



Perbedaan Daya Antibakteri Berdasarkan Pelarut Pada Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri

Salsabila Almira Taufani¹, Rahmat Febriawan²

¹ Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

² Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Corresponding Author: Salsabila Almira Taufani,
Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran,
Universitas Lampung.
E-Mail: almirasalsabila31@gmail.com

Received Juni 27, 2021; Accepted Juli 02, 2021; Online Published Juli 14, 2021

Abstrak

Pepaya merupakan tanaman tropis yang dikenal memiliki banyak khasiat bagi kesehatan seperti sebagai antioksidan, antiinflamasi, antifungi, hingga antibakteri. Banyak penelitian yang sudah dilakukan terhadap manfaat dari bagian-bagian tumbuhan pepaya, terutama penelitian terhadap daun pepaya. Ekstrak daun pepaya terkenal dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri karena memiliki kemampuan antibakterial. Mayoritas peneliti di Indonesia yang meneliti daya antibakteri ekstrak suatu bahan yang berasal dari tumbuhan menggunakan etanol sebagai bahan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak. Tujuan studi literatur ini adalah untuk mengetahui jenis pelarut apa yang paling cocok digunakan untuk mengekstraksi daun pepaya sehingga hasilnya paling optimal. Metode penelitian ini adalah studi literatur dengan menggunakan data sekunder dari penelitian yang sebelumnya sudah dilakukan. Hasil studi literatur mengungkapkan bahwa dari beberapa senyawa pelarut yang digunakan pada ekstraksi daun pepaya yang diujikan pada bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, dan *Staphylococcus aureus* etanol merupakan senyawa paling tinggi tingkat optimalisasinya sedangkan heksana yang paling rendah tingkat optimalisasinya dilihat dari diameter zona hambat yang terbentuk.

Keywords: *Bacillus cereus*; *Escherichia coli*; Daun pepaya; pelarut; *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Pepaya merupakan tanaman yang berasal dari Amerika Selatan dan Meksiko kemudian mulai menyebar luas ke negara tropis pada abad ke 17.¹ Tanaman ini memiliki batang berbentuk bulat tidak bercabang, dengan daun berbentuk jari yang letaknya di ujung batang.² Selain dimanfaatkan bagian buahnya untuk dikonsumsi, tanaman ini memiliki khasiat lain sebagai obat seperti pada bagian biji, buah, getah, dan daunnya.³



Gambar 1. Tanaman pepaya.

Banyak penelitian yang sudah dilakukan terhadap manfaat dari tanaman pepaya terutama bagian daunnya. Dalam bidang kesehatan tanaman ini memiliki khasiat sebagai antioksidan, antifungi, antiinflamasi, hingga antibakteri.⁴

Menurut penelitian Tuntun (2016) ekstrak daun pepaya memiliki efek antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang dimana proses pembuatan ekstraknya menggunakan pelarut etanol.⁵

Mayoritas peneliti di Indonesia dengan metode penelitian eksperimental yang menggunakan bahan uji yang berasal dari tumbuhan umumnya menggunakan

etanol sebagai bahan pelarut pembuatan ekstrak terutama penelitian terkait efek antibakterial. Urgensi dari studi literatur ini adalah untuk mengetahui apakah etanol merupakan pelarut terbaik dalam proses pembuatan ekstrak yang berbahan dasar tumbuhan khususnya bagian daunnya, atau ada pelarut lain yang efeknya bisa lebih optimal apabila digunakan dalam proses pembuatan ekstrak.

Studi literatur ini dilakukan dengan tujuan mengetahui senyawa apakah yang paling optimal apabila digunakan sebagai zat pelarut dalam mengekstraksi daun pepaya, yang dibuktikan dengan hasil diameter zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, dan *Staphylococcus aureus*.

ISI

METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan oleh penulis adalah studi literatur dengan data sekunder. Data dikumpulkan dari berbagai kepustakaan. Metode pengumpulan data dengan metode dokumentasi yang dilakukan dengan mengumpulkan informasi dari literatur yang berkaitan dengan rumusan masalah penelitian.⁶

HASIL PENELITIAN

Menurut penelitian Baskaran *et al* (2012) didapatkan hasil uji diameter zona hambat pada gambar 2.⁷

Organism	Ethanol	Methanol	Ethyl Acetate	Acetone	Chloroform	Petroleum ether	Hexane
<i>Escherichia coli</i>	8.30±0.26	7.17±0.15	9.17±0.15	8.07±0.12	13.17±0.29	-	-
<i>Micrococcus luteus</i>	8.23±0.25	6.00±0.00	7.07±0.12	-	15.17±0.29	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8.23±0.21	6.30±0.15	10.20±0.20	10.83±0.29	10.07±0.12	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	9.20±0.26	8.17±0.15	9.17±0.29	8.20±0.20	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6.17±0.15	-	8.07±0.12	8.17±0.15	12.17±0.29	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	8.20±0.20	7.00±0.00	7.17±0.29	6.0±0.00	8.07±0.12	-	-

Gambar 2. Diameter zona hambat ekstrak daun pepaya berbagai jenis pelarut terhadap pertumbuhan bakteri (mm).⁷

Secara berturut-turut diameter zona hambat yang dihasilkan ekstrak daun pepaya terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* sesuai urutan jenis pelarut pada gambar 2 (etanol, metanol, etil asetat, aseton, kloroform, heksana) adalah 8,3 mm, 7,17 mm, 9,17 mm, 8,07 mm, 13,17 mm, 0 mm. Untuk diameter zona hambat yang dihasilkan ekstrak daun pepaya terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* secara berurutan adalah 9,2 mm, 8,17 mm, 9,17 mm, 8,2 mm, 0 mm, 0 mm. Untuk diameter zona hambat yang dihasilkan ekstrak daun pepaya terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara berurutan adalah 8,2 mm, 7 mm, 7,17 mm, 6 mm, 8,07 mm, 0 mm.⁷

Berdasarkan gambar 2 dapat dilihat bahwa jenis pelarut yang paling baik dilihat dari diameter zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Escherichia coli* adalah kloroform dan yang paling buruk heksana. Pada bakteri *Bacillus cereus* jenis pelarut yang paling baik dilihat dari diameter zona hambat yang dihasilkan adalah etanol dan yang paling buruk adalah heksana dan kloroform. Sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* jenis pelarut yang paling baik dilihat dari diameter zona hambat yang dihasilkan adalah etanol dan yang paling buruk adalah heksana.⁷

Menurut penelitian Lohidas *et al* (2015) didapatkan hasil uji diameter zona hambat pada gambar 3.

Test organisms	Aqueous	Acetone	Chloroform	Ethanol
Bacterial strains				
<i>Escherichia coli</i>	12	10	12	14
<i>K. pneumoniae</i>	12	12	12	14
<i>Staph. aureus</i>	-	8	10	11
<i>Bacillus cereus</i>	10	11	10	12

Gambar 3. Diameter zona hambat ekstrak daun pepaya berbagai jenis pelarut terhadap pertumbuhan bakteri (mm).⁸

Secara berturut-turut diameter zona hambat yang dihasilkan ekstrak daun pepaya terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* sesuai urutan jenis pelarut pada gambar 3 (aqueous, aseton, kloroform, etanol) adalah 12

mm, 10 mm, 12 mm, 14 mm. Untuk diameter zona hambat yang dihasilkan ekstrak daun pepaya terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* secara berurutan adalah 10 mm, 11 mm, 10 mm, 12 mm. Untuk diameter zona hambat yang dihasilkan ekstrak daun pepaya terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara berurutan adalah 0 mm, 8 mm, 10 mm, 11 mm.⁸

Berdasarkan gambar 3 dapat dilihat bahwa jenis pelarut yang paling baik dilihat dari diameter zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Escherichia coli* adalah etanol dan pelarut yang paling buruk adalah aseton. Pada bakteri *Bacillus cereus* jenis pelarut yang paling baik dilihat dari diameter zona hambat yang dihasilkan adalah etanol dan yang paling buruk adalah aseton. Sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* jenis pelarut yang paling baik dilihat dari diameter zona hambat yang dihasilkan adalah etanol dan yang paling buruk adalah aquous.⁸

Menurut penelitian Asghar *et al* (2016) didapatkan hasil uji diameter zona hambat pada gambar 4.

Organisms	n-hexane	Dichloro-methan	n-butanol	Ethyl-acetate	Water	Methanol	Ethanol
Pulp							
<i>S.aureus</i>	7.8 ± 0.2 ^b	10.5 ± 0.5 ^{ab}	9.0 ± 0.5 ^b	11.9 ± 1.3 ^a	9.0 ± 0.5 ^b	13.0 ± 0.0 ^b	17.8 ± 0.0 ^a
<i>B. cereus</i>	6.8 ± 0.5 ^c	10.1 ± 0.5 ^{ab}	10.0 ± 0.2 ^a	12.2 ± 0.6 ^a	8.7 ± 0.8 ^b	12.9 ± 0.8 ^b	15.9 ± 0.8 ^b
<i>E. coli</i>	9.3 ± 0.1 ^a	11.2 ± 0.1 ^a	9.0 ± 0.1 ^b	10.1 ± 0.0 ^b	9.2 ± 0.0 ^b	11.5 ± 0.1 ^b	16.9 ± 0.0 ^a
<i>P. multocida</i>	7.9 ± 0.3 ^b	9.7 ± 0.7 ^b	10.0 ± 0.9 ^a	11.5 ± 1.2 ^a	7.9 ± 2.4 ^a	14.8 ± 1.7 ^a	18.1 ± 1.2 ^a
LSD 5 %	0.59***	0.94*	1.01*	1.76 ^{ns}	2.41 ^{ns}	1.80*	1.40*
Leaves							
<i>S.aureus</i>	6.7 ± 0.2 ^a	6.7 ± 0.2 ^b	5.9 ± 0.4 ^c	9.2 ± 0.3 ^a	7.3 ± 0.1 ^c	9.2 ± 0.2 ^b	16.2 ± 0.3 ^a
<i>B. cereus</i>	5.7 ± 0.2 ^b	5.2 ± 0.4 ^d	5.9 ± 0.4 ^c	7.2 ± 0.3 ^c	9.0 ± 0.2 ^b	11.0 ± 0.1 ^b	14.5 ± 0.2 ^b
<i>E. coli</i>	6.9 ± 0.0 ^a	6.3 ± 0.0 ^c	7.5 ± 0.1 ^b	8.2 ± 0.2 ^b	9.0 ± 0.1 ^b	10.0 ± 0.4 ^c	14.3 ± 0.1 ^c

Gambar 4. Diameter zona hambat ekstrak daun pepaya berbagai jenis pelarut terhadap pertumbuhan bakteri (mm).⁹

Secara berturut-turut diameter zona hambat yang dihasilkan ekstrak daun pepaya terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* sesuai urutan jenis pelarut pada gambar 4 (n-heksana, etil asetat, air, metanol etanol) adalah 6,9 mm, 8,2 mm, 9 mm, 10 mm, 14,3 mm. Untuk diameter zona hambat yang dihasilkan ekstrak daun pepaya terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* secara berurutan adalah 5,7 mm, 7,2 mm, 9 mm, 11 mm,

14,5. Untuk diameter zona hambat yang dihasilkan ekstrak daun pepaya terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara berurutan adalah 6,7 mm, 9,2 mm, 7,3 mm, 9,2 mm, 16,2 mm.⁹

Berdasarkan gambar 4 dapat dilihat bahwa jenis pelarut yang paling baik dilihat dari diameter zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Escherichia coli* adalah etanol dan yang paling buruk adalah n-heksana. Pada bakteri *Bacillus cereus* jenis pelarut yang paling baik dilihat dari diameter zona hambat yang dihasilkan adalah etanol dan yang paling buruk adalah n-heksana. Sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* jenis pelarut yang paling baik dilihat dari diameter zona hambat yang dihasilkan adalah etanol dan yang paling buruk adalah n-heksana.⁹

PEMBAHASAN

Pada hasil penelitian yang berasal dari literatur terdahulu didapatkan data bahwa uji daya antibakteri yang dilakukan pada 3 jenis bakteri yaitu *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, dan *Staphylococcus aureus* hasilnya adalah jenis pelarut etanol merupakan pelarut yang paling optimal dalam pembuatan ekstrak daun pepaya dilihat dari diameter zona hambat yang dihasilkan.^{7,8,9}

Perbedaan diameter zona hambat dapat terjadi walaupun jenis bahan terlarut yang dijadikan ekstrak sama, hal ini disebabkan karena efektivitas suatu ekstrak dapat dipengaruhi beberapa hal antara lain ukuran bahan, waktu ekstraksi, jumlah pelarut, dan jenis.¹⁰

Ukuran bahan memengaruhi tingkat optimalisasi daya suatu ekstrak, semakin luas permukaan bahan terlarut maka semakin mudah interaksi antara zat pelarut dan zat terlarut.¹¹

Waktu ekstraksi memengaruhi tingkat optimalisasi daya suatu ekstrak. Semakin lama waktu ekstraksi maka akan semakin lama terjadi interaksi antara zat pelarut dan zat

terlarut menyebabkan terjadinya keseimbangan konsentrasi intrasel dan ekstrasel bahan terlarut.¹⁰

Jenis pelarut memengaruhi tingkat optimalisasi suatu ekstrak karena pelarut yang bersifat polar akan melarutkan senyawa lain yang bersifat polar dan senyawa non-polar akan melarutkan senyawa non-polar juga, hal ini disebut prinsip *dissolve like*.¹²

Pada sumber studi literatur, penyebab perbedaan daya antibakteri pada ekstrak daun pepaya terhadap pertumbuhan ketiga bakteri disebabkan perbedaan jenis pelarut yang digunakan. Senyawa aktif hasil ekstraksi pada ekstrak daun pepaya seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan asam lemak merupakan senyawa berjenis polar.¹²

Beberapa zat pelarut seperti aquos, metanol, etanol merupakan senyawa polar. Etil asetat, aseton, kloroform merupakan senyawa semi polar. Sedangkan heksana, diklorometan merupakan golongan senyawa non-polar.¹³⁻¹⁸. Mengacu pada hal tersebut, semakin mendekati atau sama tingkat kepolaran suatu pelarut maka semakin optimal tingkat ekstraksi bahan yang didapat.

Diantara senyawa lainnya yang ada pada studi literatur ini, etanol merupakan senyawa yang tingkat polaritasnya paling tinggi walaupun masih dibawah air apabila dibandingkan dengan senyawa lainnya. Sehingga diameter zona hambat bahan yang diuji dengan menggunakan etanol sebagai pelarutnya maka hasilnya akan lebih baik dari pada senyawa lainnya. Begitu pula dengan heksana yang merupakan senyawa dengan tingkat kepolaritasan yang paling rendah dari senyawa lain yang ada pada studi literatur ini. Hal tersebut menyebabkan hasil diametetr zona hambat bakteri yang diuji dengan bahan pelarut berupa heksana hasilnya paling rendah diantara yang lain.

	Solvent	Polarity index Units	Boiling point °C	Density @ 25 °C g/mL
1	Petroleum ether	0.1	35.0–60.0	0.640
2	Hexane	0.1	69.0	0.659
3	Cyclohexane	0.2	80.7	0.779
4	Isooctane	0.4	99.2	0.690
5	Toluene	2.4	110.0–111.0	0.865
6	Benzene	2.7	80.0	0.874
7	Diethyl ether	2.8	34.6	0.706
8	Dichloromethane	3.1	39.8–40.0	1.325
9	Isopropanol	3.9	82.0	0.785
10	Chloroform	4.1	60.5–61.5	1.492
11	Acetone	5.1	56.0	0.791
12	Methanol	5.1	64.7	0.792
13	Ethanol	5.2	78.0	0.789
	Water (for comparison only)	10.2	100.0	1.000

Gambar 5. Indeks tingkat polaritas bahan pelarut.¹⁹

Apabila mengacu pada gambar 5, sebenarnya air merupakan pelarut dengan indeks polaritas tertinggi namun hasil ekstraksinya tidak lebih baik dari etanol dilihat dari diameter zona hambat. Hal ini disebabkan ekstrak etanol memiliki tingkat kepolaran yang sama/mendekati dengan semua senyawa yang terkandung didalam daun pepaya sedangkan tingkat kepolaran air walaupun lebih tinggi cenderung jauh tingkat kepolarannya dengan senyawa-senyawa tersebut. hal ini sesuai dengan pendapat Markham (1988).²⁰

Tingkat kepolaritasan turut memengaruhi kandungan senyawa aktif yang didapat, seperti pada gambar 6.

Extracting solvents	Leaves
n-Hexane***	05.70 ± 0.01 ^a
Dichloromethane***	06.64 ± 0.07 ^b
n-Butanol***	08.39 ± 0.02 ^b
Ethyl acetate ^{ns}	11.20 ± 0.07 ^a
Water***	12.61 ± 0.50 ^a
Methanol***	15.54 ± 0.12 ^b
Ethanol***	21.88 ± 0.06 ^a

Gambar 6. Nilai total flavonoid (mg CE/g) ekstrak daun pepaya berbagai pelarut.⁹

Hal ini sesuai pendapat Santoso *et al* (2012) dan Megha *et al* (2014) yang berpendapat bahwa kandungan total senyawa aktif dapat dipengaruhi oleh perbedaan pelarut dalam proses ekstraksi yang disebabkan oleh perbedaan tingkat polaritas dari zat pelarut.^{21,22}

SIMPULAN

Simpulan dari studi literatur ini adalah senyawa yang paling baik digunakan dalam mengekstrak bahan berupa bagian-bagian dari tumbuhan khususnya daun pepaya adalah etanol, hal ini disebabkan karena etanol kemungkinan memiliki tingkat kepolaritasan yang paling mendekati senyawa yang ada pada daun pepaya.

Besar kemungkinan etanol juga merupakan senyawa pelarut terbaik dalam membuat ekstrak dari bahan berupa tumbuhan lain selain daun pepaya karena umumnya senyawa yang terdapat pada tumbuhan memiliki kesamaan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Setiaji A. Efektifitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) untuk Pencegahan dan Pengobatan Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas Hydrophila* [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor; 2009.
2. Suprapti M. Aneka Olahan Pepaya Mentah dan Mengkal. Yogyakarta: Kanisius.Media; 2005.
3. Kalie, Baga M. Bertanam Pepaya. Jakarta: Penebar Swadaya; 2008.
4. Duke JA. Buku pegangan Duke tentang tanaman obat Amerika Latin. USA: CRC Press; 2009.
5. Tuntun M. 2016. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*: Jurnal Kesehatan. 2016; 7(3): 497 - 502.
6. Arikunto S dalam Irawati Y. Metode Pendidikan Karakter Islami Terhadap Anak Menurut Abdullah Nasih Ulwan dalam Buku Pendidikan Anak dalam Islam dan Relevansinya dengan Tujuan Pendidikan Nasional; 2013.
7. Baskaran C, Ratha B V, Velu S, Kumaran K. The efficacy of *Carica papaya* leaf extract on some bacterial and a fungal strain by well diffusion method. Asian Paicfic Journal of Tropical Disease;2012: 658-62.
8. Lohidas J, Manjusha S, Jothi G G G. Antimicrobial activities of *Carica papaya*. Plant Archives. 2015; 15 (2): 1179-86.
9. Asghar N, Naqvi S A R, Hussain Z, Rasool N, Khan Z A, Shahzad S A, *et al.* Compositional difference in antioxidant and antibacterial activity of all parts of the *Carica papaya* using different solvents. Chemistry Central Journal. 2016; 10(5): 1-11.
10. Maslukhah Y L, Widyaningsih, T D, Waziroh E, Wijayanti N, Sriherfyna F H. Faktor Pengaruh Ekstraksi Cincau Hitam (*Mesona palustris*) Skala Pilot Plant: Kajian Pustaka. Jurnal Pangan dan Agroindustri. 2016; 4(1): 245-252.
11. Pumklam R, Siringwongwilaichat P. The Effect of Particle Size on Antioxidant Capacity of Mangosteen Peel Extract. The 12th Asean Food Conference 2011. 2011; 729-732.
12. Sultana B, Anwar F, Ashraf M. Effect of Extraction Solvent Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extract. Molecules. 2009; 14(6).
13. Maulida D, Zulkarnaen N. Ekstraksi Antioksidan (Likopen) Dari Buah Tomat Dengan Menggunakan Solven Campuran n-Heksana, Aseton dan Etanol [Skripsi]. Semarang: Fakultas Teknik Universitas Diponegoro; 2010.
14. Romadanu, Rachmawati S H, Lestari S D. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak bunga lotus (*Nelumbo nucifera*). Fitech. 2014; 3(1): 1-7.
15. Leksono W B, Prmaesti R, Santosa G W, Setyati W A. Jenis Pelarut Metanol dan N-Heksana Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak

Rumput Laut *Gelidium* sp Dari Pantai Drini Gunungkidul – Yogyakarta. *Jurnal Kelautan Tropis*. 2018; 21(1): 9–16.

16. Kusumaningtyas E, Widiati R, Gholib D. Uji daya hambat ekstrak dan krim ekstrak daun sirih (*Piper betle*) terhadap *C. albicans* dan *Trichophyton mentagrophytes*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner Yogyakarta; 2008.
17. Indrianingsih A W, Nisa K, Damayanti E, Maryana R, Krido S W. Efektivitas fraksi N-heksana, kloroform dan etanol ekstrak biji mimba sebagai biopestisida untuk jamur *Altenarria porri*. Seminar Nasional PATPI 2007 Bandung; 2007
18. Troy D B, Paul B. Remington's The Science And Practice of Pharmacy Edisi ke-21. Lippincott Williams dan Wilkins: University of the Sciences Philadelphia; 2006.
19. Chen W, Zhang C, Song L, Sommerfeld M, Hu Q. A high throughput Nile red method for quantitative measurement of neutral lipids in microalgae. *J Microbiol Methods*. 2009; 77: 41–7.
20. Markham K R. Cara Mengidentifikasi Flavonoid, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB; 1988.
21. Santoso J, Anwariyah S., Rumiantin R O, Putri A P, Ukhty N, Yoshie Stark Y. Phenol content, antioxidant activity and fibers profile of four tropical seagrasses from Indonesia. *Journal of Coastal Development*. 2012; 15(2): 189-96.
22. Megha N M, Sabale A B. Antimicrobial, Antioxidant and Haemolytic Potential of Brown Macroalga *Sargassum*. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutica sciences*. 2014; 3(8): 2091-2104.

