methyl]benzoyl}hydrazino]methylene]-3,4-dihydro-2(1H)-isoquinolinyl]-N,N-diethylbenzenesulfonamide
30.	8,2690	344,0892	344,0896	C18H16O7	2-Methoxyethyl 5-(2-furoyloxy)-2-methyl-1-benzofuran-3-carboxylate
31.	8,6350	687,2545	687,2541	C35H37N5O10	Unknown
32.	8,9210	202,0986	202,0985	C8H15N4Cl	4-(4-Methyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)piperidine hydrochloride (1:1)
33.	9,1040	366,1430	366,1427	C17H22N2O7	Ethyl 1-(4,5-dimethoxy-2-nitrobenzoyl)-4-piperidinecarboxylate
34.	9,2860	396,1539	396,1542	C19H28N2O3S2	Ethyl 2-[[2-(6-dimethyl-4-morpholinyl)carbonothioyl]amino]-5,6,7,8-tetrahydro-4H-cyclohepta[b]thiophene-3-carboxylate
35.	9,5490	809,3701	809,3702	C28H43N25O3S	Unknown
36.	9,6870	391,2358	391,2359	C22H33NO5	(1aR,2S,5aR,6aR,9aR,9bS)-9-(1,4-Dioxo-8-azaspiro[4.5]dec-8-ylmethyl)-2,5a-dimethyloctahydro-2H-oxireno[4,4a]naphtho[2,3-b]furan-8(9H)-one
37.	9,8350	492,2722	492,2723	C27H41O8	(3α,5β,7α,12α)-3,7,12-Tris(formyloxy)cholan-24-oic acid
38.	10,1320	410,1714	410,1716	C21H18N10	1-(1H-Benzotriazol-1-yl)-N,N-bis(1H-benzotriazol-1-ylmethyl)methanamine
39.	10,3500	276,2089	276,2089	C18H28O2	12-Phenyldodecanoic acid
40.	10,6010	298,1927	298,1924	C15H27N4Cl	1-[(5-Chloro-3-ethyl-1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)methyl]-N,N-dimethyl-4-azepanamine
41.	11,0810	519,3334	519,3329	C7H37N25O5	Unknown
42.	11,2990	276,2106	-	-	Unknown
43.	11,5160	431,2668	431,2672	C25H37NO5	N-[(3-{2-[(1S,5S,8R)-5-(Methoxycarbonyl)-5,8a-dimethyl-2-methylenedecahydro-1-naphthalenyl]ethyl}-2-furyl)methyl]alanine
44.	11,7450	433,2827	433,2828	C25H39NO5	2-[3-(2,2-Dimethyltetrahydro-2H-pyran-4-yl)-6-methylheptyl]isoindoline ethanedioate (1:1)
45.	11,8820	521,3471	521,3470	C24H44N11Cl	Unknown
46.	12,1790	319,2149	319,2148	C19H29NO3	N-[2-(2,2-Dimethyltetrahydro-2H-pyran-4-yl)ethyl]-N-(4-methoxybenzyl)acetamide
47.	12,5110	323,2834	323,2831	C13H37N7S	Unknown
48.	12,6940	292,2403	292,2403	C19H32O2	(3α,5α,9ξ,14ξ,17α)-Androstane-3,17-diol
49.	12,8420	341,3287	-	-	Unknown
50.	13,0940	300,2095	300,2090	C20H28O2	(5ξ)-Abieta-8,11,13-trien-18-oic acid
51.	13,5280	255,2565	255,2562	C16H33NO	Palmitamide
52.	13,8250	281,2719	281,2719	C18H35NO	1-Dodecyl-2-azepanone
53.	14,1910	592,2695	592,2699	C36H32N8O	1-(1-{4-[6-(1-Methyl-1H-tetrazol-5-yl)-3-phenyl-2-quinolinyl]benzyl}-4-piperidinyl)-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one
54.	14,4090	592,2713	592,2708	C7H38N24O2CSi2	Unknown
55.	14,6260	875,7958	875,7958	C24H1N4O27S2Cl	Unknown

Tabel 6. Hasil interpretasi data *metabolite profiling* ekstrak daun *H. annuus* menggunakan UPLC-MS

No.	Rt (min.)	Measured Mass	Calculated Mass	Formula	Nama Senyawa
1.	2,0840	120,0317	-	-	Unknown
2.	2,4150	120,0323	120,0324	C6H4N2O	2-hydroxynicotinonitrile
3.	2,9180	468,1938	468,1937	C30H28O5	3-(3,4-Dihydro-2H-1,5-benzodioxepin-7-yl)-6-ethyl-2-methyl-7-[(4-vinylbenzyl)oxy]-4H-chromen-4-one
4.	3,1810	396,1405	396,1407	C16H16N10O3	1-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-5-[(dimethylamino)methyl]-N'-(2-oxo-2H-indol-3-yl)-1H-1,2,3-triazole-4-carbohydrazide
5.	3,5130	447,2474	447,2469	C21H37NO9	(2S)-2-Hydroxy-2-[(2R,5R,6R)-2-methoxy-5,6-dimethyl-4-methylenetetrahydro-2H-pyran-2-yl]-N-[(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trimethoxy-6-(methoxymethyl)tetrahydro-2H-pyran-2-yl]acetamide

No.	Rt (min.)	Measured Mass	Calculated Mass	Formula	Nama Senyawa
6.	3,8330	475,2990	475,2993	C20H45NO11	Unknown
7.	3,9470	519,3250	519,3252	C22H49NO12	Unknown
8.	4,0960	367,2344	367,2359	C20H33NO5	(1aR,2S,5aR,6aR,9aR,9bS)-9-[[[2,2-Dimethoxyethyl](methyl)amino]methyl]-2,5a-dimethyloctahydro-2H-oxireno[4,4a]naphtho[2,3-b]furan-8(9H)-one
9.	4,3470	196,1094	196,1091	C6H17N4OCl	1-[2-(Dimethylamino)ethyl]-2-hydroxy-3-methylguanidine hydrochloride (1:1)
10.	4,4960	456,2335	456,2333	C19H32N6O7	Isoleucylthreonylserylhistidine
11.	4,7130	219,1623	219,1625	C14H21NO	2,6-Dimethyl-4-(1-piperidinylmethyl)phenol
12.	4,8270	194,0936	194,0935	C6H15N4OCl	(2E)-2-(2-Methoxybutylidene)hydrazinecarboximidamide hydrochloride (1:1)
13.	5,0790	396,1776	196,1778	C10H20N16S	Unknown
14.	5,3760	525,2583	525,2588	C27H35N5O6	Methyl N-[[[(2R)-1-(isopropylcarbamoyl)-4-(phenylcarbamoyl)-2-piperazinyl]carbonyl]-O-methyl-L-tyrosinate
15.	5,5590	365,2200	365,2202	C20H31NO5	3-Cyclohexyl-3-(4-isopropoxyphenyl)-1-propanaminium hydrogen oxalate
16.	5,8110	438,2215	438,2216	C22H43S3Cl	Unknown
17.	5,9590	248,1018	248,1022	C10H12N6O2	3,4,9-Trimethyl-1,4-dihydro[1,2,4]triazino[3,4-f]purine-6,8(7H,9H)-dione
18.	6,2910	300,0636	300,0634	C16H12O6	5,7-Dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-4H-chromen-4-one
19.	6,3940	330,0729	330,0731	C12H15N4O5Cl	4-Chloro-N-[3-(dimethylamino)propyl]-3,5-dinitrobenzamide
20.	6,6570	360,0820	360,0823	C10H9N14Cl	Unknown
21.	6,7600	477,2323	477,2325	C24H44NS3Cl	Unknown
22.	6,8740	350,2077	350,2073	C9H26N12OS	Unknown
23.	7,2400	228,1167	-	-	Unknown
24.	7,3890	360,1572	360,1573	C20H24O6	[[4-Butyl-8,8-dimethyl-2-oxo-9,10-dihydro-2H,8H-pyrano[2,3-f]chromen-5-yl]oxy]acetic acid
25.	7,6400	258,1464	258,1467	C13H22O5	Bis(2-methyl-2-propanyl) 3-oxopentanedioate
26.	7,9030	402,2377	402,2380	C20H30N6O3	3-Isobutyl-1,7-dimethyl-8-[3-(4-morpholinyl)propyl]-1H-imidazo[2,1-f]purine-2,4(3H,8H)-dione
27.	8,0860	344,0912	344,0912	C12H20N6S3	5-[[[(1-(2-Methyl-2-propanyl)-3-[2-(methylsulfanyl)ethyl]-1H-1,2,4-triazol-5-yl)methyl]sulfanyl]-1,3,4-thiadiazol-2-amine
28.	8,2690	344,0896	344,0896	C18H16O7	2-Methoxyethyl 5-(2-furoyloxy)-2-methyl-1-benzofuran-3-carboxylate
29.	8,6690	342,2883	342,2883	C19H38N2O3	[[3-(Dodecanoylamino)propyl](dimethyl)ammonio]acetate
30.	8,9210	202,0987	202,0985	C8H15N4Cl	4-(4-Methyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)piperidine hydrochloride (1:1)
31.	9,1840	538,2915	538,2917	C29H34N10O	1-[6-(3,5-Dimethyl-1H-pyrazol-1-yl)-3-pyridazinyl]-N-[6-(4-phenyl-1-piperazinyl)-4-pyrimidinyl]-4-piperidinecarboxamide [
32.	9,4690	241,2772	241,2770	C16H35N	1-Hexadecanamine
33.	9,6870	391,2371	391,2372	C23H29N5O	2-Methyl-N-[3-(4-morpholinyl)propyl]-3-phenyl-6,7-dihydro-5H-cyclopenta[d]pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-8-amine
34.	9,8700	390,2372	390,2375	C19H38N2O2S2	2,2'-(1,3-Propanediyl)disulfanediy]bis(N,N-dipropylacetamide)
35.	10,0980	895,4011	895,4011	C14H51N39OClBr	Unknown
36.	10,3500	276,2092	276,2090	C18H28O2	12-Phenyldodecanoic acid
37.	10,4640	276,2083	276,2081	C13H29N4Cl	N-[3-(3,4,5,6-Tetrahydro-2H-azepin-7-ylamino)propyl]-1,4-butanediamine hydrochloride (1:1)
38.	10,6010	298,1922	298,1924	C15H27N4Cl	1-[[5-Chloro-3-ethyl-1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)methyl]-N,N-dimethyl-4-azepanamine
39.	11,0810	536,2739	536,2734	C27H40N2O9	[4-(Allyloxy)-3,5-dipropylphenyl](4-methyl-1-piperazinyl)methanone 2-hydroxy-1,2,3-propanetri-carboxylate (1:1)
40.	11,2300	789,5006	798,5005	C23H51N33	Unknown
41.	11,5160	431,2688	431,2685	C26H33N5O	N-(4-{4-[(1-Methyl-1H-benzimidazol-2-yl)methyl]-1-piperazinyl}phenyl)cyclohexanecarboxamide
42.	11,7450	433,2836	433,2835	C18H39N7O3S	Unknown
43.	12,1790	781,5626	781,5625	781,5625	Unknown
44.	12,3960	781,5628	781,5627	C17H63N31O5	Unknown
45.	12,8420	341,3294	341,3294	C21H43NO2	2-(Trimethylammonio)octadecanoate
46.	13,0940	781,5637	781,5636	C11H2N8O-5Cl4Br4	Unknown
47.	13,3910	781,5623	781,5624	C32H67N19O4	Unknown
48.	13,8940	781,5608	781,5609	C6H59N43OS	Unknown
49.	14,1910	592,2686	592,2686	C35H36N4O5	N-(2-[(11aS)-5-(4-Isopropylphenyl)-1,3-dioxo-5,6,11,11a-tetrahydro-1H-imidazo[1',5':1,6]pyrido[3,4-b]indol-2(3H)-yl]benzoyl)-L-leucine
50.	14,4090	592,2697	592,2699	C36H32N8O	1-(1-{4-[6-(1-Methyl-1H-tetrazol-5-yl)-3-phenyl-2-quinolinyl]benzyl}-4-piperidinyl)-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one

No.	Rt (min.)	Measured Mass	Calculated Mass	Formula	Nama Senyawa
51.	14,6260	781,5621	781,5622	C6H3N6O-1S2ClBr4	Unknown
52.	14,8890	622,2783	622,2778	C35H42O10	(1R,2S,3E,5S,7S,8S,10R,13S)-7,10,13-Triacetoxo-2-hydroxy-8,12,15,15-tetramethyl-9-oxotricyclo[9.3.1.14,8]hexadeca-3,11-dien-5-yl (2E)-3-phenylacrylate
53.	15,2550	606,2875	606,2874	C25H38N10O8	7,7'-(1,3-Propandiy)bis[8-[bis(2-hydroxyethyl)amino]-1,3-dimethyl-3,7-dihydro-1H-purin-2,6-dion]
54.	15,5400	662,4482	662,4480	C33H58N8O6	N-(1-Oxidisoicotinoyl)-L-isoleucyl-N-[[[2S]-1-[[[2S]-3-amino-1-[[[2S]-1-(ethylamino)-3-methyl-1-oxo-2-butanyl]amino]-1-oxo-2-propanyl]amino]-4-methyl-2-pentanyl]-L-norvalinamide
55.	15,9060	562,4984	562,4980	C22H58N16O	Unknown
56.	16,1350	783,5796	783,5895	C43H81N3O7S	Unknown
57.	16,6040	521,5905	521,5900	C36H75N	N,N-Didodecyl-1-dodecanamine
58.	17,1530	875,7944	875,7944	C26H8N2O21S6	Unknown
59.	18,9820	166,0047	166,0046	C6H3N4Cl	2-Chloropteridine
60.	19,9310	120,0316	-	-	Unknown
61.	21,6910	120,0315	-	-	Unknown

**Tabel 7.** Hasil interpretasi data *metabolite profiling* ekstrak daun *H. annuus* menggunakan UPLC-MS

No.	Rt (min.)	Measured Mass	Calculated Mass	Formula	Nama Senyawa
1.	14,6260	-	-	-	Unknown
2.	14,8890	-	-	-	Unknown
3.	15,2550	-	-	-	Unknown
4.	15,5400	265,1307	265,1306	-	Unknown
5.	15,9060	341,1621	341,1619	C15H24N5O2Cl	7-[2-(Cyclohexylamino)ethyl]-1,3-dimethyl-3,7-dihydro-1H-purine-2,6-dione hydrochloride (1:1)
6.	16,1350	452,2017	452,2020	C19H28N6O7	Arginyltyrosylaspartic acid
7.	16,6040	431,2717	431,2719	C23H37N5O5	Unknown
8.	17,1530	475,2980	475,2979	C17H37N11O5	Unknown
9.	18,9820	519,3239	519,3235	C22H46N9O5Cl	Unknown
10.	19,9310	521,2053	521,2050	C29H31N8O8	4-Benzyl 1-(6-oxo-7,8,9,10-tetrahydro-6H-benzo[c]chromen-3-yl) N-[[[2-methyl-2-propanyl]oxy]carbonyl]-L-aspartate
11.	21,6910	430,1608	430,1603	C27H26O3S	6-Hydroxy-2-phenyl-2-(2-phenylethyl)-5-[[[2-phenylethyl]sulfonyl]-2,3-dihydro-4H-pyran-4-one
12.	14,6260	337,1320	337,1315	C5H23N9O4S2	Unknown
13.	14,8890	313,1314	313,1314	C18H19N4O4	Ethyl 11-oxo-2,3,6,7-tetrahydro-1H,5H,11H-pyrano[2,3-f]pyrido[3,2,1-ij]quinoline-10-carboxylate
14.	15,2550	365,2200	265,2202	C20H31NO5	3-Cyclohexyl-3-(4-isopropoxyphenyl)-1-propanaminium hydrogen oxalate
15.	15,5400	264,0893	264,0893	C8H16N4O4S	Glycyl-N-[[[2S]-2-amino-2-carboxyethyl]-L-cysteinamide
16.	15,9060	605,2499	605,2499	C32H31N9O4	N5-{2-[[[2-Aminoethyl]carbamoyl]-1H-indol-5-yl]-N2-{2-[[[2-aminoethyl]carbamoyl]-3H-indol-5-yl]-3H-indole-2,5-dicarboxamide
17.	16,1350	330,0725	330,0720	C6H10N12O3S	Unknown
18.	16,6040	307,2153	301,2148	C18H29N3O3	(1Z)-N-(4-Hydroxy-3-methoxybenzyl)-8-methylnonanimidic acid
19.	17,1530	350,2057	350,2058	C15H30N2O7	Methyl (2R,3S,4S,5S)-6-[[[8-aminoethyl]amino]-2,3,4,5-tetrahydroxy-6-oxohexanoate
20.	16,1350	228,1157	228,1157	C8H16N6S	3-[Ethyl(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)amino]-2-methylpropanethioamide
21.	16,6040	353,2231	352,2228	CH24N18O4	Unknown
22.	16,1350	258,1461	258,1459	C8H23N4O3Cl	Unknown
23.	16,6040	344,0899	344,0896	C18H16O7	2-Methoxyethyl 5-(2-furoyloxy)-2-methyl-1-benzofuran-3-carboxylate
24.	17,1530	-	-	-	Unknown
25.	16,1350	342,2894	-	-	Unknown
26.	16,6040	366,1433	366,1436	C18H26N2O2S2	Ethyl 2-[[[cyclohexylcarbamothioyl]amino]-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothiophene-3-carboxylate
27.	17,1530	444,2041	444,2041	C22H29N6O2Cl	7-Butyl-8-[[[4-(3-chlorophenyl)-1-piperazinyl]methyl]-1,3-dimethyl-3,7-dihydro-1H-purine-2,6-dione
28.	16,1350	809,3707	809,3708	C38H51N9O11	1-( $\alpha$ -D-Allopyranosyl)-N-(2-[[[3-(dimethylamino)propyl]carbamoyl]-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]-4-[[[4-[[[11aR]-7-methoxy-5-oxo-2,3,5,11a-tetrahydro-1H-pyrrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-8-yl]oxy]butanoyl]amino]-1H-pyrrole-2-carboxamide
29.	16,6040	336,2287	336,2292	C15H33N4O2Cl	Unknown
30.	16,6040	410,1693	410,1689	C19H26N2O8	4-(2-Methyl-2-propanyl) 1-(4-nitrophenyl) N-[[[2-methyl-2-propanyl]oxy]carbonyl]-L-aspartate
31.	16,6040	506,2226	506,2221	C11H32N16O3Cl2	Unknown

No.	Rt (min.)	Measured Mass	Calculated Mass	Formula	Nama Senyawa
32.	10,8640	519,3322	519,3322	C29H41N7O2	3-[(4-Cyclohexyl-1-piperazinyl)(1-cyclohexyl-1H-tetrazol-5-yl)methyl]-6-ethoxy-2(1H)-quinolinone
33.	11,5960	519,3329	519,3327	C14H37N19O3	Unknown
34.	11,0810	276,2089	276,2090	C18H28O2	12-Phenyldodecanoic acid
35.	11,5960	495,3313	495,3309	C26H45N3O6	N2-[(Allyloxy)carbonyl]-N5-[[[(2-methyl-2-propanyl)oxy]carbonyl]-D-ornithine - N-cyclohexylcyclohexanamine (1:1)
36.	11,7450	461,3053	461,3048	C14H35N15O3	Unknown
37.	11,9280	521,3486	521,3484	C14H39N19O3	Unknown
38.	12,2480	365,3274	-	-	Unknown
39.	12,5110	323,2819	323,2816	C15H38N5Cl	4-Amino-N,N-bis(4-aminobutyl)-N-(3-aminopropyl)-1-butanaminium chloride
40.	12,6590	606,2504	606,2499	C31H42O10S	(1S,5S,6R,7S,8S,11R,12R,16R)-7-Hydroxy-7-(hydroxymethyl)-11,14,14,18,21,21-hexamethyl-19-oxo-3-phenyl-2,4,13,15-tetraoxapentacyclo[15.3.1.01,5.06,11.012,16]henicos-17-en-8-yl methanesulfonate
41.	12,8420	341,3298	341,3294	C21H43NO2	2-(Trimethylammonio)octadecanoate
42.	13,0940	367,3446	367,3451	C23H45NO2	N,N-Didecyl-2-hydroxypropanamide
43.	13,4250	781,5645	781,5645	C51H75NO5	Unknown
44.	13,5740	608,2642	608,2639	C36H48S4	Unknown
45.	13,8940	608,2648	608,2648	C36H32N8O2	N,N'-Bis[2-(9-acridinylamino)ethyl]-1-methyl-1H-pyrazole-3,5-dicarboxamide
46.	14,0080	369,3602	369,3607	C23H47NO2	N,N-Didecyl-2-hydroxypropanamide
47.	14,1910	592,2662	591,2659	C31H32N10O3	4-[[[(4-[3-Ethyl-7-(4-morpholinyl)-3H-[1,2,3]triazolo[4,5-d]pyrimidin-5-yl]phenyl)carbonyl]amino]-N-(2-(2-pyridinyl)ethyl)benzamide
48.	14,4090	592,2703	592,2703	C22H42N12OSCl2	3-[[Methyl{3-[(4-oxo-2-phenyl-4H-chromen-7-yl)oxy]propyl}amino)methyl]phenyl heptylcarbamate hydrochloride (1:1)
49.	14,5910	592,2703	592,2703	C22H42N12OSCl2	3-[[Methyl{3-[(4-oxo-2-phenyl-4H-chromen-7-yl)oxy]propyl}amino)methyl]phenyl heptylcarbamate hydrochloride (1:1)
50.	14,7400	875,7935	875,7935	C21H9N6O19S6Cl	Unknown
51.	15,0370	389,2929	389,2930	C24H39NO3	N-(2,2-Dimethyltetrahydro-2H-pyran-4-yl)-N-[3-(4-isopropoxyphenyl)-4-methylpentyl]acetamide
52.	15,5860	662,4454	662,4449	C9H51N30O3Cl	Unknown
53.	16,3520	549,6207	549,6202	N8O2S2Cl3Br3	Unknown
54.	16,6040	521,5697	521,5699	OCH10S6Br3	Unknown
55.	16,9350	558,4519	558,4514	C18H54N16O4	Unknown

*plot*, yang mana antar ketiga atribut tersebut saling melengkapi. Keragaman memberikan banyak informasi yang dapat digunakan pada PC. *Loading plot* menyatakan korelasi antara variabel-variabel dalam setiap PC, sedangkan *score plot* menggambarkan sifat-sifat sampel. Hasil analisis PCA dikatakan baik apabila dengan jumlah komponen utama yang sedikit mampu menggambarkan total variasi yang besar [9]. Dalam penelitian pemprofilan metabolit, *score plot* PCA digunakan untuk melihat efek pengelompokan, sedangkan *loading plot* dapat digunakan untuk menemukan senyawa penciri [12]. Data yang digunakan pada penelitian adalah nama senyawa dan area dalam persen (%) dari keempat organ *H. annuus*. Hasil analisis PCA berupa *score plot* dan *loading plot* dapat dilihat

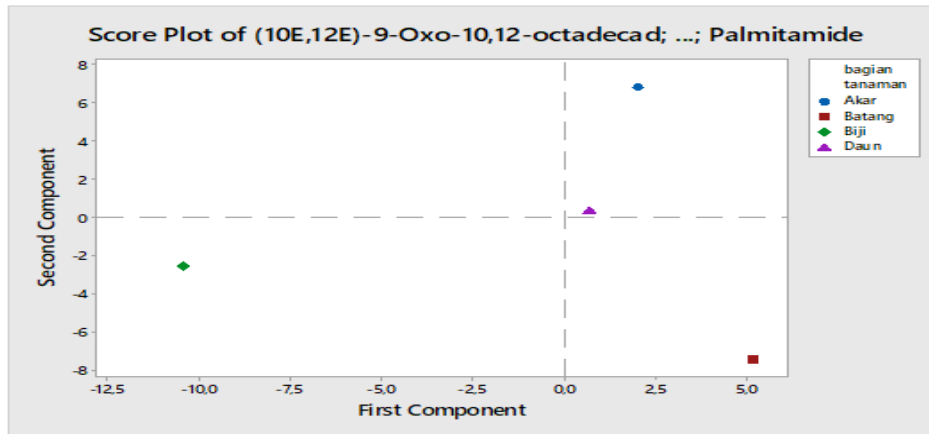
pada gambar 7-gambar 9.

*Score Plot* menunjukkan adanya efek pengelompokan pada bagian organ *H. annuus*. Berdasarkan data tersebut diketahui bahwa antara bagian akar, batang, daun, dan biji tidak memiliki kemiripan yang signifikan. Hal ini dapat diketahui dari masing-masing plot yang letaknya saling berjauhan. Perbedaan ini disebabkan pada masing-masing organ terjadi proses metabolisme yang berbeda sehingga senyawa kimia yang dihasilkan juga berbeda.

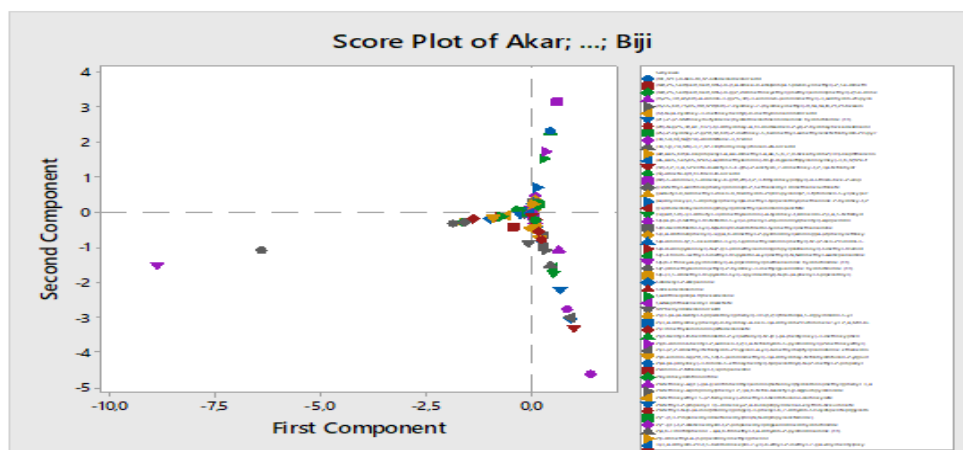
*Loading plot* menunjukkan adanya dugaan senyawa penciri pada masing-masing bagian organ. Pada gambar 9 diketahui bahwa terdapat 6 senyawa penciri pada *H. annuus* yaitu:

1. Methyl N-({1-[(2,4-diamino-6-pteridinyl)methyl]-2,3-dihydro-1H-indol-5-yl})

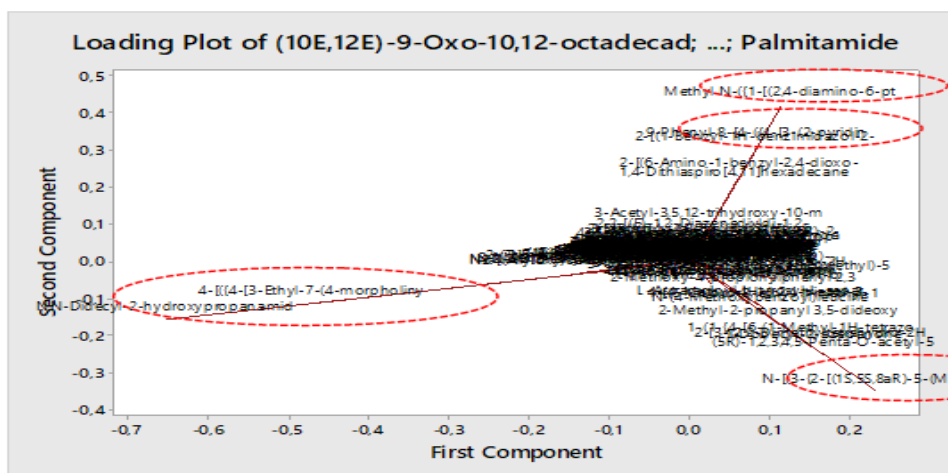
- carbonyl)-5-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-isoindol-2-yl) norvalinate pada akar
2. 9-Phenyl-8-[4-({4-[3-(2-pyridinyl)-1H-1,2,4-triazol-5-yl]-1-piperidinyl)methyl}phenyl)] [1,2,4]triazolo[3,4-f][1,6]naphthyridine-3(2H)-thione pada akar
3. 2-[(1-Benzyl-1H-benzimidazol-2-yl)sulfanyl]-N'-{(E)-[4-(benzyloxy)-3-methoxy-



Gambar 7. Score Plot pengelompokan senyawa kimia bagian akar, batang, daun, dan biji *H. annuus*



Gambar 8. Score Plot pengelompokan senyawa kimia bagian akar, batang, daun, dan biji *H. annuus*



Gambar 9. Loading Plot pengelompokan senyawa kimia bagian akar, batang, daun, dan biji *H. annuus*



- phenyl]methylene}acetohydrazide pada akar
4. 4-[[{4-[3-Ethyl-7-(4-morpholinyl)-3H-[1,2,3]triazolo[4,5-d]pyrimidin-5-yl]phenyl}carbonyl]amino]-N-[2-(2-pyridinyl)ethyl]benzamide pada biji
  5. N,N-Didecyl-2-hydroxypropanamide pada biji
  6. N-[(3-{2-[(1S,5S,8aR)-5-(Methoxycarbonyl)-5,8a-dimethyl-2-methylenedecahydro-1-naphthalenyl]ethyl}-2-furyl)methyl]alanine pada akar.

#### 4. Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan profil metabolit pada akar, batang, daun, dan biji *H. annuus*, dimana ditemukan 38, 38, 37, dan 29 senyawa pada masing-masing organ tersebut. Terdapat 6 senyawa penciri pada *H. annuus*, dimana 4 senyawa mayor terdapat pada bagian akar; 2 senyawa yang terdapat pada bagian biji. Senyawa mayor pada bagian akar, batang, daun, dan biji masing-masing sebesar 5,9490%; 5,5558%; 8,6758%; dan 9,2157%.

#### Daftar Pustaka

1. Depkes. *Integrasi Pengobatan Tradisional Dalam Sistem Kesehatan Nasional*. Retrieved from Kementerian Kesehatan Republik Indonesia: www.depkes.go.id. 2011, November 02.
2. Mutiah R, Hayati EK, Triastutik Y. Pemisahan dan Identifikasi Ekstrak Kasar Seskuiterpen Daun Bunga Matahari (*Helianthus annuus* L.) dengan Kromatografi Lapis Tipis. *Alchemy*. 2013;2(3):190-4.
3. Kamal J. Quantification of Alkaloids, Phenols, and Flavonoids in Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *African Journal of Biotechnology*. 2011;10(16): 3149-51.
4. Barlow DJ, Buriani A, Ehrman T, Bosisio E, Eberini I, Hylands PJ. 2012. In-silico Studies in Chinese Herbal Medicines' Research: Evaluation of In-silico Methodologies and Phytochemical Data Sources, and a Review of Research to Date. *Journal of Ethnopharmacology*. 2012;140(3):526-34.
5. Subashini R, Rakshitha SU. Phytochemical screening, antimicrobial activity and in vitro antioxidant investigation of methanolic extract of seeds from *Helianthus annuus* L. *Chem Sci Rev Lett*. 2012;1(1):30-4.
6. Fiehn O, Kopka J, Dörmann P, Altmann T, Trethewey RN, Willmitzer L. Metabolite profiling for plant functional genomics. *Nature biotechnology*. 2000;18(11):1157-61.
7. Zhao YY, Lin RC. UPLC-MSE application in disease biomarker discovery: the discoveries in proteomics to metabolomics. *Chemico-biological interactions*. 2014;215:7-16.
8. Dunteman GH. *Principal Component Analysis*. Newbury Park London (Research Triangle Institute): Sage Publication; 1989.
9. Septiani R. *Pemrofilan Metabolit Rimpang Temulawak Menggunakan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa*. Skripsi. Bogor: Departemen Kimia, IPB; 2012.
10. Rohman A. *Statistika dan Kemometrika Dasar Dalam Analisis Farmasi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar; 2014.
11. Subbash S. *Applied Multivariate Technique*. New York: John Willey & Sons, Inc; 1996.
12. Tabachnick. *Using Multivariate Statistics, 4th ed*. Boston: Allyn & Bacon; 2001.
13. Waller GR. *The Role of Alkaloids in Plants*. In: *Alkaloids Biology and Metabolism in Plants*. New York: Plenum Press; 1987.
14. Rice E. *Allelopathy*. New York: Academic Press; 1974.
15. Chawla G, Ranjan C. Principle, instrumentation, and applications of UPLC: A novel technique of liquid chromatography. *Open Chemistry Journal*. 2016;3(1):1-16.
16. Rohman A. Ganjar IG. *Kimia Farmasi Analisis*

Cetakan ke-7. Yogyakarta: Pustaka Pelajar; 2010.

17. Farag MA, Rasheed DM, Kropf M, Heiss AG. Metabolite profiling in Trigonella seeds via UPLC-MS and GC-MS analyzed using multivariate data analyses. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2016;408(28):8065-78.
18. Anissa. Kajian Metabolomik Rimpang Kunyit Menggunakan Kromatografi Cair-Spektroskopi Massa. Skripsi. Bogor: Departemen Kimia, IPB; 2012.