

ISOLASI DAN KARAKTERISASI PEKTIN KULIT NANAS MADU (*Ananas comosus* L): TINJAUAN TINGKAT KEMATANGAN BUAH

Ruth Anastasya M Panjaitan, Hendrik Satria Dwi Putra, Agustina Setiawati*
Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta

Penulis korespondensi: nina@usd.ac.id

ABSTRAK

Pektin merupakan polimer heteropolisakarida dengan monomer yang bersifat mengikat air sehingga dapat diaplikasikan sebagai *gelling* dan *stabilizer agent* pada industri makanan dan minuman. Pektin banyak ditemukan pada buah-buahan yang umumnya diproduksi selama tahap awal pertumbuhan dinding sel primer, khususnya nanas (*Ananas Comosus* L.) Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menentukan derajat esterifikasi pektin pada nanas tingkat kematangan nanas mentah dan nanas matang. Ekstraksi dilakukan dengan metode konvensional menggunakan asam sitrat. Kulit nanas (*Ananas Comosus* L.) mengandung $0,1895 \pm 0,084\%$; dan $0,1607 \pm 0,1166\%$ ($p < 0.05$) pada buah mentah dan matang. Berdasarkan hasil analisis *Fourier Transform Infrared* (FTIR), pektin yang dihasilkan mempunyai gugus fungsi identik dengan pektin komersial. Derajat esterifikasi pektin pada buah mentah adalah $52,25 \pm 0,94\%$ dan $46,61 \pm 0,79\%$ pada buah matang. Tingkat kematangan buah berpengaruh terhadap rendemen dan derajat esterifikasi pektin kulit buah nanas.

Kata kunci: buah nanas, pektin, derajat esterifikasi, ekstraksi, tingkat kematangan

1 PENDAHULUAN

Pektin, polimer D-galakturonat (GalpA) α -(1,4) yang dihubungkan oleh (1,2)-linked β -L-rhamnose, banyak ditemukan pada dinding sel tanaman dan mempunyai sifat biodegradable (Demir *et al.*, 2021; Einhorn-Stoll *et al.*, 2021). Dalam dunia industri makanan, pektin diaplikasikan sebagai agen pengental, penstabil, dan emulsifier. Selain itu, pektin juga dapat digunakan dalam sistem penghantaran obat dalam bidang kefarmasian (Lara-Espinoza *et al.*, 2018). Komposisi dan struktur pektin dipengaruhi oleh sumber pektin, perkembangan tanaman, dan kondisi ekstraksi (Picot-Allain *et al.*, 2022). Berdasarkan derajat esterifikasinya, pektin dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu *High Methylated* (HM) Pektin dan *Low Methylated* (LM) pektin. HM pektin memiliki derajat esterifikasi $>50\%$ yang biasa didapatkan dari alam sebagai pektin asli, sedangkan LM pektin memiliki derajat esterifikasi $<50\%$ (Belkheiri *et al.*, 2021; Weimer *et al.*, 2021). Derajat esterifikasi merupakan salah satu sifat fisikokimia pektin yang penting yang mempengaruhi kemampuan *gelling* pektin sehingga berpengaruh terhadap aplikasinya dalam bidang industri makanan dan biomedis (Lara-Espinoza *et al.*, 2018; Mahmoud *et al.*, 2022).

Faktor yang dapat mempengaruhi kadar dan karakteristik pektin dalam tanaman adalah proses pematangan buah yang ditandai dengan perubahan fisiologis, biokimia, dan morfologi buah. Pada proses pematangan buah, dinding sel tanaman mengalami pelunakan yang disebabkan oleh aktivasi enzim poligalakturonases dan pektin metil esterase. Peristiwa tersebut juga menyebabkan depolimerisasi pektin, seperti yang terjadi pada alpukat dan tomat (Huber *et al.*,

2001; Paniagua *et al.*, 2014). Selain itu, enzim lain yang berperan untuk mendegradasi pektin terdeesterifikasi dalam proses pematangan buah adalah pektat liase (Wang *et al.*, 2018).

Kulit nanas (*Ananas comosus* L. Merr) merupakan salah satu sumber pektin dengan presentasi berkisar antara 1,0 -1,2% (Saputro *et al.*, 2018). Selain pektin, kulit buah nanas juga mengandung vitamin C, flavonoid, dan karotenoid (Jha *et al.*, 2021). Berat kulit nanas sekitar 10% dari total berat buah keseluruhan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Rodsamran dan Sothornvit (2019) dengan menggunakan metode konvensional menunjukkan bahwa hasil rendemen yang diperoleh dari kulit nanas sangat rendah dengan hasil berkisar antara 1,02- 2,12 %. Ekstraksi pektin pada kulit nanas dengan air yang mengandung asam klorida diperoleh pektin sebanyak 5,25% (Zahrotun *et al.*, 2013), sedangkan ekstraksi menggunakan asam sulfat menghasilkan pektin sebanyak 13,78%. Ekstraksi menggunakan kedua asam kuat tersebut tidak disarankan asam kuat memiliki beberapa kerugian seperti dapat menimbulkan kerusakan pada instrumen yang digunakan dan tidak ramah terhadap lingkungan karena dapat menyebabkan pencemaran pada air. Selain dengan asam kuat, pektin dapat diekstraksi dengan asam organik seperti asam sitrat, asam laktat, dan lain sebagainya dengan kelebihan pektin yang diekstraksi memiliki viskositas dan derajat metilasi yang tinggi (Chandel *et al.*, 2022; Cho *et al.*, 2019).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pektin dari kulit nanas (*Ananas comosus* L. Merr) dan derajat esterifikasinya. Jenis nanas yang digunakan dalam penelitian ini adalah nanas madu. Ekstraksi dilakukan dengan asam sitrat dilanjutkan dengan presipitasi dalam pelarut etanol pada suhu 90°C. Pektin yang dihasilkan kemudian dianalisis gugus fungsinya dengan menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR), dibandingkan dengan komersial pektin.

2 METODE

2.1 Pembuatan simplisia kulit nanas (*Ananas comosus* L. Merr)

Buah nanas yang digunakan adalah nanas madu yang didapatkan dari Pemalang, Jawa Tengah. Sebelum digunakan, nanas telah dideterminasi secara taksonomi dengan nomor 02/LKTO/Far-USD/VI/2024. Buah nanas kemudian disortir dari buah yang busuk atau rusak, selanjutnya dilakukan pengelompokan tingkat kematangan antara buah nanas matang dan buah nanas mentah. Buah nanas dibersihkan dengan menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang menempel. Kulit nanas dipisahkan dari buahnya dengan cara dikupas, kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven yang sudah diberikan kertas saring dengan suhu 50°C. Kulit nanas kemudian dihaluskan dengan cara diblender dan diayak dengan ayakan ukuran 100 mesh.

2.2 Ekstraksi Pektin

Sebanyak 10-gram serbuk kulit nanas yang telah dihasilkan dimasukkan ke dalam erlenmeyer lalu ditambahkan dengan larutan 0.1% asam sitrat sebanyak 300 mL, kemudian dipanaskan dalam *waterbath* pada suhu 65°C selama 90 menit. Selanjutnya, larutan disaring dengan menggunakan microfilter nylon ukuran mesh 100. Filtrat pektin ditambahkan etanol dengan perbandingan volume 1:1 ke dalam erlenmeyer dan diaduk hingga homogen. Pektin kemudian dibiarkan mengendap selama 24 jam, kemudian disaring menggunakan microfilter nylon ukuran 400 mesh. Pektin basah yang dihasilkan kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu 50°C. Rendemen pektin dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat Pektin kering (g)}}{\text{Berat serbuk simplisia (g)}} \times 100\%$$

2.3 Karakterisasi Pektin

2.3.1 Penentuan Derajat Esterifikasi

Penentuan derajat esterifikasi pektin dari kulit buah jeruk nipis dilakukan dengan menggunakan metode titrimetri pada USP 43 NF 38 (2020). Pektin sebanyak 0,1 gram diberi etanol sebanyak 1 mL dan dilarutkan dalam 20 mL air bebas CO₂ pada erlenmeyer. Pelarutan pektin dilakukan dengan pengadukan pektin menggunakan magnetic stirrer pada suhu 40°C secara terus menerus sampai pektin larut dengan sempurna. NaCl sebanyak 0,2 gram ditambahkan ke erlenmeyer. Indikator fenolftalein ditambahkan ditambahkan sebanyak 5 tetes pada erlenmeyer. Proses titrasi dilakukan menggunakan NaOH 0,1 N sebagai titran dan dititrasi hingga terdapat perubahan warna larutan pada erlenmeyer menjadi merah muda yang tidak hilang setelah dilakukan pengocokan. Jumlah volume titran yang digunakan kemudian dicatat sebagai V₁ (mL). NaOH 0,25 N ditambahkan sebanyak 5 mL kemudian larutan diaduk secara terus menerus dalam erlenmeyer tertutup selama 30 menit pada suhu ruang menggunakan magnetic stirrer. HCl 0,25 M ditambahkan sebanyak 5 mL pada erlenmeyer hingga larutan menjadi jernih. Titrasi dilakukan kembali menggunakan NaOH 0,1 N sampai mendapatkan warna merah muda pucat. Jumlah titran yang digunakan dicatat sebagai V₂. Nilai derajat esterifikasi (DE) ditentukan dengan rumus:

$$DE = \frac{V_2}{V_1 + V_2} \times 100\%$$

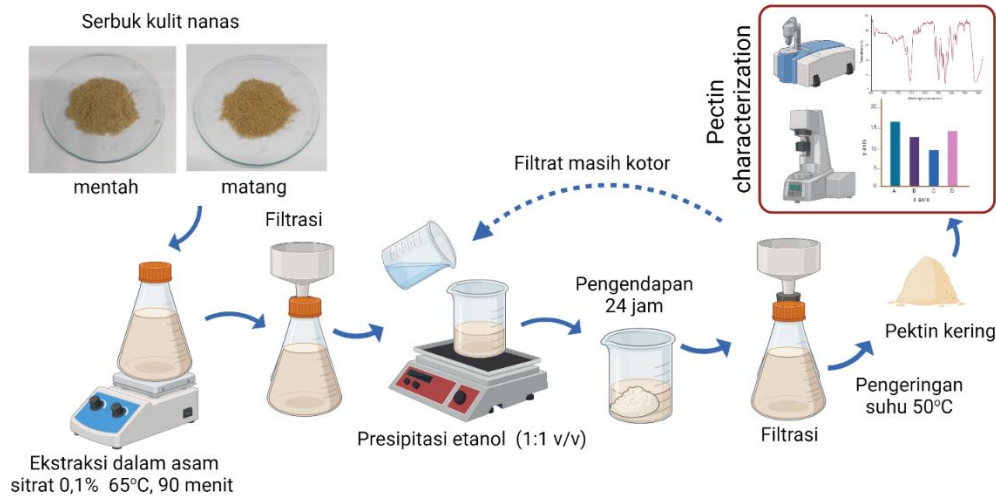
2.3.2 Analisis Gugus Fungsi

Analisis gugus fungsi pada pektin dilakukan dengan instrumen FTIR. Peak yang dihasilkan oleh pektin yang diekstraksi dari kulit nanas dibandingkan dengan peak dari pektin standar menggunakan instrumen 20 FTIR. Pengukuran dilakukan dengan interval penyerapan 2 cm⁻¹ dengan rentang panjang gelombang 4000-400 cm⁻¹.

3 HASIL DAN PEMBAHASAN

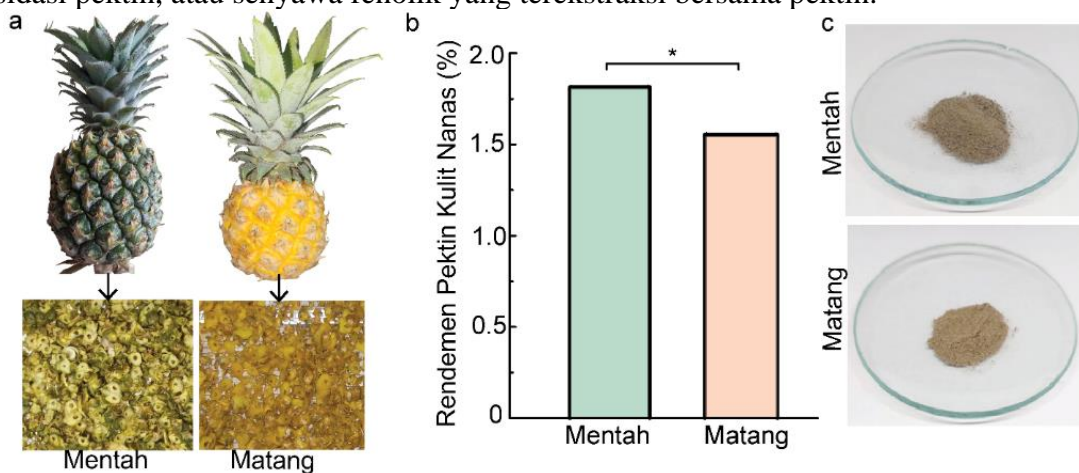
3.1 Isolasi Pektin Kulit Nanas Mentah dan Matang

Pada penelitian ini, kami melakukan isolasi pektin dari kulit nanas madu (*Ananas comosus* L) yang telah diteliti sebelumnya sebagai sumber potensial pektin (Saputro *et al.*, 2018; Sarangi *et al.*, 2020; Zakaria *et al.*, 2023). Pektin kulit buah nanas diekstraksi menggunakan prosedur dalam **Gambar 1**. Penelitian ini mengadopsi prinsip ekstraksi hijau dengan menggunakan asam sitrat, dengan menghindari asam mineral seperti HCl, H₂SO₄, atau HNO₃ yang bersifat korosif bagi lingkungan dan meninggalkan residu beracun pada pektin (He *et al.*, 2021). Pektin terlarut dalam larutan asam bersama dengan penyusun dinding sel yang lain (seperti protopectin), sehingga meningkatkan pektin yang terekstraksi (Grave *et al.*, 1994). Pektin diekstraksi dengan melakukan pemanasan serbuk kulit nanas mentah dan matang dalam larutan asam sitrat 0,1% pada suhu 65°C. Pektin yang terlarut kemudian dipisahkan dengan residu dengan filtrasi, kemudian pektin diendapkan menggunakan etanol. Dalam proses pengendapan ini, pektin dipisahkan dari pengotornya berupa senyawa-senyawa polar yang berwarna seperti antosianin, betacyanin, pigmen merah dan senyawa fenolik (Khoo *et al.*, 2022; Shofinita *et al.*, 2020). Prosedur pengendapan etanol ini dapat dilakukan secara berulang untuk mendapatkan pektin bebas pengotor.



Gambar 1. Skema isolasi pektin kulit nanas (*Ananas comosus* L). Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut 0.1% asam sitrat dalam air dilanjutkan dengan metode presipitasi etanol. Ilustrasi dibuat dengan Biorender.

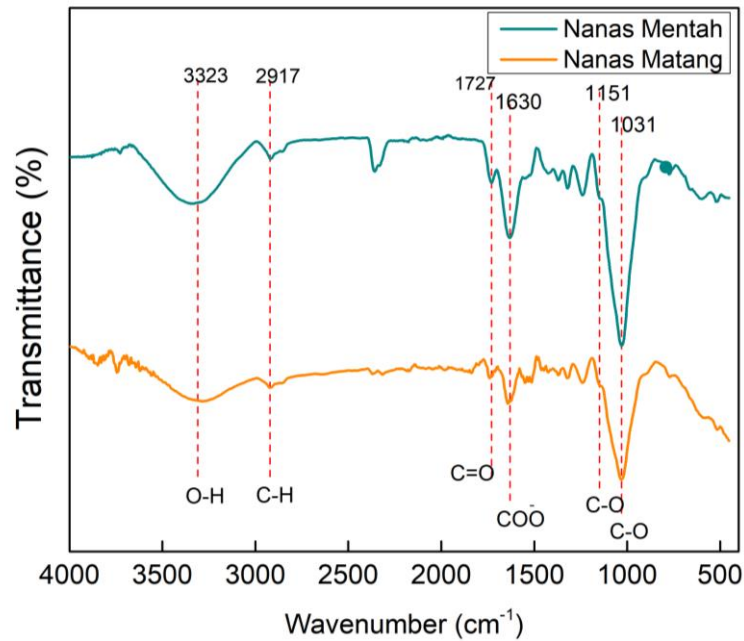
Kulit nanas yang digunakan adalah kulit buah mentah dan matang, yang ditandai dengan warna hijau untuk kulit nanas mentah dan warna kuning untuk kulit nanas matang (**Gambar 2a**). Pada penelitian sebelumnya, pektin yang diekstraksi menggunakan H_2SO_4 dari *by product* nanas sebesar 13.812% (Karim *et al.*, 2014) dan dari kulit nanas sebesar 11.42% (Sarangi *et al.*, 2020). Kedua penelitian tersebut tidak diketahui tingkat kematangan nanas yang digunakan. Pektin yang berhasil diekstraksi pada kulit nanas mentah sebanyak $1,81 \pm 0,00\%$, lebih tinggi dibandingkan pektin pada kulit nanas matang $1,55 \pm 0,00\%$ ($p < 0,05$) (**Gambar 2b**). Proses pematangan buah mengaktifasi enzim poligalakturonases dan pektin metil esterase buah yang menyebabkan dinding sel tanaman mengalami pelunakan. Peristiwa tersebut juga menyebabkan depolimerisasi pektin (Huber *et al.*, 2001; Paniagua *et al.*, 2014), yang menyebabkan pektin pada kulit buah matang lebih rendah dibandingkan buah mentah. Selain itu, pektin yang dihasilkan baik dari kulit nanas mentah dan matang berwarna gelap (**Gambar 2c**), dibandingkan pada penelitian Setyajati *et al* (2023). Kemungkinan penggelapan warna pektin ini disebabkan karena oksidasi pektin, atau senyawa fenolik yang terekstraksi bersama pektin.



Gambar 2. Ekstraksi pektin kulit buah nanas pada tingkat kematangan berbeda; (a) Buah dan kulit buah nanas mentah dan matang, (b) Rendemen pektin kulit nanas mentah dan matang, (c) Serbuk pektin kulit nanas mentah dan matang.

3.2 Karakterisasi Pektin Kulit Nanas

3.2.1 Analisis Gugus Fungsi Pektin Kulit Nanas



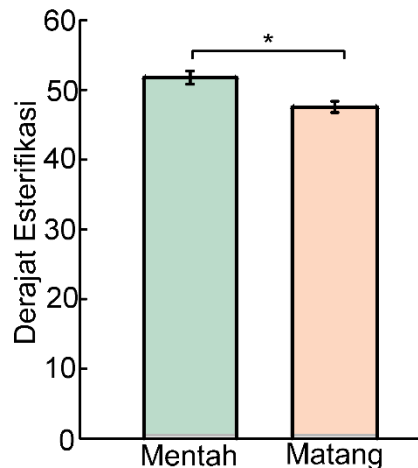
Gambar 3. Spektra FTIR Pektin Kulit Nanas mentah dan Matang

Spektra FTIR dari pektin yang diekstraksi dari kulit nanas mentah dan matang mirip dengan pektin komersial. Karakteristik peak pada pektin yang diekstraksi dari nanas muncul pada panjang gelombang 3323, 2917, 1727, dan 1630 cm^{-1} . Serapan 3323 dan 2917 cm^{-1} merupakan gugus hidroksil (O-H) dan C-H *stretching*. Serapan 1727 cm^{-1} dikaitkan dengan adanya gugus karbonil (C=O) dari metil ester (COOCH₃) dan asam karboksilat yang tidak terdisosiasi (COOH). Kemudian pada 1630 cm^{-1} terdapat gugus ion karboksilat (COO⁻) yang disebabkan oleh vibrasi regangan asimetris. Selain itu, terdapat serapan pada 1200-950 cm^{-1} berupa fingerprint karbohidrat yang merupakan wilayah spesifik untuk setiap polisakarida (Demir *et al.*, 2021; Mahmoud *et al.*, 2022; Setyajati *et al.*, 2023; Silverstein *et al.*, 2005) 2023). Oleh karena itu, dapat disimpulkan jika gugus fungsi pektin yang diekstraksi dari kulit buah nanas identik dengan gugus fungsi pektin standar (**Gambar 3, Tabel 1**).

Tabel 1. Spektra gugus fungsional pektin kulit nanas mentah dan matang, serta komersial

Gugus fungsional	Puncak spektra (cm^{-1}) Pektin		
	Kulit nanas mentah	Kulit nanas matang	Pektin komersial (Setyajati <i>et al.</i> , 2023)
O-H <i>stretching</i>	3323	3323	3320
C-H	2917	2917	2925
C=O <i>stretching</i>	1727	1727	1733
COO	1630	1630	1460-1414
C-O <i>fingerprint</i>	1151,1031	1151,1031	1200-950

3.2.2 Derajat Esterifikasi Pektin Kulit Nanas



Gambar 4. Derajat Esterifikasi Pektin Kulit Nanas

Pektin yang diekstraksi dapat digolongkan sebagai *High-methoxyl* (HM) pektin dengan DE >50% pada kulit nanas mentah, sedangkan pada kulit nanas matang termasuk *Low-methoxyl* (LM) pektin dengan DE < 50%. DE pektin pada kulit nanas mentah sebesar 51.76 ± 0.94 , sedangkan pada kulit nanas matang sebesar 47.52 ± 0.79 ($p < 0.05$) (**Gambar 4**). DE pada kulit buah matang lebih rendah disebabkan karena aktivasi enzim pektin liase yang mendegradasi pektin terdesterifikasi pada dinding sel selama proses pematangan buah (Wang *et al.* 2018). Perbedaan DE dapat menyebabkan perbedaan karakteristik pektin kulit buah mentah dan matang. Pektin dengan DE tinggi larut dan membentuk gel dalam pelarut asam dengan pH 3,5, sedangkan pektin dengan DE rendah larut dalam larutan yang mengandung kation divalent, seperti Ca^{2+} (Chandel *et al.*, 2022). Pembentukan gel ini penting untuk mengaplikasikan pektin.

4 KESIMPULAN

Pektin yang diekstraksi dari kulit nanas madu (*Ananas comosus* L) mentah lebih tinggi dibandingkan kulit nanas matang. Pektin pada kulit buah nanas mentah mempunyai derajat esterifikasi yang tinggi dibandingkan dengan kulit buah matang. Pektin baik dari kulit buah dan matang menunjukkan gugus fungsi yang identik dibandingkan pektin komersial.

DAFTAR PUSTAKA

- Belkheiri, A., Forouhar, A., Ursu, A.V., Dubessay, P., Pierre, G., Delattre, C., Djelveh, G., Abdelkafi, S., Hamdami, N., Michaud, P., (2021). Extraction, Characterization, and Applications of Pectins from Plant By Products. *Applied Sciences Journal*, 11(14), 1–2. <https://doi.org/10.3390/app11146596>.
- Chandel V, Biswas D. Roy S., Vaidya S., Verma A, Gupta A. (2022). Current Advancements in Pectin: Extraction, Properties and Multifunctional Applications. *Foods*, 11(17), 2683. <https://doi.org/10.3390/foods11172683>.
- Cho, E.H., Jung, H.T., Lee, B.H., Kim, H.S., Rhee, J.K., Yoo, S.H., (2019). Green process development for apple-peel pectin production by organic acid extraction. *Carbohydrate Polymers*, 204, 97–103. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.09.086>.
- Demir, D., Ceylan, S., Göktürk, D., Bölgen, N., (2021). Extraction of pectin from albedo of lemon peels for preparation of tissue engineering scaffolds. *Polymer Bulletin*, 78(4), 2211–2226. <https://doi.org/10.1007/s00289-020-03208-1>.

- Einhorn-Stoll, U., Archut, A., Eichhorn, M., Kastner, H., (2021). Pectin - Plant protein systems and their application. *Food Hydrocolloids*, 118, 106783. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106783>.
- Jha, A. K., Singh, P.T., Assumi, S. R. (2021). *Nanas (Ananas cosmosus L. Merr.)*. Tanaman Buah Tropis: Teori hingga Praktis. Pp 487-488.
- He C, Sampers I, Raes K. (2021). Isolation of pectin from clementine peel: A new approach based on green extracting agents of citric acid/sodium citrate solutions. *ACS Sustain Chem Eng*, 9(2), 833–843. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c07422>.
- Huber D.J., Karakurt Y., Jeong J. (2001). Pectin degradation in Ripening and Wounded Fruit. *R.Bras.Fisiol.Veg.* 13(2), 224-241. <https://doi.org/10.1590/S0103-31312001000200009>.
- Khoo HE, He X, Tang Y, Li Z, Li C, Zeng Y, Tang J, Sun J. (2022). Betacyanins and anthocyanins in pulp and peel of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus* cv. Jindu), inhibition of oxidative stress, lipid reducing, and cytotoxic effects. *Front Nutr*, 9, 894438. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.894438>.
- Lara-Espinoza, C., Carvajal-Millán, E., Baladrán-Quintana, R., López-Franco, Y., Rascón-Chu, A., 2018. Pectin and pectin-based composite materials: Beyond food texture. *Molecules*, 23(4). <https://doi.org/10.3390/molecules23040942>.
- Mahmoud, M.H., Abu-Salem, F.M., Azab, D.E.S.H., (2022). A Comparative Study of Pectin Green Extraction Methods from Apple Waste: Characterization and Functional Properties. *International Journal of Food Science*, 865921. <https://doi.org/10.1155/2022/2865921>.
- Paniagua C., Pose S, Morris V.J., Kirby A.R., Quesada M.A., Mercado J.A., (2014). Fruit Softening and Pectin dissassembly: an Overview of Nanostructural pectin modifications assessed by atomic force microscopy. *Annals of Botany*, 114, 1375-1383. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu149>.
- Picot-Allain, M.C.N., Ramasawmy, B., Emmambux, M.N., 2022. Extraction, Characterisation, and Application of Pectin from Tropical and Sub-Tropical Fruits: A Review. *Food Reviews International*, 38(3), 282–312. <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1733008>.
- Rodsamran P., Sothornvit R. (2019). Microwave heating extraction of pectin from lime peel: Characterization and properties compared with the conventional heating method. *Food Chem*, 25, 278, 364-372. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.067>.
- Saputro, T. A., Permana, I. D. G. M., Yusasrini, N. L. A., 2018. Pengaruh Perbandingan Nanas (*Ananas comosus* L. Merr) dan Sawi Hijau (*Brassica juncea* L.) terhadap Karakteristik Selai. *Jurnal ITEPA*, 7 (1), 52-60.
- Setyajati, F.E., Prasetyo, V.K., Husin, A.S., Ratri, M.C., Junedi, S., Sanjayadi, S., Setiawati, A., (2023). Comparative Physicochemical Properties of Isolated Pectin from Various Tropical Fruit. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 7(2), 2408–2413. <https://www.doi.org/10.26538/tjnpr/v7i2.17>.
- Sarangi, P. K., Singh, N. J., & Singh, T. A. (2020). Pectin from Pineapple Wastes: Isolation and Process Optimization. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 9(5), 143–148. <https://doi.org/10.20546/ijemas.2020.905.01>.
- Shofinita D, Bindar Y, Samadhi TW, Jaelawijaya AA, Fawwaz M. (2020). Effect of ethanol addition as extraction solvent on the content of bioactive materials in dragon fruit skin extract and powder. *Reaktor.*; 20(2):68–74. <https://doi.org/10.14710/reaktor.20.2.68-74>.
- Silverstein, R.M., Webster, F.X., Kiemle, D.J., (2005). *Spectrometric Identification of Organic Compounds (seventh edition)*. Analytical Chemistry. New York.

- U.S. Pharmacopeia (2020). The United States Pharmacopeia, USP 43-National Formulary, NF 38. Rockville, MD: U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., p:736.
- Wang D., Yeats T.H., Uluisik S., Rose J.K.C., Seymour G.B. (2018). Fruit Softening: Revisiting the Role of Pectin. *Trend in Plant Science*. 23(4), 302-310. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.01.006>.
- Weimer, P., Lisbôa Moura, J.G., Mossmann, V., Immig, M.L., de Castilhos, J., Rossi, R.C. (2021). *Citrus aurantiifolia* (Christm) Swingle: Biological potential and safety profile of essential oils from leaves and fruit peels. *Food Bioscience*, 40. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100905>.
- Zahrotun, N. E., Nugraheni, Y., Rusdiansjah (2013). Pengaruh Suhu dan Waktu Terhadap Hasil Ekstraksi Pektin dari Kulit Buah Nanas. *Simposium Nasional RAPI XII*, 39-43.
- Zakaria N.A., Rahman R.A., Zaidel D.N.A, Dailin D.J., Jusoh M. (2021). Microwave-assisted extraction of pectin from pineapple peel. *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*. 17(1), 33-38. <https://doi.org/10.11113/mjfas.v17n1.2164>.