

TINJAUAN KINETIKA PEMBUATAN ROSE WINE

by Widayati Tunjung Wahyu

Submission date: 08-Aug-2020 02:27PM (UTC+0700)

Submission ID: 1367228990

File name: TINJAUAN_KINETIKA_PEMBUATAN_ROSE_WINE.pdf (731.19K)

Word count: 2651

Character count: 15324

TINJAUAN KINETIKA PEMBUATAN ROSE WINE

Harsa Pawignya¹, Tunjung Wahyu Widayati,² Datu Putra³, Putra Akbar⁴

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri UPN "Veteran" Yogyakarta Jl. SWK 104 (Lingkar Utara), Yogyakarta, 55283 E-mail : Harsa_paw@yahoo.co.id

ABSTRACT

Indonesia produced in many different types of fruits, but fruit has qualities not easily rot if directly consumed, so that some of these fruits discarded before reaching the consumer. One type of fruits that exists in Indonesia is a fruit wine (ghvino), is a fruit that is popular and widely consumed by many people, usually grapes can be consumed directly can also make a fermented beverage product of grapes. In alcoholic beverages to manufacturing industry, the grape was widely used, but the influence of the addition of sugar and the reaction rate constants in the wine fermentation process has not been much studied.

In this research will be studied it Rose Wine Wine types of wine, pink or pink wine made from red, in this fermentation reaction kinetics will be studied fermentation of wine. Making Wine Rose Wine types can be done in steps: Making Liquid Fruit wine (Must), making the starter and continue the fermentation process. Fermentation process is done by way of fruit plus starter fluid then sealed cork and sealed with water. within 8 days of fermentation process is stopped

From the research results obtained optimum results with the following conditions: Temperature: 30 ° C: pH: 4: Volume juice wine: 200 ml: Volume starter: 10% v / v: Addition of sugar: 10% w / v: Left fermentation: 10 day. From a review of alcohol fermentation kinetics in the best conditions, the obtained Michaelis Constant - Menten (K_m) = 0.19409 gram/ml maximum reaction velocity (V_{max}) = 0.06784 gram/(ml.jam)

PENDAHULUAN

Di Indonesia banyak dihasilkan berbagai jenis buah – buahan, tetapi kebanyakan hasil pertanian yang berupa buah-buahan ini mempunyai sifat mudah busuk apabila tidak langsung dikonsumsi, sehingga sebagian dari hasil pertanian yang sudah busuk dibuang sebelum sampai ke konsumen. Oleh karena itu perlu ditingkatkan daya guna hasil pertanian agar tidak mudah rusak dan dapat dinikmati sepanjang tahun. Salah satu jenis buah – buahan yang ada di Indonesia adalah buah Anggur (*ghvino*), merupakan buah yang cukup populer dan banyak dikonsumsi oleh banyak orang, di Indonesia banyak ditanam terutama di daerah Pulau Bali, tanaman ini mudah dibudidayakan dan cocok untuk iklim di Indonesia. Buah anggur biasanya dapat dikonsumsi secara langsung dapat juga dibuat suatu produk minuman hasil fermentasi buah anggur.

Wine adalah minuman beralkohol yang dibuat dari sari buah anggur (must) Wine dibuat melalui fermentasi gula yang ada di dalam buah anggur. Ada beberapa jenis

minuman anggur yaitu, Red Wine, White Wine, Rose Wine, Sparkling Wine, Sweet Wine, dan Fortified Wine. Pada industri pembuatan minuman beralkohol, dari buah anggur sudah banyak dimanfaatkan, tetapi pengaruh penambahan gula dan konstanta kecepatan reaksi dalam proses fermentasi anggur ini belum banyak diteliti.

Didalam penelitian ini akan dipelajari pembuatan Wine jenis Rose Wine yaitu wine yang berwarna merah muda atau merah jambu yang dibuat dari anggur merah, pada fermentasi ini akan dipelajari kinetika reaksi fermentasi anggur. Dari penelitian ini diharapkan dapat diperoleh harga kinetika reaksi fermentasi buah anggur, yang nantinya dapat digunakan dalam perancangan alat fermentasinya. Minuman anggur yang sering disebut dengan istilah Wine merupakan fermentasi yang menghasilkan alkohol yang mengandung sejumlah senyawa fenolik terutama hiarsinamat dan asam klorogenat. Red wine atau anggur merah adalah anggur yang berasal dari buah anggur yang berwarna merah atau hitam (*black grapes*). Warna

merah diperoleh dari pencelupan kulit dan biji ke dalam sari buah yang telah diperas untuk difermentasi. Sebaliknya untuk *white wine*, bisa dibuat dari buah anggur jenis apa saja, asalkan selama proses fermentasi kulit dan bijinya sudah dipisahkan dari sari buahnya. Sementara *rose wine* adalah jalan tengah

antara merah dan putih. Kulit anggur tetap dibiarkan sebentar melalui proses fermentasi atau jumlahnya dibatasi. *Rose* banyak diminum di musim panas karena rasanya yang menyegarkan dan lebih ringan daripada *red wine*.

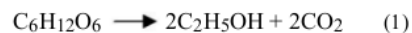
Tabel 1. Komposisi wine

Komponen	Persen (%)
Air	80-90
Gula/Karbohidrat	0,1-0,3
Glukosa	0,05-0,1
Fruktosa	0,05-0,1
Pentosa	0,08-0,20
Pektin	0,00-0,001
Alkohol	8-15
Asam organik	0,3-1,1
Asetat	0,03-0,05
Malat	0,0-0,6
Sitrat	0,0-0,05
Tartarat	0,1-0,0,6
Komponen Mineral	0,15-0,40
Komponen Nitrogen	0,01-0,09

Sumber : Amerine dkk., 1971.

Faktor-faktor yang mempengaruhi proses fermentasi yaitu kadar air, kadar gula, nutrient, pH, suhu, volume starter dan waktu fermentasi. Untuk menstimulir pertumbuhan mikroba, medium yang digunakan harus mengandung komponen-komponen yang dibutuhkan oleh mikroba tersebut. Kebutuhan dasar dari mikroba termasuk air, karbon, energi, nitrogen, mineral, dan faktor pertumbuhan seperti vitamin dan beberapa asam amino. Inokulum adalah banyaknya mikroorganisme yang akan ditumbuhkan pada medium fermentasi.

Hasil fermentasi terutama tergantung pada jenis bahan pangan (substrat), berbagai macam mikroba dan kondisi di sekelilingnya yang mempengaruhi pertumbuhan dan metabolisme mikroba tersebut. Perubahan selama fermentasi, mikroba yang bersifat fermentatif dapat mengubah karbohidrat dan turunan – turunannya terutama menjadi alkohol, asam dan karbondioksida, misalnya fermentasi gula oleh khamir *Saccharomyces cerevisiae* menghasilkan etil alkohol (etanol) dan karbondioksida melalui reaksi :



Glukosa etanol karbondioksida

Fermentasi alkohol digambarkan sebagai rangkaian reaksi yang dinyatakan seperti persamaan diatas.

Mikroorganisme yang sering digunakan untuk fermentasi alkohol adalah khamir karena khamir (yeast) mempunyai selektivitas tinggi dan mudah penanganannya dibandingkan dengan jenis bakteri. Salah satu spesies ragi yang dikenal mempunyai daya konversi gula menjadi etanol yang sangat tinggi ialah *Saccharomyces cerevisiae*, khamir (yeast) ini dapat menghasilkan enzim hidrolase dan enzim invertase. Enzim hidrolase ialah dimana *Saccharomyces cerevisiae* berfungsi sebagai pemecah sukrosa (disakarida) menjadi glukosa (monosakarida) dan enzim invertase dimana *Saccharomyces cerevisiae* yang selanjutnya berfungsi mengubah glukosa menjadi etanol.

Saccharomyces cerevisiae paling sering digunakan dalam proses fermentasi alkohol karena memiliki beberapa keunggulan yaitu kemampuan merombak substrat terpilih

untuk menghasilkan alkohol, tidak berbahaya atau menimbulkan racun, sifatnya stabil, menghasilkan enzim yang diperlukan untuk pencapaian hasil akhir yang dikehendaki, mudah didapat dan mudah dalam pemeliharanya.

Sel *saccharomyces cerevisiae* berbentuk oval atau bulat. Bentuk selnya tetap sehingga dapat membantu untuk identifikasi. Diameter selnya besar sekitar 0.0005 cm, mikroorganisme fakultatif.

(Schlegel, 1994)

Untuk pertumbuhan khamir (yeast), pH yang ideal adalah sekitar 4-6 dan pH optimum untuk melakukan fermentasi yaitu sekitar 4-4,5. Khamir yang banyak terdapat dalam fermentasi cairan buah adalah genus-genus *saccharomyces*, *saccharomyces*, *pichia*, *candida*, *torulopsis*, *hansenula* dan *kloerkeria*. Diantaranya yang paling banyak digunakan dalam fermentasi adalah varitas-varitas dari *saccharomyces cerevisiae*. Suhu optimum untuk pertumbuhan *saccharomyces cerevisiae* adalah 30°C sedangkan suhu minimumnya adalah 9-11°C dan suhu maksimumnya adalah 35-37 °.

(Prescott dan Dunn, 1959)



Bila telah tercapai keadaan seimbang maka kecepatan pembentukan kompleks ES sama dengan kecepatan peruraian kompleks ES; dengan catatan bahwa tetapan laju reaksi pembentukan ES dari produk sangat kecil sehingga dapat diabaikan.

$$\text{Konstanta Disosiasi } K_m = \frac{[E][S]}{[ES]}$$

(4)

[E], [S], dan [ES] adalah konsentrasi dalam keadaan kesetimbangan, masing – masing dari E,S dan ES. Jika konsentarsi enzim semula adalah [E]₀, maka konsentrasi enzim bebas yaitu:

$$[E] = [E]_0 - [ES] \quad (5)$$

[ES] = konsentrasi enzim yang berkaitan dengan substrat, yang juga sama dengan konsentrasi produk [P]. Maka bila persamaan (5) dimasukkan ke dalam persamaan (4), didapatkan :

Kinetika reaksi enzimatis

Kinetika reaksi enzimatis pertama kali disusun oleh *Leonor Michaelis* dan *Maud Menthen* untuk reaksi enzimatis substrat tunggal. Reaksi ini terdiri dari satu jenis substrat dan enzim. Dalam hal ini termasuk reaksi enzimatis fermentasi gula menjadi ethanol.

Teori kinetika enzimatis ini dikenal sebagai teori kejenuhan (*Saturation Kinetics*) yang disusun berdasarkan asumsi – asumsi sebagai berikut :

1. Jumlah atau konsentrasi substrat sangat besar bila dibandingkan dengan konsentrasi enzim sehingga seluruh permukaan aktif enzim akan tertutup substrat. Jadi reaksi enzimatis ini dikondisikan mengikuti reaksi orde satu semu .[S]>>>[E]total
2. Reaksi antara enzim dan substrat adalah reaksi kesetimbangan (equilibrium).
3. Ikatan kompleks selalu berurai semuanya menjadi produk.

(2)

$$K_m = \frac{([E]_0 - [ES])[S]}{[ES]}$$

(6)

Persamaan (4) dimasukkan ke persamaan (3) :

$$K_m [ES] = [E]_0 [S] - [ES][S]$$

$$[ES] = \frac{[E]_0 [S]}{K_m + [S]}$$

(7)

Laju reaksi, $V = k_3 [ES]$, sehingga bila persamaan (7) dimasukkan kedalamnya, diperoleh :

$$V = k_3 \frac{[E]_0 [S]}{K_m + [S]} \quad \text{atau}$$

$$V = \frac{k_3 [E]_0}{\frac{K_m}{[S]} + 1}$$

(8)

Bila konsentrasi substrat cukup besar sehingga semua enzim terikat kepadanya, yaitu dalam bentuk kompleks ES, maka akan didapat laju reaksi yang maksimum, V_{maks}

$$V_{maks} = k_3 [E]_o \quad [\quad]$$

(9)

Bila persamaan (8) dibagi dengan persamaan (9), yaitu :

$$\frac{V}{V_{maks}} = \frac{k_3 [E]_o [S]}{K_m + [S]}$$

Diperoleh harga $V = \frac{V_{maks} [S]}{K_m + [S]}$

(10)

Persamaan ini adalah persamaan *Michaelis-Menten* yaitu hubungan kuantitatif antara laju reaksi enzim dan konsentrasi substrat, bila V_{maks} atau K_m diketahui. Karena sangat sulit untuk mencari harga V secara langsung dari persamaan (10), maka persamaan tersebut dilinierisasi dengan metode *Lineweaver Burk*.

$$\frac{1}{V} = \frac{[S]}{V_{maks} [S]} + \frac{K_m}{V_{maks} [S]}$$

(11)

$$\frac{1}{V} = \frac{1}{V_{maks}} + \left\{ \frac{K_m}{V_{maks}} \right\} \frac{1}{[S]}$$

(12)

Data untuk menghitung harga K_m dan V_{maks} adalah dengan membuat grafik hubungan

antara $\frac{1}{V}$ vs $\frac{1}{[S]}$. Harga $\frac{1}{V_{maks}}$ adalah

intercept dan $\frac{K_m}{V_{maks}}$ merupakan slope dari

persamaan garis pada persamaan (12). (Suharto, 1995)

Sehingga dari persamaan ini dapat dihitung konstanta *Michaelis-Menten* dan kecepatan reaksi maksimum.

METODOLOGI

Bahan Utama :

- Buah anggur merah, di peroleh dari Indogrosir Jalan Kaliurang Km 6.3.

- Saccharomyces cerevisiae*, dibeli dari Fakultas Pertanian UPN "Veteran" Yogyakarta.

Bahan Pembantu :

NaOH, Gula pasir, Aquadest, Asam asetat, Kalium dikromat, Kalium karbonat jenuh, Vaseline, Taoge

Alat Percobaan dan Alat Analisis :

- | | |
|------------------------|----|
| a. Gelas Ukur 100ml | g. |
| Shaking Incubator | m. |
| Autoklaf | |
| b. Erlenmeyer 500 ml | h. |
| Lemari laminar | n. |
| Aluminium foil | |
| c. Gelas beker 1000 ml | i. |
| Spektrofotometer | o. |
| Conway | |
| d. Labu takar 250 ml | j. |
| Panci stainless steel | p. |
| Kertas saring | |
| e. Mikropipet | k. |
| Water Bath | q. |
| Blender | |
| f. Tabung reaksi | l. |
| Jarum ose | r. |
| Timbangan | |

Cara Penelitian

1. Pembuatan Cairan Buah anggur (Must)

Dipilih buah anggur yang masih dalam keadaan baik dalam tingkat kematangan yang relatif sama dan dibersihkan dengan menghilangkan batang dan biji tanpa menghilangkan kulit. Kemudian buah tersebut diblender selama ±10 menit, untuk selanjutnya disaring dengan kain penyaring yang bersih. Selanjutnya dipanaskan diaduk sesekali, panci harus ditutup agar aroma tidak banyak hilang. Pemanasan dilakukan pada suhu ±70°C selama 10 menit, kemudian didinginkan dan selanjutnya dipindahkan kedalam erlenmeyer yang telah steril untuk difermentasikan.

2. Pembuatan starter

Taoge yang masih segar dicuci bersih lalu dimasak atau dipanaskan dengan menambah air bersih (250 gram taoge untuk 1.5 L air), hasil air taoge yang dimasak kemudian didinginkan dan disaring. Setelah cairan dingin

ditambahkan gula sebanyak 10%. Larutan taoge sebanyak 200 ml ini digunakan untuk pengembangbiakan awal *Saccharomyces Cerevisiae*. Sisa cairan taoge sebanyak 1200 ml ditambahkan agar-agar sebanyak 30 gram, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah steril, setelah itu didiamkan hingga membentuk agar. Selanjutnya hasil pengembangbiakan diambil 5 ose dan diolesi pada agar media miring.

Jus anggur sebanyak 100 ml dimasukkan kedalam erlenmayer kemudian diatur pHnya dengan NaOH atau asam asetat sampai 4, selanjutnya khamir (yeast) *saccharomyces cerevisiae* dimasukkan ke dalam media stater yang berisi larutan juice anggur dan diinkubasi.

3. Proses Fermentasi

Cairan buah ditambah starter kemudian ditutup rapat dengan gabus dan

sealed water setelah dalam waktu yang telah ditentukan, hari proses fermentasi dihentikan dan dilakukan analisis

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Fermentasi *Must*

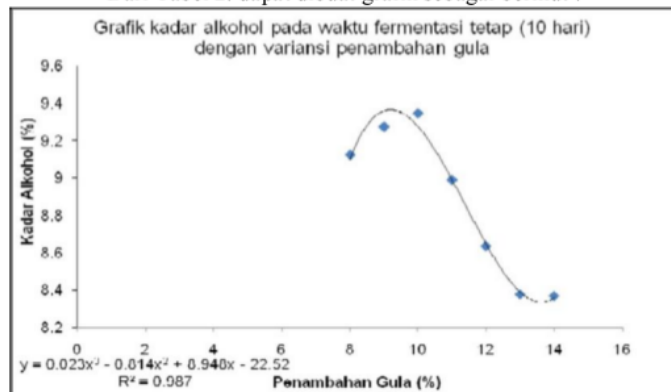
1. Variasi Penambahan Gula

- Volume must (just anggur) = 200 ml
 - Volume Starter = 10% v/v
 - Suhu = ±30 °C
 - pH = 4.0
 - Waktu = 10 hari (240 jam)
- Didapat hasil kadar alkhohol pada tiap penambahan gula sesuai pada tabel 2.

Tabel 2. Kadar alkohol pada tiap penambahan gula

Kadar Gula (%)	Kadar Etanol (%)
8	9,125
9	9,277
10	9,348
11	8,991
12	8,634
13	8,375
14	8,366

Dari Tabel 2. dapat dibuat grafik sebagai berikut :



Gambar 1. Grafik hubungan Penambahan gula Dengan Kadar alkohol

Dari Gambar. 1, terlihat bahwa penambahan gula mulai 8 % sampai 10 % ,maka kadar alkohol yang diperoleh semakin besar hal ini disebabkan karena semakin besar kadar gula maka semakin besar gula yang bereaksi membentuk alkohol, Tetapi mulai penambahan gula 11 % diperoleh kadar alkohol yang semakin menurun hal ini disebabkan karena kadar gula yang tinggi dapat menyebabkan turunnya aktivitas yeast.

2. Variasi Waktu Fermentasi

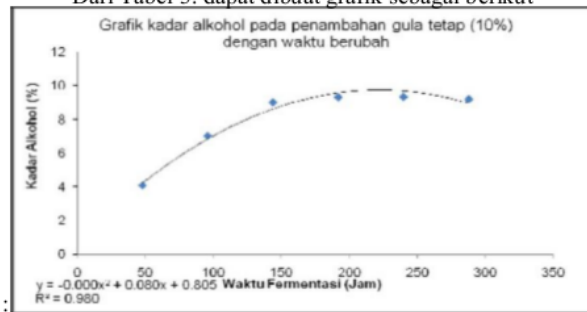
Volume juice anggur = 200 ml
 Volume Starter = 10% v/v
 Suhu = ±30 °C
 pH = 4.0
 substrat = 10% b/v

Didapat hasil kadar alkhohol pada tiap penambahan gula sesuai pada tabel 3.

Tabel 3. Kadar alkohol dengan variasi waktu fermentasi

Waktu fermentasi (jam)	Kadar Etanol (%)
48	4,07143
96	7,01786
144	9,01786
192	9,33036
240	9,34821
288	9,20536

Dari Tabel 3. dapat dibuat grafik sebagai berikut



Gambar 2. Grafik hubungan Waktu fermentasi Dengan Kadar alkohol

Dari Gambar. 2, terlihat bahwa semakin lama waktu fermentasi semakin besar kadar alkohol yang diperoleh , jika waktu bertambah terus akan diperoleh kadar alkohol yang hampir konstan , hal ini karena semakin lama waktu fermentasi maka semakin banyak gula yang bereaksi menjadi alkohol pada keadaan ini yeast pada fase pertumbuhan cepat dan jika waktu diteruskan maka aktivitas yeast memasuki fase konstan

Kadar Alkohol Ditinjau dari Kinetika
 Kecepatan pembentukan poduk dihitung dengan menggunakan persamaan berikut :

$$V = \frac{[S]_{\text{rx}}}{t} = \frac{[P]}{t}$$

Dengan variasi kadar gula reduksi akhir, maka akan diperoleh sejumlah data sehingga dapat dibuat grafik antara 1/[S] dengan 1/V. Grafik ini kemudian didekati dengan persamaan linier sebagai berikut :

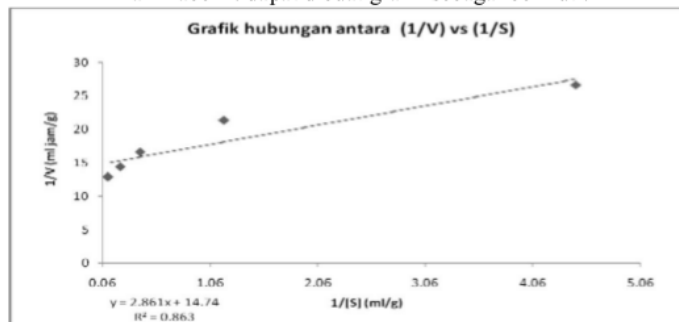
$$\frac{1}{V} = \frac{1}{V_{\text{maks}}} + \left\{ \frac{K_m}{V_{\text{maks}}} \right\} \frac{1}{[S]}$$

Harga K_m dapat dicari dengan menggunakan slope persamaan garis dan V_{maks} merupakan intercept.

Tabel 4. Kadar gula reduksi akhir yang disubstitusikan ke persamaan *Michaelis – Menten*

Waktu (jam)	gula [S] (gr/ml)	1/[S] (ml/gr)	alkohol [P] (gr/ml)	kec rx V (gr/ml.jam)	1/V (ml.jam/gr)
48	9,594300	0,104229	4,071429	0,077567	12,892086
96	4,603774	0,217213	7,017857	0,069475	14,393574
144	2,490566	0,401515	9,017857	0,060206	16,609681
192	0,847170	1,180401	9,330357	0,046782	21,375746
240	0,224528	4,453782	9,348214	0,037500	26,666668

Dari Tabel 4. dapat dibuat grafik sebagai berikut :



Gambar 3. Grafik hubungan antara $1/[S]$ vs $1/V$

Dari Gambar.3 didapat persamaan garis lurus, sehingga proses fermentasi tersebut berlaku persamaan *Michaelis – Menten*, dari Gambar 3 diperoleh :

- Kecepatan reaksi hasil
 $V_{max} = 0,06784$ g/ml jam
- Konstanta *Michaelis – Menten*
 $K_m = 0,19409$ g/ml

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

- Pembuatan alkohol dari buah anggur dengan cara fermentasi memberikan hasil yang optimum dengan kondisi sebagai berikut:
 - Suhu : 30 °C
 - pH : 4
 - Volume juice anggur : 200 ml
 - Volume starter : 10% v/v
 - Penambahan gula : 10% b/v
 - Waktu fermentasi : 10 hari (240 jam)
- Dari tinjauan kinetika fermentasi alkohol pada kondisi terbaik, yaitu diperoleh :

- Konstanta *Michaelis – Menten* (K_m) = 0,19409 gram/ml
- Kecepatan reaksi maksimum (V_{max}) = 0,06784 gram/ml.jam

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam kesempatan ini penyusun mengucapkan terima kasih kepada Dirjen Dikti yang telah memberikan bantuan dana penelitian lewat program Hibah A-2 Jurusan Teknik Kimia UPN "Veteran" Yogyakarta

DAFTAR NOTASI

- [E] = Konsentrasi enzim, gram / ml
 [E o] = konsentrasi enzim mula-mula, gram/ ml
 [E S] = Konsentrasi enzim substrat, gram/ml
 FP = Faktor pengenceran, ml/ml
 [P] = Konsentrasi produk, gram/ml
 [S] = Konsentrasi substrat, gram/ml

k = Konstante kecepatan reaksi pembentukan produk, ml/gram.jam
Km = Konstante Michaelis-Menten, gram/ml
t = Waktu fermentasi, jam
V = Kecepatan hasil reaksi, gram/ml
Vmaks = Kecepatan reaksi maksimum, gram/ml.jam

DAFTAR PUSTAKA

- Astuty, E.D. 1991. "*Fermentasi Alkohol Kulit Buah Pisang Dengan Berbagai Jenis Inokulum*", Tesis Pasca Sarjana, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Fardiaz, S., 1993. "*Mikrobiologi Pangan*", PAU Pangan dan Gizi, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Frazier, W.C, Westhoff, D.C, 1979. "*Food Microbiology*", ed.3, Mc.Graw Hill Publishing Co.Ltd., New Delhi
- Rahayu, E. S., Retno I. Tyas, U. Enis H., Nur C., 1993, "*Bahan Pangan Hasil Fermentasi*", Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi UGM, Yogyakarta.
- Sudarmadji, Kasmidjo, 1989, "*Mikrobiologi Pangan*" PAU Pangan dan Gizi, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Fessenden, R.J. dan Fessenden, J.S., 1989. "*Kimia Organik*" edisi ke-3, penerbit Erlangga, Jakarta.
- Winarno, F.G.dkk., 1980. "*Pengantar Teknologi Pangan*", 59 – 65, penerbit PT Gramedia, Jakarta.
- Schlegel, H.G. 1994. "*Mikrobiologi Umum*". Terjemahan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Prescott, Lansing M., John P. Harley, dan Donald E. Klein, 1959. "*Microbiology*", ed.3, McGraw-Hill, New York.
- Desroir, Norman, 1988. "*Teknologi Pengawetan Pangan*", edisi 3, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Suharto, Ign., Ir., Dr., Prof., 1995, "*Bioteknologi dalam Dunia Industri*", edisi 1, Andi Offset, Yogyakarta.
- Jacobs, Moris.B. 1958. "*The Chemical Analysis of Food and Food Products*", edisi 3, Chicago University press, Chicago.

TINJAUAN KINETIKA PEMBUATAN ROSE WINE

ORIGINALITY REPORT

35%

SIMILARITY INDEX

35%

INTERNET SOURCES

0%

PUBLICATIONS

%

STUDENT PAPERS

MATCH ALL SOURCES (ONLY SELECTED SOURCE PRINTED)

16%

★ **id.scribd.com**

Internet Source

Exclude quotes On

Exclude bibliography On

Exclude matches < 2%