



Pemanfaatan Belimbing Wuluh Sebagai Alternatif Larutan Deparafinisasi Mikro Pada Jaringan *Mammae*

Fransiska Ayuningtyas Widyastani*
Politeknik Katolik Mangunwijaya

Nadilla Apriliyani Widyaningtyas
Politeknik Katolik Mangunwijaya

Adjeg Tarius
Politeknik Katolik Mangunwijaya

Alamat: Jl Sriwijaya No 104 Semarang
*Korespondensi penulis: yas.siska@gmail.com

Abstract. The deparaffinization stage in HE staining usually using xylol, but xylol has a toxic, volatile and flammable effect. An alternative solvent that can be used as a substitute for xylol is *Averrhoa bilimbi* solution which contains citric acid and has characterized that are easy to obtain, derived from nature and safe to use. This study aims to determine whether there are differences in the microscopic image (shape, color and cell background) of mammary tissue micro-deparaffinized with xylol and *Averrhoa bilimbi* solution. This type of research is an experimental study using mammary tissue samples with saturated samples using 2 variations of micro deparaffinization treatment, namely deparaffinization with *Averrhoa bilimbi* solution and deparaffinization using xylol. The results obtained were carried out by descriptive test, then the normality test using two pairs of data with the results on the shape, color and background are not normal, namely 0.000. The Wilcoxon test was carried out further with the results of cell shape, cell color and background $p < 0.05$, which indicated that the shape, color and background of the two treatments had significant difference.

Keywords: Deparaffinization, *Averrhoa Bilimbi* Solution, Microscopic Image, Mammary Tissue, Xylol.

Abstrak. Tahap deparafinisasi dalam pewarnaan HE biasanya menggunakan *xylol*, tetapi *xylol* memiliki efek toksik, mudah menguap dan terbakar. Alternatif pelarut yang dapat digunakan sebagai pengganti *xylol* adalah larutan belimbing wuluh yang memiliki kandungan asam sitrat serta berkarakteristik mudah didapat, berasal dari alam, dan aman digunakan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan gambaran mikroskopis (bentuk, warna dan latar belakang sel) jaringan *mammae* yang dideparafinisasi mikro dengan *xylol* dan larutan belimbing wuluh. Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental menggunakan sampel jaringan *mammae* dengan pengambilan sampel jenuh menggunakan 2 variasi perlakuan yaitu dideparafinisasi mikro dengan larutan belimbing wuluh dan dideparafinisasi mikro menggunakan *xylol*. Hasil yang diperoleh dilakukan uji deskriptif, kemudian diuji normalitas dengan menggunakan dua data berpasangan dengan hasil pada bentuk, warna dan latar belakang tidak normal yaitu 0,000. Uji *Wilcoxon* dilakukan selanjutnya dengan hasil bentuk sel, warna sel dan latar belakang $p < 0,05$ yang menunjukkan bahwa pada bentuk, warna dan latar belakang kedua perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna.

Kata kunci: Deparafinisasi, Gambaran Mikroskopis, Jaringan *Mammae*, Larutan Belimbing Wuluh, *Xylol*

LATAR BELAKANG

Deparafinisasi merupakan tahap dalam proses pewarnaan (*Staining*) Dimana tujuan dari deparafinisasi ini adalah untuk membersihkan parafin dari jaringan dan kaca objek. Larutan yang lazim digunakan dalam proses deparafinisasi adalah *xylol*. *Xylol* sendiri merupakan pelarut non-polar yang mudah menguap dan mudah terbakar. Polaritas dari *xylol* ini yang digunakan untuk melarutkan parafin pada tahap deparafinisasi (Harijati *et al.*, 2017).

Larutan *xylol* memiliki sifat toksik dan berbahaya bagi tubuh, paparan *xylol* dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan xylene mempengaruhi sistem saraf pusat dan dapat menyebabkan kehilangan memori, ketidaksadaran, dan koma pengerutan jaringan, kerusakan jantung dan ginjal, hepatotoksisitas, hingga efek karsinogenik (Ankle & Joshi, 2011; Pandey *et al.*, 2014) selain sifat toksiknya, *xylol* memiliki harga yang relatif mahal sehingga perlu dicari alternatif pelarut lain yang lebih aman dan murah.

Beberapa penelitian alternatif *xylol* telah dilakukan antara lain penggunaan jeruk lemon 95% sebagai alternatif agen deparafinisasi menggantikan *xylol* pada pengecatan HE (Ananthaneni *et al.*, 2014 dan Aparna *et al.*, 2018); Penggunaan perasan air jeruk nipis 1%, 2% dan 3% menunjukkan bahwa perasan jeruk nipis 3% menghasilkan pengecatan HE yang paling baik sebagai alternatif agen deparafinisasi menggantikan *xylol* karena mengandung senyawa organik asam sitrat (Aenun, 2018).

Berdasarkan penelitian yang telah ada maka dipilih belimbing wuluh sebagai bahan yang akan diteliti Dimana belimbing wuluh sendiri memiliki kandungan asam sitrat sebesar 92,6-133,8 mEq/100 g total padatan (Subhadrabandhu, 2001 *cit* Ramdhani, 2017). Asam sitrat sendiri bersifat dapat melarutkan lemak, relatif lebih murah, berasal dari bahan alam sehingga mudah diperoleh dan relatif lebih aman digunakan. Dengan demikian perlu dibuktikan apakah Belimbing wuluh dapat digunakan sebagai alternatif pelarut pada proses deparafinisasi.

KAJIAN TEORITIS

Pengembangan teknik histopatologis untuk mendapatkan diagnosis yang tepat bergerak dengan cepat, akan tetapi sampai saat ini penggunaan pewarna Haematoksilin Eosin masih menjadi *gold standart*. Dalam tahap pewarnaan terdapat proses deparafinisasi dimana digunakan *xylol* sebagai larutan pilihan sampai saat ini. Penggunaan *xylol* ini dapat memberikan

efek toksik apabila terpapar dalam jangka waktu yang lama selain itu juga menyebabkan polusi bagi lingkungan (Prema *et al.*, 2020).

Xylol merupakan bahan kimia yang memiliki rumus atom $C_6H_4(CH_3)_2$. Xylol memiliki berat molekul 106,17 gram/mol dengan komposisi karbon (C) sebesar 90,5% dan hidrogen (H) 9,5%. Xylol memiliki kelebihan antara lain : dapat diperoleh dengan mudah karena banyak dijual ditoko bahan kimia, kekurangan xylol antara lain : harga lebih mahal dari pada toluol, sifatnya mudah terbakar dan tidak stabil (Kunhua *et al.*, 2012 cit Lael *et al.*, 2018). Titik didih xylol jauh lebih rendah 137-143°C dengan titik nyala 25°C dan titik lebur 25°C (Pandey *et al.*, 2014).

Menurut Kandyala *et al.*, 2010 cit Rai *et al.*, 2016 xylol merupakan cairan yang mudah terbakar dan tidak berwarna dengan karakter minyak bumi dan bau aromatik, dan digunakan pelarut organik. Paparan xylol dapat memberikan efek toksik dan karsinogenik bagi tubuh terutama bagi pekerja di laboratorium yang memiliki waktu kontak lama dengan xylol. Dalam upaya untuk mengurangi efek samping penggunaan xylol dari laboratorium, banyak bahan kimia pengganti deparafinisasi seperti reagen limonene, hidrokarbon alifatik, hidrokarbon aromatik, minyak nabati, minyak zaitun dan pengganti minyak mineral telah digunakan (Swamy *et al.*, 2015).

Buah belimbing wuluh mengandung golongan senyawa aktif seperti flavonoid, polifenol, tanin dan saponin, buah belimbing wuluh menurut Saputra *et al.*, 2016 juga memiliki kandungan triterpenoid yang didalamnya mengandung gugus hidrokarbon C30 asiklik. Susunan kimia yang terkandung dalam belimbing wuluh yaitu asam asetat, asam sitrat, dan asam format (Wijayanti *et al.*, 2019) Komponen utama dalam belimbing wuluh yang memiliki peran sebagai bahan pengganti xylol pada proses deparafinisasi penelitian ini adalah pemanfaatan asam sitrat yang dapat melarutkan lemak.

METODE PENELITIAN

Rancangan penelitian ini menggunakan metode *one-shot case study* dengan menggunakan 16 Jaringan *mammae* melalui *sampling* jenuh yang diambil pada bulan Februari 2020 hingga Maret 2020 dengan 2 variasi perlakuan, yaitu dideparafinisasi mikro menggunakan larutan belimbing wuluh 95% dan dideparafinisasi mikro menggunakan *xylol*, sehingga total preparat yang didapat pada penelitian ini sebanyak 32 preparat histopatologi.

Jaringan *mammae* yang digunakan pada penelitian ini merupakan jaringan *mammae* yang telah diberi NBF 10% selama 1x24jam, *grossing* melintang diameter 2x1cm untuk *xylo*l dan 1,9x1cm untuk belimbing wuluh serta memiliki konsistensi jaringan yang padat. Pengambilan sampel jaringan dilakukan pada bagian yang dominan berwarna putih karena area tersebut mengandung lebih banyak sel epitel dengan pembuluh darah sehingga mudah dalam pengamatan mikroskopis jaringan *mammae*. Pembuatan preparat histopatologi berdasarkan cara kerja IAPI (2008: 6-11) dengan perbedaan perlakuan pada saat deparafinisasi dimana 16 preparat dideparafinisasi mikro menggunakan *xylo*l dan 16 preparat lain dideparafinisasi mikro menggunakan larutan belimbing wuluh 95%. Preparat Histologi yang telah didapat kemudian dilakukan pengamatan secara mikroskopis menggunakan mikroskop perbesaran mikroskop 400x dan 100x sebanyak 3 lapang pandang dengan mengamati warna sel, bentuk sel dan latar belakang sel dengan kriteria skoring sebagai berikut :

Tabel 1. Skoring Parameter Penilaian Mikroskopis Preparat Jaringan

Skor (%)	Bentuk Sel	Warna Sel	Latar Belakang
0	Tidak ada sel menyusut	Tidak ada sel yang pucat	Tidak ada sel yang nekrotik
1-30	Sel menyusut sedikit	Sel pucat sedikit	Sel nekrotik sedikit
31-50	Sel menyusut sedang	Sel pucat sedang	Sel nekrotik sedang
>50	Sel menyusut banyak	Sel pucat banyak	Sel nekrotik banyak

Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan program SPSS versi 25.0 *for windows*. Data yang diperoleh kemudian dilakukan uji normalitas. Dari hasil uji normalitas pada parameter bentuk sel, warna sel dan latar belakang jaringan stroma, semua parameter diperoleh nilai $p < 0.05$ yang menunjukkan data tidak normal sehingga selanjutnya dilakukan uji statistik *Wilcoxon*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparat jaringan yang diperoleh dilakukan pemeriksaan secara makroskopis. Hasil deparafinisasi mikro dengan menggunakan larutan belimbing wuluh 95% dan *xylo*l sebelum diwarnai dengan pengecatan HE pada ketiga puluh dua preparat histopatologi menunjukkan pada deparafinisasi mikro larutan belimbing wuluh secara makroskopis pengamatan terdeparafinisasi tidak merata dilihat dari parafin yang berada dekat dengan jaringan *mammae* dapat terdeparafinisasi, namun lingkungan sekitar jaringan lainnya masih tertutup oleh parafin. Berbeda dengan makroskopis deparafinisasi *xylo*l yang menunjukkan parafin disekitar jaringan

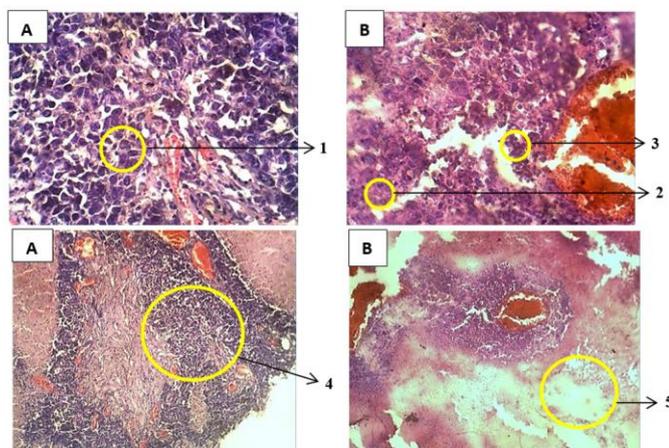
mammae dapat terdeparafinisasi sempurna sehingga yang tertinggal di preparat hanyalah jaringan *mammae*. Selanjutnya dilakukan pengamatan secara mikroskopis. Pengamatan secara mikroskopis 32 preparat histopatologi secara mikroskopis ini dilakukan dengan kriteria penilaian warna sel yang normal atau pucat, bentuk sel normal atau selnya menyusut dan penilaian terhadap latar belakang sel stroma dengan melihat ada tidaknya sel yang mengalami nekrotik akibat perlakuan deparafinisasi mikro yang mengalami variasi dengan pemberian bahan berupa larutan belimbing wuluh dan *xylol*.

Hasil pengamatan mikroskopis deparafinisasi mikro dengan menggunakan larutan *xylol* didapatkan hasil bahwa baik bentuk sel, warna sel serta latar belakang sel dari ketiga lapang pandang tidak mengalami penyusutan bentuk, warna maupun stroma tidak mengalami nekrotik dengan presentase sekitar 0-1%. Pada deparafinisasi mikro menggunakan larutan belimbing wuluh 95% dalam satuan presentase menunjukkan hasil pada semua parameter pemeriksaan mikroskopis memiliki presentase sebesar 0-60%.

Tabel 2. Hasil Pengamatan Mikroskopis Preparat Jaringan

Kriteria	Deparafinisasi Xylol	Deparafinisasi Belimbing Wuluh 95%
Bentuk Sel	0-1%	0-35%,
Warna Sel	0-1%	25-40%
Latar Belakang	0-1%	35-60%.

Hasil pengamatan mikroskopis penggunaan larutan belimbing wuluh dan *xylol* pada proses deparafinisasi mikro memberikan gambaran mikroskopis pada parameter bentuk sel, warna sel dan latar belakang dapat dilihat pada perbesaran mikroskop 400x dan 100x sebagai berikut :



Keterangan :

A. Mikroskopis Jaringan *Mammae* yang Dideparafinisasi Mikro *Xylol*

B. Mikroskopis Jaringan *Mammae* yang Dideparafinisasi Mikro Larutan Belimbing Wuluh

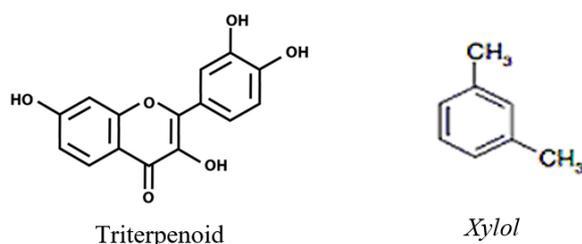
95%

1. Warna Sel Normal
2. Warna Sel Inti Pucat
3. Bentuk Sel Menyusut
4. Latar Belakang Inti dan Sitoplasma Normal
5. Latar Belakang Inti dan Sitoplasma Nekrosis

Gambar 1. Mikroskopis Jaringan Mammae Dengan Deparafinisasi Mikro Menggunakan Xylol Dan Belimbing Wuluh 95%

Analisis statistik yang dilakukan menunjukkan hasil uji normalitas baik pada bentuk sel, warna sel maupun latar belakang menghasilkan nilai $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa data terdistribusi **tidak normal**, maka selanjutnya diuji dengan *Wilcoxon*. Uji *wilcoxon* dipilih karena data yang didapat dari penelitian ini termasuk data yang terdistribusi tidak normal dan menggunakan sampel jaringan *mammae* yang tiap sampelnya dibuat 2 variasi perlakuan yang berbeda yaitu deparafinisasi dengan larutan belimbing wuluh dan *xylol*, sehingga setiap perlakuan sampelnya saling terhubung atau berpasangan dan dapat dengan mudah memberi pengaruh apabila terjadi ketidaknormalan pada perlakuan. uji hipotesis *wilcoxon* baik pada kriteria bentuk sel, warna sel maupun latar belakang didapatkan hasil dengan nilai sebesar 0,000. Nilai ini termasuk dalam $p < 0,05$. Jika nilai $p < 0,05$ maka data menunjukkan adanya perbedaan atau pengaruh yang berarti. Adanya perbedaan antara perlakuan pada tahap deparafinisasi mikro menggunakan *xylol* dan larutan belimbing wuluh baik pada parameter bentuk sel, warna sel maupun latar belakang pada uji *Wilcoxon* dapat disebabkan karena perlakuan deparafinisasi mikro dengan menggunakan larutan belimbing wuluh memiliki hasil yang berbeda secara mikroskopis dibandingkan dengan hasil pemberian *xylol* sebagai bahan deparafinisasi mikro pada jaringan *mammae*. Larutan belimbing wuluh 95% nyatanya tidak mampu mendeparafinisasi dengan baik preparat jaringan yang dibuat. Parafin sendiri merupakan hidrokarbon non-polar dapat larut pada bahan-bahan yang mengandung senyawa hidrokarbon non-polar ketika polaritas dari bahan-bahan tersebut memiliki kesamaan dalam

melarutkan lemak. Meskipun Belimbing wuluh mengandung triterpenoid yang mampu melarutkan lemak, namun apabila dibandingkan dengan *xylol*, kemampuan melarutkan lemak, dalam hal ini adalah parafin tetap tidak sebanding. Hal tersebut dapat dikaitkan dengan struktur kimia dari senyawa triterpenoid dari belimbing wuluh maupun struktur kimia dari *xylol*. Buah belimbing wuluh meskipun memiliki kesamaan hidrokarbon dan asam sitrat didalamnya, namun senyawa hidrokarbon asiklik C₃₀ atau triterpenoid ini menurut Balafif *et al.*, 2015 termasuk golongan senyawa hidrokarbon yang memiliki kemampuan untuk membentuk ikatan hidrogen melalui atom O (oksigen) pada gugus hidroksil maupun ester sehingga lebih polar dibandingkan dengan senyawa *xylene* yang memiliki gugus atom C₆H₄(CH₃)₂. Struktur kedua senyawa dapat dilihat sebagai berikut :



Gambar 2. Struktur Kimia Triterpenoid dan Xylol

Dilihat dari **Gambar 2**. Menunjukkan bahwa *xylol* hanya terdiri dari atom Karbon dan Hidrogen serta tidak memiliki ikatan OH⁻ sehingga *xylol* lebih sukar larut dalam air dan bersifat non-polar. Banyaknya ion OH⁻ yang bersifat polar menyebabkan larutan belimbing wuluh sukar berikatan dengan parafin yang bersifat non-polar, sehingga proses deparafinisasi menjadi terganggu karena parafin sukar terlarut. Polaritas triterpenoid ini juga menghambat kerja asam sitrat pada proses deparafinisasi sehingga pada penelitian ini larutan belimbing wuluh tidak dapat digunakan sebagai bahan deparafinisasi mikro alternatif menggantikan *xylol* pada jaringan *mammae*.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa gambaran mikroskopis preparat histopatologi pada jaringan *mammae* dengan menggunakan *xylol* sebagai bahan deparafinisasi mikro didapatkan hasil bahwa bentuk sel tidak menyusut, warna sel tidak pucat, dan latar belakang tidak terdapat nekrotik maupun kotoran sedangkan gambaran mikroskopis preparat histopatologi pada jaringan *mammae* dengan menggunakan larutan

belimbing wuluh 95% sebagai bahan deparafinisasi mikro didapatkan hasil bahwa bentuk sel menyusut, warna sel agak pucat, dan latar belakang terdapat nekrotik dan bercak hitam kotoran pada lapang pandang pengamatan. Dengan demikian terdapat perbedaan pada gambaran mikroskopis preparat histopatologi jaringan *mammae* pada parameter bentuk sel, warna sel dan latar belakang stroma jaringan pada proses deparafinisasi mikro antara penggunaan larutan belimbing wuluh 95% dengan *xylol*, sehingga larutan belimbing wuluh 95% pada penelitian ini tidak dapat digunakan sebagai alternatif pengganti *xylol* sebagai larutan deparafinisasi mikro karena menyebabkan hasil gambaran mikroskopis jaringan *mammae* tidak dapat diamati dengan baik.

Berdasarkan penelitian ini perlu dilakukan pengembangan penelitian lain dengan menggunakan bahan-bahan alternatif lain yang ramah lingkungan dan aman dengan mempertimbangkan struktur kimianya dan dilakukakan secara *in silico* terlebih dahulu.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada Politeknik Katolik Mangunwijaya yang telah memfasilitasi kegiatan penelitian ini. Publikasi ini merupakan salah satu bagian dari beberapa tahapan hasil penelitian yang termuat dalam tugas akhir dan penelitian berjenjang.

DAFTAR REFERENSI

- Pandey, P., Dixit, A., Tanwar, A., Sharma, A., dan Mittal, S., 2014. A Comparative Study to Evaluate Liquid Dish Washing Soap as an Alternative to Xylene and Alcohol in Deparaffinization and Hematoxylin and Eosin Staining. *Journal of Laboratory Physicians*, 6(1), 84-90. Available from: <http://www.jlponline.org> [Accessed 28 November 2019]
- Aenun, S., Dewi, S.S., dan Iswara, A., 2018. Perasan Kulit Jeruk Nipis sebagai Deparafinisasi pada Pengecatan HE. *Manuscript*. Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan UMS, Semarang.
- Ananthaneni, A., Namala, S., Guduru, V.S., Ramprasad, V.V.S., Ramisetty, S.D., Udayashankar, U., dan Naik, K.K., 2014. Research Article - Efficacy of 1.5% Dish Washing Solution and 95% Lemon Water in Substituting Perilous Xylene as a Deparaffinizing Agent for Routine H and E Staining Procedure: A Short Study. *Scientifica*. Vol. 2014. Available from: <https://doi.org/10.1155/2014/707310> [Accessed 15 November 2019]
- Ankle, M. R., & Joshi, P. S. (2011). A study to evaluate the efficacy of xylene-free hematoxylin and eosin staining procedure as compared to the conventional hematoxylin and eosin staining: An experimental study. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 15(2), 161–167. doi: 10.4103/0973-029X.84482
- Aparna, B., Manjunath, A.B., Ahmed Mujib, B.R., dan Arun Kumar, N., 2018. Comparing the Efficacy of Dishwash Solution Diluted Lemon Water, Coconut Oil and Xylene as Deparaffinizing Agents for Hematoxylin and Eosin Staining Procedure. *International Journal of Anatomy and Research*. Vol. 6(2.1): 5176-80. Available from: <http://dx.doi.org/10.16965/ijar.2018.149>. [Accessed 31 October 2019].
- Harijati, N., Samino, S., Indriyani, S., dan Soewondo, A., 2017. *Mikroteknik Dasar*. Malang: UB Press.
- IAPI, 2008. *Pedoman Penanganan Bahan Untuk Pemeriksaan Patologi dan Sitopatologi*. Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia. Jakarta.
- Kandyala, R., Raghavendra, S.C., dan Rajasekharan, S.T., 2010. Xylene: An Overview of its Health Hazards and Preventive Measure. *Journal Oral Maxillofac Pathol*. Vol. 14: 1-5.
- Kunhua, W., Chuming, F., Tao, L., Yanmei, Y., Xin, Y., Xiaoming, Z., Xuezhong, G., dan Xun, L., 2012. A Novel Non-Toxic Xylene Substitute (SBO) for Histology. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 9 (1), 43-49.
- Lael, B.M., Santosa, B., dan Aryadi, T., 2018. Perbedaan Penggunaan Xylol (Xylene) dan Toluol (Toluene) pada Proses Clearing terhadap Kualitas Preparat Awetan Permanen *Cimex lectularius*. *Prosiding*, e-ISSN: 2654-766X. Vol. 1. Semarang.

- Prema, V., Prasad, H., Srichinthu, K. K., Kumar, S. S., Rajkumar, K., & Marudhamani, C. (2020). Biofriendly Substitutes for Xylene in Deparaffinization. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 12(Suppl 1), S623. doi: 10.4103/JPBS.JPBS_164_20
- Ramdhani, R.M., 2017. Pengaruh Pemberian Sari Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) terhadap Performa Puyuh. *Skripsi*. Fakultas Peternakan-ITB, Bogor.
- Rai, R., Yadav, R., dan Bhardwaj, A., 2016. Biosafe Substitutes to Xylene: A Review. *International Journal of Information Research and Review*. 2016; 6: 2529-2532.
- Subhadrabandhu, S., *Under-Utilized Tropical Fruits of Thailand*. 1nd Edition, Bangkok: FAO, 2001: 42-4.
- Swamy, G.R.S., Nandan, K.R.S., Kulkarni, G.P., Rao, M.T., dan Palakurthy, P., 2015. Bio-Friendly Alternative for Xylene - Carrot Oil, Olive Oil, Pine Oil, Rose Oil. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. Vol. 9 (11): ZC16-ZC18.
- Wijayanti, A.D., Sjoftjan, O., dan Djunaidi, H.I., 2019. Pengaruh Variasi Konsentrasi Larutan Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) terhadap Uji Aktivitas Antimikroba secara *In Vitro*. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 29(1) : 9-14. Available from: <http://jiip.ub.ac.id> [Accessed 19 January 2020]