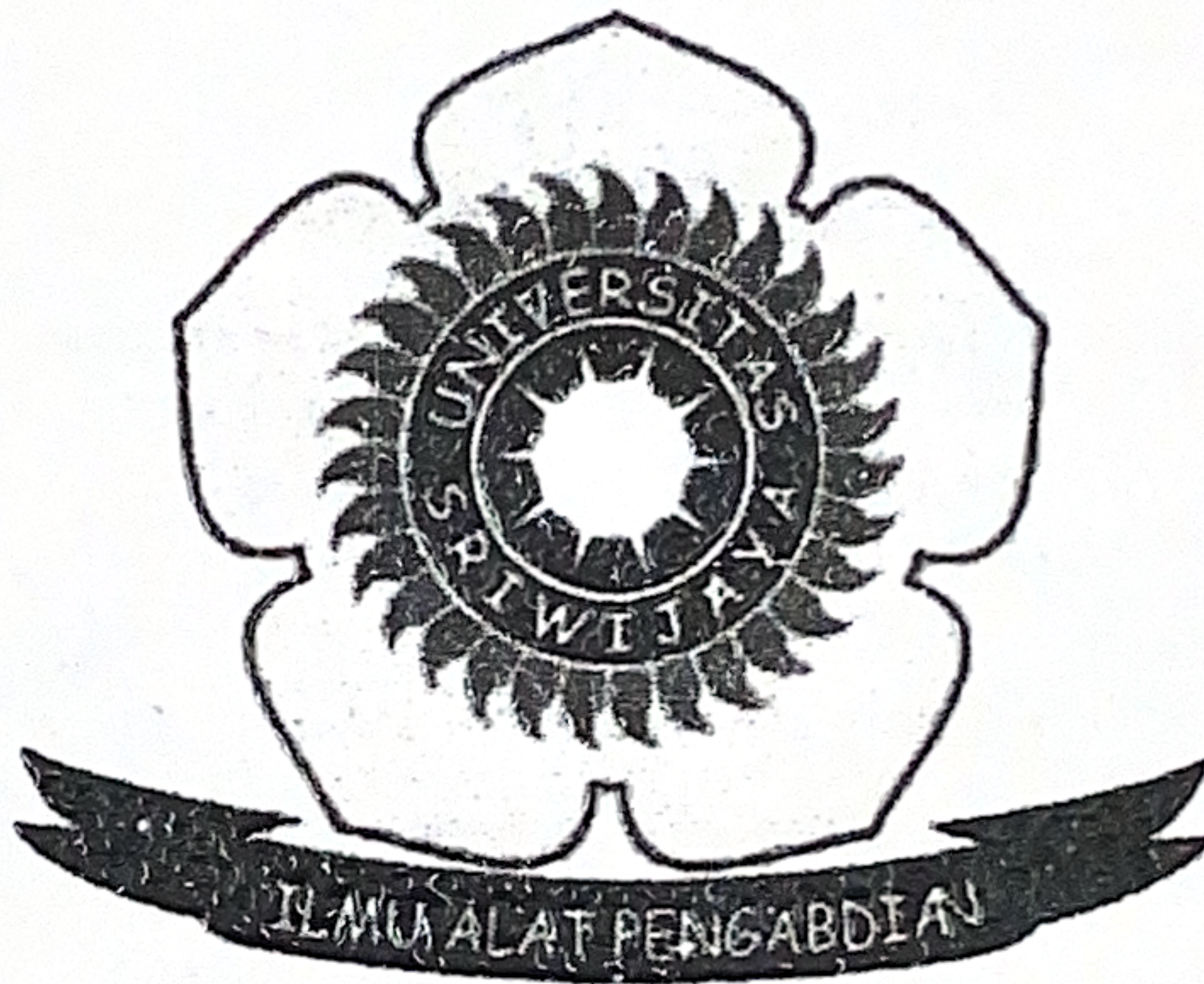


**ISOLASI SENYAWA GOLONGAN FLAVONOID DARI FRAKSI
n-HEKSANA DAUN TUMBUHAN LABAN (*Vitex pinnata*)
SERTA UJI SITOTOKSIK TERHADAP LARVA UDANG
(*Artemia salina*)**

SKRIPSI

**Diajukan Sebagai Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Bidang Studi
Kimia**



Oleh:

Ilga Aziz

08031382126105

JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS SRIWIJAYA

2025

HALAMAN PENGESAHAN

**ISOLASI SENYAWA GOLONGAN FLAVONOID DARI FRAKSI
n-HEKSANA DAUN TUMBUHAN LABAN (*Vitex pinnata*)
SERTA UJI SITOTOKSIK TERHADAP LARVA UDANG
(*Artemia salina*)**

SKRIPSI

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar Sarjana Sains Bidang
Studi Kimia**

Oleh

Ilga Aziz

08031382126105

Indralaya, 21 Juli 2025

**Menyetujui,
Dosen Pembimbing**



**Dr. Ferlinahayati, M.Si
NIP. 197402052000032001**

Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam



Prof. Hermansyah, S.Si., M.Si., Ph. D

NIP. 197111191997021001

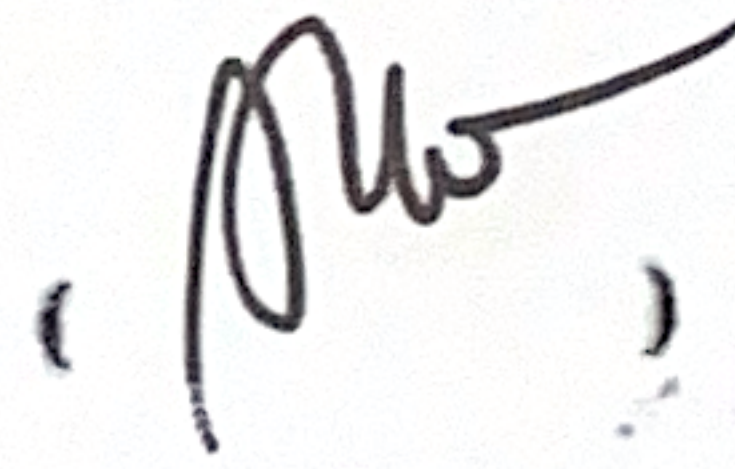
HALAMAN PERSETUJUAN

Karya tulis ilmiah berupa Skripsi Ilga Aziz (08031382126105) dengan judul "Isolasi Senyawa Golongan Flavonoid Dari Fraksi *n*-Heksana Daun Tumbulan Laban (*Vitex pinnata*) Serta Uji Sitotoksik Terhadap Larva Udang (*Artenia salina*)". Telah disidangkan dihadapan Tim Penguji Sidang Sarjana Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada 16 Juli 2025 dan telah diperbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai masukan yang telah diberikan.

Indralaya, 21 Juli 2025

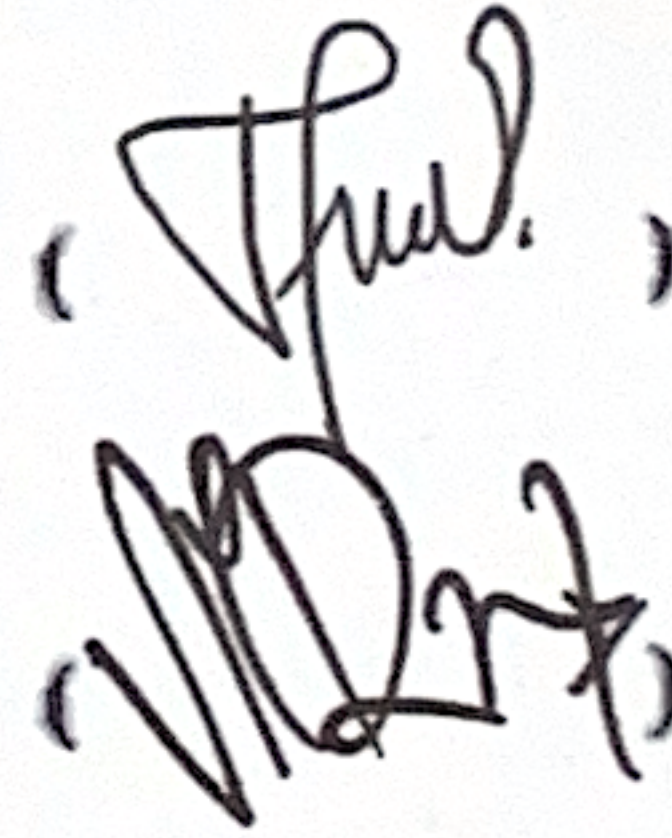
Ketua :

1. Prof. Dr. Muharni, M.Si
NIP. 196903041994122001



Anggota :

1. Dr. Ferlinahayati, M.Si
NIP. 197402052000032001
2. Prof. Dr. Poedji Loekitowati, M.Si
NIP. 196808271994022001



Mengetahui,

Dekan FMIPA



Prof. Hermansyah, S.Si., M.Si., Ph.D
NIP. 197111191997021001

Ketua Jurusan Kimia



Prof. Dr. Muharni, M.Si
NIP. 196903041994122001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama Mahasiswa : Ilga Aziz
NIM : 08031382126105
Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Kimia

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lainnya. Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Indralaya, 21 Juli 2025

Yang menyatakan,



Ilga Aziz

NIM. 08031382126105

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Ilga Aziz

NIM : 08031382126105

Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Kimia

Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya "Isolasi Senyawa Golongan Flavonoid Dari Fraksi *n*-Heksana Daun Tumbuhan Laban (*Vitex pinnata*) Serta Uji Sitotoksik Terhadap Larva Udang (*Artemia salina*)". dengan hak bebas royalti non eksklusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih, edit/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, 21 Juli 2025

Yang menyatakan,



Ilga Aziz

NIM. 08031382126105

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Barangsiapa yang keluar untuk menuntut ilmu, maka ia berada di jalan Allah
hingga ia pulang”
(HR. Tirmidzi)

“Allah tidak membebani seseorang melainkan apa yang diberikan Allah
kepadanya”
(QS. Al-Baqarah: 286)

Dengan rasa syukur yang mendalam, skripsi ini penulis persembahkan untuk:

1. Tuhan Yang Maha Esa
2. Bapak, Ibu, dan Kakak yang senantiasa berjuang dengan penuh rasa kasih sayang demi penulis meraih gelar ini
3. Keluarga besar penulis yang selalu mendoakan dan mendukung
4. Almamater yang penulis banggakan, Universitas Sriwijaya
5. Dosen pembimbing (Dr. Ferlinahayati, M.Si)
6. Seluruh dosen Jurusan Kimia
7. Teman-teman seperjuangan
8. Diri saya sendiri

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat, karunia, serta petunjuk-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul “Isolasi Senyawa Golongan Flavonoid Dari Fraksi *n*-Heksana Daun Tumbuhan Laban (*Vitex pinnata*) Serta Uji Sitotoksik Terhadap Larva Udang (*Artemia salina*)” dengan baik, tepat waktu, dan penuh kesabaran. Penyusunan skripsi ini merupakan rangkaian dalam perjalanan akademik penulis di Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak kesalahan dan kekurangan dalam skripsi ini. Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu **Dr. Ferlinahayati, M.Si** yang telah banyak memberikan bimbingan, dan petunjuk kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi. Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah SWT dan junjungannya Nabi Muhammad SAW yang telah memberikan segala nikmat dan karunianya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.
2. Kedua orang tua penulis, Bapak (Jukri) dan Ibu (Hernaini) tercinta. Terima kasih telah menjadi alasan bagi penulis untuk bisa menyelesaikan skripsi ini. Terima kasih atas segala doa yang diberikan sehingga penulis bisa kuat menghadapi skripsi ini. Semoga Allah SWT memberikan balasan yang indah untuk kalian, sehat-sehat terus ya. Aamiin.
3. Kakak penulis (Eci Wulandari). Terima kasih atas doa, kritik, dan masukannya kepada penulis selama ini yang menjadikan penulis lebih dewasa dalam mengemban hidup. Sukses terus karir dan rumah tangganya.
4. My be (mbanda). Terima kasih telah hadir dalam kehidupan perkuliahan penulis dan memberikan warna dalam kehidupan penulis. Penulis tidak tau lagi dengan apa harus mengungkapkan kebahagiaan ini. Semoga dengan pertemuan ini waktu dan kehidupan mengizinkan kita untuk selalu bersama. Terima kasih telah menjadi orang yang sesuai dengan apa yang diinginkan penulis. Terima kasih atas motivasi dan dukungan untuk penulis agar selalu *improve* diri dan menjadikan penulis semakin percaya

diri untuk melewati kehidupan ini. Apa yang ditakutkan kita selama ini Alhamdulillah tidak terjadi dan akhirnya kita bisa wisuda bersama dan menyelesaikan S1 bersama. Selalu temani penulis ya semoga impian kita akan selalu tercapai. Sehat-sehat terus agar penulis juga sehat.

5. Joy, si kucing pamarah. Terima kasih telah ada waktu penulis mengerjakan skripsi ini dan itu sangat membuat hati penulis merasa senang karena joy sangat lucu, tapi nakal. Hidup lebih lama bersama penulis dan orang di nomor 4 ya.
6. Bapak Prof. Hermansyah, M.Si., Ph.D. selaku Dekan FMIPA Universitas Sriwijaya.
7. Ibu Prof. Dr. Muharni, M.Si. selaku ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya.
8. Dosen pembimbing, Ibu Dr. Ferlinahayati, M.Si. Terima kasih atas segala bimbingan, masukan, dukungan, dan motivasi kepada penulis sehingga skripsi ini bisa selesai tepat waktu. Terima kasih telah sabar menghadapi penulis dan semoga ibu selalu diberikan kesehatan oleh Allah SWT.
9. Ibu Prof. Dr. Muharni, M.Si, Ibu Prof. Dr. Poedji Loekitowati H, M.Si, dan Ibu Dr. Eliza, M.Si. Terima kasih atas kritik dan saran untuk penulis yang sangat membangun tidak hanya saran-saran untuk skripsi, tetapi saran-saran untuk tumbuh dan berkembang yang menjadikan penulis sebagai orang yang lebih baik lagi. Semoga ibu selalu diberikan kesehatan oleh Allah SWT.
10. Bapak Drs. Dasril Basir, M.Si terima kasih telah menjadi pembimbing walaupun hanya beberapa waktu saja namun ilmu dan masukan dari Bapak tentang *life science* membuat penulis semakin percaya diri untuk menyukai kimia organik. Semoga Bapak selalu diberikam kesehatan dan selamat menikmati masa tuanya.
11. Seluruh Dosen FMIPA Kimia yang telah mendidik dan membimbing selama di bangku perkuliahan. Terima kasih atas ilmu yang telah bapak dan ibu berikan, semoga ilmu tersebut dapat bermanfaat bagi penulis untuk kedepannya.

12. Fahri Pandes Furnaya terima kasih atas segala candaan dan lelucon yang diberikan sehingga membuat kehidupan masa perkuliahan menjadi santai tidak membuat stres. Terima kasih telah menjadi teman yang apa adanya, yang selalu baik atas segala sesuatu. Pesan penulis semoga fahri selalu menjadi orang yang ingat dengan jati diri sendiri jangan termakan oleh dunia dan selalu di jalan Allah. Sukses selalu kedepannya semoga bisa bertemu lagi di kemudian hari dengan versi terbaik untuk kita.
13. Aditya Wahyu Pratama terima kasih telah menjadi teman yang sangat mengerti apa itu “Teman”. Terima kasih waktu dan kesempatan bisa bertemu di perkuliahan dengan orang seasik ini. Terima kasih masukannya untuk kelangsungan hidup penulis jika penulis sudah tidak tau harus apa. Semangat terus menyelesaikan apa yang sudah dimulai. Pesan penulis banyak belajar karena kita sudah dewasa waktunya untuk serius di kehidupan sudah dimulai.
14. Marauli Anhar Ritonga terima kasih telah menjadi teman penulis selama masa perkuliahan ini. Orang pertama yang ditemui waktu perkuliahan dan jadi teman seperjuangan. Terima kasih atas segala waktu, tenaga, pikiran yang telah diberikan dan terima kasih atas cerita-cerita yang akan selalu penulis ingat. Pesan penulis semoga Marauli menemukan orang yang tepat dan jika sudah tepat jangan ditinggalkan dan dikecewakan.
15. M. Wirayudha Utama terima kasih atas waktunya bisa main, masak, dan belajar banyak hal di perkuliahan ini. Semangat terus menyelesaikan satu per satu tahanan untuk menjadi sarjana, jangan patah semangat karena sudah sejauh ini.
16. M. Gilang Satriani terima kasih telah menjadi teman penulis dan sangat kompak ketika dimarah dosen, terima kasih cerita-cerita lucu semasa perkuliahan dan jangan lupa info loker.
17. Tristan Anugerah Almisky terima kasih waktu dan kesempatannya bisa kenal dan belajar banyak hal selama perkuliahan dan semangat terus menyelesaikan skripsi sampai S.Si.
18. Rizky Azahra terima kasih telah banyak membantu penulis di segala aspek kehidupan ini dan yang sangat penting adalah bisa membantu membuat

seorang batu yang akhirnya luluh menjadi berlian, karena itu sangat berharga untuk kehidupan penulis menjadi lebih semangat. Terima kasih telah berada sebagai “tim” penulis.

19. Awny Athalia Syahrani terima kasih telah menjadi orang yang asik dan berjiwa netral sehingga jika ada Awny terasa tidak canggung. Semoga Awni sukses terus dan jangan kebingungan.
20. Gang Buntu (Manda, Kya, Aan, Cici, Cecil, Awny, Adit, Gilang, dan Tristan) terima kasih telah hadir selama perkuliahan dan menjadi lingkungan yang sedikit *toxic* tetapi nyaman. Sukses selalu semuanya semoga bisa bertemu lagi dengan versi terbaik untuk kita semua dan semoga bisa jalan-jalan lagi.
21. Mianita Sadin terima kasih telah menjadi teman yang apa adanya dengan segala tingkah-tingkah yang aneh membuat masa perkuliahan menjadi seru. Terima kasih telah menjadi supir bagi penulis jika mau kemana-mana dan semoga cepat mendapatkan orang yang selalu diimpikan itu.
22. Ade Indriyani dan Rizki Hamidah terima kasih atas curhatan-curhatan dan gosip-gosipnya semoga kita bisa bertemu lagi di kemudian hari bersama Fahri, Mia, Yuda, dan Adit dan bisa cerita-cerita lagi karena sepertinya Rizki Hamidah masih banyak cerita yang belum diceritakan.
23. Kak Daniel terima kasih atas ilmu dan bantuan yang telah diberikan selama penelitian dan penulisan sehingga penulis dapat terbuka pikiran untuk mengerjakan kimia organik yang sangat sulit ini.
24. Kak Irene terima kasih atas bantuan yang diberikan walaupun secara online tapi penjelasan dan bantuan dari kakak sangat berarti bagi penulis ketika pikiran ini sudah *stuck*.
25. Bang Hanif dan Kak Sari terima kasih telah mengajarkan kimia organik dan membuat penulis menyukai kimia organik dan membuat penulis tidak bingung untuk memulai tugas akhir. Terima kasih atas saran-saran dan ilmunya sukses selalu buat kalian.
26. KO Gengs (Amirah, Mutiah, dan Nyaiyu) terima kasih telah menjadi teman seperjuangan untuk mendapatkan gelar ini dan terima kasih atas bantuan dan monitoring kepada penulis yang masih awam ini. Tanpa bantuan kalian

entah bagaimana penulis bisa menyelesaikan semua ini. Terima kasih atas kerjasamanya dan jika memang dipertemukan lagi di S2 kimia organik semoga kita kuat lagi menghadapinya.

27. HIMAKI, tempat dimana penulis bertumbuh dan menyalurkan ide-idenya. Terima kasih telah menjadi naungan penulis di kala penulis jenuh, menjadi tempat penulis berkembang dengan proker yang dijalankan. Terima kasih telah memberikan banyak penulis pengalaman terutama dalam bidang organisasi dan kepemimpinan serta bagaimana meng-*handle* acara-acara besar.
28. Kabinet Baswara Satya tempat dimana penulis tumbuh dan berkembang, banyak hal-hal baru yang membuat penulis lebih bertanggung jawab atas segala hal, terima kasih atas pengalamannya.
29. Teman seperjuangan Angkatan 2021 “Lawrensium”, terima kasih telah menjadi bagian besar dalam kehidupan penulis selama 4 tahun berkuliah.
30. Adik-adik angkatan 2022,2023,dan 2024 semangat terus di Kimia.
31. Diriku sendiri. Terima kasih telah menjadi pribadi yang semakin hari semakin *improve* dengan segala hal-hal yang telah dipelajari selama perkuliahan S1 ini dapat dijadikan pelajaran dan mengambil hal-hal yang positif. Terima kasih telah menjadi orang benar ditengah dunia yang telah kacau ini pegang terus prinsip-prinsipmu dan buat banggalah kedua orang tuamu dengan kesuksesan dan keberhasilan suatu saat nanti.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari kata sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun demi perbaikan di masa mendatang. Semoga karya ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang membacanya.

Indralaya, 21 Juli 2025
Penulis

Ilga Aziz
NIM. 08031382126105

SUMMARY

ISOLATION OF FLAVONOID COMPOUND FROM *n*-HEXANE FRACTION OF LABAN LEAVES (*Vitex pinnata*) AND CYTOTOXICITY TEST ON SHRIMP LARVAE (*Artemia salina*)

Ilga Aziz: Supervised by Dr. Ferlinahayati, M. Si

Departement of Chemistry, Faculty of Mathematic and Natural Sciences, Sriwijaya University

vix+57 pages, 6 tables, 19 pictures, 5 attachments

V. pinnata (laban) is a plant from the Lamiaceae family native to South Asia and East Asia that has been widely used by the Indonesian people in traditional medicine. This plant has been reported to possess antibacterial, antioxidant, and cytotoxic activities, and contains compounds from the flavonoid, terpenoid, and steroid groups. Cytotoxicity testing on the extract has been widely conducted; however, there are no reports on the isolated compounds or cytotoxicity testing on shrimp larvae (*A. salina*), which could potentially be used as anticancer or antitumor agents. This study aims to isolate secondary metabolites from the *n*-hexane fraction of *V. pinnata* leaves and characterize them using UV and NMR spectroscopy, as well as determine their cytotoxic activity against brine shrimp larvae (*A. salina*) using the *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). The isolation process was carried out by extraction via maceration in methanol, followed by liquid-liquid fractionation using *n*-hexane and ethyl acetate. The separation of the *n*-hexane fraction was performed using Vacuum Liquid Chromatography (VLC) and purity test using TLC system 3 eluent. The structure of the isolated compounds was determined based on UV and NMR spectroscopy data, while cytotoxic activity was determined using the *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method.

Isolated compound is not a new compound, this compound has been widely reported in various types of plants. The isolated compound was obtained as yellow crystals weighing 10.2 mg. UV spectroscopy and NMR data (¹H-NMR and ¹³C-NMR for 1-D, HSQC and HMBC for 2-D) indicate that the isolated compound is a flavonoid compound belonging to the flavonol group, specifically the compound 5-hydroxy-3,7,4'-trimethoxyflavone. Cytotoxic test of the isolated compound against *A. salina* showed that the isolated compound was cytotoxic with an LC₅₀ value of 46.97±26,03 mg/L.

Keywords: *Vitex pinnata*, flavonoid, 5-hydroxy-3,7,4'-trimethoxyflavone, *Artemia salina*, cytotoxicity.

Citations: 70 (1970-2025)

RINGKASAN

ISOLASI SENYAWA GOLONGAN FLAVONOID DARI FRAKSI *n*-HEKSANA DAUN TUMBUHAN LABAN (*Vitex pinnata*) SERTA UJI SITOTOKSIK TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia salina*)

Ilga Aziz: dibimbing oleh Dr. Ferlinahayati, M. Si
Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya
vix +57 halaman, 6 tabel, 19 gambar, 5 lampiran

V. pinnata (laban) merupakan tumbuhan dari famili Lamiaceae yang berasal dari Asia Selatan dan Asia Timur dan telah banyak dimanfaatkan masyarakat Indonesia dalam pengobatan tradisional. Tumbuhan ini telah dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri, antioksidan, dan sitotoksik serta mengandung senyawa kelompok flavonoid, terpenoid dan steroid. Pengujian sitotoksik terhadap ekstrak telah banyak dilakukan, namun belum adanya laporan mengenai senyawa hasil isolasi dan pengujian sitotoksik terhadap larva udang (*A. salina*) yang akan berpotensi digunakan sebagai obat antikanker atau antitumor. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder dari fraksi *n*-heksana daun tumbuhan *V. pinnata* dan melakukan karakterisasi menggunakan UV dan NMR serta menentukan aktivitas sitotoksiknya terhadap larva udang (*A. salina*) menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Proses isolasi dilakukan dengan cara ekstraksi secara maserasi dalam pelarut metanol, yang dilanjutkan dengan fraksinasi cair-cair menggunakan *n*-heksana dan etil asetat. Pemisahan terhadap fraksi *n*-heksana dilakukan dengan kromatografi cair vakum (KCV) dan uji kemurnian menggunakan KLT sistem 3 eluen. Struktur senyawa hasil isolasi ditentukan berdasarkan data spektroskopi UV dan NMR sedangkan aktivitas sitotoksik ditentukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Senyawa hasil isolasi bukan merupakan senyawa baru, senyawa tersebut telah banyak dilaporkan dalam berbagai jenis tumbuhan. Senyawa hasil isolasi diperoleh berupa kristal berwarna kuning sebanyak 10,2 mg. Data spektroskopi UV dan NMR (¹H-NMR dan ¹³C-NMR untuk 1-D, HSQC dan HMBC untuk 2-D) menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi adalah senyawa flavonoid kelompok flavonol yaitu senyawa 5-hidroksi-3,7,4'-trimetoksiflavon. Uji sitotoksik senyawa hasil isolasi terhadap *A. salina* mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi aktif sitotoksik dengan nilai LC₅₀ sebesar 46,97±26,03 mg/L.

Kata Kunci: *Vitex pinnata*, flavonoid, 5-hidroksi-3,7,4'-trimetoksiflavon, *Artemia salina*, sitotoksik.

Kutipan: 70 (1970-2025)

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS.....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
SUMMARY	xii
RINGKASAN.....	xiii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR TABEL.....	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Tumbuhan <i>Vitex pinnata</i> L (Laban)	4
2.2 Manfaat Tumbuhan <i>Vitex pinnata</i>	5
2.3 Kandungan dan Bioaktivitas Senyawa Tumbuhan <i>Vitex</i>	6
2.4 Teknik Kromatografi.....	16
2.5 Metode Ekstraksi	18

2.6	Spektroskopi.....	19
2.6.1	Spektroskopi UV-Vis	19
2.6.2	Spektroskopi Resonansi Magnet Inti Proton (^1H -NMR).....	20
2.6.3	Spektroskopi Resonansi Magnet Inti Karbon (^{13}C -NMR)	21
2.7	Sitotoksik.....	22
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....		23
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian	23
3.2	Alat dan Bahan	23
3.2.1	Alat	23
3.2.2	Bahan	23
3.3	Prosedur Penelitian	24
3.3.1	Persiapan dan Identifikasi Sampel	24
3.3.2	Maserasi Serbuk Batang Tumbuhan <i>Vitex pinnata</i>	24
3.3.3	Fraksinasi Ekstrak Metanol Pekat Daun Tumbuhan <i>Vitex pinnata</i>	24
3.3.4	Pemisahan dan Pemurnian Senyawa Metabolit Sekunder	25
3.3.5	Uji Kemurnian Senyawa Hasil Isolasi.....	25
3.3.6	Penentuan Struktur Senyawa Murni Hasil Isolasi.....	25
3.3.7	Pengujian Aktivitas Sitotoksik dengan Metode BSLT (<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>)	26
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		28
4.1.	Ekstraksi dan Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Daun Tumbuhan <i>Vitex Pinnata</i>	28
4.2	Uji Kemurnian Senyawa Hasil Isolasi	32
4.3	Identifikasi Senyawa Hasil Isolasi Dengan Spektrum UV dan NMR	33
4.3.1	Spektrum UV-Vis	33
4.3.2	Spektrum ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, HSQC, dan HMBC	35
4.3.3	Uji Sitotoksik Senyawa Hasil Isolasi.....	41

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	43
5.1 Kesimpulan.....	43
5.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tumbuhan <i>Vitex pinnata</i> L	4
Gambar 2. Reaksi biosintesis terpenoid jalur mevalonat (MVA) (Agusta, 2006).....	7
Gambar 3. Berbagai kerangka terpenoid	8
Gambar 4. Kerangka dasar steroid	10
Gambar 5. Berbagai kerangka steroid	11
Gambar 6. Struktur dasar fenolik.....	12
Gambar 7. Berbagai kerangka flavonoid.....	15
Gambar 8. (a) Hasil KLT fraksi <i>n</i> -heksana dan fraksi etil asetat di bawah lampu UV 254 nm (b) setelah disemprot serum sulfat.....	29
Gambar 9. (a) Hasil KLT perbandingan eluen fraksi <i>n</i> -heksana di bawah lampu UV 254 nm (b) setelah disemprot serum sulfat.....	30
Gambar 10. (a) Hasil KLT KCV fraksi <i>n</i> -heksana di bawah lampu UV 254 nm (b) setelah disemprot serum sulfat	31
Gambar 11. Fraksi D senyawa murni hasil isolasi dari fraksi <i>n</i> -heksana daun tumbuhan <i>V. pinnata</i>	32
Gambar 12. Hasil KLT sistem 3 eluen (a) <i>n</i> -heksana : aseton (9:1), (b) <i>n</i> - heksana : etil asetat (7:3), (c) <i>n</i> -heksana : kloroform (1:1).....	33
Gambar 13. Spektrum UV senyawa hasil isolasi (a) D + MeOH, (b) D + MeOH + NaOH, (c) D + MeOH + AlCl ₃ dan D + MeOH + AlCl ₃ + HCl	34
Gambar 14. Spektum ¹ H-NMR senyawa hasil isolasi	35
Gambar 15. Spektum ¹³ C-NMR senyawa hasil isolasi	37
Gambar 16. Spektrum HSQC senyawa hasil isolasi	38
Gambar 17. Spektrum HMBC senyawa hasil isolasi	39
Gambar 18. Korelasi proton dengan karbon spektrum HMBC pada senyawa hasil isolasi	40
Gambar 19. Struktur senyawa hasil isolasi fraksi D 5-hidroksi-3,7,4'- trimetoksiflavon	41

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Manfaat tumbuhan <i>V. pinnata</i> (Fatimah <i>et al.</i> , 2023).....	5
Tabel 2. Nilai pergeseran kimia secara umum beberapa proton spektroskopi ¹ H- NMR (Dachriyanus, 2004).	21
Tabel 3. Penggabungan hasil KCV	31
Tabel 4. Penambahan pereaksi geser pada spektrum UV-Vis	35
Tabel 5. Data spektrum ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, HSQC, dan HMBC senyawa hasil isolasi.....	40
Tabel 6. Data perbandingan senyawa hasil isolasi dengan senyawa pembanding.....	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema kerja ekstraksi daun <i>Vitex pinnata</i>	51
Lampiran 2. Skema kerja fraksinasi metanol pekat	52
Lampiran 3. Skema kerja isolasi dan pemurnian senyawa metabolit sekunder dari fraksi <i>n</i> -heksana.....	53
Lampiran 4. Skema kerja uji sitotoksik senyawa hasil isolasi	54
Lampiran 5. Data Hasil Uji Sitotoksik Senyawa Hasil Isolasi Terhadap <i>A. salina</i>	55

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki berbagai jenis tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat. Penggunaan obat tradisional telah banyak dilakukan oleh masyarakat Indonesia sebelum digunakannya obat sintetik seperti sekarang. Secara umum, penggunaan tumbuhan alami sebagai obat telah terbukti memiliki banyak manfaat dan lebih aman karena memiliki efek samping yang rendah (Diastuti *et al.*, 2024). Tumbuhan memiliki senyawa metabolit sekunder yang berkhasiat untuk dijadikan obat. Senyawa metabolit sekunder yang biasa digunakan sebagai obat tradisional antara lain flavonoid, terpenoid, steroid, dan fenolik (Khafid *et al.*, 2023).

Tumbuhan *Vitex* memiliki berbagai macam jenis salah satunya seperti *Vitex pinnata* atau sinonim dari *V. pubescens* (Zahid, 2009). Tumbuhan *V. pinnata* telah lama dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional untuk menangani berbagai jenis penyakit (Anwar & Futra, 2019). Di Indonesia, tanaman ini dikenal dengan beberapa nama seperti laban, halaban, halban, kayu bagak, dan akar laban. Tanaman ini memiliki banyak khasiat diantaranya bagian daun digunakan untuk meredakan demam, meningkatkan nafsu makan, serta mengobati luka. Kulit batangnya sering dimanfaatkan untuk mengatasi gangguan pencernaan, menyembuhkan luka, dan sebagai bahan pewarna alami. Sementara itu, akarnya sering digunakan untuk meredakan sakit perut (Sabarudin & Kurniasih, 2021).

Berdasarkan penelitian telah melaporkan kandungan kimia dalam genus *Vitex* yang menunjukkan berbagai aktivitas biologis. Senyawa 3',5'-dihidroksi-3,4',6,7-tetrametoksiflavon yang diisolasi dari daun tumbuhan *V. trifolia* diketahui memiliki aktivitas antikanker dengan nilai IC₅₀ sebesar 0,3 µg/mL (Chan *et al.*, 2018). Senyawa yang sama juga ditemukan pada buah tumbuhan *V. rotundifolia* dan menunjukkan aktivitas antiinflamasi melalui penghambatan proliferasi limfosit T dan B dengan nilai IC₅₀ sebesar 0,7 µmol/L (You *et al.*, 1998). Minyak dari daun *V. agnus-castus* dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri dengan nilai MIC sebesar 44,5 µg/mL dan nilai MBC sebesar 89,0 µg/mL terhadap bakteri *S. typhimurium* (Stojkovic *et al.*, 2022). Berbagai senyawa bioaktif dari spesies *V. pinnata* juga telah

dilaporkan bioaktivitasnya. Campuran senyawa β -sitosterol dan stigmasterol dari daun *V. pinnata* menunjukkan aktivitas antitrypanosomal dengan nilai MIC sebesar 6,25 $\mu\text{g/mL}$ (Kamal *et al.*, 2016). Selain itu, Faisal *et al.*, (2022) melaporkan senyawa luteolin dari daun tumbuhan *V. pinnata* mempunyai aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC_{50} sebesar $1,56 \pm 0,18 \mu\text{g/mL}$ yang menunjukkan potensi sebagai agen penangkal radikal bebas. Beberapa Senyawa berbeda dari tumbuhan ini juga telah dilaporkan dan diuji bioaktivitasnya antara lain senyawa golongan flavonoid dari daun tumbuhan *V. pinnata* yaitu 5-hidroksi-7,4'-dimetoksiflavon, 5-hidroksi-3,7,4'-trimetoksiflavon dan 5-hidroksi-3,3',4',7-tetrametoksiflavon. Masing-masing senyawa ini telah diuji sifat antibakterinya terhadap *Tripasonoma brucei* dengan nilai MIC masing-masingnya 21,0, 19,0 dan 17,0 $\mu\text{g/mL}$ (Kamal *et al.*, 2016).

Skrining awal yang sederhana dan mudah untuk senyawa antikanker adalah melalui pengujian aktivitas sitotoksik menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode ini didasarkan pada senyawa aktif dari tumbuhan yang bersifat toksik dan mampu membunuh *A. salina* (Rasyid *et al.*, 2020). Rinaldi *et al.*, (2016) telah melaporkan bahwa ekstrak metanol dari kulit kayu tumbuhan *V. pinnata* aktif sitotoksik melalui pengujian BSLT dengan nilai LC_{50} sebesar 177,0 ppm. Namun belum ditemukan laporan mengenai aktivitas sitotoksik dari bagian daun tumbuhan ini.

Berdasarkan studi literatur tersebut, bahwa tumbuhan *V. pinnata* mengandung senyawa flavonoid dan senyawa flavonoid sejenis telah dilaporkan berpotensi sebagai antikanker dengan berbagai mekanisme, maka pada penelitian ini dilakukan isolasi senyawa flavonoid dari daun tumbuhan *V. pinnata*, kemudian identifikasi senyawa hasil isolasi yang kemudian dilanjutkan dengan pengujian aktivitas sitotoksik dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) untuk melihat potensinya sebagai antikanker.

1.2 Rumusan Masalah

1. Senyawa metabolit sekunder apa yang berhasil diisolasi dari fraksi *n*-heksana daun tumbuhan *V. pinnata*?
2. Bagaimana aktivitas sitotoksik senyawa hasil isolasi dari daun tumbuhan *V. pinnata* terhadap *A. salina*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengisolasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada fraksi *n*-heksana daun tumbuhan *V. pinnata* dan menentukan struktur dari senyawa hasil isolasi menggunakan spektroskopi UV dan NMR.
2. Menentukan sitotoksik senyawa hasil isolasi terhadap *A. salina*.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan mampu menambah wawasan dalam mengetahui senyawa metabolit sekunder apa yang terkandung pada fraksi *n*-heksana daun tumbuhan *V. pinnata* dan bagaimana memahami bentuk struktur dari senyawa tersebut serta sifat toksik dari senyawa hasil isolasi yang diharapkan berguna untuk berbagai pengobatan.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, I. (2017). Identifikasi Komponen Senyawa dari Ekstrak Buah Laban (*Vitex pubescens* Vahl) Fraksi Eter dan Fraksi Kloroform. *Jurnal ilmiah kanderang Tingang*. 8(1):27-53.
- Agusta, A. (2006). Diversitas Jalur Biosintesis Senyawa Terpena Makhluk Hidup sebagai Target Obat Antiinfeksi Diversity of the Terpene Biosynthetic. *Jurnal Ilmiah Nasional*. 8: 141–152.
- Anggitasari, L. W., Alimuddin, A. H. dan Rudiyanasyah. (2020). Karakterisasi Senyawa Fenolik Kulit Akar Sukun (*Artocarpus communis*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 8(3): 1–8.
- Anwar, L. dan Futra, D. (2019). Potensi Metabolit Sekunder Produksi Bakteri Endofit dari Tumbuhan Laban (*Vitex pubescens* Vahl) sebagai Antikanker. *Chempublish Journal*. 4(2): 71–80.
- Anwar, L., Santoni, A., Putra, D. P. and Mai, E. (2019). Structure Elucidation of an Pentacyclic Triterpenoid and Phenolic from Steam Bark of *Vitex Pubescens* Vahl. *Journal of Chemical Natural Resources*. 1(1): 68–74.
- Anwar, L., Santoni, A., Putra, D.P. and Efdi, M. (2019). Cytotoxic Lactone-Type Diterpenoids and Triterpenoid from *Vitex pubescens* Vahl. *Journal Chem Rasayan*. 12(3):1641-1645.
- Arifin, B. dan Ibrahim, S. (2018). Struktur, Bioaktivitas dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*. 6(1): 21–29.
- Ata, A., Mbong, N., Iverson, C. D. and Samarasekera, R. (2010). Minor Chemical Constituents of *Vitex Pinnata*. *Natural Product Communication*. 1(4): 9–12.
- Atun, S. (2014). Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Metabolit. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur*. 8(2): 53–61.
- Chan, E. W. C., Wong, S. K. and Chan, H. T. (2018). Casticin From *Vitex* Species: A Short Review on its Anticancer and Anti-Inflammatory Properties. *Jurnal of Integrative Medicine*. 1-11.
- Diastuti, H., Mufida, Z. L. dan Purwati. (2024). Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Etil Asetat Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) serta Uji Aktivitas terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Sains Dan Edukasi Sains*, 7(1): 29–36.
- Ergina, Nuryanti, S dan Pursitasari, I. D. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *J. Akademika Kimia*. 3(3): 165–172.
- Ervianingsih., Mariane, I., Hurria. dan Jumadin, L. (2022). *Dasar Ilmu Farmasi*. Makassar: Tohar Media.
- Faisal, H. U., Efdi, M., Itam, A., Okselni, T. and Anwar, L. (2022). Antioxidant

- Activity-Guided Isolation of Phenolic Compounds from Leaves of *Vitex Pinnata* (Lamiaceae). *International Journal Chemical Science*. 31(6): 1–11.
- Fatimah, F., Lestariningsih, N., Najwa, F., Ainullatiffah, N. dan Dalila, A. (2023). Pemanfaatan Tumbuhan Halaban (*Vitex pinnata*) sebagai Obat Herbal Bagi Masyarakat Kalimantan Tengah. *Jurnal Penelitian Sains dan Pendidikan (JPSP)*. 3(1): 65–72.
- Fikayuniar, L. (2023). *Membedah Kandungan Kimia Baik dalam Picisan*. Yogyakarta: Jejak Pustaka.
- Fitrianti, S (2021). Isolasi Senyawa β -Sitostenon dari Fraksi *n*-Heksana Kayu Batang Tumbuhan *Vitex pinnata* dan Uji Aktivitas Antibakteri. *Skripsi*. Indralaya: Universitas Sriwijaya.
- Fonmboh, D. J., Abah, E. R., Fokunang, T. E., Herve, B., Teke, G. N., Rose, N. M., Borgia, N. N., Fokunang, L. B., Andrew, B. N., Kaba, N., Bathelemy, N. and Ntungwen, F. C. (2020). An Overview of Methods of Extraction Isolation and Characterization of Natural Medicinal Plant Products in Improved Traditional Medicine Research. *Asian Journal of Research in Medical and Pharmaceutical Sciences*. 9(10): 31–57.
- Fox, M. A. and Whitesell, J. K. (2004). *Organic Chemistry : Third Edition*. North Carolina: North Carolina State University.
- Hanson, J. R. (2003). *Tutorial Chemistry Natural Products The Secondary Metabolites*. Brighton: University of Sussex, Royal Society of Chemistry.
- Harini, N., Marianty, R. dan Wahyudi, V. A. (2019). *Analisa Pangan*. Sidoarjo: Zifatama Jawa.
- Hartina, H., Kusuma, R. dan Susanto, D. (2019). Pengaruh Ekstraksi Biji dan Kombinasi Media Tanam Terhadap Penyemaian Laban (*Vitex pinnata* L. Kuntze). *Al-Kauniah: Jurnal Biologi*. 12(1): 89–95.
- Jenie, U. A., Kardono, L. B. S., Hanafi, M., Rumampuk, R. J. and Darmawan, A. (2014). *Teknik Modern Spektroskopi NMR: Teori dan Aplikasi dalam Elusidasi Struktur Molekul Organik*. Jakarta: LIPI Press.
- Kamal, N., Clements, C., Gray, A. I. and Edrada-Ebel, R. A. (2016). Anti-infective Activities of Secondary Metabolites from *Vitex pinnata*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 6(1): 102–106.
- Kamar, I., Zahara, F. dan Yuniarni, D. (2021). Identifikasi Parasetamol dalam Jamu Pegal Linu menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *QUIMICA: Jurnal Kimia Sains dan Terapan*. 3(1) 24–29.
- Khafid, A., Wiraputra, M. D., Putra, A. C., Khoirunnisa, N., Putri, A. A. K., Suedy, S. W. A., & Nurchayati, Y. (2023). Uji Kualitatif Metabolit Sekunder pada Beberapa Tanaman yang Berkhasiat sebagai Obat Tradisional. *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, 8(1): 61–70.
- Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M. dan Kurniadi, B. (2008). *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga.

- Kusumo, P. (2020). Pemakaian Distribusi Tetesan Fasa Terdispersi untuk Evaluasi Unjuk Kerja proses Ekstraksi cair-cair menggunakan Kolom Isian antara lain ialah dengan mengasumsikan. *Serat Acitya-Jurnal Ilmiah UNTAG Semarang*. 1(1): 33–39.
- Lestari, F. (2010). *Bahaya Kimia : Sampling dan Pengukuran Kontaminan Kimia di Udara*. Jakarta: Buku Kedokteran
- Li, Y., Kong, D., Fu, Y., Sussman, M. R. and Wu, H. (2020). The Effect of Developmental and Environmental Factors on Secondary Metabolites in Medicinal Plants. *Journal Plant Physiology and Biochemistry*. 148(1): 80–89.
- Luxminarayan, L., Neha, S., Amit, V. and Khinchi, M. P. (2017). A Review on Chromatography Techniques. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*. 5(2): 1–8.
- Macedo, I., Silva, J. H., Silva, P. T., Cruz, B.G., Vale, J. P. C., Santos, H. S., Bandeira, P. N., Souza, E. B., Xavier, M. R., Coutinho, H. D. M., Filho, R. B. and Teixeira, A. M. R. (2019). Structural and Microbiological Characterization of 5-Hydroxy-3,7,4'-Trimethoxyflavone: A Flavonoid Isolated from *Vitex gardneriana* Schauer Leaves. *Microbial Drug Resistance*. 0(0): 1-5.
- Markham, K. R. and Thomas M. B. (1970). *The Systematic Identifications of Flavonoids*. Department of Botany: University of Texas.
- Maslebu, G., Trihandaru, S. dan Wibowo, N. A. (2014). Kombinasi Teknik Kromatografi Kolom Gravitasi- Spektrometer Sederhana sebagai Permodelan Kromatografi Cairan Kerja Tinggi (KCKT). *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Pendidikan Sains VII UKSW. September*. 88–94.
- Mastura., Barus, T., Marpaung, L. and Simanjuntak, P. (2018). Isolation and Identification of Iridoid from Water Extract of Leaves of *Vitex Pinnata* Linn. as Antioxidant. *Asian Journal of Chemistry*. 30(4). 814–816.
- Mastura, Barus, T., Marpaung, L. dan Simanjuntak, P. (2017). Senyawa Fenolik dari Daul Halban (*Vitex pinnata* Linn) sebagai Antioksidan. *Prosiding Seminar Naional*. 1966: 123–126.
- Mastura, M., Barus, T., Marpaung, L. dan Simanjuntak, P. (2019). Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Fraksi Etil Asetat dari Daun Halban (*Vitex Pinnata* Linn) Asal Aceh. *Talenta Conference Series: Science and Technology (ST)*. 2(1): 45–51.
- Mastura., Barus, T., Marpaung, L. and Simanjuntak, P. (2020). Isolation and Antioxidant Activity of Phenolic Compounds from Halban Leaves (*Vitex pinnata*) in Aceh. *Journal of Islamic Science and Technology*. 6(2): 213-221.
- Maurya, A., Kalani, K., Verma, S C., Singh, R. and Srivastava, A. (2018). Vacuum Liquid Chromatography: Simple, Efficient and Versatile Separation Technique for Natural Products. *Organic & Medicinal Chemistry International Journal*. 7(2): 1–3.

- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E. and McLaughlin, J. L. (1982). Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Journal of Medicinal Plant Research*. 45: 31-34.
- Mierza, V., Antolin, A., Ichsani, A., Dwi, N., Sridevi, S. dan Dwi, S. (2023). Research Article: Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid. *Jurnal Surya Medika*. 9(2): 134–141.
- Mirwan, A. (2013). Keberlakuan Model HB-GFT Sistem *n*-Heksana – Mek – Air pada Ekstraksi Cair-Cair Kolom Isian. *Konversi*. 2(1): 32.
- Najmah, Purnamasari, R., Limu, E., Uyun, H. S. K., Priyadi, S., Safitri, W., Megawati, Verawati. dan Wardi, E. S. (2025). *Fitokimia*. Sumatera Barat: Yayasan Tri Edukasi Ilmiah.
- Nasrul, P. I. dan Chatri, M. (2024). Peranan Metabolit Sekunder sebagai Antifungi. *Jurnal Pendidikan Tambusai*. 8(1): 15832–15844.
- Ningrum, D. M. (2023). *Buku Ajar Kimia Farmasi*. Samudera Biru : Yogyakarta.
- Nola, F., Putri, G. K., Malik, L. H. dan Andriani, N. (2021). Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Steroid dan Terpenoid dari 5 Tanaman. *Syntax Idea*. 3(7): 1612-1619.
- Nuraskin, C. A., Faisal, T. I. R., Salfiyadi, T. and Mardiah, A. (2022). Investigation on the Effectiveness of Mouth-Washing Using Laban Leaves (*Vitex pinnata*) Steeping Water in Reducing Plaque Accumulation: A Study in State Elementary School 1 Pagar Air, Aceh Besar. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*. 11(6): 545.
- Olivia, Z., Cahyani, A. N., Veranita, A., Pratiwi, P. D., Pebritinasari, R., Emilia, R., Arifianto, N., Dewi, I. R., Ani, N., Prasasti, A., Lutsina, N. W., Prasaja, B. J. dan Wahyuningsih, S. (2024). *Pengantar Dasar Farmasi*. Banten: Sada Kurnia Pustaka.
- Panche, A. N., Diwan, A. D. and Chandra, S. R. 2016. Flavonoids: and Overview. *Journal of Nutritional Science*. 5: 1-15.
- Rasyid, I. M., Yulianti, H., Triandita, N., Angraeni L. and Anggriawin, M. (2022). Toxicity Test of Laban Fruits (*Vitex pinnata* L) by Using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Methode. *International Conference on Sustainability Agriculture and Biosystem*. 1059.
- Rafiqah., Mastura. dan Hasibuan, M. P . (2019). Uji Toksisitas Fraksi Etanol Tanaman Obat yang Digunakan Masyarakat Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Chemica : Jurnal Pendidikan Kimia Dan Ilmu Kimia*, 2(1): 14–20.
- Rinaldi, F. F., Ibrahim, A., Fadraersada, J. dan Rijai, L. (2016). Identifikasi Metabolit Sekunder dan Pengujian Toksisitas Ekstrak Metanol Kulit Kayu Laban (*Vitex pinnata* L.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian*. 133-139.

- Rosamah, E. (2019). *Kromatografi Lapis Tipis : Metode Sederhana Dalam Analisis Kimia Tumbuhan Berkayu*. Kalimantan: Universitas Mulawarman Press.
- Sabarudin. dan Kurniasih, D. (2021). Komposisi Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Fraksi Etil Asetat Daun Laban (*Vitex pinnata* Linn). *Riset Informasi Kesehatan*. 10(1): 59.
- Saidi, N., Ginting, B., Murniana. dan Mustanir. (2018). *Analisis Metabolit Sekunder*. Aceh: Syiah Kuala University Press.
- Saifudin, A. (2014). *Senyawa Alam Metabolit Sekunder: Teori, Konsep dan Teknik Pemurnian*. Yogyakarta: CV Budi Utama.
- Solis, P. N., Wright, C. W., Anderson, M. M., Gupta, M. P. and Phillipson, J. D. (1993). A Microwell Cytotoxicity Assay Using *Artemia salina* (Brine Shrimp). *Planta Medica*.
- Stojkovic, D., Sokovic, M., Glamoclija, J., Dzamic, A., Ciric, A., Ristic, M. and Grubisic, D. (2022). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Vitex agnus-castus* L. Fruits and Leaves Essential Oils. *Food Chemistry*. 128: 1017-1022.
- Suhartati, T. (2017). *Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Lampung: AURA
- Suksamrarn, A. and Sommechai, C. (1993). *Ecdysteroids from Vitex pinnata*. *Phytochemistry*. 32(2): 303-306.
- Thenmozhi, S., Tahir, T. and Uthirapath, S. (2021). Pharmacognostical and Phytochemical Analysis of Stems of *Vitex pinnata* Linn. *Journal of Phytochemistry*. 15(2): 41–50.
- Upmanyu, N., Garg, G., Dolly, A. and Mishra, P. 2007. Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy an Evolutionary Approach to Drug Design. *E-Journal of Chemistry*. 4(3): 294-301.
- Vermmeris, W and Nichoson, R. (2006). *Phenolic Compound Biochemistry*. Netherlands: Springer.
- Wardenaar, E., Jayuska, A. dan Yanti, H. (2011). Karakterisasi Senyawa Cicerfuran dari Fraksi Etil Asetat Ekstrak Akar Kayu Laban (*Vitex pubescens* Vahl). *Fakultas Kehutanan Untan*. :37-42.
- Warono, D. dan Syamsudin. (2013). Unjuk Kerja Spektrofotometer untuk Analisa Zat Aktif Ketoprofen. *Konversi*. 2(2): 57-65.
- Yadav, L. D. S. (2005). *Organic Spectroscopy*. Allahabad: Springer-science Business Media Dordrecht.
- Yanlinastuti dan Fatimah, S. (2016). Pengaruh Konsentrasi Pelarut untuk Menentukan Paduan U-Zr dengan Menggunakan Metode Spektorfotometri Uv-Vis. *Pusat Teknologi Bahan Nuklir*. 9(17): 22–33.
- You, K. M., Son, K. H., Chang, H. W., Kang, S. S. and Kim, H .P. (1998).

- Vitexicarpin, A Flavonoid From the Fruits of *Vitex rotundifolia*, Inhibits Mouse Lymphocyte Proliferation and Growth of Cell Lines *in Vitro*. *Planta Medica*. 546-550.
- Yulianingtyas, A. dan Kusmartono, B. (2014). Optimasi Volume Pelarut dan Waktu Maserasi Pengambilan Flavonoid Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L.). *Jurnal Teknik Kimia*. 63(4): 477–478.
- Zahid, S. H. (2009). Isolation and Structure Elucidation of Bioactive Chemical Constituents from *Vitex pinnata*, *Artocarpus nobilis*, *Barleria prionitis*, *Buxus natalensis* and *Coprinus micaceus*. *Thesis*. Canada: Univeristas of Manitoba.