

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BUAH JUWET (*Syzygium Cumini*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus Epidermidis* PENYEBAB ACNE VULGARIS

Kadek Wina Santhya Putri¹, I Made Jawi², Agung Wiwiek Indrayani², Agung Nova Mahendra²

¹Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

²Departemen Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

Koresponding : Kadek Wina Santhya Putri

Email : winasanthya@gmail.com

ABSTRAK

Acne vulgaris merupakan permasalahan yang banyak dialami oleh masyarakat baik pria dan wanita. Salah satu penyebab terjadinya *acne vulgaris* adalah *Staphylococcus epidermidis* yaitu bakteri gram positif yang normal berada di kulit, namun dalam keadaan tertentu bakteri ini dapat menyebabkan inflamasi yang kemudian menimbulkan pembentukan *acne vulgaris*. Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dapat dihambat oleh metabolit sekunder yang berasal dari bahan alami seperti buah juwet (*Syzygium cumini*). Ekstrak buah juwet diketahui memiliki berbagai jenis metabolit sekunder yang dapat berfungsi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis daya hambat ekstrak etanol buah juwet pada konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Penelitian menggunakan metode *true experimental post test only control group* secara *in vitro*. Sampel penelitian ini akan dibagi menjadi enam kelompok; dua kelompok kontrol yaitu kontrol positif diberikan Gentamicin dan kontrol negatif diberikan etanol 96%, serta empat kelompok perlakuan yaitu konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100%. Data hasil dari penelitian akan dianalisis menggunakan *software* SPSS menggunakan *One Way Anova test*. Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak etanol buah juwet (*Syzygium cumini*) konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100% memiliki diameter zona hambat sebesar 11 mm, 12.8 mm, 14.4 mm, dan 15.8 mm. Sedangkan kontrol positif Gentamicin memiliki diameter zona hambat sebesar 26.8 mm. terhadap *Staphylococcus epidermidis*. Ekstrak etanol buah juwet (*Syzygium cumini*) konsentrasi 40%, 60%, 80% dan 100% memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

Kata kunci: Uji daya hambat, ekstrak, *Syzygium cumini*, *Staphylococcus epidermidis*, *Acne Vulgaris*

ABSTRACT

Acne vulgaris is one of the problems that has been experienced by many people, both men and women. *Staphylococcus epidermidis* is a gram-positive bacteria that is normally found on the skin and can cause *acne vulgaris*. The growth of *Staphylococcus epidermidis* can be inhibited by secondary metabolites derived from natural ingredients such as juwet fruit (*Syzygium cumini*). Juwet fruit extract is known to have various types of secondary metabolites that have the ability as an antibacterial. This study aims to analyze the inhibition of ethanol extract of juwet fruit at concentrations of 40%, 60%, 80%, and 100% on the growth of *Staphylococcus epidermidis* bacteria. This research is an *in vitro* study using *true experimental post-test only control group* method. The sample of this study will be divided into six groups: Two control groups, namely positive control was given Gentamicin and negative control was given ethanol 96%, and four treatment groups at concentrations of 40%, 60%, 80%, and 100%. The research data were analyzed using SPSS software using *One Way Anova test*. Based on the result of this study, the ethanol extract of juwet (*Syzygium cumini*) fruit at concentrations of 40%, 60%, 80%, and 100% had inhibition zone diameters of 11 mm, 12.8 mm, 14.4 mm, and 15.8 mm. While the positive control (Gentamicin) had an inhibition zone diameter of 26.8 mm against *Staphylococcus epidermidis*. The ethanol extract of juwet (*Syzygium cumini*) fruit at concentrations of 40%, 60%, 80%, and 100% had the potential to inhibit the growth of *Staphylococcus epidermidis* bacteria.

Keywords : Antibacterial activity, extract, *Syzygium cumini*, *Staphylococcus epidermidis*, *Acne Vulgaris*

PENDAHULUAN

Acne vulgaris merupakan salah satu permasalahan yang banyak dialami oleh masyarakat baik pria dan wanita. *Acne vulgaris* memiliki dampak substansial terhadap kualitas hidup seseorang yang berdampak pada terganggunya *self-esteem* dan juga perkembangan psikososial. *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) merupakan bakteri normal di wajah dan dapat menyebabkan inflamasi yang kemudian menimbulkan pembentukan *acne vulgaris*.¹

Antibiotik merupakan pilihan pertama dalam penanganan infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Penggunaan antibiotik yang salah seperti mengonsumsi dalam dosis yang berlebih serta penggunaan antibiotik yang tidak teratur dapat membuat bakteri menjadi resisten terhadap antibiotik tersebut.² Dalam sebuah jurnal dikatakan bahwa *S. epidermidis* sudah mengalami resistensi terhadap beberapa antibiotik seperti methicillin berkisar 75%-90%. *S. epidermidis* juga dilaporkan beberapa kali sudah mengalami resistensi terhadap trimethoprim, clindamycin, *fusidic acid*, fluoroquinolones, dan rifampicin.³ Sehingga diperlukan penemuan tanaman obat yang berpotensi sebagai antibakteri, yang dalam hal ini adalah untuk menghambat *S. epidermidis*.

Salah satu tanaman alami yang memiliki potensi menghambat bakteri *S. epidermidis* adalah *Syzygium cumini*, atau yang sering dikenal dengan Buah Juwet. Buah juwet merupakan tumbuhan yang memiliki khasiat untuk dijadikan sebagai obat tradisional.⁴ Komponen zat aktif yang terdapat di dalam buah juwet seperti flavonoid, alkaloid, polifenol, terpenoid, dan tanin.⁵ Beberapa penelitian menunjukkan bahwa buah juwet memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Agrobacterium tumefaciens*,⁶ *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*,⁷ dan *Streptococcus mutans*.⁸

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek daya hambat dari ekstrak etanol buah juwet terhadap pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* sebagai penyebab *acne vulgaris* dan pengaruh perbedaan konsentrasi dari ekstrak etanol buah juwet terhadap daya hambatnya secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan metode *true experimental post test only control group design* untuk mengetahui daya hambat ekstrak etanol buah juwet (*Syzygium cumini*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* secara *in vitro*. Buah Juwet yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari Bekasi, Jawa Barat dan merupakan buah dalam keadaan masih segar, tanpa hama dan penyakit, serta tidak busuk.

Alat yang digunakan meliputi blender, *glass beakers*, neraca analitik, aluminium foil, *stirring rods*, kertas filter, rak dan tabung reaksi, *cotton swab* steril, pinset, jangka sorong, cawan petri, erlenmeyer, tongs, *paper discs*,

mikropipet, *autoclaves*, *yellow tips*, dan *blue tips*. Bahan yang digunakan meliputi buah juwet, etanol 96%, agar Mueller-Hinton, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, antibiotik Gentamicin, larutan McFarland, dan *antibiotic discs*.

Sampel dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok perlakuan (P) dan kelompok kontrol (K). Kelompok P dibagi menjadi empat kelompok berdasarkan konsentrasi ekstrak etanol buah juwet yang diuji yaitu konsentrasi 40% (P1), 60% (P2), 80% (P3), dan 100% (P4). Kelompok Kx dibagi menjadi dua kelompok yaitu kontrol positif menggunakan Gentamicin (K1) dan kontrol negatif menggunakan etanol 96% (K2). Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan April sampai Oktober 2021 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana.

Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Juwet (*Syzygium cumini*)

Pembuatan ekstrak etanol buah juwet menggunakan metode maserasi. Sebanyak 3kg buah juwet dicuci bersih dan dipisahkan dengan bijinya, kemudian di keringkan. Setelah kering di hancurkan hingga menjadi simplisia. Simplisia selanjutnya dilarutkan dengan etanol 96% dengan perbandingan simplisia : etanol 96% = 1 : 3, kemudian dilakukan maserasi selama 24 jam. Setelah itu, hasil maserasi disaring menggunakan kertas filter. Sisa deposit yang ada di *macerator* kembali dimaserasi selama 24 jam. Setelah itu, filtrat hasil maserasi pertama dan kedua dicampur dan dimasukkan ke *rotary evaporator* dengan temperatur maksimum yaitu 70°C yang dilanjutkan dengan *water bath* pada suhu sekitar 60°C sampai membentuk ekstrak kental (konsentrasi 100%) sebanyak 12,26 gram. Kemudian akan didapatkan ekstrak etanol buah juwet dengan konsentrasi 100%, selanjutnya ekstrak akan dibagi menjadi empat konsentrasi yaitu 40%, 60%, 80%, dan 100% yang nantinya akan digunakan untuk tes daya hambat *Staphylococcus epidermidis*.

Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Etanol Buah Juwet

Larutan ekstrak etanol buah juwet (*Syzygium cumini*) konsentrasi 100% dari hasil maserasi akan dibagi menjadi empat dosis 40%, 60%, 80%, dan 100% dengan perhitungan sebagai berikut: 0,5 gram ekstrak yang tidak dilarutkan akan menghasilkan ekstrak dengan konsentrasi 100%, 0,4 gram ekstrak ditambahkan dengan 0,1ml etanol 96% akan menghasilkan ekstrak konsentrasi 80%, 0,3 gram ekstrak ditambahkan dengan 0,2ml etanol 96% akan menghasilkan ekstrak konsentrasi 60%, dan 0,2 gram ekstrak ditambahkan dengan 0,3ml etanol 96% akan menghasilkan ekstrak konsentrasi 40%.

Uji Daya Hambat *Disc Diffusion*

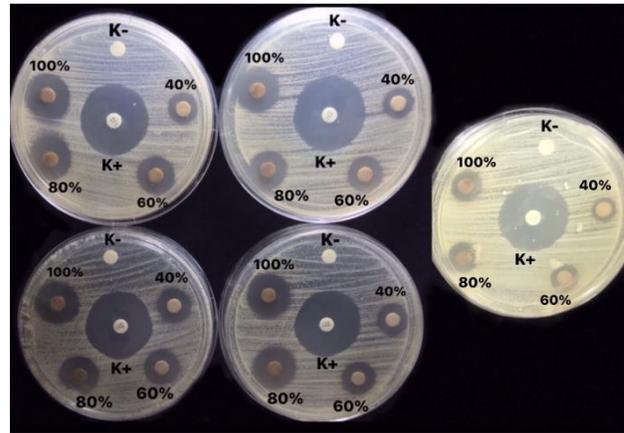
Uji daya hambat *Staphylococcus epidermidis* menggunakan metode *disc diffusion* Kirby-Bauer dengan menggunakan cawan petri yang mengandung media agar dan menandai setiap konsentrasi dan kontrol positif dan negatif dengan 5 kali pengulangan. *Paper discs* disiapkan di cawan petri yang kosong dan ditambahkan ekstrak etanol buah juwet dengan dosis 40%, 60%, 80%, dan 100% pada tiap *paper discs*, kemudian didiamkan selama kurang lebih 1 jam. Suspensi *S. epidermidis* digoreskan pada permukaan media agar secara merata. *Paper discs* diletakan di cawan petri sesuai dengan konsentrasi dan kontrol yang sudah ditandai sebelumnya. Cawan petri yang sudah dimasukan *paper discs* kemudian diinkubasi di inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya, cawan petri dikeluarkan dari inkubator dan observasi zona inhibisi akan dilakukan setelah masa inkubasi selesai. Adanya area yang bersih/jelas (*clear zone*) pada media agar menandakan bahwa bakteri sensitif terhadap antibakteri yang digunakan, dalam hal ini adalah ekstrak buah juwet (*Syzygium cumini*). Kemudian dilakukan pengukuran diameter *clear zone* dengan menggunakan *calipers*/jangka sorong dalam milimeter dengan mengukur zona luar *paper discs*. Setelah itu hasil pengukuran dicatat dan dianalisis menggunakan program komputer SPSS.

Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas

Udayana/Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar Bali, dengan Nomor *Ethical Clearance* 2021.01.1.1212.

HASIL

Hasil pengukuran diameter zona hambat pada setiap kelompok dengan 5 kali pengulangan dapat dilihat pada **Gambar 1 dan Tabel 1**.



Gambar 1. Hasil uji antibakteri ekstrak etanol buah juwet (*Syzygium cumini*) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan metode *disc diffusion* dengan 5 kali pengulangan.

Tabel 1. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol buah juwet (*Syzygium cumini*) terhadap *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

	Diameter Zona Hambat (mm)					Mean ± SD (mm)
	I	II	III	IV	V	
K1 : Kontrol Positif	26	27	28	27	26	26.8±0.83*
K2 : Kontrol Negatif	0	0	0	0	0	0
P1 : Ekstrak konsentrasi 40%	11	11	12	13	8	11±1.87*
P2 : Ekstrak konsentrasi 60%	14	13	13	14	10	12.8±1.64*
P3 : Ekstrak konsentrasi 80%	16	14	15	16	11	14.4±2.07*
P4 : Ekstrak konsentrasi 100%	17	16	16	17	13	15.8±1.64*

Catatan * = p<0.05 (signifikan)

Berdasarkan hasil uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk test*, didapatkan nilai $p > 0.05$ sehingga dapat disimpulkan data terdistribusi dengan normal pada kelompok kontrol maupun perlakuan. Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas menggunakan *Levene test*, didapatkan nilai $p > 0.05$ sehingga dapat disimpulkan data pada penelitian homogen. Selanjutnya dilakukan uji beda rerata parametrik

Tabel 2. Uji Multikomparasi *Post Hoc Turkey*

	Ekstrak 40%	Ekstrak 60%	Ekstrak 80%	Ekstrak 100%	Kontrol (-)	Kontrol (+)
Ekstrak 40%		0,443	0,019*	0,001*	0,000*	0,000*
Ekstrak 60%			0,568	0,047*	0,000*	0,000*
Ekstrak 80%				0,695	0,000*	0,000*
Ekstrak 100%					0,000*	0,000*
Kontrol (-)						0,000*
Kontrol (+)						

Catatan : * = $p < 0.05$ (signifikan)

PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa pada ekstrak etanol buah juwet (*Syzygium cumini*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* baik pada konsentrasi terendah hingga tertinggi yakni 40%, 60%, 80%, dan 100%. Ekstrak etanol buah juwet dengan konsentrasi 100% memiliki rata-rata zona hambat terbesar dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Dari data hasil penelitian ini juga menunjukkan adanya peningkatan rata-rata diameter daya hambat dari ekstrak etanol buah juwet konsentrasi 40% sampai konsentrasi 100%. Berdasarkan daya hambat yang ditemukan, dapat diasumsikan bahwa efek ekstrak etanol buah juwet terhadap pertumbuhan *S. epidermidis* bersifat *dose-dependent*.

Berdasarkan sebuah penelitian, terdapat 4 kategori kuat atau lemahnya daya hambat yang dimana indikatornya merupakan diameter zona hambat. Daya hambat dikatakan lemah jika diameter zona hambat ≤ 5 mm, daya hambat sedang jika diameter zona hambat 6-10mm, daya hambat dikatakan kuat jika diameter zona hambatnya 11-20mm, dan kategori terakhir yaitu daya hambat dikatakan sangat kuat jika diameter zona hambat ≥ 21 mm.⁹ Jika dibandingkan dengan hasil penelitian pada **Tabel 1**, maka ekstrak etanol buah juwet dengan konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100% memiliki daya hambat yang tergolong kuat terhadap pertumbuhan bakteri *S. epidermidis*, dimana daya hambat terendah ada pada ekstrak dengan konsentrasi 40% dan daya hambat terkuat ada pada ekstrak dengan konsentrasi 100%.

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini menggunakan antibiotik gentamicin. Gentamicin merupakan antibiotik golongan *aminoglycosides*, gentamicin sebagai antibiotik dapat mengikat reseptor yang berada pada subunit 30S ribosom. Fungsi dari ribosom ini adalah untuk mensintesis protein, ketika sebuah antibiotik berikatan

menggunakan *One Way Anova test* dan didapatkan nilai $p = 0.000$ ($p < 0.05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rerata antar kelompok yang signifikan secara statistik. Analisis data dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* menggunakan *Turkey*, hasil dapat dilihat pada **Tabel 2**.

dengan reseptor subunit 30S ribosom maka bakteri tersebut tidak dapat membentuk protein.¹⁰

Staphylococcus epidermidis merupakan bakteri gram positif. Struktur anatomi dari bakteri gram positif yakni dibagian terluar terdapat lapisan tebal dari peptidoglikan sedangkan pada bakteri gram negatif lapisan terluarnya adalah lapisan lipopolisakarida. Selain itu jika dibandingkan dengan bakteri gram positif, bakteri gram negative memiliki bagian peptidoglikan yang lebih tipis. Bakteri memiliki dinding sel, dimana struktur ini penting untuk menjaga *survival* dari bakteri itu sendiri dan menjadi target dari kerja antibiotik.¹¹ Struktur peptidoglikan ini yang menjadi alasan dinding sel bakteri gram positif mudah dirusak oleh antibiotik dan beberapa jenis senyawa aktif/metabolit sekunder dari ekstrak tanaman, dalam hal ini adalah ekstrak buah juwet.

Ekstrak buah juwet memiliki beberapa kandungan aktif/metabolit sekunder didalamnya yaitu flavonoid, alkaloid, polifenol, terpenoid, dan tanin.⁵ Senyawa alkaloid dan polifenol mampu mengganggu struktur peptidoglikan yang berada pada dinding sel bakteri gram positif, ketika struktur tersebut terganggu bisa menyebabkan terjadinya kebocoran elektrolit dan terganggunya morfologi bakteri sehingga bakteri bisa mati.¹² Senyawa flavonoid mampu merusak membran sitoplasma, menghambat sintesis asam nukleat, serta menghambat metabolisme energi dari bakteri.¹³ Bakteri gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang bersifat polar dan flavonoid juga bersifat polar, sehingga kandungan flavonoid bisa menembus lapisan peptidoglikan tersebut.¹⁴

Senyawa terpenoid mampu merusak porin yang akan mengakibatkan terjadinya gangguan pada permeabilitas bakteri sehingga nutrisi dari bakterinya berkurang dan menghambat tumbuh kembang bakteri atau bahkan mati, dan senyawa tanin memiliki mekanisme dengan menghambat kerja enzim reverse transkriptase serta kerja dari DNA topoisomerase.^{15,16} Gabungan dari beberapa mekanisme kerja senyawa ini yang membuat ekstrak juwet memiliki daya hambat pada pertumbuhan *S. epidermidis*.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak etanol buah juwet (*Syzygium cumini*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis*. Ekstrak etanol buah juwet (*Syzygium cumini*) pada konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100% memiliki perbedaan daya hambat terhadap pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Magin P, Adams J, Heading G, Pond D, Smith W. Psychological sequelae of acne vulgaris: results of a qualitative study. *Can Fam Physician*. 2006;52(8):978-9.
2. Khan R, Islam B, Akram M, Shakil S, Ahmad A, Ali S et al. Antimicrobial Activity of Five Herbal Extracts Against Multi Drug Resistant (MDR) Strains of Bacteria and Fungus of Clinical Origin. *Molecules*. 2009;14(2):586-597.
3. European Centre for Disease Prevention and Control. *Multidrug-resistant Staphylococcus epidermidis*. 2018.
4. Chagas V, França L, Malik S, Paes A. *Syzygium cumini* (L.) skeels: a prominent source of bioactive molecules against cardiometabolic diseases. *Frontiers in Pharmacology*. 2015;6.
5. Widayastuti W, Hilaliyati N. Potensi Ekstrak Buah Jambu Jamblang (*Syzygium cumini* L.Skeel) Sebagai Antioksidan dan Tabir Surya. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*. 2021;4(1):112-119.
6. Yadav, A. K., Saraswat, S., Sirohi, P., Rani, M., Srivastava, S., Singh, M. P., & Singh, N. K. Antimicrobial action of methanolic seed extracts of *Syzygium cumini* Linn. on *Bacillus subtilis*. *AMB Express*, 2017;7(1):1–10.
7. Chitra, D., Sharma, V., Charumathy, M., Gangadhar, L. and S, A., *Studies on Antimicrobial Activity of Syzygium Cumini and Syzygium Alternifolium*, 2020;23(7):1168-1173.
8. Chismirina, S., Andayani, R. and Sungkar, S., The Antibacterial Effects of *Syzygium Cumini* Fruit Mouthwash Against *Streptococcus mutans* as an Agent of Dental Caries. *Proceeding Book of the 3rd International Conference on Multidisciplinary Research*, 2020;3(1):31-37.
9. Sudrajat, Sadani, & Sudiastuti. Analisis Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kasar Etanol Daun Meranti Merah (*Shorea leprosula* Miq.) dan Sifat Antibakterinya Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J. Trop. Pharm. Chem*. 2012, 1(4), 303–311.
10. Lintong, P. M., Kairupan, C. F., & Sondakh, P. L. N. Gambaran Mikroskopik Ginjal Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) Setelah Diinduksi Dengan Gentamisin, *Jurnal Biomedik*, 2012; 4(3), 185–192.
11. Rajagopal, M., & Walker, S. Envelope structures of gram-positive bacteria. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 2017;404:1–44.
12. Mikłasińska-Majdanik, M., Kepa, M., Wojtyczka, R. D., Idzik, D., & Wąsik, T. J. Phenolic compounds diminish antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* clinical strains. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2018;15(10): 1–18.
13. Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2011;38(2): 99–107.
14. Salni, H.M., dan Ratna, W.M. (2011). Isolasi Senyawa Antibakteri Dari Daun Jengkol (*Pithecolobium lobatum* Benth) dan Penentuan Nilai KHM-nya. *Jurnal Penelitian Sains*, 2011;14(1):13-22.
15. Aini Haryati, N., Saleh, C., & Erwin. (2015). Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, 2015;3(1):35-40.
16. Egra, S., Rofin, M., Adiwena, M., Jannah, N., Kuspradini, H., & Mitsunaga, T. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Bakau (*Rhizophora mucronata*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Ralstonia Solanacearum* Penyebab Penyakit Layu (Antimicrobial activity of Mangrove Extract (*Rhizophora mucronata*) inhibit *Ralstonia solanacearum* causes of Wilt). *Agrovigor*, 2019;12(1):26–31.

