

Uji Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya Jepang (*Cnidoscolus aconitifolius*) Terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti*

by Syahrul Ardiansyah

Submission date: 12-Aug-2023 09:11AM (UTC+0700)

Submission ID: 2144655802

File name: lus_aconitifolius_Terhadap_Mortalitas_Larva_Aedes_Aegypti_2.doc (144K)

Word count: 2651

Character count: 16937

Test The Effectiveness Of Japanese Papaya Leaf Extract (*Cnidoscolus aconitifolius*) On *Aedes aegypti* Larvae Mortality

Uji Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya Jepang (*Cnidoscolus aconitifolius*) Terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti*

ABSTRACT

Dengue hemorrhagic fever (DHF) is caused by the dengue virus which is transmitted through the bite of the *Aedes aegypti* mosquito. Prevention of DHF can be done by using larvicides. Synthetic chemical larvicides are considered to have side effects in long-term use and can cause environmental pollution. So we need an alternative larvicides with natural ingredients from plants, namely Japanese Papaya plants. This study aims to determine the effectiveness of Japanese Papaya (*Cnidoscolus aconitifolius*) leaf extract on the mortality of *Aedes aegypti* larvae. This type of research uses an experimental study design. This study used 6 treatments with 4 repetitions consisting of control without treatment, P1 (0.2%), P2 (0.4%), P3 (0.6%), P4 (0.8%), and P5 (1%). Observations were made for 48 hours. From the research results obtained LC50 of 1.095%. The results of statistical tests using One-Way ANOVA showed that there was a significant effect on the mortality of mosquito larvae.

Keywords: *Aedes aegypti*, Dengue Fever, Japanese Papaya (*Cnidoscolus aconitifolius*), Larvicides

ABSTRAK

Demam berdarah dengue (DBD) disebabkan oleh virus dengue yang ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti*. Pencegahan penyakit DBD dapat dilakukan dengan penggunaan larvasida. Larvasida kimia sintetik dinilai memiliki efek samping dalam penggunaan jangka panjang serta dapat menimbulkan pencemaran lingkungan. Maka diperlukan suatu alternatif larvasida dengan bahan alami dari tumbuhan yaitu tumbuhan Pepaya Jepang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun Pepaya Jepang (*Cnidoscolus aconitifolius*) terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti*. Jenis penelitian menggunakan rancangan studi eksperimental. Penelitian ini menggunakan 6 perlakuan 4 pengulangan yang terdiri dari kontrol tanpa perlakuan, P1 (0,2%), P2 (0,4%), P3 (0,6%), P4 (0,8%), dan P5 (1%). Pengamatan dilakukan selama 48 jam. Dari hasil penelitian diperoleh LC50 sebesar 1,095%. Hasil uji statistik menggunakan ANOVA *One-Way* menunjukkan terdapat pengaruh yang signifikan terhadap kematian larva nyamuk.

Kata Kunci: *Aedes aegypti*, Demam berdarah, Larvasida, Pepaya Jepang (*Cnidoscolus aconitifolius*)

PENDAHULUAN

Nyamuk mengganggu dengan cara menggigit manusia dan hewan bertindak sebagai mediator penyakit manusia. Penyebabnya terletak pada berbagai jenis parasit dan virus. Demam berdarah dengue (DBD) adalah penyakit yang disebabkan oleh genus *Flavivirus* dan famili *Flaviviridae*. Demam berdarah dengue ditularkan ke manusia melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* yang terinfeksi virus dengue. Tempat penampungan nyamuk *Aedes sp* berisi air normal atau sedikit tercemar seperti bak mandi, bak air, ember, vas bunga, kaleng bekas, kantong plastik bekas, ban bekas, batok kelapa, batang tanaman, dan lain-lain [Sutanto et al. \(2017\)](#).

Penyakit Demam berdarah yaitu penyakit yang menyebar sangat cepat. Demam berdarah di Indonesia jumlah kasusnya berfluktuasi setiap tahunnya, dan itu cenderung mengalami perluasan dan peningkatan distribusi daerah yang terkena dampaknya. Wabah DBD hampir terjadi disetiap tahunnya pada tempat yang berbeda. DBD diperkirakan akan berlanjut dan terus meningkat, dan penyebarannya akan semakin meluas ([Kementerian Kesehatan RI \(2017\)](#)).

Kasus DBD yang dilaporkan pada tahun 2020 tercatat sebanyak 108.303 kasus. Jumlah kabupaten kota terjangkit DBD pada tahun 2020 sebanyak 477 atau sebesar 92,8% dari seluruh kabupaten/kota yang ada di Indonesia. Jumlah kabupaten/kota terjangkit DBD menunjukkan kecenderungan peningkatan sejak tahun 2010 sampai dengan 2019 [Kemenkes RI \(2020\)](#).

Kasus pertama kali penyakit demam berdarah dengue (DBD) ditemukan pada tahun 1968 di wilayah Surabaya (Jawa Timur), yang selanjutnya Penyakit tersebut tersebar luas ke berbagai daerah. Telah diketahui bahwa seluruh provinsi yang ada di Indonesia telah tertular penyakit DBD, kecuali Timor-timur. Jumlah pengembangan kasus dan wilayah yang tertular disebabkan karena minimnya pengetahuan masyarakat terhadap pembersihan sarang nyamuk, banyaknya sarana prasarana transportasi penduduk, adanya pemukiman yang baru, terdapat banyaknya nyamuk yang tersebar di seluruh pelosok tanah air, serta terdapat empat sel tipe virus yang berfluktuasi disepanjang tahun [Kementerian Kesehatan RI \(2018\)](#).

Menurut penelitian [Rahmawati \(2018\)](#), menyatakan bahwa terdapat hubungan erat antara keberadaan tempat perkembangbiakan nyamuk di luar ruangan, membiasakan diri untuk melakukan 3M (mengubur, menutup, dan menguras penampungan air). Analisis pengukuran frekuensi epidemiologi sebagai Dasar pengendalian penyakit demam berdarah perlu dilakukan, karena penanganan DBD kaitannya sangat erat dengan pemberantasan vektornya. Pemberantasan vektor demam berdarah tersebut sudah dilakukan oleh pemerintah dengan program PSN (Pemberantasan Sarang Nyamuk). Program indikator yang dilakukan meliputi *Incidence Rate (IR) & Case Fatality Rate (CFR)* (Kemenkes, 2017).

Upaya penanggulangan penyakit demam berdarah bisa dilakukan dengan cara memutus rantai segitiga epidemiologi (*Triangle of Epidemiology*), yakni melewati pengendalian

vektor. Pengendalian vektor *Aedes aegypti* bisa dilakukan dengan memanfaatkan insektisida [Nisa et al. \(2012\)](#). Ada dua macam insektisida, yakni insektisida nabati serta insektisida sintesis [Prakoso et al. \(2016\)](#).

Menurut World Health Organization (WHO) Selain itu, penggunaan insektisida sintetik secara terus menerus, berlebihan serta dalam waktu yang lama dapat menimbulkan kerugian. Nyamuk menjadi resisten, terjadi keracunan terhadap manusia, hewan ternak, dan polusi lingkungan. Dengan demikian dapat dilakukan suatu upaya lain yang lebih efektif dapat dilakukan untuk mengendalikan populasi serangga. Salah satu upaya yang dilakukan untuk pengendalian vektor adalah penggunaan pestisida alami yang dapat membatasi terjadinya pencemaran [Harfriani \(2012\)](#).

Fakta penting ekstrak tanaman yaitu lebih efektif dibandingkan insektisida sintesis. Karena ekstrak tanaman mengandung metabolit sekunder dan perannya sangat besar dalam membasmi nyamuk [Logaswamy dan Remia \(2010\)](#). Insektisida hayati yaitu tumbuhan yang teruji keandalannya untuk membrantas vektor larva maupun nyamuk dewasa. Selanjutnya jenis insektisida tersebut bersifat gampang terurai di alam, akibatnya tidak mencemari lingkungan yang ada di sekitar. Daya bunuh insektisida hayati bermula dari zat toksik yang dikandungnya. Zat toksik bisa bersifat racun pernafasan, racun kontak dan racun perut hewan berbadan lunak [Utomo et al. \(2020\)](#). Selain itu tanaman yang bisa digunakan sebagai insektisida alami ialah tanaman Pepaya Jepang.

Tanaman Pepaya Jepang berasal dari Meksiko, Yucatan, Amerika Tengah. Pertama ditemukannya daun tersebut di area hutan terbuka oleh I.M. Johnt. Tanaman tersebut di daerahnya disebut Chaya, populasi sekitar menggunakan daun tersebut sebagai obat-obatan serta sayuran. *Cnidoscopus aconitifolius* memiliki daun melengkung palmate dan memiliki bunga yang berwarna putih (Jiménez-Arellanes et al., 2014). Memiliki panjang daun 32 cm dan lebar 30 cm, memiliki petiole [Awoyinka et al. \(2007\)](#).

Pepaya Jepang (*Cnidoscopus aconitifolius*) merupakan salah satu jenis tanaman yang dibudidayakan sebagai sayuran, di samping itu memiliki manfaat untuk kesehatan. Tanaman Pepaya Jepang memiliki berbagai aktivitas farmakologi sebagai sumber antioksidan, antidiabetes, antimutagenik, hipoglikemik, antiinflamasi, antiprotozoal dan antibakteri [Hernandez et al. \(2017\)](#).

METODE

Bahan daun Pepaya Jepang yang didapat dari kebun dekat rumah sendiri, Desa Tembokrejo, Kecamatan Purworejo, Kota Pasuruan. Larutan uji ekstrak daun Pepaya Jepang menggunakan konsentrasi 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8%, 1%, aquades, serta larva *Aedes aegypti* yang didapatkan dari Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur. Alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini meliputi: wadah plastik, batang pengaduk, gunting, gelas ukur, pisau, pipet, beaker glass, blender, stopwatch, ekstraktor (maseyasi), neraca analitik, oven, gelas ukur, destilasi, kertas label, kotak

perlakuan, termometer, kotak kontrol, botol semprot, rotary evaporator. Penelitian dilakukan secara kuantitatif, menggunakan metode eksperimen (eksperimental). Penelitian terdapat 6 kelompok perlakuan dan 4 kali pengulangan yang terdiri dari kontrol tanpa perlakuan, P1 (0,2%), P2 (0,4%), P3 (0,6%), P4 (0,8%), dan P5 (1%).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan selama 48 jam untuk memastikan apakah ekstrak daun Pepaya Jepang memiliki efek toksik sebagai insektisida nabati terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti*. Penelitian ini membutuhkan tahapan-tahapan, diantaranya persiapan bahan untuk membuat ekstrak daun Pepaya Jepang, persiapan evaporasi, persiapan tahap-tahap pengujian hewan uji dan persiapan hewan uji yaitu larva *Aedes aegypti*.

Menurut [Harnandez \(2017\)](#) daun Pepaya Jepang memiliki senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, alkaloid, phlorotannin, tanin, oksalat, glikosida sianogenik, dan steroid antrakuinon. Senyawa-senyawa alkaloid meracuni serangga melalui sistem pencernaan, sirkulasi, dan saraf. Adapun glikosida sianogenik jika berada dalam bentuk senyawa tiosianat akan menimbulkan gangguan pada proses respirasi serangga hama [Rustam dan Fitri \(2022\)](#). Proses ekstraksi daun Pepaya Jepang dilakukan dengan mencampurkan daun menggunakan pelarut etanol 96%. Pemilihan pelarut etanol 96% karena etanol 96% bersifat semi polar sehingga bisa melarutkan senyawa-senyawa polar ataupun non polar. Tanaman Pepaya Jepang mengandung banyak metabolit sekunder yang saling bersinergis. Kandungan pada tanaman Pepaya Jepang memiliki aktivitas farmakologis seperti antijamur, antibakteri, antidiabetes, antioksidan, antiinflamasi, hiperkolesterolemia, serta perbaikan pada kerusakan hati dan asam urat [Sari et al. \(2022\)](#).

Pada proses tahap pengujian langkah pertama yaitu menggunakan larva nyamuk instar III. Selanjutnya menyiapkan wadah larva, selanjutnya mengisi wadah untuk P (1) kontrol menggunakan aquades sebanyak 4 kali pengulangan, P(2) menggunakan ekstrak daun Pepaya Jepang dengan konsentrasi 0,2% sebanyak 4 kali pengulangan, P(3) menggunakan ekstrak daun Pepaya Jepang dengan konsentrasi 0,4% sebanyak 4 kali pengulangan, P(4) menggunakan ekstrak daun Pepaya Jepang dengan konsentrasi 0,6% sebanyak 4 kali pengulangan, P(5) menggunakan ekstrak daun Pepaya Jepang dengan konsentrasi 0,8% sebanyak 4 kali pengulangan, P(6) menggunakan ekstrak daun Pepaya Jepang dengan konsentrasi 1% sebanyak 4 kali pengulangan.

Pada tahap uji yang kedua yaitu melakukan proses pembuatan ekstrak daun Pepaya Jepang, pertama-tama melakukan penimbangan daun Pepaya Jepang basah seberat 7.5 Kg. Daun yang diambil yaitu daun yang masih hijau, segar, dan tidak rusak. Daun Pepaya Jepang di potong kecil-

kecil kemudian dijemur secara tidak langsung dibawah sinar matahari dan diangin-anginkan kurang lebih selama 2 minggu. Kemudian didapatkan daun kering yang ditimbang lagi seberat 3,5 Kg. Setelah daun kering kemudian dihaluskan dan didapatkan seberat 1,5 Kg, selanjutnya melakukan proses tahapan ekstraksi maserasi yang dilakukan 3x24 jam, dalam setiap 1 jam sekali selama 3x24 jam dilakukan pengadukan secara merata dan diulangi selama 3x24 jam.

Ekstraksi ialah proses pemisahan zat aktif dari bahan dengan menggunakan pelarut yang sesuai untuk mendapatkan ekstrak yang diinginkan. Maserasi adalah metode ekstraksi sederhana yang menggunakan pelarut dengan pengadukan berulang dan pengocokan pada suhu kamar. Melakukan tahap maserasi untuk mendapatkan bahan yang dibutuhkan [Pratiwi et al. \(2010\)](#).

Setelah proses tahap maserasi dilakukan, dilakukan filtrasi agar filtrat dan ampas dapat terpisah. Selanjutnya filtrat diuapkan supaya dapat menghilangkan sisa etanol dan mendapatkan ekstrak pekat. Ekstrak pekat seberat 50,1975 gram dibuat dari 1500 gram bubuk daun Pepaya Jepang yang dihitung menggunakan Nilai % rendaman. Kemudian menghitung ekstrak pekat seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1.

TABEL 1. Hasil berat sampel daun pepaya jepang (*Cnidioscolus aconitifolius*).

Parameter	Berat Sampel (gram)
Berat basah	7500
Berat kering	3500
Berat serbuk	1500

Penelitian ini menggunakan jenis rancangan post test only control grup design, dengan melibatkan enam kelompok perlakuan, termasuk kelompok kontrol awal (Aquadest) dan lima konsentrasi yaitu 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8%, dan 1% yang mengandung ekstrak daun Pepaya Jepang. Sampel hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III, total wadah yang dibutuhkan dalam penelitian ini yaitu 24 wadah, yang masing-masing berisi larva sebanyak 20 larva dan dilakukan sebanyak 4 kali pengulangan.

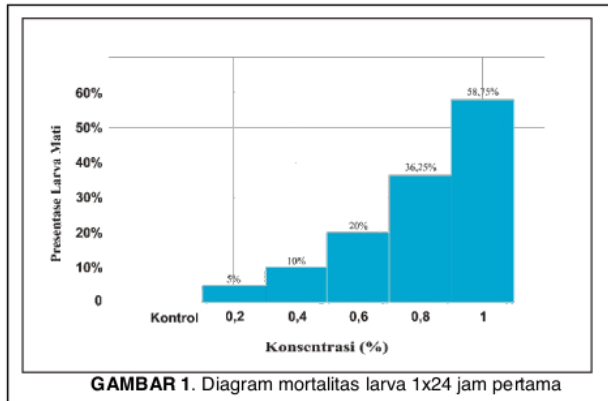
Penggunaan larva *Aedes aegypti* instar III dikarenakan larva instar III mempunyai ukuran yang besar sehingga dapat mempermudah untuk melakukan pengamatan, larva instar III merupakan bentuk aktif dalam mencari makan, mempunyai organ yang utuh, mempunyai waktu yang lama untuk berubah menjadi nyamuk dewasa, serta larva nyamuk instar III mempunyai ketahanan lebih terhadap lingkungan daripada instar I dan instar II [Lamin et al. \(2019\)](#). Larva nyamuk yang dihitung ialah larva yang mati (tidak bergerak).

Proses yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu mendiamkan, lalu mengamati serta menghitung larva yang mati selama 48 jam. Periksa larva yang mati atau tidak bergerak selama 1 jam dalam 24 jam pertama sebagai hasil dari pemeriksaan, hasil yang ditunjukkan pada Tabel 2 di

bawah ini.

TABEL 2. Pengumpulan lama paparan selama 48 jam

No	Perlakuan	Kematian 1x24 jam	Kematian 2x24 jam
1	Kontrol negatif	0 ekor larva	0 ekor larva
2	Konsentrasi 0,2%	4 ekor larva	0 ekor larva
3	Konsentrasi 0,4%	8 ekor larva	0 ekor larva
4	Konsentrasi 0,6%	16 ekor larva	0 ekor larva
5	Konsentrasi 0,8%	29 ekor larva	0 ekor larva
6	Konsentrasi 1%	47 ekor larva	0 ekor larva



Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tabel mortalitas jentik *Aedes aegypti* 2x24 jam dari ekstrak daun Pepaya Jepang pada Gambar 1 menunjukkan bahwa mortalitas jentik *Aedes aegypti* berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi perlakuan. Semakin meningkat konsentrasi ekstrak yang diberikan, maka semakin banyak larva yang mati. Oleh karena itu, hasil ini disebabkan oleh perubahan hasil persentase, dengan konsentrasi yang lebih tinggi maka menghasilkan tingkat senyawa bioaktif yang lebih tinggi di daun Hairani et al. (2014).

Dari hasil kematian larva dapat disimpulkan bahwa nilai lethal konsentrasi 50 (LC_{50}) menentukan konsentrasi yang berpeluang menyebabkan kematian. Hal ini dapat dilakukan karena untuk mengetahui penggunaan konsentrasi yang tepat. Selain itu, hasil analisis uji probit LC_{50} ditunjukkan pada Tabel 3.

TABEL 3. Hasil analisis uji probit LC_{50}

	Konsentrasi	Konsentrasi Maximum (%)	Konsentrasi Minimum (%)
LC_{50}	1,095	1,389	0,977

Nilai LC_{50} (*Lethal Concentration*) ialah jumlah konsentrasi atau dosis hasil uji ekstrak yang bisa menyebabkan kematian populasi larva sejumlah 50% setelah masa uji yang sudah dilakukan selama 48 jam. Hasil penelitian probit pada penelitian ini didapatkan 1,095 yang diartikan dengan larva akan mati sebesar 50% jika pada konsentrasi 1,095%. Serta telah diperoleh hasil penelitian dengan konsentrasi terbaik ekstrak daun Pepaya Jepang adalah pada konsentrasi 1%, dimana pada konsentrasi 1%

bisa mematikan 7 ekor larva pada jam ke-6 dalam 24 jam pertama, dengan nilai mencapai 58,75%.

Estimasi LC_{50} dengan menggunakan analisis probit pada ekstrak daun Pepaya Jepang dengan interval yaitu 1,095%, untuk hasil probit minimum yaitu 0,977% dan untuk hasil probit maximum yaitu 1,389%. Dapat diketahui pada penelitian ini penggunaan ekstrak daun Pepaya Jepang yang efektif mampu membunuh larva nyamuk dengan LC_{50} adalah 1%. Karena dapat menunjukkan daya bunuh yang tinggi dengan sejumlah bahan baku yang kecil Nurhaifah & Sukesi (2015).

Pada hasil penelitian yang saya lakukan pertama melakukan uji statistika ialah uji normalitas *Shapiro-Wilk* dimana data yang dianalisis hanya menggunakan 24 sampel data. Uji *Shapiro-wilk* digunakan pada pada kumpulan data dengan kelompok kecil, ialah ($P < 50$) sampel data Suardi (2019).

Uji data *Shapiro-wilk* menunjukkan nilai signifikan untuk semua perlakuan ($P > 0,05$). Artinya hasil perlakuan dengan ekstrak daun Pepaya Jepang berpengaruh terhadap kematian nyamuk *Aedes aegypti*, sehingga nilainya berdistribusi normal. Hasil yang sangat berbeda, tidak ada perbedaan yang signifikan, bahkan dengan jumlah kematian jentik nyamuk yang sama, lebih banyak jentik yang mati dengan ekstrak daun Pepaya Jepang pada konsentrasi spesifik yang lebih tinggi. Tidak terdapat perbedaan hasil mortalitas yang tidak jauh berbeda antara kelompok kontrol dan kelompok ekstrak daun Pepaya Jepang dengan konsentrasi yang berbeda.

Karena uji normalitas memberikan hasil yang berdistribusi normal, uji *One Way ANOVA* dapat digunakan untuk memenuhi persyaratan pengujian lebih lanjut dengan uji parametrik. Menggunakan uji *One Way ANOVA* untuk mengetahui apakah uji ekstrak daun Pepaya Jepang (*Cnidioscolus aconitifolius*) terhadap jentik nyamuk *Aedes aegypti* memiliki daya bunuh. Hasil pengujian dari ekstrak daun Pepaya Jepang memiliki daya insektisida dengan nilai signifikan 0,00 ($P < 0,05$). Yang dapat disimpulkan bahwa H_0 ditolak dan H_a diterima. Artinya ada pengaruh terhadap jumlah kematian larva *Aedes aegypti*.

Jika hasil uji H_0 ditolak, maka terdapat perbedaan dan dapat dilakukan pengujian lebih lanjut dengan Post-Hoc Test metode LSD Duncan untuk menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,2% tidak ada perbedaan dengan konsentrasi 0,4%, kemungkinan rata-rata kematian larva tidak berbeda nyata. Sedangkan pada konsentrasi 0,2% terdapat perbedaan dengan konsentrasi 0,6%, 0,8%, dan 1%. Yang artinya rata-rata jumlah kematian larva yang ditandai dengan simbol (*).

Hal ini dapat ditunjukkan bahwa menggunakan ekstrak daun Pepaya Jepang (*Cnidioscolus aconitifolius*) dapat membunuh sejumlah larva. Didalam ekstrak daun Pepaya Jepang terdapat kandungan senyawa aktif yang cepat merangsang senyawa flavonoid, senyawa alkaloid, dan senyawa saponin.

Senyawa flavonoid berperan melewati kutikula yang menyelimuti badan larva sampai-sampai terjadi kerusakan membran sel pada larva dan bekerja menjadi inhibitor kuat yaitu racun pernapasan. Alkaloid mengganggu proses kerja pada saraf larva dengan memperlambat enzim

asetilkolinesterase, maka dari itu dapat terjadi penumpukkan asetilkolin [Cania & Setyaningrum \(2013\)](#). Kerja saponin dapat memproses dengan cara merangsang selaput lendir pada saluran pencernaan dan memiliki rasa pahit yang mengurangi nafsu makan larva dan efek selanjutnya adalah kematian larva. Kedua, aksi saponin dapat merusak lapisan lilin yang mengelilingi bagian luar tubuh serangga yang mengakibatkan hilangnya banyak cairan dan menyebabkan kematian larva. Oleh karena itu, konsentrasi yang digunakan semakin tinggi, maka semakin banyak saponin dan flavonoid yang diserap oleh larva, yang bisa mengakibatkan kematian larva.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis data penelitian ini dengan pembahasan yang telah dijelaskan di atas dapat disimpulkan bahwa hasil penelitian menyatakan bahwa ekstrak daun Pepaya Jepang (*Cnidioscolus aconitifolius*) efektif terhadap kematian larva *Aedes aegypti*. Dengan menggunakan LC_{50} terhadap kematian larva *Aedes aegypti* telah didapatkan hasil selama 48 jam sebesar 1,095 yang artinya konsentrasi terbaik mortalitas larva terdapat pada 1% dengan jumlah kematian 58,75%.

Uji Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya Jepang (Cnidoscolus aconitifolius) Terhadap Mortalitas Larva Aedes aegypti

ORIGINALITY REPORT

0%

SIMILARITY INDEX

0%

INTERNET SOURCES

0%

PUBLICATIONS

0%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

Exclude quotes On

Exclude matches < 5%

Exclude bibliography On