

**KARAKTERISASI SENYAWA KIMIA TERISOLASI DARI FRAKSI
n-HEKSANA DAUN TUMBUHAN KIPAHIT (*Tithonia diversifolia*) SERTA
UJI SITOTOKSIK TERHADAP *Artemia salina***

SKRIPSI

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



Oleh:

MUTIAH

08031282126050

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2025**

HALAMAN PENGESAHAN

**KARAKTERISASI SENYAWA KIMIA TERISOLASI DARI FRAKSI
n-HEKSANA DAUN TUMBUHAN KIPAHIT (*Tithonia diversifolia*) SERTA
UJI SITOTOKSIK TERHADAP *Artemia salina***

SKRIPSI

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

Oleh:

MUTIAH

08031282126050

Indralaya, 21 Juli 2025

**Menyetujui,
Pembimbing**

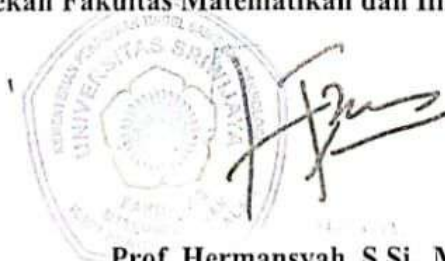


Dr. Ferlinahayati, M.Si

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 Mutiah (08031282126050) dengan judul “Karakterisasi Senyawa Kimia Terisolasi dari Fraksi *n*-Heksana Daun Tumbuhan Kipahit (*Tithonia diversifolia*) Serta Uji Sitotoksik Terhadap *Artemia salina*” telah disidangkan di hadapan Tim Penguji Sidang 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. Muharni, M.Si**
NIP. 196903041994122001

()

Anggota:

1. **Dr. Ferlinahayati, M.Si**
NIP. 197402052000032001
2. **Dr. Nurlisa Hidayati, M.Si**
NIP. 197211092000032001

()

()

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 di bawah ini:

Nama mahasiswa : Mutiah

NIM : 08031282126050

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 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



Mutiah

NIM. 08031282126050

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama : Mutiah
NIM : 08031282126050
Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Kimia
Jenis 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: "Karakterisasi Senyawa Kimia Terisolasi dari Fraksi *n*-Heksana Daun Tumbuhan Kipahit (*Tithonia diversifolia*) Serta Uji Sitotoksik Terhadap *Artemia salina*", 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 selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, 21 Juli 2025

Penulis



Mutiah

NIM. 08031282126050

HALAMAN PERSEMBAHAN

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا

“Maka, sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan.”

(QS. Al-Insyirah: 5)

لَا تَحْزَنْ إِنَّ اللَّهَ مَعَنَا

“Janganlah engkau bersedih, sesungguhnya Allah bersama kita”

(QS. At-Taubah: 40)

Skripsi ini kupersembahkan kepada:

1. Abi, Umi, dan Abangku tersayang, yang selalu memberikan doa, cinta, dan dukungan kepada penulis untuk terus berusaha.
2. Keluarga besar Sulaiman dan Mbah Sadikan yang selalu mendoakan, mendukung, serta memberikan semangat.
3. Dosen pembimbing, Ibu Dr. Ferlinahayati, M.Si.
4. Sahabat-sahabatku dan teman seperjuangan.
5. Almamater yang ku banggakan, Universitas Sriwijaya.

“To myself, for the unwavering dedication and countless hours. This is a testament to perseverance.”

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT berkat rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah berupa skripsi yang berjudul “Karakterisasi Senyawa Kimia Terisolasi dari Fraksi *n*-Heksana Daun Tumbuhan Kipahit (*Tithonia diversifolia*) Serta Uji Sitotoksik Terhadap *Artemia salina*”. 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 akademik dan pembimbing tugas akhir yang telah membimbing penulis selama penelitian dan penulisan skripsi sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Penulis juga menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat, nikmat, dan hidayah-Nya yang begitu besar sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan sangat baik.
2. Panutanku, Abiku tersayang (Purnomo), terima kasih telah berjuang untuk kehidupan penulis, memanjatkan beribu-ribu doa, mendidik, serta memotivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan studinya sampai sarjana. Pintu surgaku, Umiku tersayang (Siti Nurkomalasari), terima kasih telah menjadi Umi yang luar biasa hebat, yang telah banyak memberikan doa, cinta, kasih sayang, dan dukungan di setiap perjalanan penulis. Semoga kelak jerih payahmu terbayarkan dengan kesuksesan anak-anakmu. Abangku yang terbaik (Hakim), terima kasih telah menjadi donatur penulis yang tak pernah pamrih, yang selalu memberi solusi atas masalah yang dihadapi penulis, walaupun sering marah-marah, *but I know you love me, bro*.
3. Keluarga besar Sulaiman dan Mbah Sadikan yang selalu mendoakan, memotivasi, dan memberi dukungan. Terkhusus keluarga Sulaiman di Palembang (Mak Iyah, Bu Lela, Pakde Muhadi, Ayuk Yanti, dan Kak Yanto) yang selalu menjadi tempat pulang bagi penulis di perantauan ini.
4. Bapak Prof. Hermansyah, S.Si., M.Si., Ph.D. selaku Dekan FMIPA Universitas Sriwijaya.

5. Ibu Prof. Dr. Muharni, M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya.
6. Bapak Dr. Addy Rachmat, M.Si. selaku Sekretaris Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya.
7. Ibu Dr. Ferlinahayati, M.Si selaku dosen pembimbing akademik dan tugas akhir. Terima kasih telah memberikan ilmu yang sangat bermanfaat, yang senantiasa sabar dalam memberikan arahan, saran dan masukan, dan dukungan sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi ini. Semoga ibu diberikan kesehatan.
8. Ibu Prof. Dr. Muharni, M.Si. dan Ibu Dr. Nurlisa Hidayati, M.Si. selaku dosen penguji seminar dan sidang yang turut andil memberikan masukan, kritik, dan saran yang membangun penulis dalam menyempurnakan skripsi ini.
9. Seluruh Bapak dan Ibu Dosen FMIPA Jurusan Kimia Universitas Sriwijaya yang telah meluangkan waktu untuk mendidik, mengajar dan memberikan banyak ilmu dan pengetahuan yang sangat bermanfaat selama proses perkuliahan.
10. Staf dan pegawai civitas Akademik FMIPA Kimia Universitas Sriwijaya, terkhusus kepada Mbak Novi dan Kak Iin yang selalu sabar dan siap dalam melayani dan membantu kelancaran administrasi dari awal perkuliahan hingga tugas akhir.
11. Yuk Nur, Yuk Yanti dan Yuk Niar selaku analis kimia yang telah senantiasa membantu keperluan penelitian dalam menyelesaikan tugas akhir.
12. *To the person I've become through this process – amazing, kind, charming, and capable of more than I knew. This is for you. Thank you for always accompany and involved in my journey, I'm so lucky and grateful to have you, you bring me so much memories and many things I haven't see. If it's not because of you, maybe I just see a small world. Hope I can payback your extraordinary kindness. -R-*
13. *Member of* PKG (Winda, Sabil, Sodifa, Adel, Savirna, Widya, Nabigha, dan Diana), terima kasih banyak atas semua canda tawa, makanan, doa dan dukungan sehingga membuat penulis tidak merasa sendirian selama menjalani perkuliahan. Teruntuk, *winduyy my roommate* terima kasih banyak sudah

mengajak penulis untuk menjadi *partner* satu kamar kos, kalau bukan karenamu penulis tidak akan bertemu orang-orang baik di perkuliahan ini. Kubil, teman seperantauan yang selalu tak pulang saat libur semester, terima kasih banyak atas canda tawa dan banyak memori manis dan pahit selama di kos, kalau bukan karenamu mungkin penulis akan kesepian. Mba Codip, yang nasibnya sama seperti Kubil, kita selalu *survive* dan berkelana bersama-sama menjadi pribumi di Indralaya tercinta ini, kalau bukan karenamu mungkin pengalaman penulis tidak akan sebanyak ini. Adwel, teman yang selalu bisa mencairkan suasana dan mengerti keadaan penulis dengan tingkah lucunya dapat menghibur, kalau bukan karenamu mungkin penulis tidak bisa tertawa lepas. Sashfir, teman seperjuangan seminar, sidang, dan pemberkasan yang selalu membantu penulis dalam kelancaran skripsi ini, kalau bukan karenamu mungkin penulis tidak akan selancar ini dalam menyelesaikan pemberkasan. Wiwid, yang selalu memiliki *positive vibes* dengan cerita-ceritanya yang tak pernah habis, kalau bukan karenamu mungkin penulis akan ketinggalan banyak informasi. Nabnab, yang selalu *payoo gas* di setiap ajakan penulis untuk pergi, makan, atau membeli sesuatu, kalau bukan karenamu mungkin penulis tidak akan merasakan hal-hal baru. Didii, si baik hati dan *people pleaser* ini yang selalu memberi nasihat dengan pengalamannya, kalau bukan karenamu mungkin penulis tidak bisa sampai di titik ini.

14. Cahya Bintang Salsabila *a.k.a* Abil *a.k.a* Abing, teman yang selalu menemani penulis dari pertengahan kuliah hingga akhir perkuliahan ini, dari asisten-praktikan menjadi sahabat yang tak pernah terbayangkan ini, terima kasih banyak atas suka duka, canda dan tawa yang kita buat bersama, penulis berharap kamu selalu dikelilingi orang-orang baik, jangan takut untuk melangkah maju dan jangan anggap bahwa kamu sendirian, penulis tidak bisa berjanji untuk bisa menemanimu di fase tugas akhirmu, namun percayalah orang sebaikmu akan dikelilingi oleh orang-orang yang sama baiknya atau melebihi dirimu. Semangat Abing, penulis akan selalu mendukung tiap langkahmu. Mari mengeksplor lebih banyak lagi *Point coffee* di lain waktu.
15. *Member of* Tak Tahu (Vira dan Zesika) yang selalu mewarnai kehidupan perkuliahan penulis dengan lawakan Vira dan cerita Zesika yang

melengkapinya. Terima kasih banyak atas semua kebaikan dan memori hangat, tak terlupakan kos Zesika yang selalu menjadi tempat pulang dan masakan Vira yang lezatnya bukan main.

16. *Member of* KO Geng (Nyiayu, Amirah, dan Ilga), tak terbayangkan bahwa kita berempat dapat Bersatu dalam penelitian ini, jika bukan karena kalian mungkin penulis tidak bisa menyelesaikan ini dengan sangat baik. Terima kasih banyak atas suka duka, canda dan tawa selama satu tahun kita bersama dalam penelitian ini, semoga segala jerih payah dan usaha yang kita tuangkan bisa terbayar dengan kesuksesan, *see you on top, fellas!*
17. Winda Rahayu Agustina *a.k.a* Arap, teman sekelas dan satu kos penulis yang hingga saat ini sangat sangat sangat membantu dalam urusan penulis. Terima kasih banyak atas doa, dukungan, dan semangat yang diberikan, tak terhitung banyaknya pertanyaan dari penulis, tapi dengan sabarnya kamu selalu menjawab. Semoga segala kebaikanmu akan terbayarkan dengan hal yang jauh lebih baik lagi.
18. Teman pertama penulis di perkuliahan ini, Meilina Sri Wardhani. Walaupun jalan kita sudah berbeda sekarang, penulis sangat berterima kasih telah menjadi teman pertama dan mampu mempertahankan pertemanan ini. *I'm so grateful to meet and be friends with you, Mei!* Jika bukan karenamu mungkin penulis tidak akan *survive* dalam dunia perkuliahan ini, terima kasih sudah mengajarkan penulis arti pertemanan, doaku selalu menyertai langkahmu. Sukses selalu, Mei *and keep in touch with me, ya!*
19. *Member of* Giri Indah *a.k.a* Jabodetabek *pride* (Shafa, Hanna, Almira, Cinta, Grace, Amanda dan Aisyah) yang selalu menjadi teman perjalanan saat pulang ke rumah. Terima kasih banyak sudah menemani penulis dengan lawakan dan cerita-cerita yang mengiringi perjalanan panjang kita, jika bukan karena kalian mungkin penulis akan merasa kesepian setiap kali pulang ke rumah.
20. *Member of* Sasuke Musafir (Amirah, Cingka, dan Vira) yang selalu menemani penulis dalam menghadiri *event* jejepangan, terima kasih banyak atas pengalaman dan memori yang manis. Mari eksplor *event* lebih banyak lagi!
21. Teman-teman SMA penulis (Hafshah, Nadia, Cella, Shofi, Firman, Ilyas, dan Rozan), terima kasih banyak atas doa dan dukungan yang kalian berikan

kepada penulis, semoga di 10 tahun yang akan datang kita semua bisa berkumpul kembali di rumah curug Firman sembari bercerita tentang kesuksesan masing-masing.

22. Tetangga RT 10 (Teteh Muti, Mba Dilah, Kakak Rifa, Najwa, dan Ica) yang selalu menunggu kepulangan penulis untuk bisa bermain bersama lagi, terima kasih banyak atas doa dan semangat yang kalian berikan. Nanti kita kumpul lagi di sekretariat atau menginap bersama di rumah Mba Dilah lagi, ya!
23. *Member of 050 pride* (Kak Juli, Nazwa, dan Ammar) yang disatukan menjadi kakak dan adik asuh NIM 050, terima kasih banyak untuk Kak Juli yang telah membantu penulis dengan arahan dan nasihat selama perkuliahan, sukses selalu, Kak. Untuk Nazwa dan Ammar, terima kasih sudah menemani penulis selama perkuliahan, semangat untuk perkuliahannya, dan sukses selalu untuk *050 pride*.
24. *Member of Agak Laen* (Abil, Rahma, Davina, Anggi, Desti, Adisah), yang tak pernah terbayangkan oleh penulis bahwa bertemu kalian bisa menambah warna di kehidupan penulis, lawakan dan cerita kalian membuat penulis tertawa lepas. terima kasih banyak atas doa, dukungan, dan semangat yang kalian berikan. Mari agendakan jalan-jalan di Palembang itu!
25. Kak Daniel dan Bang Almer, duo maut di kimia organik ini yang sangat hebat dan suhu sekali, telah banyak memberikan ilmu dan *tips n trick* yang sangat membantu penulis selama penelitian. Terima kasih banyak atas segala arahan, masukan, saran, dan nasihat yang Kakak dan Abang berikan, semoga itu semua dapat menjadi amal Jaariyah. Sukses selalu, Kak dan Bang!
26. Lipai, Peped, Tekno, Kitty, Alm. Bejo, Dedek Suez, terima kasih banyak sudah melengkapi kehidupan penulis, membantu penulis dalam menyusun skripsi, menemani penulis di setiap perjalanan. Semoga kalian awet sampai yang punya lulus, ya!
27. Teman-teman seperjuangan angkatan 2021 yang sudah kebersamaan penulis dari awal hingga akhir perkuliahan, semangat dan sukses selalu, *guys*!
28. Adik-adik kimia angkatan 2022, 2023, dan 2024, semangat terus dalam menyelesaikan perkuliahannya

29. ***Last but not least, I wanna thank me*** *I wanna thank me for believing in me I wanna thank me for doing all this hard work I wanna thank me for having no days off I wanna thank me for, for never quitting I wanna thank me for always being a giver and tryna give more than I receive I wanna thank me for tryna do more right than wrong I wanna thank me for just being me at all times.*

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan kesalahan, sehingga penulis sangat mengharapkan kritik dan saran dari pembaca. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi semua orang dan bermanfaat untuk pengembangan kimia di masa depan. Akhir kata penulis mengucapkan terima kasih.

Indralaya, 21 Juli 2025

Penulis

Mutiah

NIM. 08031282126050

SUMMARY

CHARACTERIZATION OF CHEMICAL COMPOUNDS ISOLATED FROM *n*-HEXANE FRACTION OF KIPAHIT LEAVES (*Tithonia diversifolia*) AND CYTOTOXICITY TEST AGAINST *Artemia salina*

Mutiah: Supervised by Dr. Ferlinahayati, M.Si

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya
University

xix + 72 pages, 8 tables, 27 images, 10 attachments

The kipahit plant (*Tithonia diversifolia*) is a type of wild grass that originates from Mexico and Central America, which belongs to the *Asteraceae* family. This plant is reported to contain chemical compounds that have various biological activities, including antidiabetic, antibacterial, antioxidant, and anti-inflammatory. Studies on cytotoxic testing of fractions and compounds isolated from *T. diversifolia* leaves have never been reported. This study aims to isolate chemical compounds from the *n*-hexane fraction of *T. diversifolia* leaves and cytotoxic tests on *Artemia salina* from methanol extract, *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and isolated compounds using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method.

Isolation of chemical compounds was carried out by extraction using the maceration method with methanol solvent which was then continued with the fractionation process using *n*-hexane and ethyl acetate solvents. Separation and purification of the compounds were continued using the vacuum liquid chromatography (VLC), radial chromatography, and Sephadex LH-20 column chromatography methods. The isolated compound obtained was a white solid weighing 7.2 mg. Based on ¹H-NMR spectroscopy analysis, it showed that the isolated compound was a mixture of fatty acid methyl ester compounds and sesquiterpene lactone. GC-MS spectroscopy analysis showed that the mixture of compounds was dominated by three fatty acid methyl ester compounds, including methyl palmitate with a peak area of 17.04%; methyl 9-octadecenoate with a peak area of 41.54%; and methyl stearate with a peak area of 4.34%. Cytotoxicity testing of methanol extract, *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and isolated compounds from *T. diversifolia* leaves gave LC₅₀ values of 277.42; 972.03; 62.76; and 51.83 mg/L, respectively. These values indicate that the *n*-hexane fraction has a weak cytotoxic level compared to the methanol extract and ethyl acetate fraction, while the isolated compound has a strong cytotoxic level.

Keywords : *Tithonia diversifolia*, fatty acid methyl ester, methyl palmitate, methyl 9-octadecenoate, methyl stearate, cytotoxic, *Artemia salina*

Citations: 55 (1979-2025)

RINGKASAN

KARAKTERISASI SENYAWA KIMIA TERISOLASI DARI FRAKSI *n*-HEKSANA DAUN TUMBUHAN KIPAHIT (*Tithonia diversifolia*) SERTA UJI SITOTOKSIK TERHADAP *Artemia salina*

Mutiah: Dibimbing oleh Dr. Ferlinahayati, M.Si

Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya

xix + 72 halaman, 8 tabel, 27 gambar 10 lampiran

Tumbuhan kipahit (*Tithonia diversifolia*) adalah tumbuhan sejenis rumput liar yang berasal dari Meksiko dan Amerika Tengah, yang termasuk ke dalam famili *Asteraceae*. Tumbuhan ini dilaporkan mengandung senyawa kimia yang memiliki berbagai aktivitas biologis, diantaranya antidiabetes, antibakteri, antioksidan, dan antiinflamasi. Studi mengenai pengujian sitotoksik terhadap fraksi dan senyawa hasil isolasi dari daun tumbuhan *T. diversifolia* belum pernah dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa kimia dari fraksi *n*-heksana daun tumbuhan *T. diversifolia* serta uji sitotoksik terhadap *Artemia salina* dari ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan senyawa hasil isolasi menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Isolasi senyawa kimia dilakukan dengan ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol yang kemudian dilanjutkan proses fraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksana dan etil asetat. Pemisahan dan pemurnian senyawa dilanjutkan menggunakan metode kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi radial, dan kromatografi kolom Sephadex LH-20. Senyawa hasil isolasi yang diperoleh berupa padatan putih dengan berat 7,2 mg. Berdasarkan analisis spektroskopi ¹H-NMR menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi berupa senyawa campuran yang terdiri dari senyawa asam lemak metil ester dan seskuiterpen lakton. Analisis spektroskopi GC-MS menunjukkan bahwa campuran senyawa tersebut didominasi oleh tiga senyawa asam lemak metil ester antara lain metil palmitat dengan luas puncak 17,04%; metil 9-oktadekenoat dengan luas puncak 41,54%; dan metil stearat dengan luas puncak 4,34%. Pengujian sitotoksik terhadap ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan senyawa hasil isolasi dari daun tumbuhan *T. diversifolia* memberikan nilai LC₅₀ berturut-turut sebesar 277,42; 972,03; 62,76; dan 51,83 mg/L. Nilai tersebut menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksana memiliki tingkat sitotoksik yang lemah dibandingkan ekstrak metanol dan fraksi etil asetat, sementara senyawa hasil isolasi memiliki tingkat sitotoksik yang kuat.

Kata kunci : *Tithonia diversifolia*, asam lemak metil ester, metil palmitat, metil 9-oktadekenoat, metil stearat, sitotoksik, *Artemia salina*

Sitasi : 55 (1979-2025)

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
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	xiii
RINGKASAN	xiv
DAFTAR ISI	xv
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>Tithonia diversifolia</i> (Hemsl.) A. Gray.....	4
2.2 Manfaat Tumbuhan <i>Tithonia diversifolia</i> (Hemsl.) A. Gray	5
2.3 Kandungan dan Bioaktivitas Senyawa Kimia Tumbuhan <i>Tithonia diversifolia</i>	5
2.3.1 Terpenoid	6
2.3.2 Steroid.....	11
2.3.3 Fenilpropanoid.....	12
2.3.4 Flavonoid	14
2.3.5 Asam Lemak	16
2.4 Identifikasi Senyawa Hasil Isolasi.....	17
2.4.1 Spektroskopi Resonansi Magnet Inti Proton (¹ H-NMR)...	17
2.4.2 Spektroskopi Resonansi Magnet Inti Karbon (¹³ C-NMR). 19	19

2.4.3	<i>Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS)</i>	20
2.5	Sitotoksik	21
BAB III METODOLOGI PENELITIAN		22
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian	22
3.2	Alat dan Bahan	22
3.2.1	Alat	22
3.2.2	Bahan	22
3.3	Prosedur Penelitian	23
3.3.1	Persiapan Sampel	23
3.3.2	Ekstraksi Daun <i>Tithonia diversifolia</i>	23
3.3.3	Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun <i>Tithonia diversifolia</i>	23
3.3.4	Pemisahan dan Pemurnian Senyawa Kimia dari Fraksi <i>n</i> -Heksana	24
3.3.5	Uji Kemurnian Senyawa Hasil Isolasi	25
3.3.6	Penentuan Struktur Senyawa Hasil Isolasi	25
3.3.7	Uji Sitotoksik dengan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT)	26
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		28
4.1	Isolasi dan Pemurnian Senyawa Kimia dari Fraksi <i>n</i> -Heksana Daun Tumbuhan <i>Tithonia diversifolia</i>	28
4.2	Uji Kemurnian Senyawa Hasil Isolasi Bagian Daun Tumbuhan <i>T. diversifolia</i>	34
4.3	Identifikasi Struktur Senyawa Hasil Isolasi	35
4.4	Uji Sitotoksik	42
BAB V KESIMPULAN		44
5.1	Kesimpulan	44
5.2	Saran	44
DAFTAR PUSTAKA		45
LAMPIRAN		50

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1 Tumbuhan <i>T. diversifolia</i>	4
Gambar 2 Biosintesis terpenoid	7
Gambar 3 Kerangka dasar seskuiterpen lakton	9
Gambar 4 Biosintesis fenilpropanoid.....	12
Gambar 5 Kerangka dasar flavonoid.....	14
Gambar 6 Biosintesis flavonoid	15
Gambar 7 Kerangka dasar kelompok flavonoid.....	15
Gambar 8 Spektrum massa senyawa β -cymena	20
Gambar 9 KLT fraksi <i>n</i> -heksana daun tumbuhan <i>T. diversifolia</i>	29
Gambar 10 KLT hasil pemisahan KCV fraksi <i>n</i> -heksana	30
Gambar 11 KLT eluat hasil pemisahan kromatografi radial fraksi E.....	31
Gambar 12 KLT eluat pemisahan kromatografi kolom Sephadex fraksi E4.4	32
Gambar 13 KLT sistem 3 eluen fraksi E4.4	32
Gambar 14 KLT eluat hasil pemisahan kromatografi radial fraksi E4.4.....	33
Gambar 15 KLT sistem 3 eluen fraksi E4.4.5	34
Gambar 16 Senyawa E4.4.5 hasil isolasi daun tumbuhan <i>T. diversifolia</i>	35
Gambar 17 Spektrum ^1H -NMR senyawa hasil isolasi E4.4.5.....	35
Gambar 18 Kromatogram GC senyawa hasil isolasi E4.4.5	36
Gambar 19 Spektrum massa pada puncak waktu retensi 19,77	38
Gambar 20 Struktur senyawa metil palmitat.....	38
Gambar 21 Pola fragmentasi senyawa metil palmitat.....	39
Gambar 22 Spektrum massa puncak waktu retensi 22,12.....	39
Gambar 23 Struktur senyawa metil 9-oktadekenoat	40
Gambar 24 Pola fragmentasi senyawa metil 9-oktadekenoat	40
Gambar 25 Spektrum massa puncak waktu retensi 22,36.....	41
Gambar 26 Struktur senyawa metil stearat	41
Gambar 27 Pola fragmentasi senyawa metil stearat	41

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1 Nilai pergeseran kimia ^1H -NMR	18
Tabel 2 Nilai pergeseran kimia ^{13}C -NMR	19
Tabel 3 Penggabungan eluat hasil pemisahan KCV fraksi <i>n</i> -heksana	29
Tabel 4 Penggabungan eluat hasil pemisahan kromatografi radial fraksi E	31
Tabel 5 Penggabungan eluat hasil pemisahan kromatografi kolom Sephadex LH-20 fraksi E4	32
Tabel 6 Penggabungan eluat hasil pemisahan kromatografi radial fraksi E4.4	34
Tabel 7 Nilai SI/RSI pada setiap puncak	38
Tabel 8 Nilai LC_{50} ekstrak, fraksi, dan senyawa hasil isolasi daun tumbuhan <i>T. diversifolia</i>	44

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Hasil identifikasi tumbuhan di Herbarium Universitas Andalas, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat	51
Lampiran 2 Skema kerja ekstraksi daun tumbuhan <i>Tithonia diversifolia</i>	52
Lampiran 3 Skema kerja fraksinasi ekstrak metanol daun tumbuhan <i>Tithonia diversifolia</i>	53
Lampiran 4 Skema kerja isolasi dan pemurnian senyawa kimia dari fraksi <i>n</i> -heksana daun tumbuhan <i>Tithonia diversifolia</i>	54
Lampiran 5 Skema kerja uji sitotoksik ekstrak dan fraksi daun tumbuhan <i>Tithonia diversifolia</i> dengan metode BSLT	56
Lampiran 6 Skema kerja uji sitotoksik senyawa hasil isolasi daun tumbuhan <i>Tithonia diversifolia</i> dengan metode BSLT	57
Lampiran 7 Kondisi instrumen <i>Gas Chromatography – Mass Spectrometry</i> (GC-MS).....	58
Lampiran 8 Spektrum massa pembanding senyawa hasil isolasi dengan <i>Library data</i> NIST	59
Lampiran 9 Data hasil pengujian sitotoksik ekstrak dan fraksi daun <i>T. diversifolia</i> terhadap larva udang <i>A. salina</i>	64
Lampiran 10 Data hasil pengujian sitotoksik senyawa hasil isolasi daun <i>T. diversifolia</i> terhadap larva udang <i>A. salina</i>	70

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara di dunia yang kaya akan keanekaragaman hayati, yang memiliki berbagai jenis tumbuhan yang berkhasiat dan biasanya dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional. Efek samping yang ditimbulkan dari tumbuhan herbal lebih sedikit daripada obat modern, sehingga penggunaan tumbuhan herbal dianggap lebih aman (Ramadhani dkk, 2020). Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional di Indonesia adalah tumbuhan kipahit (*Tithonia diversifolia*). Tumbuhan ini digunakan dalam pengobatan tradisional di seluruh dunia untuk berbagai penyakit seperti diabetes, hematoma, infeksi genital mikroba, gigitan ular, abses, infeksi kulit, dan penyembuhan luka. Sementara di Indonesia, tumbuhan ini biasanya digunakan untuk pengobatan diabetes, diare, penyakit liver, sakit perut, dan luka (Lalremruata, 2025; Wahyuningsih dkk, 2015).

Tumbuhan *T. diversifolia* dilaporkan mengandung senyawa metabolit sekunder yang memiliki berbagai aktivitas biologis. Beberapa senyawa metabolit sekunder yang telah berhasil diisolasi dari tumbuhan *T. diversifolia* adalah piperiton, tagitinin C, tagitinin A, tagitinin G, tagitinin H, tirotundin, asam *trans*-sinamat, apigenin, dan nepetin, dengan kelimpahan yang banyak berupa senyawa seskuiterpen lakton (Farias *et al.*, 2019; Miranda *et al.*, 2015; Tamfu *et al.*, 2022; Zhao *et al.*, 2012). Sabaris *et al.* (2023) melaporkan bahwa ekstrak tumbuhan *T. diversifolia* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif *Enterococcus faecalis* dan bakteri gram negatif *Eschericia coli* menggunakan metode difusi cakram. Ekstrak *n*-heksana tumbuhan *T. diversifolia* menunjukkan aktivitas penghambatan dari 40%-83% pada bakteri gram positif dan 16%-43% pada bakteri gram negatif. Sementara pada ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas penghambatan berkisar antara 39%-87% pada bakteri gram positif dan 30%-54% pada bakteri gram negatif. Studi lain melaporkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam bagian daun tumbuhan *T. diversivolia* yaitu senyawa asam 4,5-dikafeoilkuinat, asam 3,4-dikafeoilkuinat, dan asam 3,5-

dikafoeilkuinat memiliki bioaktivitas antioksidan yang diuji terhadap radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) dan mampu mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} (Pulido *et al.*, 2017).

Tingkat toksik atau beracun suatu senyawa dapat ditunjukkan dari efek sitotoksiknya, yang juga dapat menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki aktivitas anti-kanker. Oleh karena itu, diperlukan pengujian sitotoksik terhadap ekstrak, fraksi maupun senyawa hasil isolasi tumbuhan *T. diversifolia* sebagai langkah *pre-screening* awal senyawa-senyawa yang berpotensi digunakan sebagai anti-kanker. Beberapa peneliti sebelumnya telah melakukan pengujian efek sitotoksik terhadap ekstrak tumbuhan *T. diversifolia* menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Ekstrak etanol daun tumbuhan *T. diversifolia* dilaporkan memiliki sifat toksik dengan nilai LC_{50} sebesar 58,5 $\mu\text{g/mL}$ (Komba *et al.*, 2025). Studi lain dari Masood *et al.* (2017) melaporkan bahwa ekstrak metanol tumbuhan *T. diversifolia* menunjukkan aktif sitotoksik dengan LD_{50} sebesar 228,6 $\mu\text{g/mL}$.

Berdasarkan studi literatur, peneliti-peneliti sebelumnya hanya berfokus melaporkan hasil pengujian sitotoksik dari ekstrak hasil ekstraksi tumbuhan *T. diversifolia*, dan belum terdapat informasi mengenai pengujian sitotoksik baik dari fraksi maupun senyawa hasil isolasi. Studi pendahuluan berdasarkan hasil analisis KLT (Kromatografi Lapis Tipis) terhadap daun tumbuhan *T. diversifolia* menunjukkan bahwa terdapat beberapa senyawa yang berpotensi, sehingga dalam penelitian ini dilakukan isolasi senyawa kimia pada daun tumbuhan *T. diversifolia* dan pengujian sitotoksik terhadap ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan senyawa hasil isolasi dari daun tumbuhan *T. diversifolia* menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) untuk mengetahui aktivitas sitotoksik berdasarkan nilai LC_{50} .

1.2 Rumusan Masalah

1. Senyawa kimia apa yang berhasil diisolasi dari fraksi *n*-heksana daun tumbuhan *Tithonia diversifolia*?
2. Bagaimanakah aktivitas sitotoksik dari ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan senyawa hasil isolasi daun tumbuhan *Tithonia*

diversifolia berdasarkan nilai LC_{50} melalui metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengisolasi senyawa kimia dari fraksi *n*-heksana daun tumbuhan *Tithonia diversifolia* dan menentukan struktur molekul senyawa hasil isolasi menggunakan spektrofotometer 1H -NMR dan GC-MS.
2. Menentukan aktivitas sitotoksik dari ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan senyawa hasil isolasi daun tumbuhan *Tithonia diversifolia* berdasarkan nilai LC_{50} melalui metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

1.4 Manfaat Penelitian

Memberikan informasi mengenai kandungan senyawa kimia yang terdapat pada daun tumbuhan *Tithonia diversifolia* dan aktivitas sitotoksik dari ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan senyawa hasil isolasi yang diharapkan dapat berguna dalam bidang pengobatan.

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.
- Ajaiyeoba, E. O., Abiodun, O. O., Falade, M. O., Ogbole, N. O., Ashidi, J. S., Happi, C. T., & Akinboye, D. O. (2006). In Vitro Cytotoxicity Studies of 20 Plants Used in Nigerian Antimalarial Ethnomedicine. *Phytomedicine*, 13(4), 295–298.
- 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(1), 396–403.
- Amanatie & Sulistyowati, E. (2015). Structure Elucidation of the Leaf of *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray. *Jurnal Sains dan Matematika*, 23(4), 101–106.
- Ambrósio, S. R., Oki, Y., Heleno, V. C. G., Chaves, J. S., Nascimento, P. G. B. D., Lichston, J. E., Constantino, M. G., Varanda, E. M., & Da Costa, F. B. (2008). Constituents of Glandular Trichomes of *Tithonia diversifolia*: Relationships to Herbivory and Antifeedant Activity. *Phytochemistry*, 69(10), 2052–2060.
- Ang, A. M. G., Enot, M. M., Baltazar, G. J. D., Alinapon, C. V., Buncales, E. O., & Barbosa, G. B. (2019). Antioxidant and Cytotoxic Activity of the Leaf Ethanolic Extracts of *Tithonia diversifolia* and *Gliricidia sepium* from Bukidnon, Philippines. *Asian Journal of Biological and Life Sciences*, 8(1), 08–15.
- Arita, S., Dara, M. B., & Irawan, J. (2008). Pembuatan Metil Ester Asam Lemak dari CPO Off Grade dengan Metode Esterifikasi-Transesterifikasi. *Jurnal Teknik Kimia*, 15(2), 34–43.
- Baruah, N. C., Sharma, R. P., Madhusudanan, K. P., & Thyagarajan. (1979). Sesquiterpene Lactones of *Tithonia diversifolia*. Stereochemistry of the Tagitinins and Related Compounds. *Journal Organic Chemistry*, 44(11), 1831–1835.
- Credo, D., Mabiki, F. P., Machumi, F., & Cornett, C. (2022). Structural Elucidation and Toxicity Evaluation of Bioactive Compounds from the Leaves and Stem woods of *Synadenium galuescens* Pax. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(2), 59–66.
- Ismail, A. I., Riga, R., Suryani, O., Insani, M., Lian Pernadi, N., & Febriyanti, A. (2022). Analisis Spektrum ¹H-NMR: Penjelasan Sederhana. *International Journal of Academic Multidisciplinary Research*, 6(12), 336–342.
- Dalimunthe, C. I., & Rachmawan, A. (2017). Prospek Pemanfaatan Metabolit Sekunder Tumbuhan Sebagai Pestisida Nabati untuk Pengendalian Patogen pada Tanaman Karet. *Warta Perkaretan*, 36(1), 15–28.

- 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, Antioxidant, Cytotoxic and Microbiological Activities of The Essential Oil of Leaf of *Tithonia Diversifolia* (Hemsl) A. Gray (Asteraceae). *Pharmaceuticals*, 12(1).
- 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.
- Gujar, A., Anderson, T., Cavagnino, D., & Patel, A. 2018. *Comparative Analysis of Mass Spectral Matching for Confident Compound Identification Using the Advanced Electron Ionization Source for GC-MS*. Thermo Scientific Inc: Texas.
- Gunawan, R., & Nandiyanto, A. B. D. (2021). How to Read and Interpret ¹H-NMR and ¹³C-NMR Spectrums. *Indonesian Journal of Science and Technology*, 6(2), 267–298.
- Habtemariam, S. (2019). Introduction to Plant Secondary Metabolites-From Biosynthesis to Chemistry and Antidiabetic Action. *Medicinal Foods as Potential Therapies for Type-2 Diabetes and Associated Diseases*, 109–132.
- Hiransai, P., Tangpong, J., Kumbuar, C., Hoonheang, N., Rodpech, O., Sangsuk, P., Kajklangdon, U., & Inkaow, W. (2016). Anti-Nitric Oxide Production, Anti-Proliferation and Antioxidant Effects of The Aqueous Extract from *Tithonia diversifolia*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(11), 950–956.
- Holcapek, M. & Byrdwell. W. C. (2017). *Handbook of Advanced Chromatography/Mass Spectrometry Techniques*. USA: Elsevier Inc.
- Jain, C., Khatana, S. & Rekha Vijayvergia. (2019). Bioactivity of Secondary Metabolites of Various Plants: A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(2), 494–504.
- Ivanescu, B., Miron, A., & Corciova, A. (2015). Sesquiterpene Lactones from Artemisia Genus: Biological Activities and Methods of Analysis. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 12, 1-21.
- Jenie, U. A., Kardono, L. B. S., Hanafi, M., Rumampuk, R. J., & Darmawan, A. (2014). *Teknik Modern Spektroskopi NMR : Teori dan Aplikasi dalam Elusidasi Struktur Molekul Organik*. LIPI Press.
- Julianto, T. S. (2019). *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Jakarta: EGC.
- Juniarti, S. M. (2023). Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Fraksi N-Heksana Batang Tumbuhan Kipahit (*Tithonia Diversifolia*) Serta Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus Epidermidis* dan *Streptococcus Pyogenes*. *Skripsi*. Indralaya: Universitas Sriwijaya.

- Kabera, J., Edmond, S., Ally, M., & Xin, H. (2014). Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(1), 377–392.
- Komba, L. S., Mgonja, F. R., Issae, I. R., & Katakweba, A. S. (2013). Studies on Anthelmintic Activity of *Tithonia Diversifolia* in Mbinga District, Tanzania. *World Journal of Veterinary Science*, 5, 1–7.
- Kuroda, M., Yokosuka, A., Kobayashi, 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.
- Knothe, G. (2005). *The Lipid Library*. USA: National Center for Agriculture Utilization Research.
- Lalremruata, B. C., Vanlalhluna, P. C., & Singh, G. (2025). Tagitinin C- A Potential Anticancer Agent from *Tithonia diversifolia*: A Comprehensive Review. *South African Journal of Botany*, 177(1), 472–486.
- Lestari, S. A. D. (2016). Pemanfaatan Paitan Sebagai Pupuk Organik Pada Tanaman Kedelai. *Iptek Tanaman Pangan*, 11(1), 49–56.
- Li, X., Huang, G., Zhao, G., Chen, W., Li, J., & Sun, L. (2013). Two New Monoterpenes from *Tithonia diversifolia* and Their Anti-Hyperglycemic Activity. *Records of Natural Products*, 7(4), 351–354.
- Liga, S., & Paul, C. (2023). Flavonoids: Overview of Biosynthesis, Biological Activity, and Current Extraction Techniques. *Plants*, 12(1), 1–25.
- Liu, W., Feng, Y., Yu, S., Fan, Z., Li, X., Li, J., & Yin, H. (2021). The Flavonoid Biosynthesis Network in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 1–18.
- Mamujaja, C. F. (2017). *Lipid*. Manado: Unsrat Press.
- Masood, A., Zohaib, S., Maroof, M., Azhar, I., Tasleem, F., Patricia, O. A., Ali, M. S., Hussain, M., & Siddiqui, A. (2017). Assessment of Pharmacological Potential and Safety Profile of *Tithonia diversifolia*. *Article in Pakistan Journal of Biological Sciences*, 34(7), 45–58.
- Matos, M. S., Anastácio, J. D., & Dos Santos, C. N. (2021). Sesquiterpene Lactones: Promising Natural Compounds to Fight Inflammation. *Pharmaceutics*, 13(7), 1–39.
- Meyer, B. N., Ferrigni N. R., Putnam J. E., Jacobsen L. B., Nichols D. E. J. and McLaughlin, J. L. (1982). Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*. 45(5) : 31–34.
- 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. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(11), 2152–2154.
- Murhadi. (2009). Senyawa dan Aktivitas Antimikroba Golongan Asam Lemak dan Esternya dari Tanaman. *Jurnal Teknologi Industri Dan Hasil Pertanian*, 14(1), 97–105.
- Novi, C., Lestari, R., & Puspitasari, R. (2024). Uji Sitotoksik Ekstrak Daun Walang (*Etlintera walang* (Blume) R . M . Sm) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Journal of Chemistry Sciences & Education*, 01(01), 21–28.
- Nugraha, A., & Nandiyanto, A. B. D. (2021). How to read and Interpret GC/MS Spectra. *Indonesian Journal of Multidisciplinary Research*, 1(2), 171–206.
- Nuriah, S., Putri, M. D., Rahayu, S., Advaita, C. V., Nurfadhila, L., & Utami, M. R. (2023). Analisis Kualitatif Senyawa Parasetamol pada Sampel Biologis Menggunakan Metode Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS). *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 6(2), 795–803.
- Pulido, K. D., 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(1), 1079–1085.
- Ramadhani, M. A., Hati, A. K., Lukitasari, N. F., & Jusman, A. H. (2020). Skrining Fitokimia dan Penetapan Kadar Flavonoid Total serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) dengan Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 96 %. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 3(1), 8–18.
- Roopa, M. S., Shubharani, R., Rhetso, T., & Sivaram, V. (2020). Scavenging Activity and Gc-Ms Analysis of Leaf and Flower Extract of. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 11(10), 5081–5090.
- Sabaris, S. B., Sadiq, M., Karanath-Anilkumar, A., Sireesha, R., & Munuswamy-Ramanujam, G. (2023). Comparative Bioactivity Evaluation of Secondary Metabolites from The Leaves, Stem and Flowers of *Tithonia diversifolia*. *Materials Today: Proceedings*, 93(02), 28–39.
- Solis, P. N., Wright, C. W., Anderson, M. M., Gupta, M. P., & Phillipson, J. D. (1993). A Microwell Cytotoxicity Assay using *Artemia Salina* (Brine Shrimp). *Planta Medica*, 59(3), 250–252.
- Solomons, T. W. G., Fryhle, C. B., & Snyder. A. S. (2015). *Organic Chemistry: Twelfth Edition*. John Wiley & Sons.
- Sultan, A., & Raza, A. R. (2015). Steroids: A Diverse Class of Secondary Metabolites. *Medicinal Chemistry*, 5(7), 310–317.
- Susilowati, F. (2017). Uji Brine Shrimp Lethality Test (Bslt) Ekstrak Etil Asetat *Spons calthropella* Sp. Asal Zona Intertidal Pantai Krakal Gunung Kidul Yogyakarta. *Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy*, 1(1), 1.
- Tamfu, N. 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), 103675.
- 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.
- Wahyuningsih, M. S. H., Wijayanti, M. A., Budiyanto, A., & Hanafi, M. (2015). Isolation and Identification of Potential Cytotoxic Compound From Kembang Bulan [*Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray] Leaves. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(6), 298–301.
- Wulandari, S., Okta, F. N., Utami, S. P., & Giovani, D. C. (2024). Uji Toksisitas Ekstrak Etil Asetat Biji Keblul (*Caesalpinia Bonduc* L. Roxb) Pada Ekstraksi Maserasi. *Jurnal Ilmiah Pharmacy*, 11(2), 32–46.
- Zakiah, N., Munira, Handayani, R., Rasidah, & Frengki. (2022). A Spectroscopic Analysis of Active Compound Isolated from The Ethyl Acetate Fraction of *Calophyllum macrophyllum scheff* and Toxicity Tests Using The Brine Shrimp Lethality Test. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 16(4), 144–148.
- 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.