



Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta Indica A. Juss*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*

Muhammad Faisal ^{a,1,*}, Irmatika Hendriyani ^{b,2}, Nuruluni Azemi ^{b,3}, Ade Irma Suryani ^{b,3}

^a Universitas Muhammadiyah Mataram, Jl. KH. Ahmad Dahlan No.1, Pagesangan, Kota Mataram, 83115, Indonesia

^b Universitas Mahasaraswati Denpasar, Jalan Kamboja No. 11 A, Denpasar, Bali 80231, Indonesia

¹ muhfaisal@ummat.ac.id; ² irmatika.hendriyani@ummat.ac.id; ³ nuruluni18@gmail.com; ⁴ irmasuryani@unmas.ac.id
* muhfaisal@ummat.ac.id

ABSTRACT

ARTICLE INFO

Background: Infectious diseases remain a health problem in developing countries, including Indonesia. Antibacterials are needed to inhibit or kill bacteria that cause infections. Neem leaves (*Azadirachta indica A. Juss*) are traditionally known to contain active compounds such as flavonoids, alkaloids, and tannins that have antibacterial potential. Several studies have shown that ethanol extracts of neem leaves are effective against bacteria such as *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

Objective: The purpose of this study was to conduct phytochemical screening to determine the secondary metabolite content in mimba leaf extract and to test the antibacterial activity of 5%; 10%; 20%; 40%, and 80% ethanol extracts of mimba leaves against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria.

Method: Mimba leaves were extracted using the maceration method with 96% ethanol solvent. Antibacterial activity was tested using the well diffusion method with treatments of 5%; 10%; 20%; 40%, and 80% groups and a negative control group using DMSO.

Results: The inhibition zone diameters of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* at a concentration of 5% were 1,2 mm and 2 mm respectively, while the inhibition zone diameters at a concentration of 80% were 17,4 mm and 16 mm respectively.

Conclusion: Concentrations of mimba leaf extract of 5%; 10%; 20%; 40%; and 80% showed antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The higher the concentration, the larger the diameter of the inhibition zone formed.

Article history

Received: 02 April 2025

Revised: 23 April 2025

Accepted: 21 May 2025

Keywords

Antibacterial

Escherichia coli

Neem plant

Staphylococcus aureus

1. Pendahuluan

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme paling banyak ditemukan di masyarakat. Pada tahun 2013, WHO mencatat 6.569 kasus (89,75%) penyakit infeksi kulit di negara berkembang. Di Indonesia, jumlah kasus tercatat sebanyak 4.362 (-68,43%) pada tahun 2014 (1).

Antibakteri merupakan zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan. Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri diantaranya yaitu menghambat sintesis dinding sel, menghambat keutuhan permeabilitas dinding sel bakteri, menghambat kerja enzim dan menghambat sintesis asam nukleat dan protein (2)

Indonesia adalah negara tropis yang memiliki banyak tanaman herbal, salah satunya tanaman mimba (*Azadirachta indica A. juss*). Tanaman mimba telah dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional untuk mengatasi berbagai macam penyakit (3). Secara empiris daun mimba telah dikenal oleh masyarakat sebagai obat tradisional yang efektif untuk mengatasi berbagai penyakit seperti cacingan, kudis, malaria, infeksi jamur, dan alergi. Daun mimba mengandung berbagai senyawa aktif



yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, steroid, senyawa-senyawa tersebut berpotensi sebagai antibakteri (4).

Penelitian yang dilakukan oleh Rufah (2020) menemukan bahwa dengan metode maserasi dengan etanol 96%, ekstrak etanol daun mimba menunjukkan sifat antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* pada konsentrasi yang berbeda. Studi yang dilakukan oleh Andhiarto *et.,al* (5) menemukan bahwa ekstrak etanol daun mimba dengan metode perkolasi dengan etanol 96% menunjukkan sifat antibakteri yang kuat yang membunuh *Staphylococcus aureus*. Penelitian oleh (6), menunjukkan bahwa ekstrak daun mimba memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

Berdasarkan uraian diatas, maka peneliti tertarik melakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mimba terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

2. Metode

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan petri, wadah maserasi, batang pengaduk, sendok tanduk, gelas ukur, erlenmeyer 100 ml, beaker glass 100 ml, 250 ml, dan 500 ml, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan porselin, corong kaca, pipet tetes, oven, mikro pipet, timbangan analitik, laminair air flow, autoclave, rotary evaporator, water bath.

Bahan yang digunakan adalah aluminium foil, serbet, tisu, *handscoon*, kertas saring, kertas label, kapas, aquadest, bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, antibiotik ciprofloxacin, etanol 96%, DMSO, dan simplisia daun mimba. Selain itu dibutuhkan pula beberapa preaksi untuk skrining fitokimia seperti reagen dragendrof, reagen mayer, reagen wagner, HCl 2%, FeCl₃, aquadest, HCl 0,1 N dan NaOH 10%, asam asetat anhidrat, dan asam sulfat pekat.

2.2 Pembuatan Sampel

Daun mimba yang masih muda dan segar yang telah diperoleh disortir dengan cara basah untuk memisahkan kotoran, kemudian dicuci bersih menggunakan air mengalir. Setelah itu, daun dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama beberapa jam. Simplisia yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender untuk menghasilkan serbuk daun mimba. Serbuk simplisia disimpan dalam wadah tertutup di suhu kamar, di tempat yang kering, dan terlindung dari sinar matahari. Sebanyak 300 gr serbuk simplisia daun mimba direndam menggunakan pelarut etanol sampai seluruh serbuk terendam. Proses perendaman dilakukan selama 1 x 24 jam, sambil sesekali dilakukan pengadukan. Keesokan harinya dilakukan penyaringan untuk memisahkan residu dan filtrat residu kemudian dimaserasi kembali sebanyak 2 kali. Seluruh filtrate yang sudah diperoleh selanjutnya dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak pekat.

2.3 Pembuatan Media Mueller Hinton Agar (MHA)

Proses pembuatan media Mueller Hinton Agar dimulai dengan mencampurkan 125 mL aquades dan 20 mg Mueller Hinton Agar ke dalam gelas erlenmeyer yang dilengkapi dengan pengaduk magnetik. Campuran tersebut dipanaskan dan dihomogenkan menggunakan stirrer, kemudian disterilkan dalam autoklaf. Setelah media Mueller Hinton Agar mendingin, campuran tersebut dituangkan ke dalam cawan petri dengan volume 20 mL untuk setiap cawan.

2.4 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun mimba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran, karena metode ini memberikan hasil yang lebih optimal dibandingkan dengan metode disk/cakram. Pada metode disk, ekstrak yang tidak larut sepenuhnya akibat pencampuran yang tidak merata dapat mengendap di bagian bawah disk, sehingga menghambat proses difusi ekstrak ke dalam agar. Selain itu, metode difusi sumuran menggunakan peralatan yang lebih sederhana, memerlukan waktu yang lebih singkat, dan lebih hemat biaya karena tidak memerlukan paper disk yang mahal. Oleh karena itu, metode difusi sumuran dianggap lebih ekonomis dan efisien (5).

Satu ose koloni bakteri dari media NA miring diencerkan menggunakan larutan NaCl 0,9% steril hingga mencapai kekeruhan yang sesuai dengan standar 0,5 McFarland, yang setara dengan jumlah bakteri 10⁸ CFU/ml. Kapas lidi steril dimasukkan ke dalam tabung berisi suspensi bakteri dan digoreskan secara merata pada media MHA. Media tersebut kemudian dilubangi menggunakan ujung pipet tetes. Larutan ekstrak pada masing-masing konsentrasi diteteskan ke dalam lubang-lubang

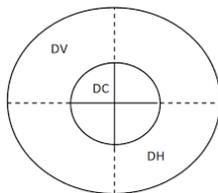
tersebut, dan media kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Zona bening yang terbentuk di sekitar disk menunjukkan bahwa sampel dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

2.5 Analisis Data

Pengumpulan data dalam penelitian ini dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* untuk menilai aktivitas antibakteri. Pengukuran dilakukan pada zona bening yang terbentuk menggunakan jangka sorong, dan hasilnya dinyatakan dalam satuan milimeter (mm).

Menurut (7) rumus yang digunakan untuk menghitung zona hambat adalah:

Teknik Pengukuran Zona Hambat



Gambar 1 : Pengukuran diameter zona hambat

$$= ((DV-DC) + (DH-DC))/2$$

Keterangan:

DV : Diameter vertikal

DH : Diameter Horizontal

DC : Diameter Cakram

Aktivitas antibakteri dapat dibagi menjadi 4 tingkatan, yaitu lemah, sedang, kuat, dan sangat kuat. Aktivitas bakteri dikatakan lemah jika diameter zona hambat <5 mm, sedang antara 5-10 mm, kategori kuat antara 10-20 mm, dan sangat kuat jika >20 mm (8).

3. Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi

Maserasi dilakukan sebanyak tiga kali. Setelah proses maserasi selesai dilakukan filtrasi untuk memisahkan residu dan ekstrak. Ekstrak kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C dan tekanan 0,1 atm hingga terbentuk ekstrak pekat. Sisa pelarut yang tersisa, atau dicampur dengan ekstrak pekat, diuapkan menggunakan penangas air. Timbang jumlah ekstrak yang diperoleh dan simpan dalam wadah salep. Data bobot sampel dan rendemen ekstrak yang di peroleh di sajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta Indica* A. Juss)

Sampel	Metode ekstraksi	Bobot sampel (g)	Jumlah pelarut (mL)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen ekstrak (%)
Daun mimba	Maserasi	300 g	3.500 mL	38 g	12,6%

Sumber: data penelitian.

Penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah rendemen yang diperoleh lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Fitriah (6) yang hanya mencapai 3,50%. Peningkatan rendemen ini disebabkan oleh proses maserasi yang dilakukan sebanyak tiga kali. Pada proses ekstraksi tersebut, pelarut yang digunakan adalah etanol 96%, yang dianggap ideal karena memiliki kemampuan ekstraksi terbaik untuk berbagai senyawa dengan berat molekul rendah, seperti alkaloid, saponin, dan flavonoid (5). Selanjutnya ekstrak pekat tersebut dilakukan skrining fitokimia untuk mengidentifikasi kelompok metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol daun mimba. Skrining ini meliputi pengujian alkaloid, saponin, tanin, steroid/terpenoid, dan flavonoid. Data hasil uji fitokimia ekstrak daun mimba disajikan dalam tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta Indica* A. Juss)

Golongan senyawa	Preaksi	Hasil	Keterangan
Flavonoid	NaOH 10%	Terbentuk warna kuning	+
Akaloid	Mayer	Endapan putih	+
	Dragendorff	Endapan jingga	+
	Wagner	Endapan coklat	+
Saponin	Aquades 1:1 + HCl 0,1 N	Terbentuknya busa	+
Tanin	FeCl ₃	Coklat kehijauan	+
Steroid	Asam asetat anhidrat + asam sulfat pekat	Terbentuk warna hijau	+

Sumber: data penelitian.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Tabel 3. Hasil Diameter Zona Hambat *Staphylococcus aureus*

Perlakuan	Diameter zona hambat (mm)			
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3	Rata – rata
K (-)	0	0	0	0
5%	0,6	1,2	1,8	1,2
10%	1,8	1,8	2,4	2
20%	6,6	2,4	7,2	5,4
40%	8,4	8,4	12	9,6
80%	14,4	19,2	18,6	17,4

Sumber: data penelitian.

Tabel 4. Hasil Diameter Zona Hambat *Escherichia coli*

Perlakuan	Diameter zona hambat (mm)			
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3	Rata – rata
K (-)	0	0	0	0
5%	1,8	3	1,2	2
10%	3	6	1,2	3,4
20%	6	6	7,2	6,4
40%	9	10,5	8,4	9,3
80%	12	18	18	16

Sumber: data penelitian.

Pembahasan

Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring, hasil penyaringan kemudian di uapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan tekana 0,1 atm hingga diperoleh ekstrak pekat. Sisa pelarut yang masih tertinggal atau tercampur dengan ekstrak pekat diuapkan dengan bantuan *waterbath*. Jumlah ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang. Setelah dilakukan penimbangan diperoleh ekstrak pekat sebanyak 38 g (12,6%). Ekstrak pekat kemudian di skrining fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam ekstrak etanol daun mimba.

Uji fitokimia menunjukkan ekstrak daun mimba mengalami perubahan warna dan endapan setelah perlakuan dengan pereaksi yang mengandung senyawa flavonoid, menunjukkan perubahan warna menjadi merah, kuning, atau jingga. Senyawa alkaloid dapat ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna jingga atau kuning. Senyawa triterpenoid ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna kecoklatan atau ungu. Senyawa saponin ditandai dengan terbentuknya busa dalam waktu 10 menit. Sedangkan senyawa tanin ditandai dengan adanya perubahan warna dari hijau menjadi coklat atau hitam menjadi biru.

Hasil uji fitokimia dapat dilihat pada tabel 1 bahwa ekstrak etanol daun mimba positif mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan steroid. Hal ini sama dengan penelitian Hasil penelitian (5) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Mimba positif mengandung alkaloid, saponin, tanin, steroid/triterpenoid, dan flavonoid.

Uji aktivitas antibakteri pada tabel 2 dan 3 menunjukkan pengukuran diameter zona hambat. Pengujian ini dilakukan dengan 7 perlakuan menggunakan variasi konsentrasi ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) yaitu 5%, 10%, 20%, 40%, 80%, kontrol positif (K+), serta kontrol negatif (K-). Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mimba pada konsentrasi 5% dan 10% menghasilkan zona hambat dengan diameter 1,2 mm dan 2 mm yang tergolong lemah, konsentrasi 20% dan 40% menghasilkan zona hambat 5,4 mm dan 9,6 mm yang tergolong sedang, sementara konsentrasi 80% menghasilkan zona hambat 17,4 mm yang tergolong kuat.

Sedangkan pada hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) terhadap bakteri *Escherichia coli* menunjukkan bahwa pada konsentrasi 5% dan 10% (2 mm dan 3,4 mm), zona hambat bakteri tergolong lemah. Pada konsentrasi 20% dan 40% (6,4 mm dan 9,3 mm), respon zona hambat tergolong sedang, sedangkan pada konsentrasi 80% (16 mm), zona hambat tergolong kuat.

Diameter zona hambat ekstrak etanol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada penelitian ini hampir sama dengan penelitian yang dilaporkan (5) melaporkan bahwa pada konsentrasi 25%, 50% dan 75% menghasilkan diameter zona hambat secara berturut-turut sebesar 6,48; 8,42; dan 12,06 mm. Dengan demikian ekstrak etanol daun mimba memiliki aktivitas antibakteri dalam kategori kuat (10-20 mm) yaitu pada konsentrasi diatas 75%.

Dalam penelitian yang dilakukan oleh (9), uji aktivitas antibakteri ekstrak biji buah duku (*Lansium domesticum*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menunjukkan bahwa kontrol positif menghasilkan zona bening atau zona hambat pada kedua bakteri tersebut. Diameter zona hambat yang terbentuk pada *Staphylococcus aureus* adalah 24 mm, sedangkan pada *Escherichia coli* sebesar 20,3 mm. Ciprofloxacin, yang merupakan antibiotik dari golongan fluoroquinolon, memiliki aktivitas antibakteri yang lebih kuat serta tingkat toksisitas yang lebih rendah.

Kontrol negatif yang digunakan DMSO tidak menunjukkan adanya zona hambat di sekitar area sumuran yang ditumbuhi bakteri. DMSO berfungsi sebagai pelarut tanpa efek penghambatan pada pertumbuhan bakteri. Oleh karena itu, aktivitas inhibisi yang diamati berasal dari ekstrak tumbuhan yang digunakan, bukan dari pelarutnya (10).

Hasil ini mengindikasikan bahwa diameter zona hambat bakteri bertambah seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan, semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk. Ini terjadi karena konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi mengandung lebih banyak zat aktif, sehingga area hambat bakteri yang terbentuk menjadi lebih luas (11).

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, diameter zona hambat terbesar terdapat pada ekstrak etanol konsentrasi 80%, yaitu sebesar 17,4 mm. Sementara itu, pada bakteri *Escherichia coli*, diameter zona hambat terbesar juga terdapat pada ekstrak etanol konsentrasi 80%, yaitu sebesar 16 mm. Jika dibandingkan dengan penelitian (9) yang menguji aktivitas antibakteri ekstrak biji buah duku (*Lansium domesticum*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, ekstrak dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, dan 40% menunjukkan rata-rata diameter zona hambat pada *Staphylococcus aureus* sebesar 11,3 mm, 13,3 mm, 13,6 mm, dan 11,3 mm, sedangkan pada *Escherichia coli* rata-rata zona hambatnya sebesar 10 mm, 9,3 mm, 10,3 mm, dan 12,6 mm.

4. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa:

- a. Ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta Indica* A. juss) pada konsentrasi 0-40% memiliki aktivitas antibakteri dalam kategori lemah terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, sedangkan pada konsentrasi 80% termasuk dalam katagori kuat.
- b. Ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) positif mengandung flavonoid, alkaloid saponin, tanin dan steroid.

5. Ucapan Terimakasih

Tim peneliti mengucapkan terima kasih kepada Program Studi S1-Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram atas dukungan fasilitas yang diberikan sehingga tim peneliti dapat memperluas wawasan dan pengetahuan melalui penelitian ini.

Referensi

- [1] Gustiana E. Hubungan Pengetahuan Tentang Personal Hygiene Dan Pemanfaatan Fasilitas Sanitasi Lingkungan Dengan Kejadian Penyakit Infeksi Kulit Pada Pondok Pesantren Anshor Al-Sunnah Air Tiris Etry Gustiana Prepotif. *J Kesehat Masy*. 2022;6(April):1003–7.
- [2] Pertiwi FD, Rezaldi F, Puspitasari R. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus* epidermidis. *Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*. 2022;7(2):57–68.
- [3] Setiawansyah A, Hakim A, Wirasisya DG. Evaluasi Dan Identifikasi Golongan Senyawa Potensial Antibakteri Pada Daun Dan Kulit Batang Mimba (*Azadirachta Indica* A. Juss) Terhadap *Escherichia Coli*. *J Tumbuh Obat Indones*. 2019;11(2):40–8.
- [4] Sayekti S, Farhan A, Alan MS. Uji Daya Hambat Antibakteri Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta Indica* A. Juss.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Cakram. *J Insa Cendekia*. 2023;10(3):220–6.
- [5] Andhiarto Yanu, Andayani Rina, Ilmiyah Nur Hidayatul. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Daun Mimba (*Azadirachta Indica* A. Juss.) Dengan Metode Ekstraksi Perkolasi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *J Pharm Sci Technol*. 2021;2(1):23–32.
- [6] Fitriah R. Uji aktivitas antibakteri ekstrak n- heksana , etil asetat dan etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) terhadap *Streptococcus mutans*. *Borneo J Pharmascientech* [Internet]. 2017;1(2):1–10. Available from: <http://jurnalstikesborneolestari.ac.id/index.php/borneo/article/view/103>
- [7] Pazra DF, Multida I, Nurlita S, Sari M. Ekstrak Cacalincingan (*Oxalis barrelieri* L) Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Penyebab Mastitis Sapi Perah. *J Vet*. 2023;23(3):360–70.
- [8] Emelda, Safitri EA, Fatmawati A. Aktivitas Inhibisi Ekstrak Etanolik *Ulva lactuca* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Pharm J Indones*. 2021;7(1):43–8.
- [9] Pehino A, Fatimawali F, Suoth EJ. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Buah Duku Lansium

-
- Domesticum Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. *Pharmacon*. 2021;10(2):818.
- [10] Karim A, Dalming T, Trisakti A. Uji Efektivitas Antibakteri Fraksi Ekstrak Etanol Daun Adam Hawa (*Tradescantia Spathacea Swartz*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dengan Metode Difusi Sumuran. *J Pharm Pelamonia*. 2020;67–73.
- [11] Soraya C, - S, Wulandari F. Efek Antibakteri Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta Indica*) Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus Faecalis* Secara In-Vitro. *Cakradonya Dent J*. 2023;11(1):23–32.