

UJI FITOKIMIA DAN AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI EKSTRAK  
METANOL PADA JARINGAN  
AKAR MANGROVE *Rhizophora  
mucronata* TERHADAP BAKTERI  
*Escherichia coli* DAN  
*Staphylococcus aureus*

*by Usman Usman*

---

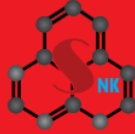
**Submission date:** 13-Feb-2022 08:24PM (UTC+0700)

**Submission ID:** 1761152934

**File name:** 2016\_ProSIDing\_SNK-Lombok\_2016-Revisi.pdf (4.23M)

**Word count:** 5074

**Character count:** 31843



ISBN : 978-979-8911-97-2

ISBN 978-979-8911-97-2



7

# PROSIDING SEMINAR NASIONAL KIMIA ( SNK ) 2016

## “Pengembangan Kimia Berbasis Kearifan dan Sumber Daya Alam Lokal: Integrasi Riset, Pendidikan dan Industri”

Mataram, 10 - 11 Agustus 2016  
Puri Indah Hotel & Conventions, Mataram - Lombok



### PROGRAM STUDI KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA & ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS MATARAM

Jl. Majapahit No. 62. Mataram - NTB

[www.mipa.unram.ac.id](http://www.mipa.unram.ac.id)

Telp / Fax : ( 0370 ) 646506

22 Ti Titanium 79.904	23 V Vanadium 50.942	24 Cr Chromium 51.996	25 Mn Manganese 54.938	26 Fe Iron 55.845	27 Co Cobalt 58.933	28 Ni Nickel 58.693
40 Zr Zirconium 91.224	41 Nb Niobium 92.906	42 Mo Molybdenum 95.95	43 Tc Technetium 98.907	44 Ru Ruthenium 101.07	45 Rh Rhodium 102.906	46 Pd Palladium 106.42
72	73	74	75	76	77	78

7

PROSIDING SEMINAR NASIONAL KIMIA –LOMBOK 2016

**“Pengembangan Ilmu Kimia Berbasis Kearifan dan Sumber  
Daya Alam Lokal: Integrasi Riset, Pendidikan dan Industri”**

---

Hak Cipta Dilindungi oleh Undang-undang

*Copyright@2016*

ISBN: 9-789798-911972

**Editor:**

Prof. Ir. Surya Hadi, M.Sc, Ph.D

Prof. Dr. Yana Maolana Syah

Prof. Dr. Euis Holisotan Hakim

Prof. Dr. Syamsul Arifin Ahmad

Prof. Dr. A. Bambang Setiaji

Dedy Suhendra, Ph.D

Erin Ryantin Gunawan, Ph.D

**Diterbitkan oleh:**

Program Studi Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Mataram

**Alamat Penerbit:**

Jl.Majapahit No.62 Mataram NTB Telp. (0376) 646506

### Kata Pengantar

Bismillahirrohmanirrohim,

Puji syukur kita panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah mencurahkan segala nikmat dan kesempatan yang diberikan sehingga Buku Prosiding Seminar Nasional Kimia – Lombok 2016 dengan tema “ Pengembangan Kimia Berbasis Kearifan dan Sumber Daya Alam Lokal: Integrasi Riset, Pendidikan dan Industri” yang dilaksanakan pada tanggal 10-11 Agustus 2016 di Hotel Puri Indah Mataram.

Buku Prosiding ini memuat sejumlah artikel hasil penelitian pada berbagai aspek bidang kimia yang dilakukan oleh peneliti, akademisi dan praktisi industri serta mahasiswa dari berbagai daerah di seluruh Indonesia yang dikumpulkan dan ditata oleh tim kepanitiaan dari Program Studi Kimia Fakultas MIPA Universitas Mataram. Oleh karena itu, kami ucap terima kasih kepada semua pihak diantaranya, pihak sponsor, tamu undangan, penanggung jawab, teman-teman panitia dan semua yang telah mendukung demi suksesnya acara seminar tersebut sehingga Buku Prosiding ini dapat disusun.

Dengan disusunnya Buku Prosiding ini, diharapkan dapat bermanfaat bagi kita semua dalam mengembangkan ilmu pengetahuan demi kemajuan bangsa dan negara. Terakhir, kami ingin mengucapkan mohon maaf apabila ada kesalahan baik selama berlangsungnya acara seminar serta yang berkaitan dengan isi Buku Prosiding ini.

Mataram, 1 September 2016  
Ketua Panitia SNK-Lombok 2016,



Dr. Maria Ulfa, S.Si., M.Si.

## SUSUNAN KEPANITIAAN SEMINAR NASIONAL KIMIA – LOMBOK 2016

**Pelindung dan Penasehat** : Prof.Ir.Surya Hadi, M.Sc, Ph.D  
**Pengarah** : Drs. Teguh Ardianto, M.Si  
 Mamika Ujianita Romdini, M.Si  
 Drs.Suripto, M.Si  
 Prof. I Made Sudarma  
**Penanggung Jawab** : Dra. Erin Ryantin Gunawan, Ph.D

**Ketua** : Dr. Maria Ulfa  
**Sekretaris** : Saprini Hamdiani, M.Sc  
**Bendahara** : Lely Kurniawati, M.Si  
**Divisi-divisi:**

**1. Divisi Kesekretariatan**

Koordinator : Ahip Riady, SP  
 Anggota : Siti Raudatul Kamali, M.Sc  
 Oktavina Kartika Putri, M.Si  
 Made Ganesh Darmayanti, M.Si  
 Linda Marta Shofiana, S.Si

**2. Divisi Acara:**

Koordinator : Nurul Ismilayli, M.Sc  
 Ni Putu Ayu Wedhianty  
 Baiq Mariana, S.Si

**3. Divisi Buku Abstrak dan Prosiding**

Koordinator : Dina Asnawati, M.Si  
 Anggota : Sudirman, M.Si  
 Fakhrurrazi

**4. Divisi Dana dan Konsumsi**

Koordinator : Sri Seno Handayani, ST, MT  
 Anggota : Murniati, M.Sc  
 Nurlaela  
 Angka Sartono, SE  
 Lale Ratna Dewi Tanuri S.Si

**5. Divisi Humas dan Publikasi**

Koordinator : Dedy Suhendra, Ph.D  
 Anggota : Lalu Rudyat Telly Savalas, Ph.D  
 Emmy Yuanita, M.Si  
 Ni Komang Tri Darmayani, M.Si  
 Dhony Hermanto, M.Sc

**6. Divisi Perlengkapan**

Koordinator : Lalu Eldin Indrawahyudi, SE  
Anggota : Iwan Sumarlan, M.Sc  
Yusuf Ahmad  
Dwi Ampera Hananto  
Kusmayadi  
Syukri  
Murhaeni

**7. Divisi Field Trip**

Koordinator : Drs. Imam Saekoni  
Anggota : Ahmad Wirahadi, S.Si  
Ulul Khairi Zuryati, S.Si  
Wirahardi

## Jadwal Seminar Nasional Kimia 2016

Waktu	Kegiatan Seminar Nasional Kimia 2016 Rabu, 10 Agustus 2016				
07.00-07.30	Persiapan		Seluruh Panitia		
07.30-08.30	Registrasi		Seluruh Peserta		
08.00-08.05	Tarian selamat datang		Mahasiswa Kimia FMIPA		
08.05-08.10	Menyanyikan Lagu Indonesia Raya		Seluruh Peserta		
08.10-08.15	Laporan Ketua Seminar Nasional Kimia 2016		Dr. Maria Ulfa		
08.15-08.25	Sambutan Rektor Universitas Mataram sekaligus pembukaan Seminar Nasional Kimia 2016		Prof. Ir. H. Sunarpi, Ph.D.		
08.25-08.30	Do'a		Agus Kunia, M.Ag.		
09.00-09.30	Pembicara 1. Prof. Drs. Jumina, Ph.D		Moderator: Dedy Suhendra, Ph.D		
09.30-10.00	Pembicara 2. Prof. Ir. I Made Sudarma, Ph.D				
10.00-10.10	Penyerahan cendera mata kepada Prof. Drs. Jumina, Ph.D dan Prof. Ir. I Made Sudarma, Ph.D dilanjutkan dengan sesi foto bersama (para pembicara dan panitia pengarah)				
10.10-10.30	Rehat kopi (Presentasi dari sponsor utama)				
10.30-10.00	Pembicara 3. Dr Liliyasi, M.Pd		Moderator: L.R. Telly Savalas, Ph.D		
11.00-11.30	Pembicara 4. Prof. Drs. John Henry, M.Si., Ph.D				
11.30-12.00	Pembicara 5. Dr. M. Abul Kadir Martoprawiro		Moderator: L.R. Telly Savalas, Ph.D		
12.00-12.05	Penyerahan cendera mata kepada Prof Dr. R. Asep Kadarohman, M.Si, Prof. Drs. John Henry, M.Si., Ph.D dan Dr. M. Abul Kadir Martoprawiro				
12.05-12.15	Pelantikan pengurus HKI Cabang Nusa Tenggara oleh Ketua HKI Pusat				
12.15-13.00	Istirahat, Shalat dan Makan siang (Sesi Poster)			Seluruh peserta dan panitia	
13.00-15.30	Seminar Paralel				
	R. Rajawali 1 Emmy Yuanita, M.Si	R. Rajawali 2 Dina Asnawati, M.Si	R. Cendrawasih Sudirman, MSi	R. Kenari Erin Ryantin G, Ph.D.	R. Kasuari Murniati, M.Sc.
13.00-13.05	SNK01-01	SNK02-01	SNK02-34	SNK03-01	SNK05-01
13.05-13.10	SNK01-02	SNK02-02	SNK02-35	SNK03-02	SNK05-02
13.10-13.15	SNK01-03	SNK02-03	SNK02-36	SNK03-03	SNK05-03
13.15-13.20					
13.20-13.25	SNK01-04	SNK02-04	SNK02-37	SNK03-04	SNK05-04
13.25-13.30	SNK01-05	SNK02-05	SNK02-38	SNK03-05	SNK05-05
13.30-13.35	SNK01-06	SNK02-06	SNK02-39	SNK03-06	SNK05-06
13.35-13.40					
13.40-13.45	SNK01-07	SNK02-07	SNK02-40	SNK03-07	SNK05-07
13.45-13.50	SNK01-08	SNK02-08	SNK02-41	SNK03-08	SNK05-08
13.50-13.55	SNK01-09	SNK02-09	SNK02-42	SNK03-09	SNK05-09
13.55-14.00					
14.00-14.05	SNK01-10	SNK02-10	SNK02-43	SNK03-10	SNK05-10
14.05-14.10	SNK01-11	SNK02-11	SNK02-44	SNK03-11	SNK05-11
14.10-14.15	SNK01-12	SNK02-12	SNK02-45	SNK03-12	SNK05-12
14.15-14.20					
14.20-14.25	SNK01-13	SNK02-13	SNK02-46	SNK03-13	SNK05-13
14.25-14.30	SNK01-14	SNK02-14	SNK02-47	SNK03-14	SNK05-14
14.30-14.35	SNK01-15	SNK02-15	SNK02-48	SNK03-15	SNK05-15
14.35-14.40					
14.40-14.45	SNK01-16	SNK02-16	SNK02-49	SNK03-16	SNK04-01



14.45-14.50	SNK01-17	SNK02-17	SNK02-50	SNK03-17	SNK04-02
14.50-14.55	SNK01-18	SNK02-18	SNK02-51	SNK03-18	SNK04-03
14.55-15.00					
15.00-15.05	SNK01-19	SNK02-19	SNK02-52	SNK03-19	SNK04-04
15.05-15.10	SNK01-20	SNK02-20	SNK02-53	SNK03-20	SNK04-05
15.10-15.15	SNK01-21	SNK02-21	SNK02-54	SNK03-21	SNK04-06
15.15-15.20	SNK01-22	SNK02-22	SNK02-55	SNK03-22	SNK04-07
15.20-15.30					
15.30-16.00	Rehat Kopi dan Sholat Ashar (Sesi Poster)				
	R. Rajawali 1 Ni Komang TD, M.Si.	R. Rajawali 2 Sudirman, M.Si	R. Cendrawasih Sri Seno Handayani, MT	R. Kenari Dhony H,M.Sc.	R. Kasuari Lely Kurniawati, M.Si.
16.00-16.05	SNK01-23	SNK02-23	SNK01-34	SNK03-23	SNK04-08
16.05-16.10	SNK01-24	SNK02-24	SNK01-35	SNK03-24	SNK04-09
16.10-16.15	SNK01-25	SNK02-25	SNK01-36	SNK03-25	SNK04-10
16.15-16.20					
16.20-16.25	SNK01-26	SNK02-26	SNK01-37	SNK03-26	SNK04-11
16.25-16.30	SNK01-27	SNK02-27	SNK04-20	SNK03-27	SNK04-12
16.30-16.35	SNK01-28	SNK02-28	SNK04-21	SNK03-28	SNK04-13
16.35-16.40					
16.40-16.45	SNK01-29	SNK02-29	SNK04-22	SNK03-29	SNK04-14
16.45-16.50	SNK01-30	SNK02-30	SNK04-23	SNK03-30	SNK04-15
16.50-16.55	SNK01-31	SNK02-31	SNK04-24	SNK03-31	SNK04-16
16.55-17.00					
17.00-17.05	SNK01-32	SNK02-32	SNK04-25	SNK03-32	SNK04-17
17.05-17.10	SNK01-33	SNK02-33	SNK03-34	SNK03-33	SNK04-18
17.10-17.15					SNK04-19
17.15-selesai	Penutup (Dekan Fakultas MIPA)			Prof. Ir. Surya Hadi,M.Sc.,Ph.D	

**Keterangan:**

SNK01 : Kimia Organik

SNK02 : Inorganik dan Fisik

SNK03 : Analitik dan Terapan

SNK04 : Biokimia dan Bioteknologi

SNK05 : Pendidikan Kimia



- B011-SINTESIS DAN KARAKTERISASI SENYAWA (*E*)-3-(2-HIDROKSI-5-METOKSIFENIL)-1-(4-(TETRADESILOKSI) FENIL) PROP-2-EN-1-ON ..... **96-101**
- B012-ISOLASI DAN KARAKTERISASI FLAVONOID DARI KULIT BATANG SURIAN (TOONA SURENI (BLUME) MERR) ..... **102-108**
- B013- UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN RUKEM (*Flacourtia rukam*) DENGAN METODE DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazi) ..... **109-123**
- B014- UJI AKTIVITAS EKSTRAK DAUN KETAPANG (*Terminalia catappa*) TERHADAP HAMA BIBIT RUMPUT LAUT (*Eucheuma cottonii*) ..... **124-130**
- B015- UJI FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL PADA JARINGAN AKAR MANGROVE *Rhizophora mucronata* TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*..... **131-145**
- B016- ANALISIS KANDUNGAN ASAM SINAMAT DAN SKRINING FITOKIMIA GETAH KEMENYAN JENIS BULU (*Styrax benzoine* var. *Hiliferum*) DARI TAPANULI UTARA ..... **146-155**
- C001-PENGARUH SILIKA TERHADAP SERAPAN BUNYI BLOKOMPOSIT BERBAHAN DASAR SERAT SABUT KELAPA DAN LIMBAH KERTAS ..... **160-165**
- C002- PENGARUH KONSENTRASI TiO<sub>2</sub> TERHADAP AKTIVITAS KRIM TABIR SURYA BERBAHAN BAKU MINYAK KELAPA ..... **166-172**
- C003- SINTESIS DAN APLIKASI LAPIS TIPIS TiO<sub>2</sub> NANOTUBE UNTUK SEL SURYA. .... **173-182**
- C004- POTENSI DYE ANTOSIANIN SEBAGAI PENANGKAP FOTON DALAM FABRIKASI DYE-SENSITIZED SOLAR CELL ..... **183-190**
- C005-PENGARUH PENGGUNAAN INHIBITOR BAHAN ALAM DALAM MENGHAMBAT PEMBENTUKAN KERAK KALSIMUM SULFAT (CaSO<sub>4</sub>) ..... **191-200**
- C006- PENGARUH NISBAH Si/Al TERHADAP AKTIVITAS ALUMINOSILIKAT SEBAGAI KATALIS TRANSESTERIFIKASI MINYAK KELAPA SAWIT..... **201-210**
- C007-STUDI STABILITAS KOMPOSIT KARBON/Na-ALGINAT SEBAGAI MATERIAL ELEKTRODA SEL ELEKTROKIMIA ..... **211-218**
- C008- PENGARUH GLISEROL TERHADAP LAJU TRANSMISI UAP AIR, DENSITAS, DAN SIFAT KETAHANAN TERHADAP AIR EDIBLE FILM DARI PATI TALAS BELITUNG (*XANTHOSOMA SAGITIFOLIUM*) ..... **219-226**
- C009- UJI STABILITAS FISIK GEL MASKER PEEL OFF SERBUK GETAH BUAH PEPAYA (*Carica papaya* L.) DENGAN BASIS POLIVINIL ALKOHOL DAN HIDROKSIPROPIL METILSELULOSA ..... **227-236**
- C010- PEMANFAATAN KITOSAN DARI CANGKANG KEONG MAS (*Pomacea canaliculata*) SEBAGAI PENGAWET IKAN CAKALANG (*Katsuwonus pelamis*)..... **237-244**

**UJI FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL PADA  
JARINGAN AKAR MANGROVE *Rhizophora mucronata* TERHADAP BAKTERI  
*Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus***

Usman\*

Program Studi Pendidikan Kimia FKIP Unmul, Jl. Muara Pahu Gn. Kelua Samarinda  
email : [sainusman@gmail.com](mailto:sainusman@gmail.com)

**ABSTRAK**

*Rhizophora mucronata* merupakan salah satu jenis tumbuhan mangrove yang paling penting dan paling tersebar luas. Meskipun Indonesia memiliki beragam jenis mangrove namun pemanfaatan mangrove sebagai produk obat dan makanan kesehatan belum banyak dilakukan karena masih terbatasnya informasi mengenai senyawa bioaktif dalam mangrove. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui golongan fitokimia yang terkandung dalam ekstrak akar mangrove *Rhizophora mucronata* dan aktivitas antibakteri pada ekstrak akar mangrove *Rhizophora mucronata* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut metanol. Uji fitokimia yang dilakukan ada uji alkaloid, flavonoid, steroid atau triterpenoid dan saponin. Metode yang digunakan dalam uji antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* adalah metode sumuran dengan konsentrasi 500 µg/well, 250 µg/well dan 125 µg/well menggunakan pelarut etanol 40%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak akar mangrove *Rhizophora mucronata* mengandung alkaloid dan triterpenoid. Berdasarkan hasil uji antibakteri ekstrak akar mangrove *Rhizophora mucronata* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 500 µg/well, tetapi tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

**Kata kunci:** *Rhizophora mucronata*, fitokimia, antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

**ABSTRACT**

*Rhizophora mucronata* is one of mangrove species plants are the most important and most widespread. Although Indonesia has various types of mangrove, but the utilization of mangrove as medicinal products and health foods has not been done because of the limited information on mangrove bioactive compounds. This study aims to determine the class of phytochemicals contained in the roots extract of the mangrove *Rhizophora mucronata* and antibacterial activity of the roots extract of the mangrove *Rhizophora mucronata* against the *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. The extraction was done by maceration method with methanol. Phytochemical test conducted was a test of alkaloids, flavonoids, steroids or triterpenoids and saponins. The method used in antibacterial test against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* is well diffusion method with a concentration of 500 µg/well, 250 µg/well dan 125 µg/well in ethanol 40%. The results showed that the roots extract of the mangrove *Rhizophora mucronata* contains alkaloids and triterpenoids. Based on the results of antibacterial test the roots extract of the mangrove *Rhizophora mucronata* is able to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria at a concentration of 500 µg/well, but is not able to inhibit the growth of *Escherichia coli* bacteria.

**Keywords:** *Rhizophora mucronata*, phytochemical, antibacterial, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

## 4 PENDAHULUAN

Berbagai upaya yang telah dilakukan untuk menanggulangi penyakit bakterial antara lain penggunaan antibiotik, vaksin, imunostimulan dan penggunaan biokontrol serta aplikasi ekstrak tumbuhan. Cara tersebut tidak lepas dari permasalahan yang justru berpotensi membawa dampak merugikan yang bisa ditimbulkan utamanya penggunaan antibiotik. Meningkatnya penggunaan antibiotik dalam mengatasi berbagai penyakit yang disebabkan oleh bakteri mulai menimbulkan masalah baru, terutama karena sebagian besar bahan antibakteri yang digunakan merupakan zat kimia berbahaya, tidak aman bagi kesehatan dan sifatnya tidak ramah lingkungan. Zat-zat antibiotik tersebut dapat meningkatkan resistensi hama yang ingin ditanggulangi sehingga semakin tidak mempan atau dosis yang digunakan akan terus meningkat. Bahan baku pembuatan antibiotik juga masih merupakan bahan impor hingga saat ini. Selain itu harganya cukup mahal sehingga perlu diusahakan pengobatan dengan bahan lokal yang lebih murah, mudah didapat dan terutama ramah lingkungan.

Indonesia memiliki kawasan pesisir pantai sangat luas yang ditumbuhi berbagai jenis tumbuhan pantai. Salah satu contoh tumbuhan pantai yaitu mangrove. Mangrove merupakan salah satu jenis tumbuhan pantai terutama untuk mempertahankan keseimbangan, mencegah abrasi pantai serta menjaga keindahan kawasan pantai. Tanaman mangrove sejak lama sudah diketahui mempunyai khasiat sebagai obat-obatan tradisional untuk mengobati beberapa penyakit. Sebagai contoh adalah bagian jaringan daun, buah, kulit kayu, batang, akar dan buah dari beberapa spesies mangrove<sup>[1]</sup>. *Rhizophora mucronata* merupakan salah satu jenis tumbuhan mangrove yang paling penting dan paling tersebar luas. Meskipun Indonesia memiliki beragam jenis mangrove namun pemanfaatan mangrove sebagai produk obat dan makanan kesehatan belum banyak diteliti. Hal ini disebabkan masih terbatasnya informasi potensi bioaktif jenis mangrove Indonesia.

Ekstrak dari beberapa jenis tumbuhan mangrove seperti *Rhizophora stylosa*, *Sonneratia griffithi*, *Kandelia candel*, *Aegiceras floridum* dan *Excoecaria agallocha* telah diketahui menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* karena menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba bahkan dapat membunuh mikroorganisme. Senyawa inilah yang dapat mengendalikan populasi mikroorganisme patogen pada perairan sekitar hutan mangrove<sup>[2]</sup>.

Berdasarkan uraian diatas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian uji fitokimia dan aktivitas antibakteri pada ekstrak jaringan akar mangrove *Rhizophora mucronata* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Bakteri uji dipilih berdasarkan perbedaan sifat bakteri. Masing-masing bakteri mewakili kelompok bakteri gram positif dan gram negatif.

## METODE PENELITIAN

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah akar mangrove *Rhizophora mucronata* yang diambil dari kawasan mangrove Tanjung Laut Bontang, Kalimantan Timur. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Hasil Hutan Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman yang dilaksanakan pada bulan November – Desember 2015.

Peralatan yang digunakan adalah blender, pisau, penggaris, pensil, neraca, gelas kimia, pipet tetes, chamber, pipa kapiler, cutting mat, pinset, corong, rotary evaporator, labu dasar bulat, tabung reaksi, pipet tetes, batang pengaduk, rak tabung reaksi, gelas ukur 5 mL dan 10 mL, botol vial, cawan petri, autoklaf, inkubator, laminar air flow, pencadang, kapas lidi steril, bunsen, ose, erlenmeyer, mikropipet, tube, vortex, hot plate, kulkas, oven.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah sampel akar mangrove *Rhizophora mucronata*, methanol, aseton, aquades, kloroform, larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, larutan HCl pekat, larutan asam asetat anhidrat, larutan Dragendorff, larutan natrium hidroksida 1%, kertas label, kertas saring, aluminium foil, tisu, vaselin, kapas steril, etanol 70 % dan 40 %, agar, glukosa, nutrient broth (NB), akuades, kloramfenikol, bakteri *Escherichia coli*, bakteri *Staphylococcus aureus*.

### Persiapan sampel dan ekstraksi

Sampel akar mangrove *Rhizophora mucronata* dicuci dan dikeringkan tanpa kena sinar matahari langsung. Setelah kering, sampel dihaluskan dan ditimbang sebanyak 100 gram, diekstraksi dengan metanol secara maserasi selama 3 x 24 jam sehingga diperoleh ekstrak metanol akar mangrove *Rhizophora mucronata*. Kemudian ekstrak metanol tersebut digabung menjadi satu dan disaring dengan menggunakan corong dan kertas saring. Selanjutnya dilakukan identifikasi senyawa metabolit sekunder dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil ekstraksi kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 39 - 41°C sampai diperoleh ekstrak pekat metanol. Selanjutnya ekstrak pekat tersebut



dikeringkan dalam oven pada suhu ruang hingga metanol menguap. Ekstrak ditimbang dengan botol vial yang telah diketahui bobot kosongnya untuk menghitung rendamen.

#### **6** Identifikasi senyawa metabolit sekunder dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT)

Plat KLT diberi batas atas 0,2 cm dan batas bawah 0,8 cm dengan menggunakan pensil. Diisi chamber dengan eluen aquades 100% sebanyak 3 mL. Ditotolkan sampel menggunakan pipa kapiler pada plat KLT dan diberi kode sampel. Dimasukkan plat yang telah ditotol ke dalam chamber. Dibiarkan eluen naik sampai batas atas. Dikeluarkan plat KLT dari chamber. Diamati noda dibawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Diulangi dengan menggunakan eluen aquades : metanol dengan perbandingan 5 : 5.

#### Uji golongan fitokimia

##### 1. Alkaloid

Sebanyak 5 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 2 mL HCl pekat, kemudian dimasukkan 1 mL larutan Dragendorff. Perubahan warna larutan menjadi jingga atau merah menunjukkan adanya senyawa alkaloid.

##### 2. Flavonoid

Sebanyak 1 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan beberapa tetes natrium hidroksida encer (NaOH 1%), jika pada saat penambahan terbentuk warna kuning menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

##### 3. Triterpenoid atau steroid

Sebanyak 1 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Identifikasi dilakukan dengan menggunakan campuran asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat yang biasa dikenal dengan pereaksi Liebermann-Barchard. Pada pengujian ini 10 tetes asam asetat anhidrat dan 2 tetes asam sulfat pekat ditambahkan secara berurutan ke dalam sampel. Kemudian sampel dikocok dan dibiarkan beberapa menit. Reaksi yang terjadi diikuti perubahan warna, jika terlihat warna merah-ungu menunjukkan positif triterpenoid dan jika terlihat warna hijau-biru menunjukkan positif steroid.

#### 4. Saponin

Sebanyak 1 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 mL aquades panas dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik jika menghasilkan busa yang stabil setinggi 1-10 cm maka menunjukkan adanya senyawa saponin.

#### Uji aktivitas antibakteri

##### 1. Pembuatan larutan uji

Untuk pembuatan larutan stok, ekstrak kering dari sampel ditimbang sebanyak 25 mg kemudian dilarutkan dengan 1 mL etanol 40%, selanjutnya dari larutan stok 25000 ppm ini dibuat pengenceran 12500 ppm dan 6250 ppm.

##### 2. Pembuatan larutan kontrol

Etanol 40 % digunakan sebagai kontrol negatif. Kontrol positif dibuat dari sediaan obat kapsul kloramfenikol, serbuknya ditimbang 1 mg kemudian dilarutkan dalam 2 mL etanol 40%.

##### 3. Pembuatan media

Ditimbang 0,8 gram *Nutrient broth* (NB), 1 g agar, dan 0,5 g glukosa dilarutkan dalam 50 mL aquades pada gelas kimia. Setelah itu media dipanaskan dan diaduk sampai mendidih. Media yang sudah homogen beserta alat-alat yang digunakan untuk uji disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit, kemudian didinginkan sampai suhu  $\pm$  45-50°C.

##### 4. Pengujian antibakteri

Secara aseptis dituang masing-masing 20 mL media NB ke dalam 2 cawan petri, lalu dibiarkan sampai memadat. Setelah memadat, diinokulasikan suspensi bakteri uji diseluruh bagian media. Selanjutnya, dibuat sumur pada media tersebut. Kemudian, larutan uji ekstrak dengan berbagai konsentrasi (500  $\mu$ g/well, 250  $\mu$ g/well, 125  $\mu$ g/well); larutan kloramfenikol sebagai kontrol positif dan larutan etanol 40 % sebagai kontrol negatif, masing-masing diteteskan pada sumur yang berbeda sebanyak 20  $\mu$ l. Kemudian

cawan petri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan setelah 12 jam, 1x24 jam, 2x24 jam, dan 3x24 jam. Daerah bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan antibakteri lainnya yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat. Diameter zona hambat diukur dengan menggunakan penggaris dalam satuan millimeter (mm).

## HASIL

Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak akar mangrove *Rhizophora mucronata* dengan eluen aquades : metanol perbandingan 5 : 5 dapat dilihat Tabel 1.

Tabel 1 Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Akar Mangrove *Rhizophora mucronata*

Sampel	Sinar tampak	UV 254 nm	UV 366 nm
Ekstrak akar mangrove <i>R. mucronata</i>	tampak noda kecoklatan	tidak berpendar	Berpendar dengan warna ungu

## Uji Fitokimia

Berdasarkan uji fitokimia yang telah dilakukan (Tabel 2), senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak akar mangrove *Rhizophora mucronata* adalah alkaloid dan triterpenoid, sedangkan senyawa flavonoid, saponin dan steroid tidak ditemukan dalam ekstrak tersebut.

Tabel 2 Hasil Uji Fitokimia Akar Mangrove *Rhizophora mucronata*

No	Jenis identifikasi	Perubahan warna	Hasil
1	Alkaloid	Warna larutan berubah menjadi jingga kemerahan	+
2	Flavonoid	Warna larutan berubah menjadi merah muda	-



3	Steroid	Warna larutan berubah menjadi merah	-
4	Triterpenoid	Warna larutan berubah menjadi merah	+
5	Saponin	Larutan tidak berbusa	-

### Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil pengamatan uji antibakteri pada ekstrak akar mangrove *Rhizophora mucronata* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan kontrol negatif etanol 40% dan kontrol positif kloramfenikol dilakukan pada 12 jam, 24 jam, 48 jam, dan 72 jam yang dapat dilihat pada Tabel 3 dan 4.

Tabel 3 Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Akar Mangrove *Rhizophora mucronata* terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Waktu	Replikasi	Diameter zona hambat (mm) Bakteri <i>Escherichia coli</i>				
		Kontrol negatif	Kontrol positif	Ekstrak akar <i>R. mucronata</i>		
				500 µg/well	250 µg/well	125 µg/well
12 jam	1	7	25	7	7	7
	2	7	26,3	7	7	7
	Rata-rata	7	25,7	7	7	7
24 jam	1	7	25,7	7	7	7
	2	7	26	7	7	7
	Rata-rata	7	25,85	7	7	7
48 jam	1	7	28,3	7	7	7
	2	7	26	7	7	7
	Rata-rata	7	27,15	7	7	7
72 jam	1	7	28,3	7	7	7
	2	7	26	7	7	7
	Rata-rata	7	27,17	7	7	7

Tabel 4 Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Akar Mangrove *Rhizophora mucronata* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Waktu	Replikasi	Diameter zona hambat (mm) Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>		
				Ekstrak akar <i>R. mucronata</i>

		Kontrol negative	Kontrol positif	500 µg/well	250 µg/well	125 µg/well
12 jam	1	7	25,7	8,7	7	7
	2	7	25,7	8,3	7	7
	Rata-rata	7	25,7	8,52	7	7
24 jam	1	7	24	8	7	7
	2	7	24,7	7,7	7	7
	Rata-rata	7	24,33	7,83	7	7
48 jam	1	7	25	7,7	7	7
	2	7	25,3	7,7	7	7
	Rata-rata	7	25,17	7,7	7	7
72 jam	1	7	25	7,7	7	7
	2	7	24,7	7,3	7	7
	Rata-rata	7	24,83	7,52	7	7

**Keterangan:**

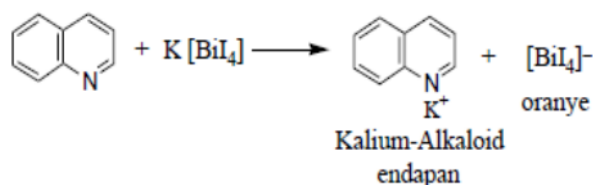
**Kontrol negative = etanol 40%**

**Kontrol positif = kloramfenikol 0,5 mg/mL**

**PEMBAHASAN**

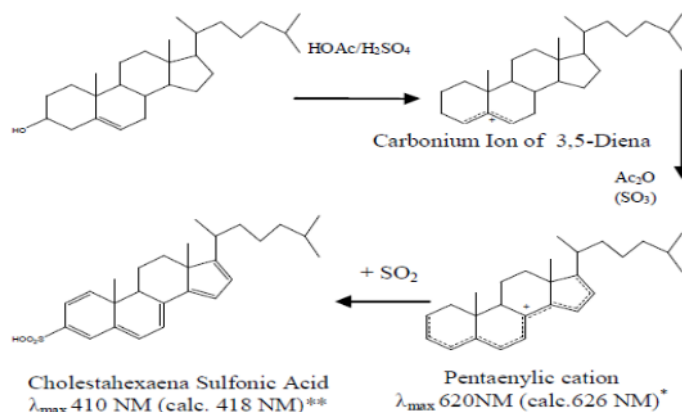
Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi adalah metanol karena metanol memiliki molekul yang lebih kecil sehingga mampu berdifusi ke dalam bagian sel akar mangrove *Rhizophora mucronata*. Efisiensi dan efektivitas ekstraksi sangat dipengaruhi oleh kemampuan pelarut untuk berdifusi ke dalam selnya<sup>[3]</sup>. Hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder dengan metode kromatografi lapis tipis dengan eluen aquades : metanol = 5: 5 terlihat pada sinar UV 366 nm terdapat pendaran berwarna ungu. Golongan senyawa flavonoid di bawah sinar UV 366 nm menunjukkan noda berwarna merah muda dan golongan senyawa triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya bercak noda berwarna merah ungu (violet), coklat dan ungu tua. Hal ini menunjukkan dalam ekstrak akar *Rhizophora mucronata* diduga terdapat senyawa golongan metabolit sekunder yaitu triterpenoid<sup>[4]</sup>.

Golongan senyawa alkaloid teridentifikasi dalam ekstrak akar mangrove *Rhizophora mucronata* yang ditandai dengan terbentuknya warna jingga kemerahan dari ekstrak setelah ditambahkan pereaksi Dragendorff. Pada pengujian alkaloid dilakukan penambahan HCl sebelum ditambahkan pereaksi karena alkaloid bersifat basa sehingga diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam. Pada pengujian alkaloid akan terjadi reaksi pengendapan karena adanya penggantian ligan.



Gambar 1. Reaksi senyawa alkaloid dengan pereaksi Pereaksi Dragendorff

Senyawa triterpenoid juga teridentifikasi dalam ekstrak ditandai dengan terbentuknya warna merah setelah ditambahkan pereaksi Lieberman Burchard. Pada uji golongan steroid menunjukkan hasil negatif sebab tidak terbentuk warna hijau atau biru setelah ditambahkan pereaksi Liebermann Burchard. Pengujian steroid/triterpenoid didasarkan pada kemampuan senyawa untuk membentuk warna dengan  $H_2SO_4$  pekat dalam asam asetat anhidrat.



Gambar 2 Reaksi senyawa steroid dengan pereaksi Lieberman Burchard

Demikian pula halnya pada flavonoid menunjukkan hasil negatif sebab tidak terbentuk warna kuning setelah penambahan larutan natrium hidroksida 1%. Saponin juga menunjukkan hasil negatif ditandai dengan tidak terbentuknya busa yang stabil setelah ditambahkan aquades panas dan dikocok. Saponin merupakan senyawa yang mempunyai gugus hidrofilik dan hidrofob. Pada saat digojok gugus hidrofil akan berikatan dengan air sedangkan gugus hidrofob akan berikatan dengan udara sehingga membentuk buih. Hasil pengujian fitokimia pada ekstrak akar mangrove *R. mucronata* pada penelitian ini kurang sesuai dengan literatur penelitian sebelumnya. Hal ini dipengaruhi oleh adanya faktor-faktor lingkungan seperti iklim, cahaya matahari, suhu udara, lingkungan atmosfer ( $CO_2$ ,  $O_2$ , dan kelembaban), lingkungan perakaran (sifat kimia dan fisika tanah), dan ketersediaan air di dalam tanah terhadap hasil metabolisme sekunder tanaman<sup>[5]</sup>.

Produk-produk tanaman yang mengandung alkaloid merupakan agen antibakteri. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut<sup>[3]</sup>. Senyawa alkaloid juga terdapat gugus basa yang mengandung nitrogen dan bereaksi dengan senyawa amino yang menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri. Reaksi ini mengakibatkan perubahan struktur dan susunan asam amino, dimana akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetic pada rantai DNA sehingga akan mengalami kerusakan yang akan mendorong terjadinya lisis sel bakteri yang akan menyebabkan kematian sel pada bakteri<sup>[6]</sup>.

Mekanisme kerja triterpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin<sup>[7]</sup>. Hampir semua bagian *R. mucronata* menunjukkan spektrum yang luas dalam aktivitas antibakteri. Bakteri yang digunakan adalah *Escherichia coli* yang merupakan bakteri gram negatif serta bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif. Alasan penggunaan bakteri ini sebagai pembanding, karena bakteri secara garis besar dikelompokkan berdasarkan susunan dinding selnya menjadi dua yaitu bakteri gram positif dan gram negatif. Penelitian uji aktivitas antibakteri ini menggunakan etanol 40% sebagai kontrol negative dan kontrol positif yang digunakan ialah kloramfenikol. Kloramfenikol bekerja pada spektrum luas, efektif baik terhadap gram positif maupun gram negatif. Kloramfenikol umumnya bersifat bakteriostatik, namun pada konsentrasi tinggi dapat bersifat bakterisid terhadap bakteri-bakteri tertentu<sup>[8, 9]</sup>.

Diameter zona hambat pada kontrol negatif yang menggunakan etanol 40% tidak terbentuk, hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri tidak dipengaruhi oleh faktor pelarut sehingga aktivitas antibakteri yang dianalisis merupakan potensi yang dimiliki ekstrak akar mangrove *Rhizophora mucronata*. Selain itu pada hasil penelitian terlihat diameter zona hambat kontrol positif lebih besar daripada zona hambat yang terbentuk pada ekstrak. Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak akar mangrove *Rhizophora mucronata* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 500 µg/well, namun tidak dapat menghambat bakteri *Escherichia coli*. Karena itu dapat disimpulkan bakteri *Escherichia coli* telah mengalami resistensi terhadap antibiotik.

Adanya perbedaan hasil uji daya hambat pada bakteri gram positif dan gram negatif dapat dihubungkan melalui perbedaan dinding sel bakteri. Umumnya bakteri gram positif lebih peka terhadap senyawa antibakteri dibandingkan bakteri gram negatif. Hal ini dikarenakan dinding sel bakteri gram positif jauh lebih tebal dibandingkan bakteri gram negatif. Pada bakteri gram positif, kandungan peptidoglikan dinding selnya lebih banyak daripada lipid dan sebaliknya pada bakteri gram negatif, pada dinding selnya kandungan lipid lebih banyak daripada peptidoglikan.

Semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin besar pula. Ini terbukti dari hasil penelitian uji antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 500 µg/well ekstrak akar mangrove *R.mucronata* dapat menghambat pertumbuhan bakteri tetapi tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 250 µg/well dan 125 µg/well. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak akar mangrove *Rhizophora mucronata* yang diberikan, maka semakin besar pula diameter zona hambat yang terbentuk disekeliling sumur<sup>[10]</sup>.

Kriteria kekuatan daya antibakteri sebagai berikut : diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat<sup>[11]</sup>. Berdasarkan kriteria tersebut, maka daya antibakteri ekstrak akar mangrove *Rhizophora mucronata* pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 500 µg/well adalah lemah.

## KESIMPULAN

Ekstrak akar mangrove *Rhizophora mucronata* mengandung golongan senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid dan triterpenoid. Ekstrak metanol akar mangrove *Rhizophora mucronata* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 500 µg/well tetapi tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

## DAFTAR PUSTAKA

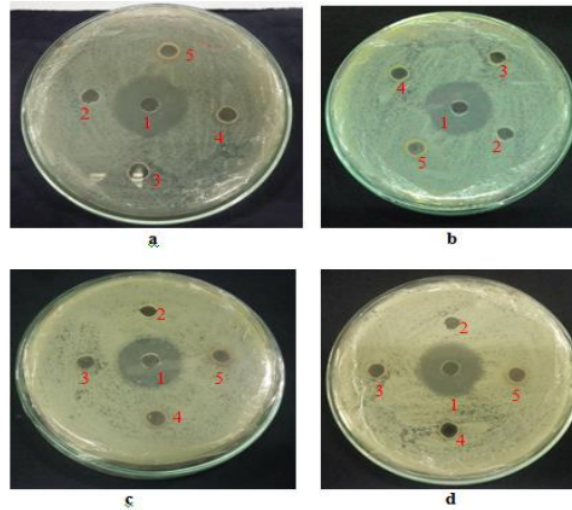
- Bandaranayake WM. 1998. *Traditional and medicinal uses of mangroves*. Mangroves salt and marshes., 2, 133–148
- Baroroh, H.F, dkk. 2014. *Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun dan Buah Mengkudu (Morinda citrifolia L.) terhadap Blood Disease Bacterium*. Jurnal HPT Vol 2 No 2
- Chandrasekaran, M., dkk. 2009. *Aktivitas antibakteri dari beberapa garam rawa halophytes dan tanaman bakau terhadap methicillin Staphylococcus aureus resisten*. "Dunia JI Microbio. & Biotech. 25: 155-160
- Davis & Stout. 1971. *Disc Plate Method Of Microbiological Antibiotic Essay*. Journal Of Microbiology. Vol 22 No 4.
- Mahatrinny, N. N., dkk. 2014. *Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Pepaya (Carica papaya L.) yang diperoleh dari Daerah Ubud Kabupaten Gianyar Bali*. Universitas Udayana
- Nurdiani, Rahmi dkk. 2012. *Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol tanaman bakau (Rhizophora mucronata) dari Muara Sungai Porong*. Jurnal Sains dan Teknologi Dasar 01/2012; 1 (2): 27-29
- Oktavianus, S. 2013. *Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Mangrove Jenis Avicennia marina terhadap Bakteri Vibrio parahaemolyticus*. SKRIPSI. FIKP UNHAS
- Prihanto, A.A., dkk. 2011. *Penapisan Fitokimia dan Antibakteri Ekstrak Metanol Mangrove (Excoecaria agallocha) ddari Muara Sungai Porong*. Berk. Penel. Hayati : 17
- Rinawati, ND. 2011. *Daya Antibakteri Tumbuhan Majapahit (Crescentia cujete L.) terhadap Bakteri Vibrio alginolyticus*. Universitas Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Santoso, Ratih Mahanani. 2012. *Daya Antibakteri Ekstrak Daun Pare (Momordica charantia) terhadap Streptococcus viridians*. Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa. Jurusan Pendidikan Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember (UNEJ)

*Prosiding Seminar Nasional Kimia-Lombok 2016*  
*Lombok, 10-11 Agustus 2016*  
*Artikel No.B015*

Trianto,A., dkk. 2004. Ekstrak Daun Mangrove *Aegiceras corniculatum* sebagai Antibakteri *Vibrio harveyi* dan *Vibrio parahaemolyticus*. *Ilmu Kelautan* Vol. 9 (4) : 186-189.

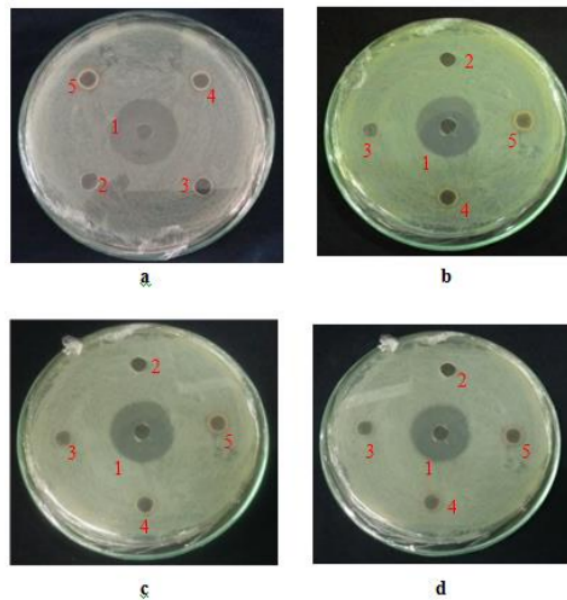


**Lampiran 1. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri**



**Gambar 4.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Akar Mangrove *Rhizophora mucronata* terhadap Bakteri *Escherichia coli* pada Pengamatan (a) 12 Jam (b) 24 Jam (c) 48 Jam (d) 72 Jam ; (1) Kontrol Positif (2) Kontrol Negatif (3) 125 µg/well (4) 250 µg/well (5) 500 µg/well.**

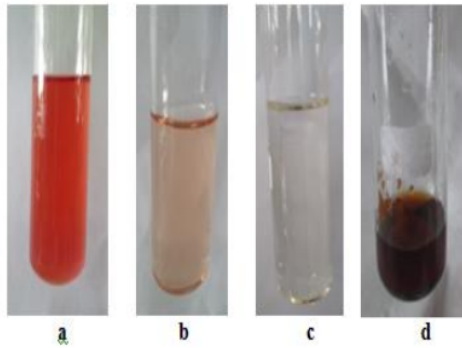
**Lampiran 2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri**



**Gambar 4.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Akar Mangrove *Rhizophora mucronata* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Pengamatan (a) 12 jam (b) 24 jam (c) 48 jam (d) 72 jam ; (1) Kontrol Positif (2) Kontrol Negatif (3) 125 µg/well (4) 250 µg/well (5) 500 µg/well.**



**Lampiran 3. Hasil Uji Fitokimia**



**Gambar. Hasil Uji Fitokimia (a) Alkaloid (b) Flavonoid (c) Saponin (d) Steroid/Triterpenoid**



# UJI FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL PADA JARINGAN AKAR MANGROVE *Rhizophora mucronata* TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*

## ORIGINALITY REPORT

13%

SIMILARITY INDEX

12%

INTERNET SOURCES

9%

PUBLICATIONS

%

STUDENT PAPERS

## PRIMARY SOURCES

1	<a href="http://doczz.net">doczz.net</a> Internet Source	1%
2	<a href="http://ejurnal.untag-smd.ac.id">ejurnal.untag-smd.ac.id</a> Internet Source	1%
3	Vivi P. Santoso, Jimmy Posangi, Henoch Awaloei, Robert Bara. "Uji efek antibakteri daun mangrove <i>Rhizophora apiculata</i> terhadap bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> ", <i>Jurnal e-Biomedik</i> , 2015 Publication	1%
4	<a href="http://ojs.unm.ac.id">ojs.unm.ac.id</a> Internet Source	1%
5	<a href="http://id.scribd.com">id.scribd.com</a> Internet Source	1%
6	<a href="http://repository.unhas.ac.id">repository.unhas.ac.id</a> Internet Source	1%

7	<a href="http://library.walisongo.ac.id">library.walisongo.ac.id</a> Internet Source	1 %
8	<a href="http://www.researchgate.net">www.researchgate.net</a> Internet Source	1 %
9	<a href="http://ejournal-s1.undip.ac.id">ejournal-s1.undip.ac.id</a> Internet Source	1 %
10	<a href="http://tr.scribd.com">tr.scribd.com</a> Internet Source	1 %
11	<a href="http://id.123dok.com">id.123dok.com</a> Internet Source	1 %
12	<a href="http://eprints.undip.ac.id">eprints.undip.ac.id</a> Internet Source	1 %

Exclude quotes Off

Exclude matches < 37 words

Exclude bibliography Off