

The Effect of Temperature Differences and Storage Time on The Amount of Acid-Fast Bacilli + - Dwi Handayani

by Dwi Handayani

Submission date: 04-Apr-2022 08:36AM (UTC+0700)

Submission ID: 1800712797

File name: erences_and_Storage_Time_on_The_Amount_of_Acid-Fast_Bacilli.pdf (74K)

Word count: 2863

Character count: 15941

“The Effect of Temperature Differences and Storage Time on The Amount of Acid-Fast Bacilli +”.

**Pengaruh Perbedaan Suhu dan
Lama Penyimpanan Terhadap Jumlah BTA +**

DWI HANDAYANI¹, YUSIANTI SILVIANI²

^{1,2}Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, Jl. Solo Baki Kwarasan, Sukoharjo, Indonesia

Email korespondensi : yusianti.silviani@stikesnas.ac.id

ABSTRACT

Tuberculosis is a direct infectious disease caused by the TB bacteria, named *Mycobacterium tuberculosis*. Until now, Tuberculosis (TBC) is still a big challenge for the Indonesian government. For the purpose of diagnosis by direct microscopic examination of sputum, suspected TB patients are examined for sputum samples with Ziehl Neelsen staining. However, in some areas in Indonesia, the distance from health facilities sometimes requires that Acid-Fast Bacilli samples undergo a delay in examination because they go through the delivery process first. Therefore, the purpose of this study was to determine the effect of differences in temperature and storage time on the amount of Acid-Fast Bacilli +. The design of this study is a laboratory experimental research design with a completely randomized design. The study was conducted with 5 treatments, that stored for 0 hours, 24 hours at a temperature of 2-8°C, 24 hours at a temperature of 25°C, 48 hours at a temperature of 2-8°C and 48 hours at a temperature of 25°C. After microscopic observation and data processing, the results obtained p value > 0.05, then Ho is accepted and Ha is rejected. From these results it can be concluded that there is no effect of differences in temperature and storage time on the amount of .

Keywords : Tuberculosis, Temperature Differences, Storage Time

PENDAHULUAN

Tuberkulosis merupakan suatu penyakit menular langsung yang disebabkan oleh bakteri TB yaitu *Mycobacterium Tuberculosis*. Bakteri ini ditemukan pada tanggal 24 Maret 1882 oleh Robert Koch (Danasantoso, 2018). Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* adalah bakteri dengan bentuk batang lurus ataupun bengkok yang ramping dengan panjang 2-4 μm dan lebar 0,2 -0,5 μm dan bergabung membentuk rantai. Bakteri ini memiliki sifat tahan asam, oleh karena itu sering disebut Bakteri Tahan Asam/ BTA (Zanita, 2019).

Suhu optimum pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* adalah 37°C. pH pembenihan antara 6,0-8,0 dengan pH optimum antara 6,5-6,8 (Nurailiyah, 2015). Bakteri ini tahan terhadap suhu rendah antara 4°C sampai minus 70°C namun sangat peka terhadap sinar matahari dan sinar ultraviolet sehingga sebagian besar bakteri akan mati dalam waktu beberapa menit. Sedangkan dalam dahak pada suhu antara 30-37°C akan mati dalam waktu lebih kurang 1 minggu (Kesehatan, 2017).

Sampai saat ini, Tuberkulosis (TBC) masih menjadi tantangan besar untuk pemerintah Indonesia. Pada tahun 2021 Indonesia menjadi penyumbang dua pertiga kasus Tuberculosis di seluruh dunia, dengan perkiraan kasus 845.000 dan jumlah kematian 98.000 (Wulandari, 2021).

Beberapa penegakan diagnosis TB paru yaitu dengan melihat gejala klinis dan pemeriksaan bakteriologis yang meliputi pemeriksaan mikrobiologis langsung, biakan dan tes cepat. Namun pemeriksaan biakan memerlukan waktu lebih lama dan memerlukan peralatan khusus. Sedangkan pemeriksaan mikroskopis dinilai lebih mudah, spesifik, sensitif serta efisien waktu dan biaya. Meskipun demikian beberapa faktor yang mempengaruhi hasil mikroskopis antara lain kualitas sampel, jumlah bakteri, kualitas sediaan, kualitas pewarna dan kualitas sediaan. Sensitivitas pemeriksaan dengan metode ini akan sangat terganggu ketika jumlah bakteri kurang dari 10.000 kuman/ml sampel dahak. Sedangkan untuk pemeriksaan BTA menggunakan metode Tes Cepat Molekuler dapat mendeteksi hingga jumlah minimal kuman BTA 131 kuman/ml sampel dahak (Das et al., 2019). Pada pemeriksaan mikroskopis, sputum pasien akan diperiksa dengan pewarnaan Ziehl Nelsen.

Bakteri ini tidak bergerak dan tidak membentuk spora atau kapsul (Irianto & Koes,

2013). Selain itu, *Mycobacterium tuberculosis* dindingnya banyak mengandung lipid sehingga sulit terwarnai oleh pengecatan Gram. Sehingga pewarnaan ZN inilah yang dilakukan untuk mengidentifikasi adanya *Mycobacterium tuberculosis* atau BTA di dalam sediaan (Juliantina & Agustiningtyas, 2020). Melalui pewarnaan ini, bakteri *Mycobacterium tuberculosis* akan terlihat berbentuk panjang, berwarna merah dengan latar belakang biru. Sementara itu, untuk menginterpretasi hasil pemeriksaan mikroskopis BTA digunakan skala IUATLD (Kesehatan, 2017). Untuk waktu terbaik pengumpulan sputum adalah setelah bangun tidur, karena sekresi abnormal bronkus cenderung untuk berkumpul pada waktu tidur (Somantri, 2012).

Namun, di beberapa daerah di Indonesia, jauhnya fasilitas kesehatan terkadang mengharuskan sampel BTA mengalami penundaan pemeriksaan karena melalui proses pengiriman terlebih dahulu. Terkadang terdapat juga situasi dimana jumlah tenaga laboratorium sangat minim sedangkan terdapat kegiatan rutin laboratorium lain yang harus dilakukan. Hal ini juga mengakibatkan sampel BTA tidak dapat langsung dikerjakan.

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Alfiyani, dkk Tahun 2020 mengenai Pengaruh Lama Penyimpanan Dahak Pagi pada Suhu Kamar Terhadap Jumlah Bakteri Tahan Asam diperoleh hasil tidak ada pengaruh lamanya penyimpanan dahak pagi yang langsung dikerjakan, ditunda 3 jam dan 6 jam pada suhu kamar terhadap jumlah BTA (Muin et al., 2020).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, pada penelitian kali ini penulis akan melakukan penelitian mengenai pengaruh perbedaan suhu dan lama penyimpanan terhadap jumlah BTA dengan waktu tunda yang lebih panjang yaitu 24 jam dan 48 jam, lalu dengan suhu ruang dan suhu dingin (2-8°C). Hal ini dikarenakan penulis ingin mencocokkan dengan beberapa keadaan di lapangan jika sampel harus dikirim, antara lain:

1. Sampel diterima dalam 24 jam dan dapat langsung dikerjakan dan masih dalam keadaan dingin.
2. Sampel diterima dalam 24 jam dan dapat langsung dikerjakan namun suhunya tidak lagi dingin dikarenakan es yang mencair.
3. Sampel diterima dalam 48 jam dan masih dalam keadaan dingin.
4. Sampel diterima dalam 48 jam namun suhunya tidak lagi dingin dikarenakan es yang mencair.

Oleh karena latar belakang tersebut dan penelitian sebelumnya, penelitian mengenai pengaruh perbedaan suhu dan lama penyimpanan

terhadap jumlah BTA dengan waktu tunda yang lebih panjang yaitu 24 jam dan 48 jam, lalu dengan suhu ruang dan suhu dingin (2-8°C) dilakukan.

METODE PENELITIAN

Menurut jenisnya penelitian ini termasuk penelitian analitik eksperimental yang menguji pengaruh antara perbedaan suhu dan lama penyimpanan terhadap jumlah BTA +.

Desain penelitian ini adalah desain penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan acak lengkap (RAL). Penelitian dilakukan dengan 5 perlakuan yaitu penyimpanan selama 0 jam, 24 jam pada suhu 2-8°C, 24 jam pada suhu 25°C, 48 jam pada suhu 2-8°C dan 48 jam pada suhu 25°C.

Perhitungan pengulangan pada penelitian ini menggunakan rumus Federer : $(t-1)(r-1) \geq 15$

Keterangan : t = treatment (perlakuan)

$$r = \text{replikasi (pengulangan)}$$

$$15 = \text{derajat kebebasan umum}$$

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(5-1)(r-1) \geq 15$$

$$4(r-1) \geq 15$$

$$4r - 4 \geq 15$$

$$4r \geq 15 + 4$$

$4r \geq 19$, $r \geq 4.75$ (ulangan yang digunakan adalah 5 kali)

Berdasarkan perhitungan di atas, ditetapkan jumlah pengulangan sebanyak lima kali untuk setiap perlakuan, sehingga keseluruhan jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 25 sampel.

Populasi penelitian adalah sputum dengan BTA positif dari pasien yang menjalani pemeriksaan sputum di Balai Kesehatan Paru Masyarakat (BKPM) Purwokerto. Sampel dipilih berdasarkan penggunaan kriteria tertentu. Kriteria inklusi adalah sputum sewaktu dengan konsistensi kental dan purulen, sedangkan kriteria eksklusi adalah sputum bercampur darah.

HASIL PENELITIAN

Penelitian dilakukan di laboratorium Balai Kesehatan Paru Masyarakat (BKPM) Purwokerto. Pengambilan sampel dilakukan selama satu minggu, yaitu dari tanggal 13 - 19 Januari 2022. Jumlah sampel yang diambil adalah lima sputum sewaktu dengan pengulangan sebanyak lima kali, sehingga total sampel yang digunakan adalah sebanyak 25 sampel. Sputum ini kemudian diperiksa jumlah BTA segera setelah pengumpulan, setelah dilakukan penyimpanan 24 jam pada suhu 2-8°C, 24 jam pada suhu 25°C, 48 jam pada suhu 2-8°C dan 48 jam pada suhu 25°C. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, didapatkan data-data sebagai berikut:

Tabel 1. Suhu Ruang Penelitian

No	Hari,Tanggal	Suhu 2-8°C	Suhu 25°C
1	Jumat, 14 Januari 2022	4 - 5°C	25°C
2	Sabtu, 15 Januari 2022	4 - 5°C	25°C
3	Rabu, 19 Januari 2022	4 - 5°C	25°C
4	Kamis, 20 Januari 2022	4 - 5°C	25°C
5	Jumat, 21 Januari 2022	4 - 6°C	25°C

Tabel 2. Kondisi Harian Sputum

No	1	2	3	4	5
Kode sputum	A	B	C	D	E
Tanggal & Jam masuk	13 Januari 2022 08.15 WIB	18 Januari 2022 07.30 WIB	18 Januari 2022 09.30 WIB	18 Januari 2022 10.00 WIB	19 Januari 2022 11.00 WIB
0 jam	Volume < 3 ml Dahak Purulen	Volume < 3 ml Dahak Purulen	Volume < 3 ml Dahak Purulen	Volume < 3 ml Dahak+nanah Purulen	Volume < 3 ml Dahak Purulen
24 jam (2-8°C)	Konsistensi purulen	Konsistensi purulen	Konsistensi purulen	Nanah lendir	Konsistensi purulen
24 jam (25°C)	Konsistensi lebih encer	Konsistensi lebih encer	Konsistensi lebih encer	Konsistensi lebih encer	Konsistensi lebih encer
48 jam (2-8°C)	Konsistensi purulen	Konsistensi purulen	Konsistensi purulen	Seperti air	Konsistensi purulen
48 jam (25°C)	Konsistensi lebih encer	Konsistensi lebih encer	Konsistensi lebih encer	Konsistensi lebih encer	Konsistensi lebih encer

Tabel 3. Jumlah BTA

Kode sputum	A	B	C	D	E
Tanggal masuk	13 Januari 2022	18 Januari 2022	18 Januari 2022	18 Januari 2022	19 Januari 2022
Jam masuk	08.15	07.30	09.00	10.00	11.00
0	Gradasi 3+	3+	3+	1+	3+
	Jumlah 2359	3650	1179	10	7790
24 jam (2-8°C)	Gradasi 3+	3+	3+	1+	3+
	Jumlah 2320	2920	1158	10	7750
24 jam (25°C)	Gradasi 3+	3+	3+	Scanty	3+
	Jumlah 2315	2870	1140	9	7440
48 jam (2-8°C)	Gradasi 3+	3+	3+	Scanty	3+
	Jumlah 2300	2840	1108	5	6710
48 jam (25°C)	Gradasi 3+	3+	3+	Scanty	3+
	Jumlah 2250	2796	967	3	5830

Dari tabel di atas, dapat dilihat bahwa dari segi suhu penyimpanan, kondisi atau konsistensi sputum A, B, C, D maupun E yang disimpan pada suhu 25°C cenderung menjadi lebih encer dibandingkan sputum yang disimpan pada suhu 2-8°C. Sementara itu, jumlah BTA semua sputum pada penyimpanan 25°C mengalami penurunan dibandingkan sputum yang disimpan pada suhu 2-8°C.

Sedangkan dari segi lama penyimpanan, terjadi penurunan jumlah BTA baik sputum A, B, C, D maupun E seiring semakin lama penyimpanannya. Namun, jika dilihat dari gradasinya tidak terdapat perubahan gradasi pada sputum A, B, **5** dan E dari yang dikerjakan langsung, disimpan **24 jam pada suhu 2-8°C**, **24 jam pada suhu 25°C**, 48 jam pada

suhu 2-8°C maupun 48 jam pada suhu 25°C. Tetapi terdapat pengecualian pada sputum D dengan lama penyimpanan 24 jam pada suhu 2-8°C ke lama penyimpanan 24 jam pada suhu 25°C karena terjadi penurunan gradasi dari 1+ menjadi scanty. Namun perubahan gradasi ini dapat disebabkan karena gradasi 1+ pada sputum D dengan lama penyimpanan 24 jam pada suhu 2-8°C hanya memiliki jumlah BTA sebanyak 10, dimana angka ini merupakan angka minimal untuk gradasi 1+. Sehingga bila jumlah BTA berkurang bahkan hanya satu, hal ini sudah dapat mengubah hasil gradasinya. Selain dari pada data jumlah bakteri, melalui tabel di bawah ini dapat dilihat jika data-data yang disajikan di atas berdistribusi normal.

Tabel 4. Uji Normalitas

	0	24 jam (2-8°C)	24 jam (25°C)	48 jam (2-8°C)	48 jam (25°C)
Number of values	5	5	5	5	5
Minimum	10.00	10.00	9.000	5.000	3.000
Maximum	7790	7750	7440	6710	5830
Range	7780	7740	7431	6705	5827
Mean	2998	2832	2755	2593	2369
Std. Deviation	3001	2967	2842	2549	2221
Std. Error of Mean	1342	1327	1271	1140	993.4

	0	24 jam (2-8°C)	24 jam (25°C)	48 jam (2-8°C)	48 jam (25°C)
Test for normal distribution					
Shapiro-Wilk test					
W		0.9231	0.8807	0.8882	0.9139
P value		0.5500	0.3125	0.3480	0.4912
Passed normality test (alpha=0.05)?		Yes	Yes	Yes	Yes
P value summary		ns	ns	ns	ns
Number of values		5	5	5	5

Dilihat dari tabel di atas, nilai p yang dimiliki oleh sampel BTA 0 jam yaitu sebesar 0.5500, sampel BTA 24 jam (2-8°C) dengan nilai $p = 0.3125$, sampel BTA 24 jam (25°C) sebesar 0.3480, sampel BTA 48 jam (2-8°C) dengan nilai $p = 0.4912$ dan sampel BTA 48 jam (25°C) dengan $p = 0.6871$. Dari hasil ini dapat disimpulkan bahwa seluruh data berdistribusi normal. Hal ini dikarenakan seluruh nilai p sampel BTA > 0.05 . Dari hasil pengolahan data melalui uji repeated t -test diperoleh nilai p sebesar 0.2101. Nilai $p > 0.05$ maka H_0 diterima dan H_a ditolak, artinya tidak ada pengaruh yang signifikan perbedaan suhu dan lama penyimpanan terhadap jumlah BTA +.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian, semakin lama disimpan jumlah BTA mengalami penurunan. Penurunan ini juga terjadi pada sputum yang disimpan pada suhu 25°C dibandingkan dengan sputum yang disimpan pada suhu 2-8°C. Hal ini dapat dilihat dari tabel yang menunjukkan jumlah BTA pada sputum yang langsung dikerjakan, disimpan 24 jam pada suhu 2-8°C, 24 jam pada suhu 25°C, 48 jam pada suhu 2-8°C maupun 48 jam pada suhu 25°C. Penurunan jumlah BTA ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu nutrisi, proses enzimatik pada sputum dan perubahan konsistensi sputum.

Sama seperti bakteri lainnya, basil tahan asam juga membutuhkan nutrisi untuk dapat bertahan hidup. Pada sputum, BTA hanya dapat menggunakan nutrisi yang ada di dalamnya. Berbeda ketika berada di dalam tubuh, BTA bisa mendapatkan nutrisi yang cukup dari inangnya. Nutrisi dalam sputum ini terbatas jumlahnya, sehingga ketika nutrisi dalam sputum akhirnya habis akibat digunakan secara terus menerus, BTA akan kehilangan sumber energinya dan mati. Hal ini sesuai dengan teorema kurva pertumbuhan yang menyatakan bahwa sebagian besar populasi bakteri akan mulai mengalami kematian karena nutrisi di dalam medium sudah habis, adanya zat racun dan habisnya energi cadangan di dalam sel (Wuryanti, 2012).

Faktor kedua yang menyebabkan adanya penurunan jumlah BTA adalah proses enzimatik yang terjadi dalam sputum. Sel leukosit dalam sputum mengandung enzim-enzim seperti *neutrophil elastase* dan *alpha-naphthyl acetate esterase* yang masih dapat bekerja sampai 72 jam meski aktivitasnya akan terus menurun. Neutrofil elastase disekresikan oleh neutrofil selama peradangan, dan menghancurkan bakteri dan

jaringan inang (Belaaouaj et al., 2000). Sementara itu, *alpha-naphthyl acetate esterase* adalah esterase non spesifik yang digunakan sebagai penanda adanya sel limfosit T matang dalam jumlah banyak (Bayraktaroglu et al., 2015). Kondisi lingkungan seperti pH dan suhu memegang peranan penting pada aktivitas enzim ini. Aktivitas enzim-enzim inilah yang akan mengakibatkan terjadinya lisis pada bakteri maupun pada sel leukosit itu sendiri (Zanchet et al., 2007). Proses enzimatik ini menyebabkan rusaknya struktur dinding BTA sehingga menghilangkan sifat tahan asam yang dimiliki BTA. Basil tahan asam yang seharusnya menyerap warna merah dari karbol fuchsin tidak dapat lagi mempertahankan warnanya saat disiram dengan alkohol asam dan ikut terwarnai oleh metilen blue sehingga berwarna biru. Akibatnya sel tidak terbaca sebagai BTA. Proses enzimatik ini juga dapat melisis sel BTA. Sel BTA yang lisis/hancur sudah tidak dapat lagi terwarnai sehingga berpengaruh pada penurunan jumlah BTA.

Besarnya aktivitas enzim ini dipengaruhi oleh suhu penyimpanan. Enzim-enzim leukosit optimal bekerja pada suhu tubuh ($\pm 37^\circ\text{C}$). Suhu penyimpanan pada penelitian ini adalah 2-8°C dan 25°C. Suhu yang jauh di bawah suhu optimal enzim leukosit ini menyebabkan aktivitas enzim dalam sputum tidak seaktif ketika dalam tubuh sehingga meski ada penurunan jumlah BTA, penurunan ini tidak signifikan.

Penyebab lain yang mengakibatkan penurunan jumlah BTA adalah karena adanya perubahan konsistensi sputum yang menjadi lebih encer. Penyebab encernya sputum dapat disebabkan karena suhu hangat yang menyebabkan pecahnya granula-granula pada senyawa sputum sehingga cairan akan keluar dari granula dan sputum tampak lebih encer (Budiharjo & Purjanto, 2016). Perubahan konsistensi ini menyebabkan sulitnya pembuatan preparat. Konsistensi sputum yang cair menyebabkan sputum sulit melekat pada lidi sehingga banyak sel BTA yang tidak ikut terbawa. Selain sulit melekat pada lidi, apusan sputum juga akan lebih sulit melekat pada kaca objek sehingga menyebabkan preparat menjadi sulit untuk diwarnai dan dibaca. Akibatnya jumlah sel BTA yang dihitung menjadi lebih sedikit dari yang seharusnya.

Berdasarkan data jumlah BTA hasil pemeriksaan, ada penurunan jumlah BTA dari sputum dengan suhu penyimpanan 2-8°C ke suhu 25°C baik pada lama penyimpanan 24 jam maupun 48 jam. Selain itu terjadi pula penurunan jumlah BTA dari sputum yang dikerjakan langsung, ke sputum yang disimpan 24 jam lalu ke sputum dengan penyimpanan 48 jam. Namun, apabila dilihat dari gradasinya, tidak terjadi perubahan

gradasi pada sputum A baik yang langsung dikerjakan, disimpan 24 jam pada suhu 2-8°C, 24 jam suhu 25°C, 48 jam pada suhu 2-8°C maupun 48 jam pada suhu 25°C. Hasil ini juga didapatkan pada sputum B, C dan E. Tetapi pada sputum D, memang terjadi perubahan gradasi dari 1+ menjadi scanty, namun perubahan gradasi ini dapat disebabkan karena gradasi 1+ sputum D dengan lama penyimpanan 24 jam pada suhu 2-8°C hanya memiliki jumlah BTA sebanyak 10, dimana angka ini merupakan angka minimal untuk gradasi 1+. Sehingga saat terjadi penurunan jumlah BTA sebanyak satu BTA pada sputum dengan lama penyimpanan 24 jam pada suhu 25°C hal ini sudah dapat mengubah hasil gradasinya.

Oleh karena itu secara umum, berdasarkan analisis uji repeated Anova diperoleh hasil tidak ada pengaruh yang signifikan perbedaan suhu dan lama penyimpanan terhadap jumlah BTA +. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Alfiani, dkk pada tahun 2020. Hasil tersebut menunjukkan tidak ada pengaruh lamanya penyimpanan dahak pagi terhadap jumlah BTA dari sembilan sampel dengan masing-masing sampel dilakukan tiga perlakuan yaitu diperiksa segera, ditunda selama 3 jam dan 6 jam.

SIMPULAN

Tidak ada pengaruh perbedaan suhu dan lama penyimpanan terhadap jumlah BTA +.

SARAN

1. Bagi tenaga laboratorium
Penyimpanan sputum pada suhu tinggi akan mempercepat perubahan konsistensi sputum, sehingga sputum sebaiknya disimpan pada refrigerator untuk menjaga konsistensinya.
2. Bagi peneliti selanjutnya
Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan variabel lain seperti kualitas sampel dan kondisi lingkungan (pH).

UCAPAN TERIMAKASIH

12. Ucapkan terima kasih penulis ucapkan kepada :
1. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional yang telah membantu selama proses penelitian.
 2. Seluruh Bapak dan Ibu dosen Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional yang telah membimbing selama proses penelitian.

The Effect of Temperature Differences and Storage Time on The Amount of Acid-Fast Bacilli + - Dwi Handayani

ORIGINALITY REPORT

15%

SIMILARITY INDEX

15%

INTERNET SOURCES

4%

PUBLICATIONS

7%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	123dok.com Internet Source	2%
2	pt.slideshare.net Internet Source	2%
3	repository.untar.ac.id Internet Source	1%
4	Submitted to Universitas Muhammadiyah Kalimantan Timur Student Paper	1%
5	kebidananfull.blogspot.com Internet Source	1%
6	Submitted to Badan PPSDM Kesehatan Kementerian Kesehatan Student Paper	1%
7	Submitted to Universitas Islam Indonesia Student Paper	1%
8	docplayer.info Internet Source	1%

9	repository.ub.ac.id Internet Source	1 %
10	text-id.123dok.com Internet Source	1 %
11	ejr.stikesmuhkudus.ac.id Internet Source	1 %
12	media.neliti.com Internet Source	1 %
13	www.coursehero.com Internet Source	1 %
14	doku.pub Internet Source	1 %
15	Submitted to Oldham Sixth Form College Student Paper	1 %
16	journal.trunojoyo.ac.id Internet Source	1 %
17	thesis.binus.ac.id Internet Source	1 %

Exclude quotes On

Exclude matches < 1%

Exclude bibliography On