

**ISOLASI SENYAWA SESKUITERPEN LAKTON DARI FRAKSI ETIL
ASETAT DAUN *Tithonia diversifolia* SERTA SKRINING SITOTOKSIK
DENGAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)**

SKRIPSI

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



Oleh:

**NYIAYU HAMIDATUN NISA
08031282126029**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

2025

HALAMAN PENGESAHAN

**ISOLASI SENYAWA SESKUITERPEN LAKTON DARI FRAKSI ETIL
ASETAT DAUN *Tithonia diversifolia* SERTA SKRINING SITOTOKSIK
DENGAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)**

SKRIPSI

Diajukan Sebagai Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Bidang Studi Kimia

Oleh:
NYIAYU HAMIDATUN NISA
08031282126029

Indralaya, 21 Juli 2025

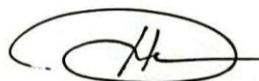
Menyetujui,

Dosen Pembimbing I,



Dr. Ferlinahayati, M.Si.
NIP. 197402052000032001

Dosen Pembimbing II,



Prof. Drs. Dedi Rohendi, M.T., Ph.D.
NIP. 196704191993031001

Mengetahui,

Dekan Fakultas MIPA



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

HALAMAN PERSETUJUAN

Karya tulis ilmiah berupa skripsi Nyiayu Hamidatun Nisa (08031282126029) dengan judul “Isolasi Senyawa Seskuitерpen Lakton dari Fraksi Etil Asetat Daun *Tithonia diversifolia* serta Skrining Sitotoksik dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)” telah disidangkan di hadapan Tim Penguji Sidang Sarjana Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 10 Juli 2025 dan telah diperbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai masukan yang telah diberikan.

Indralaya, 21 Juli 2025

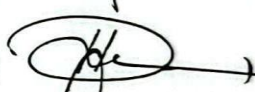
Ketua:

1. **Prof. Dr. Elfita, M.Si**
NIP. 196903261994122001

()

Anggota:

1. **Dr. Ferlinahayati, M.Si**
NIP. 197402052000032001
2. **Prof. Drs. Dedi Rohendi, M.T., Ph.D**
NIP. 196704191993031001
3. **Dr. Addy Rachmat, M.Si**
NIP. 197409282000121001

()
()
()

Mengetahui,



Dekan Fakultas MIPA
Prof. Hermansyah, S.Si., M.Si., Ph.D.
NIP. 197111191997021001



Ketua Jurusan Kimia
Prof. Dr. Muharni, M.Si.
NIP. 196903041994122001

HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Nyiayu Hamidatun Nisa
NIM : 08031282126029
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 syarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain. Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang 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.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Indralaya, 21 Juli 2025

Penulis



Nyiayu Hamidatun Nisa
NIM. 08031282126029

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama : Nyiayu Hamidatun Nisa
NIM : 08031282126029
Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/KimiaJenis
Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya "hak bebas royalti non-eksklusif (*non-exclusively royalty-free right*)" atas karya ilmiah saya yang berjudul: "Isolasi Senyawa Seskuitperpen Lakton dari Fraksi Etil Asetat Daun *Tithonia diversifolia* serta Skrining Sitotoksik dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)". Dengan hak bebas royalti non-eksklusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya dalam tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Indralaya, 21 Juli 2025

Penulis



Nyiayu Hamidatun Nisa
NIM. 08031282126029

HALAMAN PERSEMBAHAN

“...dan aku belum pernah kecewa dalam berdoa kepada-Mu...”

(Q.S Maryam: 4)

“...milik-Nya lah apa yang ada di langit, apa yang ada di bumi, apa yang ada diantara keduanya...”

(Q.S Thaha: 6)

“...diantara hamba-hamba Allah yang takut kepada-Nya, hanyalah para ulama (orang-orang yang berilmu)...”

(Q.S Fathir: 28)

Skripsi ini kupersembahkan kepada:

1. Allah ﷻ Yang Maha Agung, Maha Mulia
2. Nabi Muhammad ﷺ yang telah menuntun manusia dari jalan kegelapan menuju jalan yang terang benderang, yang selalu mengajarkan kesabaran dan ketenangan
3. Kedua orang tua tercinta, Bapak Kgs. M. Ja'far Sidiq dan Ibu Nawa Khoiriyah, atas seluruh doa dan pengorbanan yang telah diberikan
4. Kedua adik ku, Nyiayu Lisa'yiha Rodiah, A.Md.T dan Nyiayu Rizqy Syakira yang selalu memberikan semangat dan menghibur penulis dikala penulis bersedih
5. Keluarga besar Kgs. H. Abdul Hamid Hon Ismail (Alm) dan Nyayu Hj. Farida
6. Dosen pembimbing, Ibu Dr. Ferlinahayati, M.Si. dan Bapak Prof. Drs Dedi Rohendi, M.T., Ph.D
7. Muhammad Faisal Fanfani, yang telah membersamai dan menjadi tempat bercerita seluruh keluh kesah
8. Sahabat-sahabatku dan teman seperjuangan
9. Almamater Universitas Sriwijaya

The last one, I dedicate this to myself.

Keep challenging yourself, because success is a journey, not a destination.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT berkat rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah berupa skripsi yang berjudul “Isolasi Senyawa Seskuitperpen Lakton dari Fraksi Etil Asetat Daun *Tithonia diversifolia* serta Skrining Sitotoksik dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)”. Sholawat serta salam semoga selalu tercurah kepada Nabi Muhammad SAW yang telah membawa manusia dari zaman kegelapan menuju zaman yang terang benderang dengan ilmu pengetahuan. Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya. Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada **Ibu Dr. Ferlinahayati, M.Si** selaku dosen pembimbing tugas akhir dan **Bapak Drs. Dedi Rohendi, M.T., Ph.D** selaku dosen pembimbing akademik yang telah membimbing penulis selama penelitian, penulisan skripsi serta kegiatan perkuliahan sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Penulis juga menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya yang begitu besar.
2. Bapak Prof. Hermansyah, S.Si., M.Si., Ph.D. selaku Dekan FMIPA Universitas Sriwijaya.
3. Ibu Prof. Dr. Muharni, M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya.
4. Bapak Dr. Addy Rachmat, M.Si. selaku sekretaris Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya.
5. Ibu Prof. Dr. Elfita, M.Si dan Bapak Dr. Addy Rachmat, M.Si selaku dosen penguji sidang sarjana penulis.
6. Seluruh Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya yang telah membagikan ilmu dan berbagai pengalaman berharga selama masa perkuliahan.
7. Analis Laboratorium Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya (Yuk Nur, Yuk Yanti, Yuk Niar), terkhusus Yuk Nur'aini, M.Si terimakasih atas segala bantuan yang telah diberikan dalam memudahkan penulis menyelesaikan penelitian tugas akhir.
8. Kak Chosiin dan Mbak Novi selaku admin Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya.

9. Kak Daniel Alfaredo (Kimia S2), terimakasih banyak kak atas segala bantuan, waktu dan ilmu yang telah diberikan, semoga Allah membalas kebbaikannya.
10. Sahabat-sahabat SMA ku (Althaf, Arizah, Safira, Nova, Wiwin, Dwik) yang selalu meluangkan waktu untuk sekedar bercerita dan saling memberi semangat walau diterpa berbagai jadwal kesibukan masing-masing, semoga persahabatan kita langgeng di dunia sampai ke surga.
11. Khairani Septa Madira, terimakasih cece atas kerja sama dan pengalaman luar biasa yang sudah dilewati bersama, semoga kesuksesan selalu menyertai kita.
12. KO Geng (Mutiah, Amirah, Ilga), terimakasih *guys* atas waktu satu tahun penelitian ini, tidak terasa kita sudah berada dipenghujung. Banyak suka duka yang sudah dilewati bersama, senang bisa bekerja sama dengan kalian. Tetap semangat meraih mimpi!
13. Adik *online* ku, Aulia Hanna (Kimia'23) dan Qanitah Tsany (Farmasi'24) yang suka chat mendadak ngasih soal organik maupun curhat tugas kuliahnya, semangat terus di kimia dan farmasi ya!
14. *Partner* belajar tiap sebelum ujian, *Duo bestie* si Dinda Nurhaliza dan Febi Ayu Damayanti serta *Partner* lomba, Puan Maha Fira, Diyan Priyani, Dila Aulia
15. Adik-adik angkatan 2022, terkhusus adiknya Mutiah (Cahya Bintang Salsabila/Abil) yang sudah sering direpotkan oleh kami saat lembur penelitian, dan kelompok PMW *Bamboosta* (Ricky, Nazwa, Fredi, Kaia), kalian luar biasa *guys*!
16. Adik-adik praktikan kimia organik angkatan 2023 dan 2024 khususnya kelas B dan C, semoga nantinya banyak dari kalian yang memilih kimia organik sebagai penelitian tugas akhir, sehingga suatu saat ada yang membuka skripsi ini untuk jadi referensi penelitiannya.
17. Asisten kimia organik dan kimia umum tahun 2023-2025, terimakasih atas banyaknya kenangan dan pelajaran yang telah dilalui bersama.
18. Teman-teman kimia angkatan 2021
19. Seluruh pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

SUMMARY

ISOLATION OF SESQUITERPENE LACTONE COMPOUNDS FROM THE ETHYL ACETATE FRACTION OF *Tithonia diversifolia* LEAVES AND CYTOTOXIC SCREENING USING THE BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) METHOD

Nyiyayu Hamidatun Nisa: supervised by Dr. Ferlinahayati, M.Si and Prof. Drs. Dedi Rohendi, M.T., Ph.D.

Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Sriwijaya
xvi + 76 pages, 31 figures, 11 tables, 6 appendices.

Tithonia diversifolia is a shrub belonging to the *Asteraceae* family and one of 12 species classified under *Tithonia* genus. *T. diversifolia* is known in Indonesia as kipait, paitan, kembang bulan, and insulin. Previous studies have reported that *T. diversifolia* contains abundant sesquiterpene lactones compounds. Sesquiterpene lactones have been extensively reported in the aerial parts of *T. diversifolia*, without separating between stem and leaf parts. This study aims to isolate secondary metabolites from the ethyl acetate fraction of *T. diversifolia* leaves, followed by cytotoxicity testing. The isolation process involves extraction, fractionation, separation, and purification steps. Extraction was performed by maceration for 1 x 24 hours with methanol as the solvent, followed by liquid-liquid fractionation using *n*-hexane and ethyl acetate as solvents. Separation and purification of the compounds were carried out using various chromatographic techniques, including vacuum liquid chromatography, radial chromatography, and *Sephadex* column chromatography.

The structure of the isolated compound was determined using UV spectroscopy and NMR (¹H-NMR, ¹³C-NMR, HSQC, and HMBC). The isolated compound yielded 75.1 mg of a yellow solid. Structural elucidation revealed that the isolated compound belongs to the sesquiterpene lactone group with a germacrene skeleton named tagitinin C. Cytotoxicity testing using the BSLT method with *Artemia salina* larvae at test solution concentrations ranging from 100 to 1.56 mg/L indicated that the isolated compound was cytotoxic with an LC₅₀ value of 37.26 ± 3.03 µg/mL.

Keywords: *Tithonia diversifolia*, Sesquiterpene lactones, Brine Shrimp Lethality Test

Citations: 80 (1979–2025)

RINGKASAN

ISOLASI SENYAWA SESKUITERPEN LAKTON DARI FRAKSI ETIL ASETAT DAUN *Tithonia diversifolia* SERTA SKRINING SITOTOKSIK DENGAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Nyiyayu Hamidatun Nisa: dibimbing oleh Dr. Ferlinahayati, M.Si dan Prof. Drs. Dedi Rohendi, M.T., Ph.D.

Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya
xvi + 76 halaman, 31 gambar, 11 tabel, 6 lampiran.

Tithonia diversifolia merupakan tumbuhan perdu yang berasal dari famili *Asteraceae* dan termasuk salah satu dari 12 spesies genus *Tithonia*. *T. diversifolia* dikenal di Indonesia dengan sebutan kipait, paitan, kembang bulan dan insulin. Penelitian sebelumnya melaporkan tumbuhan *T. diversifolia* mengandung kelompok senyawa seskuiterpen lakton dalam jumlah yang melimpah. Senyawa seskuiterpen lakton banyak dilaporkan pada bagian *aerial parts* *T. diversifolia* yang tidak membedakan bagian batang dan daun. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder dari fraksi etil asetat daun *T. diversifolia* yang dilanjutkan dengan pengujian sitotoksik. Proses isolasi dilakukan melalui tahapan ekstraksi, fraksinasi, pemisahan dan pemurnian. Ekstraksi dilakukan dengan measerasi selama 1 x 24 jam dengan pelarut metanol, lalu dilanjutkan fraksinasi cair-cair dengan pelarut *n*-heksana dan etil asetat. Pemisahan dan pemurnian senyawa dilakukan dengan berbagai teknik kromatografi diantaranya kromatografi cair vakum, kromatografi radial dan kromatografi kolom *sephadex*.

Struktur senyawa hasil isolasi ditentukan dengan spektroskopi UV dan NMR (^1H -NMR, ^{13}C -NMR, HSQC dan HMBC). Senyawa hasil isolasi didapatkan sebanyak 75,1 mg berbentuk padatan berwarna kuning. Hasil elusidasi struktur menunjukkan senyawa hasil isolasi merupakan kelompok senyawa seskuiterpen lakton dengan kerangka germakrena bernama tagitinin C. Pengujian aktivitas sitotoksik dengan metode BSLT menggunakan larva *Artemia salina* pada konsentrasi larutan uji 100 sampai 1,56 mg/L menunjukkan senyawa hasil isolasi bersifat sitotoksik dengan nilai LC_{50} sebesar $37,26 \pm 3,03 \mu\text{g/mL}$.

Kata kunci: *Tithonia diversifolia*, Seskuiterpen lakton, *Brine Shrimp Lethality Test*

Sitasi: 80 (1979-2025)

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
SUMMARY	ix
RINGKASAN	x
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Deskripsi Tumbuhan <i>Tithonia diversifolia</i>	4
2.2 Manfaat Tumbuhan <i>Tithonia diversifolia</i>	5
2.3 Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan <i>Tithonia diversifolia</i>	6
2.3.1 Terpenoid.....	7
2.3.2 Steroid	13
2.3.3 Alkaloid	13
2.3.4 Fenolik.....	14
2.4 Bioaktivitas Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Daun <i>Tithonia diversifolia</i>	18
2.5 Identifikasi Senyawa Hasil Isolasi	20
2.5.1 Spektroskopi UV-Visible.....	20
2.5.2 Spektroskopi Resonansi Magnet Inti 1D (¹ H-NMR dan ¹³ C- NMR).....	22

2.5.3 Spektroskopi Resonansi Magnet Inti 2D (HSQC dan HMBC).....	23
2.6 Pengujian Aktivitas Sitotoksik.....	23
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	25
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	25
3.2 Alat dan Bahan.....	25
3.3 Prosedur Penelitian	26
3.3.1 Persiapan Sampel	26
3.3.2 Ekstraksi dan Fraksinasi Daun <i>Tithonia diversifolia</i>	26
3.3.3 Pemisahan dan Pemurnian Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Etil Asetat Daun <i>Tithonia diversifolia</i>	27
3.3.4 Uji Kemurnian Senyawa Hasil Isolasi.....	28
3.3.5 Identifikasi Senyawa Hasil Isolasi	28
3.3.6 Uji Sitotoksik dengan Metode BSLT	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Ekstraksi, Fraksinasi dan Purifikasi Senyawa Hasil Isolasi	30
4.2 Analisa Spektroskopi Senyawa Hasil Isolasi dengan UV dan NMR	40
4.3 Pengujian Sitotoksik Senyawa Tagitinin C	52
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	54
5.1 Kesimpulan	54
5.2 Saran	54
DAFTAR PUSTAKA.....	55
LAMPIRAN.....	62

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1 (a) Bentuk batang (b) Bentuk daun (c) Bentuk bunga	5
Gambar 2 Struktur Isoprena (C ₅ H ₈)	7
Gambar 3 Kerangka dasar seskuiterpenoid lakton (Chaturvedi <i>et al.</i> , 2015)	10
Gambar 4 Struktur dasar senyawa steroid.....	13
Gambar 5 Kerangka dasar fenilpropanoid	15
Gambar 6 Kerangka dasar senyawa flavonoid.....	17
Gambar 7 Transisi orbital elektron molekul organik (Suhartati, 2017).....	21
Gambar 8 Nilai pergeseran kimia proton ¹ H-NMR (Lambert & Mazzola, 2019)	22
Gambar 9 Nilai pergeseran kimia karbon ¹³ C-NMR (Lambert & Mazzola, 2019)	23
Gambar 10 (a) Hasil KLT fraksi etil asetat di bawah lampu UV pada λ254 nm (b) setelah disemprot serum sulfat	31
Gambar 11 (a) KLT hasil KCV 10,42 g fraksi etil asetat di bawah lampu UV λ254 nm (b) setelah disemprot serum sulfat.	32
Gambar 12 (a) KLT hasil KCV Fraksi C di bawah lampu UV pada λ254 nm (b) setelah disemprot serum sulfat.	33
Gambar 13.(a) KLT hasil kromatotron C1 (201,5 mg) di bawah lampu UV pada λ254 nm (b) setelah disemprot serum sulfat.....	34
Gambar 14 (a) KLT hasil <i>sephadex</i> C1.5 di bawah lampu UV pada λ254 nm (b) setelah disemprot serum sulfat.	35
Gambar 15 (a) KLT hasil kromatotron kesatu fraksi C2 di bawah lampu UV λ254 nm (b) setelah disemprot serum sulfat (c) KLT hasil kromatotron kedua fraksi C2 di bawah lampu UV λ254 nm (d) setelah disemprot serum sulfat	36
Gambar 16 (a) KLT hasil <i>sephadex</i> C2.d di bawah lampu UV pada λ254 nm (b) setelah disemprot serum sulfat.	37
Gambar 17 (a) KLT hasil <i>sephadex</i> C2.e di bawah lampu UV pada λ254 nm (b) setelah disemprot serum sulfat.	38

Gambar 18 (a) KLT hasil uji kemurnian sistem tiga eluen di bawah lampu UV pada $\lambda 254$ nm (b) setelah disemprot serum sulfat.....	39
Gambar 19 (a) Padatan fraksi C2d.3 (b) Padatan fraksi C2e.2 (c) Padatan fraksi C2e.3 (d) Padatan fraksi C15.c	39
Gambar 20 Spektrum UV senyawa C2e.3 dalam pelarut metanol.....	40
Gambar 21 Spektrum ^{13}C -NMR senyawa C2e.3 dalam pelarut kloroform.	41
Gambar 22 Spektrum ^1H -NMR senyawa C2e.3 dalam pelarut kloroform (perbesaran untuk daerah δ_{H} 1-3,5 ppm).	42
Gambar 23 Spektrum ^1H -NMR senyawa C2e.3 dalam pelarut kloroform (perbesaran untuk daerah δ_{H} 5-7 ppm).....	43
Gambar 24 (a) Spektrum HSQC senyawa C2e.3 daerah δ_{H} 1-3,6 ppm (b) daerah δ_{H} 5,3-7 ppm.....	45
Gambar 25 (a) Spektrum HMBC senyawa C2e.3 daerah δ_{H} 0,9-2,2 ppm (b) daerah δ_{H} 2-3,6 ppm (c) daerah δ_{H} 5,3-7,0 ppm.....	47
Gambar 26 Korelasi penting unit struktur senyawa hasil isolasi berdasarkan spektrum HMBC	48
Gambar 27 Lanjutan korelasi penting unit struktur senyawa hasil isolasi berdasarkan spektrum HMBC	49
Gambar 28 Struktur senyawa hasil isolasi fraksi C2e.3.....	50
Gambar 29 Grafik plot korelasi persen kematian terhadap konsentrasi senyawa uji pengulangan kesatu	72
Gambar 30 Grafik plot korelasi persen kematian terhadap konsentrasi senyawa uji pengulangan kedua.....	72
Gambar 31 Grafik plot korelasi persen kematian terhadap konsentrasi senyawa uji pengulangan ketiga	73

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1 Penggabungan eluat hasil KCV fraksi etil asetat 10,42 g daun <i>T. diversifolia</i>	32
Tabel 2 Penggabungan eluat hasil KCV C daun <i>T. diversifolia</i>	33
Tabel 3 Penggabungan eluat hasil kromatotron fraksi C1 (201,5 mg) daun <i>T. diversifolia</i>	34
Tabel 4 Penggabungan eluat hasil <i>sephadex</i> fraksi C1.5 (36,6 mg) daun <i>T. diversifolia</i>	35
Tabel 5 Penggabungan eluat hasil kromatotron fraksi C2 daun <i>T. diversifolia</i>	36
Tabel 6 Penggabungan eluat hasil <i>sephadex</i> fraksi C2.d daun <i>T. diversifolia</i>	38
Tabel 7 Penggabungan eluat hasil <i>sephadex</i> fraksi C2.e daun <i>T. diversifolia</i>	38
Tabel 8 Berat senyawa murni hasil isolasi dari empat fraksi	40
Tabel 9 Data korelasi spektrum HMBC senyawa hasil isolasi C2e.3	51
Tabel 10 Data spektrum NMR senyawa hasil isolasi dengan data NMR pembanding pada penelitian Edwards <i>et al.</i> (1979)	52
Tabel 11 Data hasil pengujian senyawa terhadap <i>Artemia salina</i>	53

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Hasil identifikasi tumbuhan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA), Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat.	63
Lampiran 2 Skema kerja ekstraksi dan fraksinasi daun <i>T. diversifolia</i>	64
Lampiran 3 Skema kerja pemisahan dan pemurnian fraksi etil asetat daun <i>T. diversifolia</i>	65
Lampiran 4 Perhitungan kalibrasi berat dan persentase rendemen ekstrak metanol total daun <i>T. diversifolia</i>	69
Lampiran 5 Skema kerja uji sitotoksik dengan metode BSLT	70
Lampiran 6 Grafik analisa probit persen kematian terhadap konsentrasi senyawa uji.....	72

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tumbuhan merupakan sumber obat-obatan herbal yang telah digunakan sejak ribuan tahun di bumi karena dipercaya dapat menyembuhkan berbagai penyakit (Mierza *et al.*, 2023). Seiring berkembangnya IPTEK, tumbuhan herbal terus diteliti dan dijadikan cikal bakal sebagai obat baru. Obat herbal dari tumbuhan dianggap lebih unggul dibanding obat sintetis karena memiliki harga yang terjangkau dan mudah didapatkan (Karunamoorthi *et al.*, 2013; Pan *et al.*, 2014). Salah satu tumbuhan yang memiliki banyak khasiat sebagai obat adalah tumbuhan *Tithonia diversifolia* (Plumeriastuti *et al.*, 2021).

T. diversifolia adalah tumbuhan perdu yang dapat beradaptasi dan tumbuh bebas di berbagai kondisi lingkungan. *T. diversifolia* dikenal di Indonesia dengan sebutan kipait, paitan, kembang bulan dan insulin. Penduduk Indonesia menggunakan tumbuhan *T. diversifolia* untuk mengobati penyakit liver, luka memar, kusta dan perut kembung (Plumeriastuti *et al.*, 2021). Bagian bunga dan akar *T. diversifolia* banyak diekstrak sebagai minyak atsiri karena memiliki aroma yang khas (Fauzi'ah & Hajati, 2020). Batang *T. diversifolia* juga digunakan untuk mengobati penyakit memar dan hepatitis (Ajao & Moteetee, 2017). Bagian tumbuhan *T. diversifolia* yang paling banyak digunakan adalah bagian daun. Ekstrak daun *T. diversifolia* oleh masyarakat tradisional digunakan topikal maupun oral untuk mengobati luka atau penyakit dalam (Tagne *et al.*, 2018).

Kemampuan tumbuhan *T. diversifolia* mengobati berbagai penyakit tidak terlepas dari peran senyawa aktif yang terkandung dalam tumbuhan tersebut. Senyawa aktif berasal dari proses metabolisme sekunder tumbuhan disebut metabolit sekunder. Hasil studi literatur menunjukkan tumbuhan *T. diversifolia* mengandung metabolit sekunder yang tergolong kelompok terpenoid, steroid, alkaloid dan fenolik (Rahman *et al.*, 2021; Roopa *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2012). Kelompok senyawa terpenoid terbanyak yang diidentifikasi dan diisolasi dari tumbuhan *T. diversifolia* adalah kelompok seskuiterpen lakton khususnya pada *aerial parts* (Kuroda *et al.*, 2007; Ngarivhume *et al.*, 2021). Selain itu, bagian daun

tumbuhan *T. diversifolia* dilaporkan mengandung senyawa seskuiterpen lakton berupa senyawa tagitinin A, tagitinin F dan orizabin (Ngarivhume *et al.*, 2021). Senyawa lain yang juga telah diisolasi dari bagian daun adalah senyawa β -sitosterol, γ -sitosterol dan stigmasta-5,22-dien-3-ol yang termasuk kelompok senyawa steroid (Roopa *et al.*, 2021). Kelompok senyawa fenolik yang ditemukan dari bagian daun tumbuhan *T. diversifolia* yaitu asam *p*-kumarat, asam klorogenat, apigenin dan luteolin (Passoni *et al.*, 2013; Tamfu *et al.*, 2022).

Keberagaman senyawa yang terdapat pada tumbuhan *T. diversifolia* perlu dieksplorasi lebih lanjut sehingga dapat dimanfaatkan sebagai obat baru. Berbagai pengujian bioaktivitas telah dilakukan pada ekstrak maupun senyawa hasil isolasi dari tumbuhan *T. diversifolia*. Senyawa seskuiterpen lakton yaitu tagitinin F dari daun *T. diversifolia* telah dilaporkan memiliki sifat antiinflamasi karena menghambat produksi sel TNF- α (Abe *et al.*, 2015). Senyawa seskuiterpen lakton yang diisolasi dari *aerial parts* *T. diversifolia* yaitu epoxytagitinin C juga dilaporkan memiliki aktivitas antiproliferatif yang signifikan sehingga potensial sebagai antikanker (Gu *et al.*, 2002). Senyawa kelompok flavonoid yaitu pacipodol yang diisolasi oleh Dlamini *et al.* (2020) dari bagian daun, dilaporkan aktif sebagai antioksidan dan menghambat pertumbuhan bakteri. Farias *et al.* (2019) melaporkan bahwa minyak atsiri dari daun tumbuhan *T. diversifolia* memiliki aktivitas sitotoksik dengan nilai LC₅₀ 3,11 μ g/mL menggunakan larva *Artemia salina*.

Studi literatur menunjukkan bahwa senyawa kelompok seskuiterpen lakton umumnya diisolasi dari bagian *aerial parts* yang tidak membedakan antara batang dan daun tumbuhan *T. diversifolia*. Tumbuhan tersebut umumnya berasal dari benua Amerika dan Afrika. Penelitian terhadap bagian batang tumbuhan *T. diversifolia* yang tumbuh di Indonesia oleh Alfarado (2025), menunjukkan bahwa pada bagian batang tumbuhan *T. diversifolia* tidak terdapat senyawa seskuiterpen lakton berdasarkan identifikasi dengan LC-MS. Peneliti tersebut berhasil mengisolasi senyawa flavonoid turunan poliketida dari bagian batang *T. diversifolia*.

Studi pendahuluan yang dilakukan terhadap *T. diversifolia* yang tumbuh di Indonesia menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) terhadap bagian batang dan daun menunjukkan pola noda yang berbeda. Hal ini mengindikasikan terdapat perbedaan kandungan senyawa antara bagian batang dan daun *T. diversifolia*. Hasil

KLT daun *T. diversifolia* juga menunjukkan terdapat senyawa kimia yang berpendar sehingga potensial untuk diisolasi. Berdasarkan penjelasan tersebut, dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun *T. diversifolia* terutama senyawa kelompok seskuiterpen lakton dari fraksi etil asetat yang dilanjutkan dengan pengujian sitotoksik untuk mengetahui potensi dari senyawa hasil isolasi sebagai obat antikanker.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang dijadikan acuan pada penelitian ini yaitu:

1. Senyawa metabolit sekunder apa yang terdapat pada fraksi etil asetat daun *Tithonia diversifolia* dan bagaimana struktur senyawa hasil isolasi?
2. Bagaimana tingkat sitotoksik senyawa hasil isolasi terhadap larva *Artemia salina*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini dilakukan adalah:

1. Mengisolasi senyawa metabolit sekunder daun *Tithonia diversifolia* dari fraksi etil asetat dan mengidentifikasi senyawa hasil isolasi dengan spektroskopi UV dan NMR.
2. Menentukan sifat sitotoksik senyawa hasil isolasi terhadap *Artemia salina* dengan menggunakan metode BSLT.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan validasi ilmiah terhadap tumbuhan *Tithonia diversifolia* yang sering digunakan sebagai obat tradisional dan mengeksplorasi potensi tumbuhan *Tithonia diversifolia* khususnya bagian daun sebagai tanaman penghasil obat baru.

DAFTAR PUSTAKA

- Abe, A. E., de Oliveira, C. E., Dalboni, T. M., Chagas-Paula, D. A., Rocha, B. A., de Oliveira, R. B., Gasparoto, T. H., da Costa, F. B., & Campanelli, A. P. (2015). Anti-inflammatory Sesquiterpene Lactones from *Tithonia diversifolia* Trigger Different Effects on Human Neutrophils. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25(2), 111–116.
- Ajao, A. A., & Moteetee, A. N. (2017). *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray. (Asteraceae: Heliantheae), An Invasive Plant of Significant Ethnopharmacological Importance: A review. *South African Journal of Botany*, 113, 396–403.
- Al Mamari, H. H. (2021). Phenolic Compounds: Classification, Chemistry, and Updated Techniques of Analysis and Synthesis. In *Phenolic Compounds-Chemistry, Synthesis, Diversity, Non-Conventional Industrial, Pharmaceutical and Therapeutic Application*. Intechopen.
- Alfarado, D. (2025). Study of Potential α -Glucosidase Inhibitor from *Tithonia diversifolia*: In Vitro, Pharmacokinetics, Toxicology, and Molecular Docking. *Indones. J. Chem*, 25(5), 575–589.
- Anjali, Kumar, S., Korra, T., Thakur, R., Arutselvan, R., Kashyap, A. S., Nehela, Y., Chaplygin, V., Minkina, T., & Keswani, C. (2023). Role of Plant Secondary Setabolites in Defence and Transcriptional Regulation in Response to Biotic Stress. *Plant Stress*, 8(2023).
- Artanti, N., Prasasty, V. D., & Sofyan, R. (2021). Antidiabetic Effects of *Tithonia diversifolia* and *Malus domestica* Leaf Extracts in Alloxan-Induced Sprague Dawley Rats. *Sys Rev Pharm*, 12(1), 1630–1638.
- Bernard, L. K., David, S. K., Mark, N. O., Charles, M. K., Geoffrey, R. M., Charles, M., Laban, I., & Willy, T. K. (2012). Larvicidal Action of Extracts from *Tithonia diversifolia* Against the Dengue Mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 2(1), 46–49.
- Bhambhani, S., Kondhare, K. R., & Giri, A. P. (2021). Diversity in Chemical Structures and Biological Properties of Plant Alkaloids. *Molecules*, 26(11).
- Bisht, B. S., & Joshi, R. K. (2017). Comparative Terpenoid Composition of The Leaf and Root Essential Oil of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 5(3), 21–24.
- Cabanne, C., Raedts, M., Zavadzky, E., & Santarelli, X. (2007). Evaluation of Radial Chromatography Versus Axial Chromatography, Practical Approach. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 845(2), 191–199.
- Chaturvedi, D., Dwivedi, K., & Mishra, M. (2015). Sesquiterpene Lactones: A Versatile Class of Structurally Diverse Natural Products and Their

- Semisynthetic Analogs as Potential Anticancer Agents. In *Bioactive Natural Products*. Wiley-VCH.
- Dachriyanus. (2004). *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK).
- Devi, T. B., Jena, S., Patra, B., Singh, K. D., Chawla, S., Raina, V., Koijam, A. S., Parida, A., & Rajashekar, Y. (2022). Acute and Sub-acute Toxicity Evaluation of Dihydro-p-coumaric acid Isolated from Leaves of *Tithonia diversifolia* Hemsl. A. Gray in BALB/c Mice. *Frontiers in Pharmacology*, 13.
- Dincheva, I., Badjakov, I., & Galunska, B. (2023). New Insights Into The Research of Bioactive Compounds from Plant Origins with Nutraceutical and Pharmaceutical Potential. *Plants*, 12(2), 1–4.
- Dlamini, B. S., Chen, C. R., Shyu, D. J. H., & Chang, C. I. (2020). Flavonoids from *Tithonia diversifolia* and Their Antioxidant and Antibacterial Activity. *Chemistry of Natural Compounds*, 56(5), 906–908.
- Edwards, J. A., Lewis, G. S., Fried, J. H., Strosberg, A. M., Miller, K. M., Ulrich, S., Liu, F., Roszkowski J Med, A. P., Baruah, N. C., Sharma, R. P., Madhusudanan, K. P., Thyagarajan, G., Hem, W., & Murari, R. (1979). Stereochemistry of The Tagitinins Sesquiterpene Lactones of *Tithonia diversifolia*. Stereochemistry of The Tagitinins and Related Compounds. *Adv. Heterocycl. Chem*, 44(11), 140–141.
- Erb, M., & Kliebenstein, D. J. (2020). Plant Secondary Metabolites as Defenses, Regulators, and Primary Metabolites: The Blurred Functional Trichotomy. *Plant Physiology*, 184(1), 39–52.
- Ewané, C. A., Mbanya, N. T., & Boudjeko, T. (2020). *Tithonia diversifolia* Leaves and Stems Use as Substrate Amendment Promote the Growth of Plantain Vivoplants in the Nursery. *Agricultural Sciences*, 11(09), 849–859.
- Farias, A. L. F., Rodrigues, A. B. L., Martins, R. L., Rabelo, É. de M., Farias, C. W. F., & de Almeida, S. S. M. da S. (2019). Chemical Characterization, Atioxidant, Cytotoxic and Microbiological Activities of The Essential Oil of Leaf of *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray (Asteraceae). *Pharmaceuticals*, 12(1).
- Fauzi'ah, L., & Hajati, S. N. (2020). Komposisi Kimia Penyusun Minyak Atsiri Daun Insulin (*Tithonia diversifolia* (Hamsley) A.Gray) dari Kalimantan Selatan. *Jurnal Sains Dan Edukasi Sains*, 3(2), 32–37.
- Fauziyah, Y., Desfika Nasution, S., Asfur, R., & Triwibowo, C. (2024). Potensi Daun *Tithonia diversifolia* sebagai Antihiperglikemia pada Diabetes Mellitus: Systematic Review. *Jurnal Implementa Husada*, 5(2).
- Giacomo, C. Di, Vanella, L., Sorrenti, V., Santangelo, R., Barbagallo, I., Calabrese, G., Genovese, C., Mastrojeni, S., Ragusa, S., & Acquaviva, R. (2015). Effects

- of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray Extract on Adipocyte Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells. *PLoS ONE*, 10(4).
- Gopinath, R., Billigraham, P., & Sathishkumar, T. P. (2023). Physico-Chemical, Mechanical and Thermal Properties of Novel Cellulosic Fiber Extracted from The Bark of *Tithonia diversifolia*. *Journal of Natural Fibers*, 20(1), 1–19.
- Gu, J. Q., Gills, J. J., Park, E. J., Mata-Greenwood, E., Hawthorne, M. E., Axelrod, F., Chavez, P. I., Fong, H. H. S., Mehta, R. G., Pezzuto, J. M., & Kinghorn, A. D. (2002). Sesquiterpenoids from *Tithonia diversifolia* with Potential Cancer Chemopreventive Activity. *Journal of Natural Products*, 65(4), 532–536.
- Hang Au, T. (2021). *Sesquiterpene Lactones and Their Derivatives : Extraction, Synthesis and Structure-Activity Relationship Studies*. Universite Paris-Saclay.
- Ismail, I. A., Riga, R., Suryani, O., Insani, M., Pernadi, N. L., & Febriyanti, A. (2022). Analisis Spektrum 1 H-NMR: Penjelasan Sederhana. *International Journal of Academic Multidisciplinary Research (IJAMR)*, 6(12).
- Jan, R., Asaf, S., Numan, M., Lubna, & Kim, K. M. (2021). Plant Secondary Metabolite Biosynthesis and Transcriptional Regulation in Response to Biotic and Abiotic Stress Conditions. *Agronomy*, 11(5).
- Julianto, T. S. (2019). *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Universitas Islam Indonesia.
- Kafle, B. P. (2020). Spectrophotometry and its application in chemical analysis. In *Chemical Analysis and Material Characterization by Spectrophotometry*. Elsevier.
- Kuo, Y.-H., & Chen, C.-H. (1998). Sesquiterpenes from the Leaves of *Tithonia diversifolia*. *Journal of Natural Products*, 61(6), 827–828.
- Kuroda, M., Yokasuka, A., Kobayash, R., Jitsuno, M., Kando, H., Nosaka, K., Ishii, H., Yamori, T., & Mimaki, Y. (2007). Sesquiterpenoids and Flavonoids from the Aerial Parts of *Tithonia diversifolia* and Their Cytotoxic Activity. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 55(8), 1240–1244.
- Lambert, J. B., & Mazzola, E. P. (2019). *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*. Pearson.
- Lawal, O. A., Kasali, A. A., Opoku, A. R., & Oyedeji, A. O. (2012). Volatile constituents of the flowers, leaves, stems and roots of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 15(5), 816–821.
- Lee, M. Y., Liao, M. H., Tsai, Y. N., Chiu, K. H., & Wen, H. C. (2011). Identification and Anti-Human Glioblastoma Activity of Tagitinin C from *Tithonia diversifolia* Methanolic Extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(6), 2347–2355.

- Lestari, S. A. D. (2016). Paitan (*Tithonia diversifolia*) sebagai Pupuk Organik pada Tanaman Kedelai The Advantage of Using 'Paitan' as Organic Manure for Soybean. *Iptek Tanaman Pangan*, 11(1), 49–55.
- Liao, M. H., Lin, W. C., Wen, H. C., & Pu, H. F. (2011). *Tithonia diversifolia* and Its Main Active Component Tagitinin C Induce Survivin Inhibition and G2/M Arrest in Human Malignant Glioblastoma Cells. *Fitoterapia*, 82(3), 331–341.
- Lin, C. Y., Liao, M. H., Yang, C. Y., Chang, C. K., Hsu, S. M., Juang, C. L., & Wen, H. C. (2022). Anti-Metastatic Activity of Tagitinin C from *Tithonia diversifolia* in a Xenograft Mouse Model of Hepatocellular Carcinoma. *Livers*, 2(4), 400–411.
- Ludwiczuk, A., Skalicka-Woźniak, K., & Georgiev, M. I. (2017). Terpenoids. In *Pharmacognosy: Fundamentals, Applications and Strategy*. Elsevier Inc.
- Lwanda, D., Pelusi, G., Mphanga, M., Mbalule, F., Makocho, P., Mandala, W., Madanitsa, M., Chigwechokha, P., Bandawe, G., & Dzinjalamala, F. K. (2023). Antibacterial Activity of Crude Aqueous Extracts of *Tithonia diversifolia* from Chichiri Area in Blantyre District, Malawi. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 16(4), 1961–1971.
- Masyita, A., Mustika Sari, R., Dwi Astuti, A., Yasir, B., Rahma Rumata, N., Emran, T. Bin, Nainu, F., & Simal-Gandara, J. (2022). Terpenes and Terpenoids as Main Bioactive Compounds of Essential Oils, Their Roles in Human Health and Potential Application as Natural Food Preservatives. *Food Chemistry: X*, 13.
- Maurya, A. (2018). Vacuum Liquid Chromatography: Simple, Efficient and Versatile Separation Technique for Natural Products. *Organic & Medicinal Chemistry International Journal*, 7(2).
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. A., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., & McLaughlin, J. L. (1982). *Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents*, 45.
- Miranda, M. A. F. M., Varela, R. M., Torres, A., Molinillo, J. M. G., Gualtieri, S. C. J., & Macías, F. A. (2015). Phytotoxins from *Tithonia diversifolia*. *Journal of Natural Products*, 78(5), 1083–1092.
- Miura, T., Nosaka, K., Ishii, H., & Ishida, T. (2005). Antidiabetic Effect of Nitobegiku, the Herb *Tithonia diversifolia*, in KK-Ay Diabetic Mice. *2152 Notes Biol. Pharm. Bull*, 28(11), 2152–2154.
- Moujir, L., Callies, O., Sousa, P. M. C., Sharopov, F., & Seca, A. M. L. (2020). Applications of Sesquiterpene Lactones: A Review of Some Potential Success Cases. *Applied Sciences*, 10(9).
- Muaja, A. D., Koleangan, H. S. J., & Runtuwene, M. R. J. (2013). Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun

- Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal Mipa Unstrat*, 2(2), 115–118.
- Mustapa, M. A., Taupik, M., Suryadi, A. M. A., Pakaya, M. S., Akuba, J., Djuwarno, E. N., & El Kiyat, W. (2023). Cytotoxicity and Fragmentation Pattern of *Datura metel* L. leaves Using Ultra-Performance Liquid Chromatography-Mass spectroscopy. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 13(6), 57–67.
- Nawaz, N. U. A., Saeed, M., Khan, K. M., Ali, I., Bhatti, H. A., Sabi-Ur-Rehman, Shahid, M., & Faizi, S. (2021). Isolation of Tyrosine Derived Phenolics and Their Possible Beneficial Role in Anti-inflammatory and Antioxidant Potential of *Tithonia tubaeformis*. *Natural Product Research*, 35(22), 4286–4294.
- Ngarivhume, T., Noreljaleel, A., Bonnet, S. L., & Wilhelm, A. (2021). Isolation and Antimalarial Activity of a New Flavonol from *Tithonia diversifolia* Leaf Extract. *Chemistry (Switzerland)*, 3(3), 854–860.
- Ojo, O. A., Ojo, A. B., Ajiboye, B. O., Olaiya, O., Okesola, M. A., Boligon, A. A., de Campos, M. M. A., Oyinloye, B. E., & Kappo, A. P. (2018). HPLC-DAD Fingerprinting Analysis, Antioxidant Activities of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray Leaves and Its Inhibition of Key Enzymes Linked to Alzheimer's Disease. *Toxicology Reports*, 5, 585–592.
- Oloo, M., & Menge, D. (2020). Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Crude Extract of *Tithonia diversifolia*. *Open Journal of Biological Sciences*, 5(1), 030–033.
- Omokhua, A. G., Abdalla, M. A., Van Staden, J., & McGaw, L. J. (2018). A Comprehensive Study of The Potential Phytomedicinal Use and Toxicity of Invasive *Tithonia* species in South Africa 06 Biological Sciences 0605 Microbiology. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18(1).
- Passoni, F. D., Oliveira, R. B., Chagas-Paula, D. A., Gobbo-Neto, L., & Da Costa, F. B. (2013). Repeated-dose Toxicological Studies of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray and Identification of The Toxic Compounds. *Journal of Ethnopharmacology*, 147(2), 389–394.
- Patadiya, N. (2020). Steroids : Classification, Nonenculture and Stereochemistry. *International Journal of Universal Pharmacy and Bio Sciences*, 9(5), 28–38.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., & Vyvyan, J. R. (2013). *Introduction to Spectroscopy*. Cengage Learning.
- Plumeriastuti, H., Habibi, M. A., Tehupuring, B. C., Effendi, M. H., Theresia, A., Estoepangestie, S., Sarudji, S., & Witaningrum, A. M. (2021). Antimicrobial effect of Methanol and Ethanol Extracts of Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) Leaves against *Staphylococcus aureus*. *E-Journal Unair*, 2021, 97–104.

- Pongoh, E. J. (2023). *Flavonoid*. Tim YPCM.
- Pulido, K. D. P., Colmenares Dulcey, A. J., & Isaza Martínez, J. H. (2017). New Caffeic Acid Derivative from *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray Butanolic Extract and Its Antioxidant Activity. *Food and Chemical Toxicology*, 109, 1079–1085.
- Rahman, N. F., Nursamsiar, Megawati, Handayani, & Soares, C. (2021). Total Phenolic and Flavonoid Contents and Antioxidant Activity of Kembang Bulan Leaves (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology Journal Homepage*, 1(1), 57–65.
- Roopa, M. S., Ramnath, S., Venkataramegowda, S., Shubharani, R., Rhetso, T., & Sivaram, V. (2021). Comparative Analysis of Phytochemical Constituents, Free Radical Scavenging Activity and Gc-Ms Analysis of Leaf And Flower Extract of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray. *Tithonia diversifolia Article in International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 11(10), 5081.
- Rüngeler, P., Lyb, G., Castro², V., Mora², G., Pahl³, H. L., & Merfort, L. (1998). Study of Three Sesquiterpene Lactones from *Tithonia diversifolia* on their Anti-Inflammatory Activity Using the Transcription Factor NF- κ B and Enzymes of the Arachidonic Acid Pathway as Targets. *Planta Medica*, 64(1998), 588–593.
- Santi, E., Wahyuningsih, M. S. H., & Budiyanto, A. (2019). Effect Of Tagitinin C Isolated From *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A Gray on Migration Activity and TGF-B1 Levels on Keloid Fibroblast. *Journal of Thee Medical Sciences (Berkala Ilmu Kedokteran)*, 51(03).
- Setiakusuma, N., Afifah, L., & Yustiano, A. (2023). Uji Efektivitas Ekstrak Daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*) Terhadap Mortalitas dan Intensitas Serangan Keong Mas (*Pomacea canaliculata* L.) pada Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) Varietas Inpari 32. *Jurnal Agroplasma*, 10(2), 682–688.
- Shitan, N. (2016). Secondary metabolites in plants: Transport and self-tolerance mechanisms. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 80(7), 1283–1293.
- Su, Z., Yang, Y., Chen, S., Tang, Z., & Xu, H. (2023). The Processing Methods, Phytochemistry and Pharmacology of *Gastrodia elata* Bl.: A Comprehensive Review. *Journal of Ethnopharmacology*, 314.
- Suhartati, T. (2017). *Dasar-dasar Spektrofotometer UV-Vis dan Spektrometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. CV. Anugrah Utama Raharja.
- Sullivan, P. J., Agardy, F., & Clark, J. J. J. (2005). *Living with the Risk of Polluted Water* in Book *The Environmental Science of Drinking Water*.

- Tagne, A. M., Marino, F., & Cosentino, M. (2018). *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray as A Medicinal Plant: A Comprehensive Review of Its Ethnopharmacology, Phytochemistry, Pharmacotoxicology and Clinical Relevance. *Journal of Ethnopharmacology*, 220, 94–116.
- Tamfu, A., Roland, N., Munvera Mfifen, A., Kucukaydin, S., Gaye, M., Veronica Botezatu, A., Emin Duru, M., & Mihaela Dinica, R. (2022). Phenolic Composition, Antioxidant and Enzyme Inhibitory Activities of *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth., *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray, and *Crossopteryx febrifuga* (Afzel.) Benth. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(4).
- Tran, T. T. T., Tran, V. H., Bui, V. T. U., & Giang, K. L. (2019). Selenyl Derivatives of Polysaccharide from *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray and their Cytotoxicity. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 9(2), 97–107.
- Twaij, B. M., & Hasan, M. N. (2022). Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources: Types, Synthesis, and Their Therapeutic Uses. *International Journal of Plant Biology*, 13(1), 4–14.
- Vogt, T. (2010). Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular Plant*, 3(1), 2–20.
- Wirasari, N., Handayani, V., & Herman, H. (2023). Uji Toksisitas Ekstrak Daun Kemiri (*Aleurites Moluccana*) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Makassar Natural Product Journal*, 1(2), 2023–2067.
- Yudono, B. (2017). *Spektrometri*. Simetri.
- Zhao, G. J., Xi, Z. X., Chen, W. S., Li, X., Sun, L., & Sun, L. N. (2012). Chemical Constituents from *Tithonia diversifolia* and Their Chemotaxonomic Significance. *Biochemical Systematics and Ecology*, 44, 250–254.
- Zhao, G., Li, X., Chen, W., Xi, Z., & Sun, L. (2012). Three New Sesquiterpenes from *Tithonia diversifolia* and Their Anti-hyperglycemic Activity. *Fitoterapia*, 83(8), 1590–1597.