

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Terong Ungu (*Solanum melongena* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

Antibacterial Activity Test of Purple Eggplant (*Solanum Melongena* L.) Ethyl Acetate Extract Against *Staphylococcus Epidermidis* ATCC 12228 Bacteria

Alifia Nabila Salsabilla Zein¹, Setiawati Setiawati^{2,*}, Nia Krisniawati³, Eman Sutrisna²

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Indonesia

²Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Indonesia.

³Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Indonesia

*Email Korespondensi: setiawati@unsoed.ac.id

Abstrak

Staphylococcus epidermidis merupakan bakteri yang paling sering menyebabkan infeksi di rumah sakit (*Health care Associated Infections*) dan sering ditemukan resisten terhadap antibiotik sehingga sulit untuk diterapi. Salah satu bahan alam yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan makanan oleh masyarakat dan diketahui memiliki efek antibakteri adalah terong ungu (*Solanum melongena* L.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etil asetat terong ungu sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan metode mikrodilusi untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan metode *spread plate* untuk menentukan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari ekstrak etil asetat terong ungu terhadap *S. epidermidis* ATCC 12228. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 5mg/mL, 10mg/mL, 20 mg/mL, 40mg/mL, kontrol negatif, kontrol DMSO 10%, serta kontrol media. Hasil penelitian didapatkan nilai KHM ekstrak etil asetat terong ungu terhadap *S. epidermidis* ATCC 12228 sebesar 10mg/mL dan nilai KBM sebesar 20mg/mL. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etil asetat terong ungu, semakin besar persentase penghambatannya. Ekstrak etil asetat terong ungu mempunyai potensi sebagai antibakteri terhadap *S. Epidermidis* ATCC 12228.

Kata Kunci: Terong Ungu, KBM, KHM, *Staphylococcus epidermidis*

Abstract

Staphylococcus epidermidis is the bacterium that most often causes infections in hospitals (Health care Associated Infections) and frequently found to be resistant to antibiotics, making them hard to treat. Purple eggplant (*Solanum melongena L.*) is one of the natural ingredients widely used as a food ingredient in the community with its antibacterial effect is known. This study aimed to determine the activity of purple eggplant ethyl acetate extract as an antibacterial for *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. This research is an experimental study using the microdilution method to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and the spread plate method to determine the minimum bactericidal concentration (MBC) of the purple eggplant ethyl acetate extract against *S. epidermidis* ATCC 12228. The extract concentrations used were 5 mg/mL, 10 mg/mL, 20 mg/mL, 40 mg/mL, negative control, 10% DMSO control, and media control. The results showed that the MIC and MBC value of purple eggplant ethyl acetate extract against *S. epidermidis* ATCC 12228 were 10 mg/mL and 20 mg/mL, respectively. Increasing percentage of inhibition in line with the concentration used. Purple eggplant ethyl acetate extract has the potential as an antibacterial for *S. Epidermidis* ATCC 12228.

Keywords: Purple Eggplant, MBC, MIC, Staphylococcus epidermidis

Received: 01 Februari 2023

Accepted: 06 Maret 2023

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v5i2.1735>



Copyright (c) 2023, Jurnal Sains dan Kesehatan (J. Sains Kes.). Published by Faculty of Pharmacy, University of Mulawarman, Samarinda, Indonesia. This is an Open Access article under the CC-BY-NC License.

How to Cite:

Zein, A.N.S, Setiawati, S., Krisniawati, N., Sutrisna, E., 2023. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Terong Ungu (*Solanum melongena L.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. *J. Sains Kes.*, 5(2). 157-163. DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v5i2.1735>

1 Pendahuluan

Staphylococcus epidermidis (*S. epidermidis*) merupakan bakteri Gram positif yang menjadi penyebab paling sering terjadinya *Health care Associated Infections* (HAIs) [1]. Prevalensi HAIs di rumah sakit dunia mencapai 9% atau kurang lebih 1,4 juta pasien rawat inap terkena infeksi nosokomial. Sementara itu, prevalensi HAIs di Indonesia mencapai 9,1% dengan variasi 6,1%-16%. Infeksi Aliran Darah Primer (IADP), salah satu infeksi HAIs yang terbanyak disebabkan bakteri *S. epidermidis* dengan kejadian

mencapai 34%. Pasien dengan IADP berisiko 5 kali lebih tinggi mengalami kematian dibandingkan dengan yang tidak mengalami IADP [2], [3]. *Staphylococcus epidermidis* diketahui memiliki eksopolimer yang menyebabkan infeksi sulit dilawan dengan sistem imun tubuh. Strain *S. epidermidis* juga resisten terhadap *methicillin*, *trimethoprim*, *clindamycin*, *fusidic acid*, dan *fluoroquinolones*. Oleh karena itu, dibutuhkan pengembangan dan penemuan obat baru, salah satunya dengan memanfaatkan tumbuhan [4].

Tumbuhan yang diketahui memiliki efek sebagai antibakteri adalah terong ungu (*Solanum melongena L.*). Kandungan terong ungu seperti asam kafeat, asam klorogenat, dan flavonoid mampu melawan berbagai patogen bakteri dan jamur dengan berbagai mekanisme [5]. Terong ungu mampu merusak membran bakteri hingga menghambat sintesis asam nukleat pada bakteri [6]. Penelitian sebelumnya mengatakan bahwa, ekstrak etanol kulit terong ungu memiliki aktifitas bakteriostatik terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Aktivitas hambatan ekstrak etanol terong ungu pada konsentrasi 45% sebanding dengan ciprofloxacin sebagai kontrol positif [7]. Berdasarkan penelitian sebelumnya, ekstrak buah terong ungu tanpa kulit dengan konsentrasi 1 mg/ml menunjukkan zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans* [8].

Penelitian tentang aktivitas ekstrak terong ungu terhadap bakteri *S. epidermidis* masih jarang dilakukan. Hal tersebut mendorong penulis melakukan penelitian dengan menggunakan ekstrak terong ungu untuk diuji aktivitasnya terhadap bakteri *S. epidermidis*. Beberapa penelitian yang sudah dilakukan hanya menggunakan kulitnya saja atau buahnya saja dari terong ungu, padahal kedua bagian tersebut memiliki potensi sebagai antibakteri. Oleh karena itu, penulis menggunakan ekstrak buah dan kulit terong ungu untuk diuji aktivitasnya terhadap bakteri *S. epidermidis*.

2 Metode Penelitian

2.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental yang akan menguji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat terong ungu. Aktivitas antibakteri dilihat melalui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), dan persentase penghambatan dari ekstrak etil asetat terong ungu terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. Konsentrasi ekstrak yang akan diuji, yaitu 5mg/mL, 10mg/mL, 20mg/mL, dan 40 mg/mL

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah blender (Philips), oven, inkubator (harutech), autoclave (Biobase), evaporator (Bibby RE), cawan petri (Citotest), jarum ose, bunsen, spirtus, korek api, mikropipet, bluetip (Axygen), tabung erlenmeyer (Iwaki), rak dan tabung reaksi, vortex, microplate 96-wells (Iwaki), timbangan digital (Osuka), kertas label, object glass, cover glass, dan penggaris. Bahan yang digunakan adalah terong ungu, mueller hinton agar (Sigma Aldrich), media Brain Heart Infusion Broth (BHI) (Sigma Aldrich), biakan bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, larutan standar McFarland 0,5, larutan etil asetat (Merck), aquades (water one) kristal violet (Sigma Aldrich), Phosphate Buffer Saline (PBS) (Sigma Aldrich), dan Dimetil sulfoksida (DMSO 100%) (Sigma Aldrich).

2.3 Determinasi Tumbuhan

Tumbuhan terong ungu didapatkan dari petani lokal kemudian dilakukan determinasi di Laboratorium Lingkungan Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman.

2.4 Pembuatan Ekstrak Terong Ungu

Ekstrak terong ungu dibuat dengan teknik maserasi yang akan menjamin zat aktif yang diekstrak tidak mengalami kerusakan. Terong ungu dicuci dan dikeringkan selama 72 jam dengan suhu 50°C, lalu dihaluskan hingga berbentuk tepung. Sebanyak 700gram tepung terong ungu direndam dalam 5 liter etil asetat selama 5 hari. Ekstrak dipekatkan hingga terbentuk konsistensi seperti pasta [9].

2.5 Identifikasi Bakteri

Bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. Identifikasi bakteri dilakukan untuk memastikan bakteri yang ditanam benar dan tidak ada kontaminasi. Identifikasi dilakukan dengan pengamatan morfologi koloni dan pengecatan Gram

2.6 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum

Penentuan KHM menggunakan metode mikrodilusi dengan mikroplate 96 well. Sebanyak 120 µl medium BHI dimasukkan ke

dalam sumuran pada baris A kemudian ditambahkan 80 µl ekstrak etil asetat terong ungu dengan konsentrasi 40mg/mL dan suspensi bakteri *S. epidermidis* yang sudah disetarakan dengan *Mc Farland* sebanyak 5µl. Baris B-D berisi media 100 µl, kemudian dilakukan pengenceran serial sehingga baris B berisi konsentrasi ekstrak 20mg/mL dan seterusnya. Baris B-D juga ditanam bakteri sebanyak 5 µl. Baris E berisi kontrol negatif tanpa penambahan ekstrak, baris F berisi kontrol pelarut, dan baris H berisi kontrol media. Mikroplate diinkubasi selama 24 jam. Penentuan KHM dilakukan dengan pengamatan kekeruhan secara visual. Nilai KHM ditentukan pada konsentrasi terkecil larutan yang jernih sehingga menandakan adanya penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri [10].

2.7 Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum

Penentuan KBM menggunakan metode *spread plate*. Larutan di mikroplate pada masing-masing konsentrasi ditanam pada media *mueller hinton agar* dengan teknik *spread plate*. Media diinkubasi selama 24 jam, kemudian dihitung jumlah koloninya. Nilai KBM ditentukan pada konsentrasi terkecil yang mampu membunuh 99,9% bakteri [10].

2.8 Persentase Penghambatan

Jumlah koloni dihitung dengan menggunakan rumus TPC (persamaan 1).

$$\text{Jumlah koloni/mL} = \frac{A \times 10^a}{n} \quad (\text{persamaan 1})$$

A : Jumlah koloni *S. epidermidis* ATCC 12228

a : Faktor pengenceran

n : Volume suspensi bakteri yang dituangkan pada agar

Kemudian dimasukkan ke rumus persentase penghambatan (persamaan 2).

$$\text{Persentase penghambatan} = \frac{K1 - K0}{K0} \times 100\% \quad (\text{persamaan 2})$$

K1: Konsentrasi yang diketahui

K0: Konsentrasi kontrol

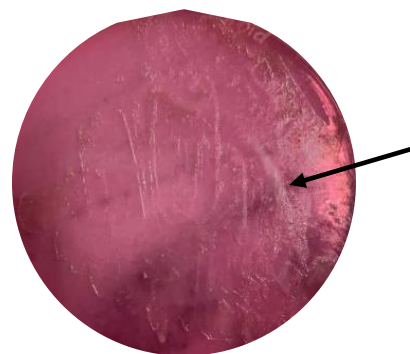
2.9 Analisis Data

Analisis data secara univariat untuk mendeskripsikan nilai KHM, KBM, dan persentase penghambatan. Data disajikan dalam bentuk tabel dan diagram.

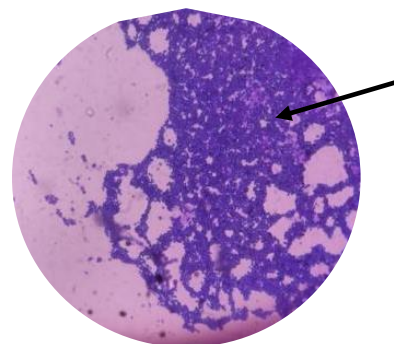
3 Hasil dan Pembahasan

3.1 Identifikasi Bakteri

Hasil identifikasi bakteri melalui pengamatan morfologi koloni dan pengecatan Gram dapat dilihat pada gambar 1 dan gambar 2. Pada gambar 1 tampak koloni berwarna putih, bulat, halus, dan meninggi. Hasil pengecatan Gram menunjukkan bakteri Gram positif, bulat, dan bergerombol. Hal tersebut sesuai dengan yang termuat di dalam buku *A Photographic Atlas Microbiology Laboratory* edisi keempat, yang menjelaskan morfologi koloni dan morfologi sel *S. epidermidis* [11].



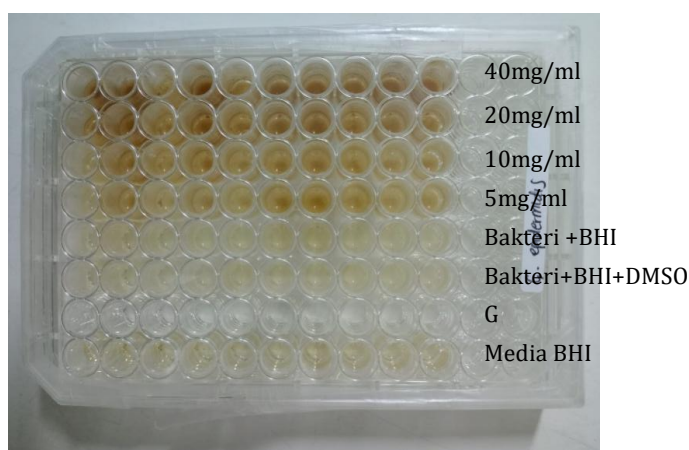
Gambar 1 Morfologi koloni bakteri *S. epidermidis* ATCC 12228 pada medium MSA. Tampak koloni berwarna putih, bulat, mengkilap (tanda panah hitam)



Gambar 2 Pengecatan Gram bakteri *S. epidermidis* ATCC 12228 dilihat di bawah mikroskop perbesaran 100X. Tampak sel-sel bakteri *S. epidermidis* berwarna ungu, berbentuk bulat, bergerombol (tanda panah hitam).

3.2 Penentuan KHM

Hasil uji aktivitas antibakteri dengan KHM dapat dilihat pada gambar 3 dan tabel 1. Pada konsentrasi 10mg/mL, 20 mg/mL, dan 40mg/mL tampak larutan jernih. Sedangkan pada konsentrasi 5mg/mL tampak larutan keruh. Pada kontrol negatif dan kontrol pelarut juga tampak keruh, sedangkan pada kontrol media tampak jernih karena tidak ditanam bakteri. Oleh karena itu, konsentrasi terkecil yang menghambat pertumbuhan bakteri dan ditentukan sebagai nilai KHM adalah pada konsentrasi 10mg/mL. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa ekstrak terong ungu 15mg/ml sudah memiliki aktivitas antibakteri dengan menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* [7].



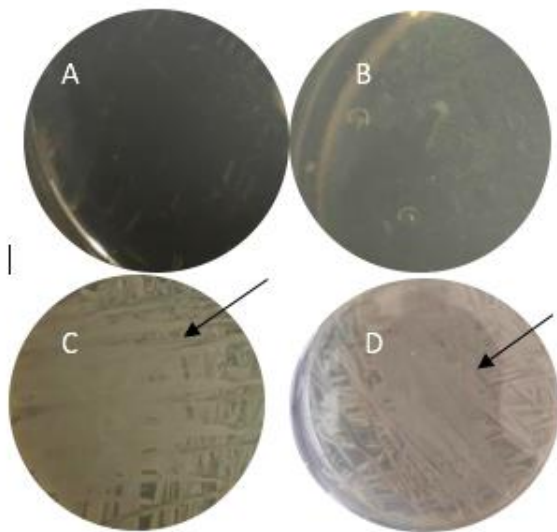
Gambar 3 Uji hambatan ekstrak etil asetat terong ungu dengan metode mikrodilusi terhadap bakteri *S. epidermidis* ATCC 12228

Tabel 1 Hasil Pengamatan Kekeruhan pada Mikroplate

Baris Mikroplate	Konsentrasi (mg/mL)	Tingkat Kekeruhan
A	40	Jernih
B	20	Jernih
C	10	Jernih
D	5	Keruh
E	Kontrol negatif	Keruh
F	Kontrol DMSO	Keruh
H	Kontrol media	Jernih

3.3 Penentuan KBM

Hasil uji aktivitas antibakteri dengan KBM dapat dilihat pada gambar 4. Pada konsentrasi 20 mg/mL dan 40mg/mL tampak tidak ada pertumbuhan koloni bakteri. Sedangkan pada konsentrasi 10mg/mL dan 5mg/mL tampak adanya pertumbuhan koloni. Pada kontrol negatif dan kontrol pelarut juga terdapat pertumbuhan koloni, sedangkan pada kontrol media tidak terdapat koloni bakteri karena tidak ditanam bakteri. Oleh karena itu, konsentrasi terkecil yang membunuh 99,9% bakteri dan ditentukan sebagai nilai KBM adalah pada konsentrasi 20mg/mL, sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyebutkan ekstrak terong ungu mampu membunuh 99,9% bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 8mg/ml [12]. Nilai KBM yang didapatkan sebesar 20mg/mL dan KHM sebesar 10 mg/mL, sehingga nilai perbandingan KHM dengan KBM adalah 2 (nilai KBM/KHM \leq 4) yang menunjukkan ekstrak etil asetat terong ungu bersifat mempunyai aktivitas antibakteri sebagai bakterisidal [13]. Terong ungu memiliki kandungan metabolit sekunder alkaloid dan flavonoid yang berperan sebagai antibakteri. Senyawa alkaloid bisa menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif maupun Gram negatif [14]. Senyawa turunan alkaloid yang terdapat pada terong ungu adalah tomatidin yang bekerja dengan menghambat pembentukan ATP sub unit C pada bakteri, terutama pada bakteri Gram positif seperti *Staphylococcus*. Pada bakteri *S. epidermidis* selain sebagai sumber energi utama, ATP dibutuhkan dalam pembentukan biofilm. Senyawa selanjutnya adalah flavonoid yang bekerja dengan menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi. Senyawa turunan flavonoid yang terdapat pada terong ungu adalah antosianin yang bekerja dengan merusak membran sel bakteri [15],[16]



Gambar 4 Pertumbuhan koloni bakteri *S. epidermidis* ATCC 12228 pada media MHA. (A) pemberian ekstrak konsentrasi 40 mg/mL; (B) pemberian ekstrak konsentrasi 20 mg/mL; (C) pemberian ekstrak konsentrasi 10 mg/mL; (D) tanpa pemberian ekstrak. Tanda panah hitam menunjukkan pertumbuhan koloni *S. epidermidis* berwarna putih, mengkilap.

3.4 Persentase Penghambatan

Hasil persentase penghambatan dapat dilihat pada tabel 2. Pada konsentrasi 40mg/mL dan 20mg/mL persentase penghambatannya mencapai 100%, sedangkan pada konsentrasi 10mg/mL dan 5mg/mL berturut-turut sebesar 85% dan 0%. Hal tersebut menunjukkan semakin besar konsentrasi semakin besar nilai persentase penghambatan.

Tabel 2 Hasil pengamatan jumlah koloni bakteri dan persentase penghambatan ekstrak etil asetat terong ungu terhadap bakteri *S. epidermidis* ATCC 12228

Plate	Jumlah Koloni Bakteri	TPC (CFU/mL)	Persentase penghambatan
A	0	0	100%
B	0	0	100%
C	85.000	17×10^5	15%
D	100.000	2×10^6	0%
E	100.000	2×10^6	0%
F	100.000	2×10^6	0%
H	0	0	

Keterangan: A=konsentrasi 40 mg/mL; B=konsentrasi 20 mg/mL; C=konsentrasi 10 mg/mL; D=konsentrasi 5 mg/mL; E=kontrol negatif; F=kontrol DMSO 10%; H=kontrol media

4 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa nilai KHM dan KBM ekstrak etil asetat terong terhadap bakteri *S. epidermidis* berturut-turut adalah sebesar 10mg/mL dan 20mg/mL. Persentase penghambatan dari konsentrasi 40mg/mL dan 20mg/mL ekstrak etil asetat terong ungu terhadap bakteri *S. epidermidis* mencapai 100%. Oleh karena itu, ekstrak etil asetat terong ungu mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. epidermidis*. Aktivitas antibakteri meningkat sejalan dengan peningkatan konsentrasi ekstrak etil asetat terong ungu.

5 Pernyataan

5.1 Konflik Kepentingan

Penulis tidak memiliki konflik kepentingan dalam penelitian ini.

5.2 Etik

Penelitian ini telah dinyatakan layak oleh komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman dengan nomor: 016/KEPK/PE/IV/2022.

6 Daftar Pustaka

- [1] Nuryastuti, T. 2018. *Staphylococcus epidermidis*: How to Turn From Commensal to be a Pathogen Lifestyle. *Journal of The Medical Sciences*. Vol.50(1) : 113-127
- [2] Rahmawati, S. A., dan Inge, D. 2021. Infection Prevention and Control Program In Hospital. *Journal of Health Science and Prevention*. Vol.5(1) : 23-32
- [3] McDonald, M.K., Kathryn, A.C., Katie, S.G., Brian, G. E., Madan, J. dkk. 2018 Defining Incidence and Risk Factors for Catheter-Associated Bloodstream Infections in an Outpatient Adult Hematopoietic Cell Transplantation Program. *Infectious Disease*. Vol 24(10) : 2081-2087
- [4] Otto, M. 2009. *Staphylococcus epidermidis* the Accidental Pathogen. *Nature Reviews Microbiology*. Vol. 7(8) : 555-567
- [5] Sun, Z., Xinxiao, Z., Haihong, W., Hongyi, W., Huan, B., Yongzhi, Z. 2020. Antibacterial Activity and Action Mode Of Chlorogenic Acid Against *Salmonella Enteritidis*, A Foodborne Pathogen in Chilled Fresh Chicken. *World J Microbiol Biothechnol*. Vol. 36:1-10

- [6] Ramadani, A., Amelia, R., dan Nurul, A. 2022. Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Kulit Buah Terong Ungu (*Solanum melongena L.*) sebagai Antihiperqlikemik terhadap Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Kesehatan Yamasi Makasar*. Vol.6(1) : 112-124
- [7] Purnamasari, D., Rissa, L.V., Jatmiko, S. 2018. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Kulit Buah Terong Ungu (*Solanum melongena L.*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherechia coli*. *Inovasi Teknik Kimia*. Vol. 3(1) : 53-58
- [8] Alkaltham, M. S., Mohammed, A. A., Arzoo, S., Husain, F. M., Alzahrani, A. 2021. Bioactive and Antimicrobial Properties of Eggplant (*Solanum melongena L.*) under Microwave Cooking. *Sustainability*. Vol.13(3) : 1519
- [9] Lestari, E., Ni, K.S., Mappiratu. 2019. Kajian Aktivitas Antioksidan Mikrokapsul Ekstrak Kulit Terong Ungu (*Solanum melongena L.*). *Kovalen*. Vol.5(3): 299-307
- [10] Lusida, T.T.E., Bambang, H., Sudarno. 2017. The Antibacterial Effect Of Roselle Extract Against *Staphylococcus epidermidis*. *Indonesian Journal of Tropical and Infectious Disease*. Vol.6(4): 88-91
- [11] Leboffe, M. J., dan Burton, E. P. 2011. *A Photographic Atlas For The Microbiology Laboratory*. Edisi 4. Colorado:Morton.
- [12] Silva, G. F. P., Eliana, P., Bruno, M., Dejan, S., Marina, S., Ricardo C. C., dkk. 2020. Eggplant Fruit (*Solanum melongena L*) and Bio-Residues as Source of Nutrients, Bioactive Compounds, and Food Colorants, Using Innovative Food Technologies. *Journal Applied Sciences MDPI*. Vol. 11(1): 1-23
- [13] Mogana, R., Adhikari, A., Tzar, N., Ramliza, R., Wiart, C. 2020. Antibacterial Activities of the Extracts, Fractions and Isolated Compounds from Canarium patentinervium Miq. Against Bacterial Clinical Isolates. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. Vol 20(55):1-11
- [14] Nurhasanah dan Endang, S. G. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) Terhadap Bakteri MDR (*Multi Drug Resistant*) dengan Metode KLT Bioautografi. *Jurnal Biosains*. Vol.6(2) : 45-52
- [15] Davila, U. P., Cristina, U., Salvador, U. C. 2020. Metabolism, ATP Production and Biofilm Generation by *Staphylococcus epidermidis* In Either Respiratory Or Fermentative Conditions. *AMB Express*. Vol. 10(31): 1-8
- [16] Sun, X.H., Tong, T. Z., Cai, H. W., Wei, Q. L., Yong, Z., Ying, J. P. dkk. 2018. Antibacterial effect and mechanism of anthocyanin rich Chinese wild blueberry extract on various foodborne pathogens. *Food control*. Vol.94(3): 155-161