

**TOKSISITAS GETAH *EUPHORBIA MILII* TERHADAP PERTUMBUHAN  
RUMPU TEKI (*CYPERUS ROTUNDUS*)**

**Mohammad Wildan Habibi<sup>1)</sup>, Hasyim As'ari<sup>2)</sup>**

<sup>1</sup>Fakultas Tarbiyah dan Ilmu Keguruan, UIN KHAS Jember

<sup>2</sup>Program Studi Biologi, FMIPA, Universitas PGRI Banyuwangi

Email: ziowildan@gmail.com

*Abstrak*

Penelitian saat ini menunjukkan bahwa pengendalian gulma secara biologis berdasarkan prinsip kembali ke alam semakin populer karena faktor keamanan, jumlah populasi dan nilai ekonomi yang jauh lebih baik daripada penggunaan herbisida buatan yang cenderung merusak ekosistem dan mencemari lingkungan sekitar. lingkungan. Bahan lain yang dapat digunakan untuk herbisida hayati ini adalah penggunaan getah *Euphorbia*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui toksisitas getah *Euphorbia* terhadap penghambatan tanaman nutgrass (*Cyperus rotundus*). Metode penelitian ini adalah eksperimen laboratorium. Meskipun jenis penelitian ini bersifat deskriptif dan eksploratif. Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa nilai LC50 butiran *Euphorbia* = 1,08%, dan nilai LT50 = 8,31 hari, yang berarti diperlukan waktu 8,31 hari untuk membunuh 50% rumput kacang dengan konsentrasi 1,08%.

*Keywords: Nature; Euphorbia, Cyperus, Konsentrasi, Toksisitas*

Abstract

*Current research shows that biological control of weed plants with the principle of back to nature is rampant due to safety factors, population numbers, economic value that is much better than using the use of artificial weed exterminators that tend to damage the ecosystem and pollution of the surrounding environment. An alternative ingredient that can be used in this bioherbicide is to use the sap of the euphorbia milii plant. The purpose of this study was to determine the toxicity of the sap of the Euphorbia milii plant in order to inhibit the teki grass plant (Cyperus rotundus). The approach in this study is a laboratory experiment. While this type of research includes exploratory descriptive. The results of this study can be concluded that the Euphorbia milli granule has an LC value of  $50 = 1.08\%$ , an LT value of  $50 = 8.31$  days, which means that to kill 50% of the grass requires a concentration of 1.08% within 8.31 days.*

*Keywords: Nature; Euphorbia, Cyperus, Concentration, Toxicity*

## **1. PENDAHULUAN**

Gulma yang paling banyak berkembang disekitar ialah rumput teki (*Cyperus rotundus*) dimana tumbuhan ini memiliki perakaran yang sanggup berkembang cepat serta luas dan sanggup menyerap air serta nutrisi sehingga tumbuhan yang terdapat disekitarnya akan kalah bersaing (Ebtan et al., 2014). Selama ini, pola yang digunakan masyarakat dalam pengendalian gulma teki adalah dengan metode penyiangan, namun metode tersebut masih kurang efektif, karena pada proses penyiangan tersebut masih terdapat umbi dari rumput teki yang tertingga sehingga pada saat tertentu rumput teki akan tumbuh kembali. Alternatif lain yang dapat digunakan dalam pengendalian gulma dapat dilakukan secara biologi yaitu biokontrol gulma. Biokontrol gulma merupakan pemanfaatan musuh-musuh alami (organisme hidup) untuk menekan atau menghambat dan mematikan populasi gulma (Imaniasita et al., 2020).

Perkembangan riset saat ini, cenderung menekankan prinsip *back to nature*, dalam berbagai bidang penelitian, termasuk dalam pengendalian gulma, mengingat penggunaan herbisida kimia dapat menyebabkan pencemaran lingkungan, kematian tanaman budidaya secara masal, harga yang lebih mahal bioherbisida alami (Sumekar, 2022). Salah satu bahan yang dapat digunakan sebagai alternatif bioherbisida tersebut adalah dengan menggunakan getah tumbuhan *Euphorbia milii*.

Berdasarkan riset yang dilakukan oleh Bakrya et al. (2011), melaporkan bahwa pemakaian getah tumbuhan *Euphorbia milii* pada serial konsentrasi 19 ppm (LC50) dapat mematikan larva *Schistosoma mansoni* secara efisien. Serta penelitian yang dilakukan oleh Moro et al., (2008), menyatakan bahwa pengisolasian serin protease yang terdapat pada getah *Euphorbia milii* dapat digunakan sebagai herbisida. Berdasarkan hal tersebut penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui toksisitas getah *Euphorbia milii* terhadap pertumbuhan rumput teki (*Cyperus rotundus*).

## **2. METODE PENELITIAN**

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimen laboratoris. Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu FTIK UIN KHAS Jember, selama 2 bulan untuk melakukan pengujian granul getah *Euphorbia milii* terhadap perkembangan rumput teki (*Cyperus rotundus*).

### *2.1 Alat dan Bahan*

Perlengkapan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain; oven, cawan petri, pengaduk, pisau, timbangan digital, mortar serta pistil, lemari es, pH meter. Sebaliknya bahan yang digunakan dalam riset ini ialah getah dari tumbuhan *Euphorbia milii* yang diperoleh dari dekat Kampus UIN KHAS Jember, alkohol 70%, NaCl, dextrin/ cmc, aquadest, rumput teki (*Cyperus rotundus*)

### *2.2 Pembuatan Granul Getah Tanaman Euphorbia milii*

Getah yang diambil dari tanaman *Euphorbia milii* sebanyak 1 gram dicampurkan dengan dextrin atau cmc sebanyak 1,2 gram dan natrium klorida (NaCl) sebanyak 1,2 gram kedalam beaker glass.

### *2.3 Uji Pendahuluan*

Prosedur penelitian dalam uji pendahuluan ini adalah sebagai berikut:

- a. Menyiapkan granul getah *Euphorbia milii* sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan.
- b. Menyiapkan rumput teki (*Cyperus rotundus*) yang akan dilakukan uji coba.
- c. Mengamati rumput teki (*Cyperus rotundus*) yang mati selama 1-2 minggu. Pengamatan dilakukan dengan selang waktu 3 hari. Penentuan rumput teki mati dilakukan dengan cara melihat morfologi daun yang menguning atau kering.

Berikut rancangan penelitian untuk uji pendahuluan :

Tabel 1. Rancangan Uji Pendahuluan

Perlakuan	Serial Kosentrasi (ppm)
K1	0
Gt 1	25
Gt 2	50
Gt 3	100
Gt 4	250
Gt 5	500
Gt 6	1000
Gt 7	1500
Gt 8	3000

Keterangan: Gt: Granul treatment

#### 2.4 Prosedur Penelitian

##### a. Pembuatan Ekstraksi

Tanaman *Euphorbia milii* usia sekitar 2 tahun, diambil getah pada batang, kemudian bahan ditambahkan dextrin dan CMC sebagai pengemulsi. Selanjutnya di oven selama 8 jam dengan suhu 45-50<sup>0</sup> C. Setelah terbentuk kering, granul dikerok dengan menggunakan spatula dan ditampung di cawan petri.

##### b. Uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis)

###### 1) Uji alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan menimbang ekstrak 0,1 gram, kemudian memanaskan air di beker glas. Membuat eluen campuran tiga pelarut yaitu etil asetat: metanol: air dengan perbandingan 9:1:1, saring eluen dengan kertas saring. Setelahnya timbang kembali dengan tambahan HCl 2N sebanyak 2 ml. Hidrolisis ekstrak tersebut dengan meletakkan tabung reaksi ke dalam beker glas yang berisi air panas, dibiarkan sampai 3 menit lalu diangkat dan dibiarkan dingin. Setelah dingin, tambahkan NaCl lalu saring pisahkan filtrat dan ampas. Filtrat diberi 2 ml HCl 2N masukkan lakmus merah kedalamnya, tetesi filtrat dengan ammonia 28% hingga membiru. Langkah berikutnya, pertisi ekstrak dengan menambahkan 5 ml

kloroform bebas air, hingga muncul dua lapisan yang terdiri pada bagian atas adalah minyak(non-polar) dan air (polar) di bagian bawah, pisahkan keduanya. Keringkan yang berupa cairan, setelah kering beri methanol sebanyak 3 tetes lalu aduk hingga homogen. Totolkan ekstrak ke plate KLT, letakkan ke gelas uji yang memiliki fase gerak dan angkat saat berjarak 0,5 cm dari batas akhir kemudian semprot dengan pereaksi *dragendorff*. Jika pada ekstrak muncul noda warna jingga maka terdapat alkaloid, hitung nilai *Retention Factor* (Rf) dengan rumus:

$$Rf = \frac{\text{Jarak noda dari titik awal penotolan}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh fase gerak}}$$

2) Uji Tanin

Timbang 0,1gram ekstrak dengan penambahan 4 ml aquades panas diaduk dan didinginkan pada suhu kamar tetesi NaCl 10% setelah dingin lakukan penyaringan. Totolkan ekstrak ke *plate* meletakkan *plate*, angkat saat berjarak 0,5 cm dari batas akhir dan disemprot dengan FeCl<sub>3</sub> muncul noda biru kehitaman menunjukkan ekstrak mengandung tanin, nilai Rf dihitung sama dengan cara menghitung nilai Rf alkaloid.

c. Pembuatan Serial Konsentrasi

Buat larutan stok 5% sebanyak 1100 ml. Dengan cara timbang ekstrak sebanyak 55gram dengan tambahan aquades sampai 1100 ml, sehingga didapat larutan stok 5% sebanyak 1100 ml untuk menghomogenkan larutan stok di beri tween 80% sebanyak 2 ml. Pengenceran menggunakan pedoman:

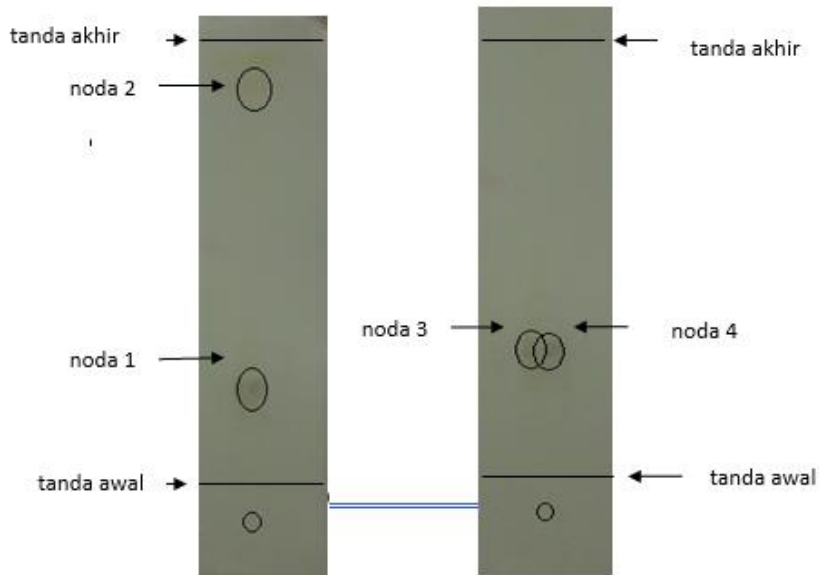
$$V_1.C_2 = V_2.C_1$$

Keterangan: V<sub>1</sub> = Volume mula-mula,  
 V<sub>2</sub> = Volume kedua  
 C<sub>1</sub> = Konsentrasi mula-mula

**3. HASIL DAN PEMBAHASAN**

*3.1 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)*

Hasil dari uji KLT (Gambar 3.3), menunjukkan bahwa pada deteksi alkaloid terdapat dua noda, noda 1 nilai Rf 0,27 berwarna kehitaman dan noda 2 nilai Rf 0,78 berwarna kuning kemerahan terlihat jelas pada saat masih basah, deteksi tanin terlihat terdapat dua noda yang saling berdekatan, noda 3 dan 4 nilai Rf 0,38 berwarna biru kehitaman tampak pada saat masih basah, begitu plat KLT kering noda terlihat tidak jelas baik pada deteksi alkaloid maupun tanin. Menurut Stahl (1973), indikator nilai Rf berkisar antara 0-1, yaitu antara 0,2-0,8. Berdasarkan hasil uji menunjukkan keberadaan senyawa aktif yang diduga berperan sebagai biopestisida, memiliki Rf 0,27, 0,78 dan 0,38.



Gambar 1. Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ekstrak kulit batang pepaya Alkaloid (A), noda 1; berwarna kehitaman, noda 2; berwarna kuning kemerahan, Tanin (B) noda 3 dan 4 berdekatan berwarna biru kehitaman

3.2 Hasil Uji Akhir

Data hasil penelitian yang dilakukan, pada pengujian akhir dapat dilihat pada Tabel 2. berikut ini.

Tabel 2. Kematian (%) rumput teki, pada uji pendahuluan dengan konsentrasi granulat getah *Euphorbia milii* pada waktu 2 hari, 4 hari, 6 hari dan 8 hari.

Konsentrasi	Jumlah Awal Rumput Teki	Lama Waktu Pengamatan							
		2 Hari		4 Hari		6 Hari		8 Hari	
		Mati	Mati (%)	Mati	Mati (%)	Mati	Mati (%)	Mati	Mati (%)
0	30	0	0	0	0	0	0	0	0
0,1	30	0	0	0	0	0	0	0	0
0,2	30	0	0	0	0	0	0	1	3,33
0,4	30	0	0	0	0	2	6,67	3	10
0,6	30	0	0	0	0	6	20	7	23,33
0,8	30	0	0	2	6,67	6	20	9	3
1	30	1	3,33	5	16,67	9	30	11	36,67
2	30	4	13,33	6	20	9	30	13	43,33
3	30	5	16,67	6	20	15	50	20	66,67
4	30	6	20	12	40	19	63,33	28	93,33
5	30	25	83,33	26	86,67	30	100	30	100

Hasil analisa probit uji pada penelitian ini menggunakan range kematian (10% - 90%), nilai  $LC_{10}=0,31\pm 1,34$  (0,31-0,73);  $LC_{50}=2,03\pm 1,34$ (1,65-2,52) dan  $LC_{90}=3,75$ (3,13- 4,80);  $slope=0,75$ ;  $x^2 = 60,39$ . Hasil analisis tersebut selanjutnya digunakan sebagai dasar pembuatan lima serial konsentrasi yang akan digunakan pada pengujian akhir/ sesungguhnya, berturut-turut adalah 0,30%, 1,30%, 2,03%, 3.10% dan 3,70%, dengan satu perlakuan kontrol 0%.

Data yang didapat dari pengujian akhir, untuk menentukan konsentrasi yang paling efektif dari semua konsentrasi yang digunakan dianalisis menggunakan GLM *Repeated Measures*, diperoleh hasil sebagai berikut:

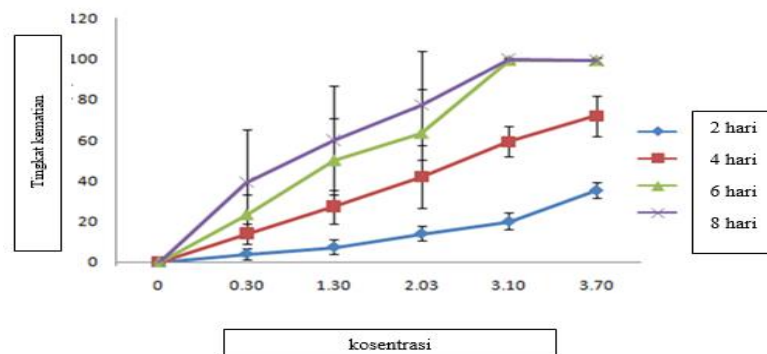
Tabel 3.2 Kematian rumput teki pada berbagai konsentrasi pada waktu 2, 4, 6, dan 8 Hari

Konsentrasi (%)	Kematian (%)			
	T1	T2	T3	T4
0,30	4,00 d	14,00 d	23,33 c	39,33 c
1,30	7,33 d	27,33 c	50,00 b	60,00 b,c
2,03	13,99 c	42,00 b	63,33 b	77,33 a,b
3,10	20,00 b	59,33 a	99,33 a	100 a
3,70	35,33 a	72,00 a	99,33 a	99,33 a

Keterangan:

- Angka yang diikuti dengan huruf yang sama dalam satu kolom, menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji GLM
- T1, T2, T3 dan T4= waktu dedah 2, 4, 6, dan 8 Hari

Tabel 3.2 menunjukkan bahwa aplikasi granul *Euphorbia milii* pada konsentrasi 0% hingga waktu berakhir tidak diketemukan rumput teki yang mati, namun pada konsentrasi 0,30%,1,30%, 2,03%, 3,10% dan 3,70% pada waktu 2 hari setelah aplikasi, berturut-turut kematian rumput teki sebesar 4%, 7,33%, 14,00%, 20,00% dan 35,33%. Pada waktu pengamatan 4 hari, konsentrasi granul *Euphorbia milii* yang dapat mematikan rumput teki di atas 50% pada konsentrasi 3,10% dan 3,70% berturut-turut rumput teki yang mati sebesar 59,33% dan 72,00%. Pada waktu 18 dan 24 Jam, kecuali konsentrasi 0,30% granul *Euphorbia milii* dapat mematikan rumput teki 50% dan diatas 50%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi persentase konsentrasi granul *Euphorbia milii* yang diaplikasikan pada waktu yang sama maka semakin tinggi pula persentase kematian rumput teki.



Gambar 2. Grafik persentase rerata kematian rumput teki dari berbagai konsentrasi granul *Euphorbia milii*, pada waktu 2 hari, 4 hari, 6 hari dan 8 hari.



Hasil uji granul *Euphorbia milii* terhadap pertumbuhan rumput teki menunjukkan bahwa perlakuan selama 2 hari setelah aplikasi, persentase kematian rumput teki, konsentrasi 2,03% berbeda nyata dengan semua konsentrasi, begitu juga dengan konsentrasi 3,10% dan 3,70%, namun konsentrasi 0,30% dengan 1,30% tidak berbeda nyata terhadap kematian rumput teki. Perlakuan setelah aplikasi 4 hari dengan konsentrasi 2,03% berbeda nyata terhadap semua konsentrasi perlakuan lainnya, begitu juga untuk konsentrasi 0,30% maupun 1,30%, namun konsentrasi 3,10% tidak berbeda nyata dengan 3,70% terhadap kematian rumput teki. Waktu 6 hari konsentrasi 0,30% berbeda nyata dengan semua konsentrasi yang dipergunakan, sedangkan konsentrasi 1,30% dengan 2,03% dan konsentrasi 3,10% dengan 3,70%, menunjukkan adanya perbedaan nyata, waktu 8 hari tidak ada konsentrasi yang berbeda nyata dengan konsentrasi yang lainnya, yakni antara konsentrasi 2,03%, dengan 3,10% maupun 3,70% menunjukkan tidak beda nyata, sedangkan 2,03% dengan 1,30% juga tidak beda nyata.

Analisis probit dalam menentukan nilai  $LC_{50}$  dan  $LT_{50}$  granul *Euphorbia milii* terhadap pertumbuhan rumput teki diperoleh nilai  $LC_{50} = 1,08 \pm 0,98$  (0,29- 1,80);  $slope = 1,02$ ;  $x^2 = 19,41$ , nilai  $LT_{50} = 15,31 \pm 1,08$  (14,28- 16,42);  $slope = 0,09$ ;  $x^2 = 129,08$  dari hasil tersebut  $slope$  positif pada penentuan  $LC_{50}$  maupun  $LT_{50}$ , menunjukkan jumlah mortalitas rumput teki semakin meningkat seiring bersama penambahan jumlah konsentrasi ekstrak granul *Euphorbia milii* dan peningkatan waktu.

Nilai  $LC_{50}$  4 hari yang sebesar 1,08%, berarti pengaruh granul getah *Euphorbia milii* mampu mematikan 50% rumput teki pada konsentrasi 1,08% dalam waktu dedah 4 hari, data tersebut mengkonfirmasi sifat toksik terhadap rumput teki. Analisis probit tentang waktu juga menunjukkan bahwa semakin lama waktu, maka persentase kematian rumput teki juga meningkat, kejadian tersebut diduga bahwa kondisi yang semakin lemah karena penekanan pertahanan tubuh akibat dari adanya senyawa aktif dalam ekstrak yang masuk ke dalam rumput teki.

Berdasarkan analisis GLM *Repeated Measures* (Tabel 3.2), konsentrasi yang efektif adalah 1,30%, keefektifan ini dapat dilihat dari kemampuannya dalam mematikan rumput teki dengan konsentrasi terendah yang bisa mematikan rumput teki diatas 50% pada waktu 4 hari, yang tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 2,03%, 3,10% dan 3,70%, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian aplikasi ekstrak berpengaruh positif terhadap kematian rumput teki. Riyanti (2005), menjelaskan bahwa interaksi racun suatu sistem biologi ditentukan oleh lamanya waktu. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Prijanto (1990), menyatakan bahwa semakin lama waktu senyawa aktif yang terpapar pada sampel uji, maka akan semakin banyak senyawa tersebut terakumulasi dalam rumput teki yang akan menimbulkan kematian, sehingga waktu yang dibutuhkan untuk membunuh rumput teki semakin cepat.

Hasil analisis probit toksisitas granul getah *Euphorbia milii* terhadap rumput teki, bahwa efektifitas ekstrak memiliki hubungan erat dengan konsentrasi senyawa-senyawa yang dikandungnya. Sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi zat yang terkandung dalam suatu ekstrak maka akan semakin banyak yang terakumulasi dalam tubuh serangga uji sehingga menimbulkan efek yang semakin besar, hal ini sesuai dengan penelitian (Yunita et al., 2009).

#### 4. KESIMPULAN DAN SARAN

##### 4.1 Kesimpulan

Hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa granul *Euphorbia milii* memiliki nilai  $LC_{50} = 1,08\%$ , nilai  $LT_{50} = 8,31$  hari, yang berarti untuk membunuh 50% rumput teki membutuhkan konsentrasi 1,08% dalam waktu 8,31 hari.

##### 4.2 Saran

Penelitian untuk mendeteksi senyawa aktif alkaloid dan tanin yang menggunakan KLT, sebaiknya sebagai penapak noda tidak hanya menggunakan dragendorff dan  $FeCl_3$ , tetapi juga menggunakan sinar UV 254 nm atau 365 nm agar

noda tampak lebih jelas serta perlu adanya formulasi granul *Euphorbia milii* untuk diaplikasikan di lapang dan mengarah ke Hak Kekayaan Intelektual

## **5. REFERENSI**

- Bakrya, F. A., T. Mohamed, R., & El-Hommosany, K. (2011). Biological and biochemical responses of *Biomphalaria alexandrina* to some extracts of the plants *Solanum siniacum* and *Artemisia judaica* L. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *99*(2), 174–180.
- Ebtan, R., Sugiharto, A. N., & Widaryanto, E. (2014). Ketahanan beberapa varietas jagung manis (*Zea mays Saccharata* Sturt) terhadap populasi gulma teki (*Cyperus rotundus*). *J. Prod. Tanaman*, *1*(6), 471–477.
- Imaniasita, V., Liana, T., Krisyetno, K., & Pamungkas, D. S. (2020). Identifikasi Keragaman dan Dominansi Gulma pada Lahan Pertanaman Kedelai. *Agrotechnology Research Journal*, *4*(1), 11–16. <https://doi.org/10.20961/agrotechresj.v4i1.36449>
- Moro, L. P., Murakami, M. T., Cabral, H., Vidotto, A., Tajara, E. H., Arni, R. K., Juliano, L., & Bonilla-Rodriguez, G. O. (2008). Purification, biochemical and functional characterization of miliin, a new thiol-dependent serine protease isolated from the latex of *Euphorbia milii*. *National Library of Medicine*, *15*(7), 724–730.
- Prijanto. (1990). *Tehnik Pemanfaatan Insektisida Botani*. IPB Bandung.
- Riyanti. (2005). *Toksikologi Limbah Cair Kelapa Sawit terhadap Ikan Nila (Aeromonas Sp)*. Universitas Riau.
- Stahl. (1973). *Drug analysis by chromatography and microscopy*. Ann. Arbor Science Publisher. Inc.
- Sumekar, Y. (2022). “ Digitalisasi Pertanian Menuju Kebangkitan Ekonomi Kreatif ” Pengaruh Herbisida Parakuat Diklorida 135 G / L Terhadap Penekanan Gulma pada Budidaya Kelapa Sawit Tanaman Belum Menghasilkan ( TBM ). *Seminar Nasional Dalam Rangka Dies Natalis Ke-46 UNS*, *6*(1), 958–967.
- Yunita, E. A., Suprpti, N. H., & Hidayat, J. W. (2009). Perkembangan Larva *Aedes aegypti*. *Bioma*, *11*(1), 11–17. <https://core.ac.uk/download/files/379/11703242.pdf>

# TOKSISITAS GETAH EUPHORBIA MILII TERHADAP PERTUMBUHAN RUMPU TEKI (CYPERUS ROTUNDUS)

*by Lppm Uniba*

---

**Submission date:** 25-Oct-2023 03:06PM (UTC+0700)

**Submission ID:** 2206702009

**File name:** ARTIKEL\_9.pdf (219.42K)

**Word count:** 3030

**Character count:** 16525

**TOKSISITAS GETAH *EUPHORBIA MILII* TERHADAP PERTUMBUHAN  
RUMPU TEKI (*CYPERUS ROTUNDUS*)**

**Mohammad Wildan Habibi<sup>1)</sup>, Hasyim As'ari<sup>2)</sup>**

<sup>1</sup>Fakultas Tarbiyah dan Ilmu Keguruan, UIN KHAS Jember

<sup>2</sup>Program Studi Biologi, FMIPA, Universitas PGRI Banyuwangi

Email: ziowildan@gmail.com

**Abstrak**

Penelitian saat ini menunjukkan bahwa pengendalian gulma secara biologis berdasarkan prinsip kembali ke alam semakin populer karena faktor keamanan, jumlah populasi dan nilai ekonomi yang jauh lebih baik daripada penggunaan herbisida buatan yang cenderung merusak ekosistem dan mencemari lingkungan sekitar. lingkungan. Bahan lain yang dapat digunakan untuk herbisida hayati ini adalah penggunaan getah Euphorbia. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui toksisitas getah Euphorbia terhadap penghambatan tanaman nutgrass (*Cyperus rotundus*). Metode penelitian ini adalah eksperimen laboratorium. Meskipun jenis penelitian ini bersifat deskriptif dan eksploratif. Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa nilai LC50 butiran Euphorbia = 1,08%, dan nilai LT50 = 8,31 hari, yang berarti diperlukan waktu 8,31 hari untuk membunuh 50% rumput kacang dengan konsentrasi 1,08%.

**Keywords: Nature; Euphorbia, Cyperus, Konsentrasi, Toksisitas**

**Abstract**

Current research shows that biological control of weed plants with the principle of back to nature is rampant due to safety factors, population numbers, economic value that is much better than using the use of artificial weed exterminators that tend to damage the ecosystem and pollution of the surrounding environment. An alternative ingredient that can be used in this bioherbicide is to use the sap of the euphorbia milii plant. The purpose of this study was to determine the toxicity of the sap of the Euphorbia milii plant in order to inhibit the teki grass plant (*Cyperus rotundus*). The approach in this study is a laboratory experiment. While this type of research includes exploratory descriptive. The results of this study can be concluded that the Euphorbia milli granule has an LC value of  $50 = 1.08\%$ , an LT value of  $50 = 8.31$  days, which means that to kill 50% of the grass requires a concentration of 1.08% within 8.31 days.

**Keywords: Nature; Euphorbia, Cyperus, Concentration, Toxicity**

## **1. PENDAHULUAN**

<sup>17</sup> Gulma yang paling banyak berkembang disekitar ialah rumput teki (*Cyperus rotundus*) dimana tumbuhan ini memiliki perakaran yang sanggup berkembang cepat serta luas dan sanggup menyerap air serta nutrisi sehingga tumbuhan yang terdapat disekitarnya akan kalah bersaing (Ebtan et al., 2014). Selama ini, pola yang digunakan masyarakat dalam pengendalian gulma teki adalah dengan metode penyiangan, namun metode tersebut masih kurang efektif, karena pada proses penyiangan tersebut masih terdapat umbi dari rumput teki yang tertingga sehingga pada saat tertentu rumput teki akan tumbuh kembali. Alternatif lain yang dapat digunakan dalam pengendalian gulma dapat dilakukan secara biologi yaitu biokontrol gulma. Biokontrol gulma merupakan pemanfaatan musuh-musuh alami (organisme hidup) untuk menekan atau menghambat dan mematikan populasi gulma (Imaniasita et al., 2020).

Perkembangan riset saat ini, cenderung menekankan prinsip *back to nature*, dalam berbagai bidang penelitian, termasuk dalam pengendalian gulma, mengingat penggunaan herbisida kimia dapat menyebabkan pencemaran lingkungan, kematian tanaman budidaya secara masal, harga yang lebih mahal bioherbisida alami (Sumekar, 2022). <sup>15</sup> Salah satu bahan yang dapat digunakan sebagai alternatif bioherbisida tersebut <sup>15</sup> adalah dengan menggunakan getah tumbuhan *Euphorbia milii*.

Berdasarkan riset yang dilakukan oleh Bakrya et al. (2011), melaporkan bahwa pemakaian getah tumbuhan *Euphorbia milii* pada serial konsentrasi <sup>19</sup> ppm (LC50) dapat mematikan larva *Schistosoma mansoni* secara efisien. Serta <sup>3</sup> penelitian yang <sup>15</sup> dilakukan oleh Moro et al., (2008), <sup>15</sup> menyatakan bahwa pengisolasian serin protease yang terdapat pada getah *Euphorbia milii* dapat digunakan sebagai herbisida. <sup>16</sup> Berdasarkan hal tersebut penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui toksisitas getah *Euphorbia milii* terhadap pertumbuhan rumput teki (*Cyperus rotundus*).

11  
2. METODE PENELITIAN

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimen laboratoris. Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu FTIK UIN KHAS Jember, selama 2 bulan untuk melakukan pengujian granul getah *Euphorbia milii* terhadap perkembangan rumput teki (*Cyperus rotundus*).

7  
2.1 Alat dan Bahan

Perlengkapan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain; oven, cawan petri, pengaduk, pisau, timbangan digital, mortar serta pistil, lemari es, pH meter. Sebaliknya bahan yang digunakan dalam riset ini ialah getah dari tumbuhan *Euphorbia milii* yang diperoleh dari dekat Kampus UIN KHAS Jember, alkohol 70%, NaCl, dextrin/ cmc, aquadest, rumput teki (*Cyperus rotundus*)

2.2 Pembuatan Granul Getah Tanaman *Euphorbia milii*

Getah yang diambil dari tanaman *Euphorbia milii* sebanyak 1 gram dicampurkan dengan dextrin atau cmc sebanyak 1,2 gram dan natrium klorida (NaCl) sebanyak 1,2 gram kedalam beaker glass.

2.3 Uji Pendahuluan

2  
Prosedur penelitian dalam uji pendahuluan ini adalah sebagai berikut:

- a. Menyiapkan granul getah *Euphorbia milii* sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan.
- b. Menyiapkan rumput teki (*Cyperus rotundus*) yang akan dilakukan uji coba.
- c. Mengamati rumput teki (*Cyperus rotundus*) yang mati selama 1-2 minggu.  
Pengamatan dilakukan dengan selang waktu 3 hari. Penentuan rumput teki mati dilakukan dengan cara melihat morfologi daun yang menguning atau kering.

2  
Berikut rancangan penelitian untuk uji pendahuluan :

Tabel 1. Rancangan Uji Pendahuluan

Perlakuan	Serial Kosentrasi (ppm)
K1	0
Gt 1	25
Gt 2	50
Gt 3	100
Gt 4	250
Gt 5	500
Gt 6	1000
Gt 7	1500
Gt 8	3000

Keterangan: Gt: Granul treatment

#### 2.4 Prosedur Penelitian

##### a. Pembuatan Ekstraksi

Tanaman *Euphorbia milii* usia sekitar 2 tahun, diambil getah pada batang, kemudian bahan ditambahkan dextrin dan CMC sebagai pengemulsi. Selanjutnya di oven selama 8 jam dengan suhu 45-50<sup>0</sup> C. Setelah terbentuk kering, granul dikerok dengan menggunakan spatula dan ditampung di cawan petri.

##### b. Uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis)

###### 1) Uji alkaloid

18  
2  
Uji alkaloid dilakukan dengan menimbang ekstrak 0,1 gram, kemudian memanaskan air di beker glas. 2  
Membuat eluen campuran tiga pelarut yaitu etil asetat: metanol: air dengan perbandingan 9:1:1, saring eluen dengan kertas saring. Setelahnya timbang kembali dengan tambahan HCl 2N sebanyak 2 ml. Hidrolisis ekstrak tersebut dengan meletakkan tabung reaksi ke dalam beker glas yang berisi air panas, dibiarkan sampai 3 menit lalu diangkat dan dibiarkan dingin. Setelah dingin, tambahkan NaCl lalu saring pisahkan filtrat dan ampas. Filtrat diberi 2 ml HCl 2N masukkan lakmus merah kedalamnya, tetesi filtrat dengan ammonia 28% hingga membiru. Langkah berikutnya, pertisi ekstrak dengan menambahkan 5 ml



kloroform bebas air, hingga muncul dua lapisan yang terdiri pada bagian atas adalah minyak(non-polar) dan air (polar) di bagian bawah, pisahkan keduanya. Keringkan yang berupa cairan, setelah kering beri methanol sebanyak 3 tetes lalu aduk hingga homogen. Totolkan ekstrak ke plate KLT, letakkan ke gelas uji yang memiliki fase gerak dan angkat saat berjarak 0,5 cm dari batas akhir kemudian semprot dengan pereaksi *dragendorff*. Jika pada ekstrak muncul noda warna jingga maka terdapat alkaloid, hitung nilai *Retention Factor* (Rf) dengan rumus:

$$Rf = \frac{\text{Jarak noda dari titik awal penotolan}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh fase gerak}}$$

## 2) Uji Tanin

Timbang 0,1 gram ekstrak dengan penambahan 4 ml aquades panas diaduk dan didinginkan pada suhu kamar tetesi NaCl 10% setelah dingin lakukan penyaringan. Totolkan ekstrak ke *plate* meletakkan *plate*, angkat saat berjarak 0,5 cm dari batas akhir dan disemprot dengan FeCl<sub>3</sub> muncul noda biru kehitaman menunjukkan ekstrak mengandung tanin, nilai Rf dihitung sama dengan cara menghitung nilai Rf alkaloid.

## c. Pembuatan Serial Konsentrasi

Buat larutan stok 5% sebanyak 1100 ml. Dengan cara timbang ekstrak sebanyak 55 gram dengan tambahan aquades sampai 1100 ml, sehingga didapat larutan stok 5% sebanyak 1100 ml untuk menghomogenkan larutan stok di beri tween 80% sebanyak 2 ml. Pengenceran menggunakan pedoman:

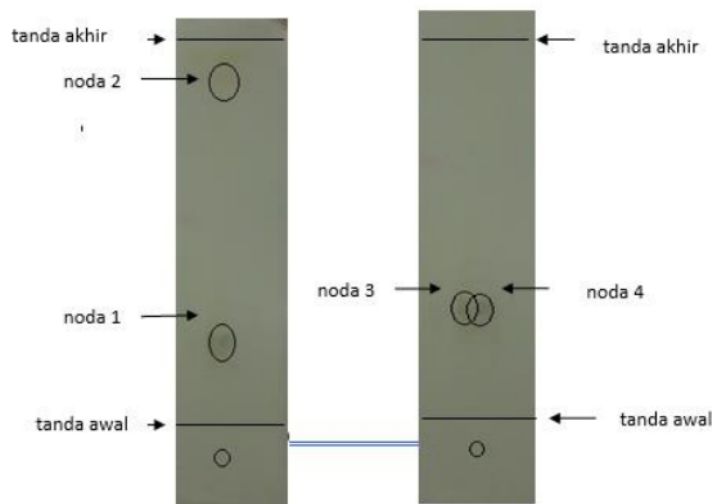
$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

Keterangan: V<sub>1</sub> = Volume mula-mula,  
V<sub>2</sub> = Volume kedua  
C<sub>1</sub> = Konsentrasi mula-mula

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Hasil dari uji KLT (Gambar 3.3), menunjukkan bahwa pada deteksi alkaloid terdapat dua noda, noda 1 nilai Rf 0,27 berwarna kehitaman dan noda 2 nilai Rf 0,78 berwarna kuning kemerahan terlihat jelas pada saat masih basah, deteksi tanin terlihat terdapat dua noda yang saling berdekatan, noda 3 dan 4 nilai Rf 0,38 berwarna biru kehitaman tampak pada saat masih basah, begitu plat KLT kering noda terlihat tidak jelas baik pada deteksi alkaloid maupun tanin. Menurut Stahl (1973), indikator nilai Rf berkisar antara 0-1, yaitu antara 0,2-0,8. Berdasarkan hasil uji menunjukkan keberadaan senyawa aktif yang diduga berperan sebagai biopestisida, memiliki Rf 0,27, 0,78 dan 0,38.



20  
Gambar 1. Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ekstrak kulit batang pepaya Alkaloid (A), noda 1; berwarna kehitaman, noda 2; berwarna kuning kemerahan, Tanin (B) noda 3 dan 4 berdekatan berwarna biru kehitaman

3.2 Hasil Uji Akhir

Data hasil penelitian yang dilakukan, pada pengujian akhir dapat dilihat pada Tabel 2. berikut ini.

Tabel 2. Kematian (%) rumput teki pada uji pendahuluan dengan konsentrasi granul getah *Euphorbia milii* pada waktu 2 hari, 4 hari, 6 hari dan 8 hari.

Konsentrasi	Jumlah Awal Rumput Teki	Lama Waktu Pengamatan							
		2 Hari		4 Hari		6 Hari		8 Hari	
		Mati	Mati (%)	Mati	Mati (%)	Mati	Mati (%)	Mati	Mati (%)
0	30	0	0	0	0	0	0	0	0
0,1	30	0	0	0	0	0	0	0	0
0,2	30	0	0	0	0	0	0	1	3,33
0,4	30	0	0	0	0	2	6,67	3	10
0,6	30	0	0	0	0	6	20	7	23,33
0,8	30	0	0	2	6,67	6	20	9	3
1	30	1	3,33	5	16,67	9	30	11	36,67
2	30	4	13,33	6	20	9	30	13	43,33
3	30	5	16,67	6	20	15	50	20	66,67
4	30	6	20	12	40	19	63,33	28	93,33
5	30	25	83,33	26	86,67	30	100	30	100

Hasil analisa probit uji pada penelitian ini menggunakan range kematian (10%-90%), nilai  $LC_{10}=0,31\pm 1,34$  (0,31-0,73);  $LC_{50}=2,03\pm 1,34$  (1,65-2,52) dan  $LC_{90}=3,75$  (3,13- 4,80);  $slope=0,75$ ;  $\chi^2 = 60,39$ . Hasil analisis tersebut selanjutnya digunakan sebagai dasar pembuatan lima serial konsentrasi yang akan digunakan pada pengujian akhir/ sesungguhnya, berturut-turut adalah 0,30%, 1,30%, 2,03%, 3.10% dan 3,70%, dengan satu perlakuan kontrol 0%.

Data yang didapat dari pengujian akhir, untuk menentukan konsentrasi yang paling efektif dari semua konsentrasi yang digunakan dianalisis menggunakan GLM *Repeated Measures*, diperoleh hasil sebagai berikut:

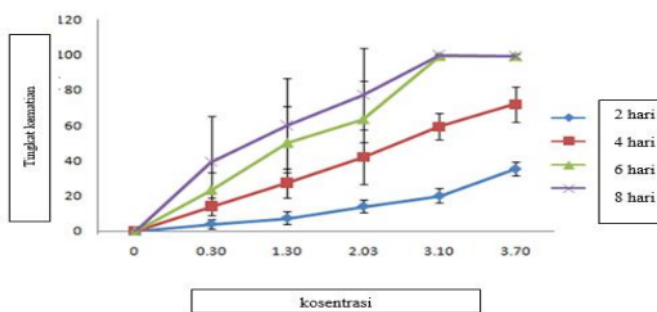
4  
 Tabel 3.2 Kematian rumput teki pada berbagai konsentrasi pada waktu 2, 4, 6, dan 8 Hari

Konsentrasi (%)	Kematian (%)			
	T1	T2	T3	T4
0,30	4,00 d	14,00 d	23,33 c	39,33 c
1,30	7,33 d	27,33 c	50,00 b	60,00 b,c
2,03	13,99 c	42,00 b	63,33 b	77,33 a,b
3,10	20,00 b	59,33 b	99,33 a	100 a
3,70	35,33 a	72,00 a	99,33 a	99,33 a

Keterangan:

- Angka yang diikuti dengan huruf yang sama dalam satu kolom, menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji GLM
- T1, T2, T3 dan T4= waktu dedah 2, 4, 6, dan 8 Hari

Tabel 3.2 menunjukkan bahwa aplikasi granul *Euphorbia milii* pada konsentrasi 0% hingga waktu berakhir tidak ditemukan rumput teki yang mati, namun pada konsentrasi 0,30%, 1,30%, 2,03%, 3,10% dan 3,70% pada waktu 2 hari setelah aplikasi, berturut-turut kematian rumput teki sebesar 4%, 7,33%, 14,00%, 20,00% dan 35,33%. Pada waktu pengamatan 4 hari, konsentrasi granul *Euphorbia milii* yang dapat mematikan rumput teki di atas 50% pada konsentrasi 3,10% dan 3,70% berturut-turut rumput teki yang mati sebesar 59,33% dan 72,00%. Pada waktu 18 dan 24 Jam, kecuali konsentrasi 0,30% granul *Euphorbia milii* dapat mematikan rumput teki 50% dan diatas 50%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi persentase konsentrasi granul *Euphorbia milii* yang diaplikasikan pada waktu yang sama maka semakin tinggi pula persentase kematian rumput teki.



Gambar 2. Grafik persentase rerata kematian rumput teki dari berbagai konsentrasi granul *Euphorbia milii*, pada waktu 2 hari, 4 hari, 6 hari dan 8 hari.

Hasil uji granul *Euphorbia milii* terhadap pertumbuhan rumput teki menunjukkan bahwa perlakuan selama 2 hari setelah aplikasi, persentase kematian rumput teki, konsentrasi 2,03% berbeda nyata dengan semua konsentrasi, begitu juga dengan konsentrasi 3,10% dan 3,70%, namun konsentrasi 0,30% dengan 1,30% tidak berbeda nyata terhadap kematian rumput teki. Perlakuan setelah aplikasi 4 hari dengan konsentrasi 2,03% berbeda nyata terhadap semua konsentrasi perlakuan lainnya, begitu juga untuk konsentrasi 0,30% maupun 1,30%, namun konsentrasi 3,10% tidak berbeda nyata dengan 3,70% terhadap kematian rumput teki. Waktu 6 hari konsentrasi 0,30% berbeda nyata dengan semua konsentrasi yang dipergunakan, sedangkan konsentrasi 1,30% dengan 2,03% dan konsentrasi 3,10% dengan 3,70%, menunjukkan adanya perbedaan nyata, waktu 8 hari tidak ada konsentrasi yang berbeda nyata dengan konsentrasi yang lainnya, yakni antara konsentrasi 2,03%, dengan 3,10% maupun 3,70% menunjukkan tidak beda nyata, sedangkan 2,03% dengan 1,30% juga tidak beda nyata.

Analisis probit dalam menentukan nilai  $LC_{50}$  dan  $LT_{50}$  granul *Euphorbia milii* terhadap pertumbuhan rumput teki diperoleh nilai  $LC_{50} = 1,08 \pm 0,98$  (0,29- 1,80);  $slope = 1,02$ ;  $\chi^2 = 19,41$ , nilai  $LT_{50} = 15,31 \pm 1,08$  (14,28- 16,42);  $slope = 0,09$ ;  $\chi^2 = 129,08$  dari hasil tersebut  $slope$  positif pada penentuan  $LC_{50}$  maupun  $LT_{50}$ , menunjukkan jumlah mortalitas rumput teki semakin meningkat seiring bersama penambahan jumlah konsentrasi ekstrak granul *Euphorbia milii* dan peningkatan waktu.

Nilai  $LC_{50}$  4 hari yang sebesar 1,08%, berarti pengaruh granul getah *Euphorbia milii* mampu mematikan 50% rumput teki pada konsentrasi 1,08% dalam waktu dedah 4 hari, data tersebut mengkonfirmasi sifat toksik terhadap rumput teki. Analisis probit tentang waktu juga menunjukkan bahwa semakin lama waktu, maka persentase kematian rumput teki juga meningkat, kejadian tersebut diduga bahwa kondisi yang semakin lemah karena penekanan pertahanan tubuh akibat dari adanya senyawa aktif dalam ekstrak yang masuk ke dalam rumput teki.

Berdasarkan analisis GLM *Repeated Measures* (Tabel 3.2), konsentrasi yang efektif adalah 1,30%, keefektifan ini dapat dilihat dari kemampuannya dalam mematikan rumput teki dengan konsentrasi terendah yang bisa mematikan rumput teki diatas 50% pada waktu 4 hari, yang tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 2,03%, 3,10% dan 3,70%, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian aplikasi ekstrak berpengaruh positif terhadap kematian rumput teki. Riyanti (2005), menjelaskan bahwa interaksi racun suatu sistem biologi ditentukan oleh lamanya waktu. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Prijanto (1990), menyatakan bahwa semakin lama waktu senyawa aktif yang terpapar pada sampel uji, maka akan semakin banyak senyawa tersebut terakumulasi dalam rumput teki yang akan menimbulkan kematian, sehingga waktu yang dibutuhkan untuk membunuh rumput teki semakin cepat.

Hasil analisis probit toksisitas granul getah *Euphorbia milii* terhadap rumput teki, bahwa efektifitas ekstrak memiliki hubungan erat dengan konsentrasi senyawa-senyawa yang dikandungnya. Sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi zat yang terkandung dalam suatu ekstrak maka akan semakin banyak yang terakumulasi dalam tubuh serangga uji sehingga menimbulkan efek yang semakin besar, hal ini sesuai dengan penelitian (Yunita et al., 2009).

#### **4. KESIMPULAN DAN SARAN**

##### **4.1 Kesimpulan**

Hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa granul *Euphorbia milii* memiliki nilai  $LC_{50} = 1,08\%$ , nilai  $LT_{50} = 8,31$  hari, yang berarti untuk membunuh 50% rumput teki membutuhkan konsentrasi 1,08% dalam waktu 8,31 hari.

##### **4.2 Saran**

Penelitian untuk mendeteksi senyawa aktif alkaloid dan tanin yang menggunakan KLT, sebaiknya sebagai penapak noda tidak hanya menggunakan dragendorff dan  $FeCl_3$ , tetapi juga menggunakan sinar UV 254 nm atau 365 nm agar

noda tampak lebih jelas serta perlu adanya formulasi granul *Euphorbia milii* untuk diaplikasikan di lapang dan mengarah ke Hak Kekayaan Intelektual

## 5. REFERENSI

- Bakrya, F. A., T. Mohamed, R., & El-Homossany, K. (2011). Biological and biochemical responses of *Biomphalaria alexandrina* to some extracts of the plants *Solanum siniacum* and *Artemisia judaica* L. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *99*(2), 174–180.
- Ebtan, R., Sugiharto, A. N., & Widaryanto, E. (2014). Ketahanan beberapa varietas jagung manis (*Zea mays Saccharata* Sturt) terhadap populasi gulma teki (*Cyperus rotundus*). *J. Prod. Tanaman*, *1*(6), 471–477.
- Imaniasita, V., Liana, T., Krisyeto, K., & Pamungkas, D. S. (2020). Identifikasi Keragaman dan Dominansi Gulma pada Lahan Pertanian Kedelai. *Agrotechnology Research Journal*, *4*(1), 11–16. <https://doi.org/10.20961/agrotechresj.v4i1.36449>
- Moro, L. P., Murakami, M. T., Cabral, H., Vidotto, A., Tajara, E. H., Ami, R. K., Juliano, L., & Bonilla-Rodriguez, G. O. (2008). Purification, biochemical and functional characterization of miliin, a new thiol-dependent serine protease isolated from the latex of *Euphorbia milii*. *National Library of Medicine*, *15*(7), 724–730.
- Prijanto. (1990). *Tehnik Pemanfaatan Insektisida Botani*. IPB Bandung.
- Riyanti. (2005). *Toksikologi Limbah Cair Kelapa Sawit terhadap Ikan Nila (Aeromonas Sp)*. Universitas Riau.
- Stahl. (1973). *Drug analysis by chromatography and microscopy*. Ann. Arbor Science Publisher. Inc.
- Sumekar, Y. (2022). “ Digitalisasi Pertanian Menuju Kebangkitan Ekonomi Kreatif ” Pengaruh Herbisida Parakuat Diklorida 135 G / L Terhadap Penekanan Gulma pada Budidaya Kelapa Sawit Tanaman Belum Menghasilkan ( TBM ). *Seminar Nasional Dalam Rangka Dies Natalis Ke-46 UNS*, *6*(1), 958–967.
- Yunita, E. A., Suprapti, N. H., & Hidayat, J. W. (2009). Perkembangan Larva *Aedes aegypti*. *Bioma*, *11*(1), 11–17. <https://core.ac.uk/download/files/379/11703242.pdf>

# TOKSISITAS GETAH EUPHORBIA MILII TERHADAP PERTUMBUHAN RUMPU TEKI (CYPERUS ROTUNDUS)

## ORIGINALITY REPORT

16%

SIMILARITY INDEX

16%

INTERNET SOURCES

4%

PUBLICATIONS

%

STUDENT PAPERS

## PRIMARY SOURCES

1	<a href="https://download.garuda.kemdikbud.go.id">download.garuda.kemdikbud.go.id</a> Internet Source	4%
2	<a href="https://es.scribd.com">es.scribd.com</a> Internet Source	3%
3	<a href="https://repo.unand.ac.id">repo.unand.ac.id</a> Internet Source	2%
4	<a href="https://media.neliti.com">media.neliti.com</a> Internet Source	1%
5	<a href="https://core.ac.uk">core.ac.uk</a> Internet Source	1%
6	<a href="https://idr.uin-antasari.ac.id">idr.uin-antasari.ac.id</a> Internet Source	<1%
7	<a href="https://adoc.pub">adoc.pub</a> Internet Source	<1%
8	<a href="https://lppm.ibrahimiy.ac.id">lppm.ibrahimiy.ac.id</a> Internet Source	<1%
9	<a href="https://repository.trisakti.ac.id">repository.trisakti.ac.id</a> Internet Source	<1%



10	<a href="http://jurnal.stkippgritulungagung.ac.id">jurnal.stkippgritulungagung.ac.id</a> Internet Source	<1 %
11	<a href="http://www.scribd.com">www.scribd.com</a> Internet Source	<1 %
12	<a href="http://biogenesis.ejournal.unri.ac.id">biogenesis.ejournal.unri.ac.id</a> Internet Source	<1 %
13	<a href="http://infokimiawan13o1b-1.blogspot.com">infokimiawan13o1b-1.blogspot.com</a> Internet Source	<1 %
14	<a href="http://repository.ung.ac.id">repository.ung.ac.id</a> Internet Source	<1 %
15	<a href="http://repository.unika.ac.id">repository.unika.ac.id</a> Internet Source	<1 %
16	<a href="http://digilib.uin-suka.ac.id">digilib.uin-suka.ac.id</a> Internet Source	<1 %
17	<a href="http://etheses.uin-malang.ac.id">etheses.uin-malang.ac.id</a> Internet Source	<1 %
18	<a href="http://jfarma.org">jfarma.org</a> Internet Source	<1 %
19	<a href="http://repository.unri.ac.id">repository.unri.ac.id</a> Internet Source	<1 %
20	<a href="http://www.researchgate.net">www.researchgate.net</a> Internet Source	<1 %
21	<a href="http://real.mtak.hu">real.mtak.hu</a> Internet Source	<1 %

---

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography On