



Isolasi Jamur Endofit dari *Sonneratia Alba* dan Toksisitasnya Terhadap *Artemia Salina*

Priskila Putri Mairing

Universitas Udayana

priskilamairing25@gmail.com

Info Artikel :

Diterima : 11 Mei 2022

Disetujui : 15 Mei 2022

Dipublikasikan : 25 Mei 2022

ABSTRAK

Jamur endofit merupakan mikroorganisme yang hidup di jaringan tumbuhan secara asimtomatis. Jamur endofit dapat menghasilkan metabolit sekunder dengan berbagai aktivitas biologis salah satunya antikanker. Mangrove diketahui merupakan salah satu sumber yang potensial membawa jamur endofit yang memiliki metabolit sekunder aktif. Salah satu spesies dominan mangrove adalah perepat (*Sonneratia alba*). Penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi jamur endofit melakukan isolasi dan identifikasi jamur endofit dari perepat (*S. alba*), serta uji toksisitas dengan metode BSLT terhadap larva udang *Artemia salina*. Penelitian diawali dengan isolasi dan pemurnian jamur endofit, identifikasi makroskopis dan mikroskopis, kultivasi dan ekstraksi, dan uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test*. Hasil isolasi dari jamur endofit daun *S. alba* yaitu isolat SA-L1-1 yang setelah diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis memiliki kesamaan karakteristik dengan *Nigrospora* sp. Pada uji toksisitas, ekstrak isolat jamur endofit SA-L1-1 dengan toksik terhadap larva udang *A. salina* dengan LC_{50} 405,109 ppm.

Kata Kunci :

Sonneratia alba, Jamur Endofit, Brine Shrimp Lethality Test

ABSTRACT

Endophytic fungi are microorganisms that live in plant tissues asymptotically. Endophytic fungi can produce secondary metabolites with various biological activities, one of which is anticancer. Mangroves are known to be a potential source of endophytic fungi that have active secondary metabolites. One of the dominant species of mangrove is perepat (Sonneratia alba). This study aims to isolate endophytic fungi, isolate and identify endophytic fungi from adhesives (S. alba), as well as toxicity test using the BSLT method on Artemia salina shrimp larvae. The study began with the isolation and purification of endophytic fungi, macroscopic and microscopic identification, cultivation and extraction, and toxicity test using the Brine Shrimp Lethality Test method. The isolation results of the leaf endophytic fungus S. alba were isolate SA-L1-1 which after being identified macroscopically and microscopically had similar characteristics with Nigrospora sp. In the toxicity test, the endophytic fungal isolate extract SA-L1-1 was toxic to A. salina shrimp larvae with an LC_{50} of 405.109 ppm.

Keywords :

Sonneratia alba, Endophytic fungi, Brine Shrimp Lethality Test

PENDAHULUAN

Produk alami merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, poliketida, dan sebagainya (Newman & Cragg, 2016). Hingga saat ini sudah banyak dari produk alami tersebut yang telah memasuki tahap pengembangan hingga fase klinik, salah satunya untuk aktivitas antikanker (Newman & Cragg, 2020). Contohnya yaitu taxol (paclitaxel) dihasilkan dari jamur endofit *Taxomyces andreanae* yang diisolasi dari kulit pohon yew (*Taxus brevifolia*) (Aly et al., 2011). Akan tetapi, dalam proses isolasi metabolit dari tanaman memiliki beberapa tantangan yaitu membutuhkan lahan dan mengancam keberlangsungan hidup dari tanaman. Selain itu, kandungan metabolit yang dapat berubah akibat tempat tumbuh dan iklim yang berubah juga menjadi tantangan dalam isolasi metabolit. Oleh sebab itu, penggunaan mikroorganisme yang memiliki hubungan simbiosis mutualisme dengan tanaman inang seperti jamur endofit merupakan salah satu alternatif dalam mengembangkan senyawa obat baru (Anam et al., 2022).

Jamur endofit merupakan jamur yang hidup pada berbagai jaringan tumbuhan secara asimtomatis (Aly et al., 2011). Hubungan simbiosis mutualisme antara jamur endofit dan tanaman inang yaitu tanaman inang memberikan nutrisi bagi jamur endofit sedangkan jamur endofit dapat meningkatkan kemampuan kompetitif dan resistensi terhadap patogen (Pavithra et al., 2020). Jamur endofit diketahui dapat menghasilkan metabolit sekunder yang beragam secara struktural dan aktif secara biologis (Gouda et al., 2016). Berbagai penelitian menunjukkan bahwa metabolit sekunder yang biasanya dihasilkan dari jamur endofit antara lain dari senyawa golongan alkaloid, poliketida, dan terpenoid (Artasasta et al., 2021). Salah satu strategi memilih tanaman inang untuk memperoleh jamur endofit yang kompeten yaitu dengan memilih tanaman dari daerah yang memiliki keanekaragaman tinggi. Kawasan ini mencakup hutan hujan tropis dan ekosistem unik, termasuk ekosistem mangrove (Strobel, 2018). Jamur endofit dari ekosistem mangrove dianggap menarik karena ekosistemnya yang berada di antara ekosistem laut dan darat sehingga tahan dari perubahan lingkungan dari segi biotik maupun abiotik (Ola et al., 2020).

Bali memiliki kawasan hutan mangrove yang dikenal sebagai Taman Hutan Raya Ngurai dengan spesies dominan di lokasi tersebut yaitu perepat (*Sonneratia alba*) (Harizon et al., 2015). Salah satu jamur endofit yang berhasil diisolasi dari daun *S. alba* yaitu *Alternaria* sp. yang memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel limfoma tikus L5178Y dengan persentase kematian sel yaitu 85,8% (Kjer et al., 2009). Berdasarkan *National Cancer Institute*, salah satu studi awal untuk menguji potensi toksik dan sitotoksik suatu senyawa yaitu *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) (Niksic et al., 2021). Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi dan identifikasi jamur endofit dari perepat (*S. alba*), serta uji toksisitas dengan metode BSLT terhadap larva udang *Artemia salina*.

METODE PENELITIAN

Sampel yang digunakan dalam penelitian yaitu sampel daun perepat yang dikoleksi dari Taman Hutan Raya Ngurah Rai di daerah Suwung Kauh, Kota Denpasar. Sampel daun dipilih yang sehat atau tidak terserang hama. Selanjutnya dilakukan isolasi dan pemurnian jamur endofit, pengamatan morfologi isolat jamur endofit, kultivasi jamur endofit pada media beras dan ekstraksi, uji toksisitas BSLT dilakukan di Laboratorium Molekuler Forensik, UPT Laboratorium Forensik Sains dan Kriminologi, Universitas Udayana.

Isolasi dan Pemurnian Jamur Endofit

Sampel daun perepat dibawa ke laboratorium dan dicuci menggunakan air mengalir kemudian disterilkan dengan alkohol 70% selama 120 detik. Sampel direndam dengan *aquadest* lalu dikeringkan dengan kain steril. Daun dipotong kecil menggunakan *scalpel* steril. Setelah itu, sampel ditumbuhkan pada media isolasi yang telah dibuat berdasarkan protokol uji Kjer et al. (2010). Setiap perlakuan pada sampel dilakukan secara aseptis di dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 27°C. Isolat endofit yang menunjukkan sifat morfologi jamur dipindahkan ke media pemurnian (Kjer et al., 2009).

Karakterisasi Jamur Endofit

Karakterisasi isolat jamur endofit dilakukan secara makroskopik dan mikroskopik. Pengamatan makroskopik dilakukan dengan mengamati warna koloni isolat jamur endofit. Pengamatan mikroskopik dilakukan dengan cara mengambil sedikit hifa jamur endofit lalu diletakkan pada kaca objek ditetesi *methylene blue* kemudian diamati di bawah mikroskop. Ciri makroskopik dan mikroskopik dibandingkan dengan buku referensi.

Kultivasi Isolat Jamur Endofit dan Ekstraksi

Media beras dibuat sesuai dengan protokol Ariantari et al. (2020). Prosedur kultasi dilakukan dengan isolat jamur endofit dalam cawan petri dipotong menjadi bagian kecil kemudian dimasukkan ke dalam media beras. Fermentasi dilakukan selama 3-4 minggu. Ekstraksi dilakukan saat seluruh bagian atas dan bawah media beras ditutupi miselia, dengan menambahkan 500 mL etil asetat ke dalam setiap Erlenmeyer. Ekstraksi dilakukan diatas *shaker* dengan kecepatan 150 rpm selama 8 jam. Selanjutnya dilakukan penyaringan sehingga didapatkan ekstrak cair. Pelarut dihilangkan dengan *rotary evaporator*. Terhadap ekstrak kental, dilakukan ekstraksi cair-cair dengan n-heksan dan 90% *aqueous* metanol, hingga diperoleh fase n-heksana dan fase metanol. Pelarut dihilangkan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental metanol yang digunakan untuk penelitian lebih lanjut (Ariantari et al., 2020).

Pengujian Toksisitas dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Pengujian BSLT dilakukan dalam vial 10 mL. Larutan induk 4000 ppm dibuat dengan melarutkan 40 mg ekstrak ke dalam 100 µL *dimethyl sulfoxide* (DMSO) lalu ditambahkan 10 mL *artificial sea salt water*. Kemudian dilakukan pengenceran hingga didapatkan larutan uji dengan konsentrasi 1000, 500, 250, 125, dan 62,5 ppm. Larutan kontrol dibuat dengan menambahkan 100 µL DMSO dalam 5 mL *artificial sea salt water*. Selanjutnya, dimasukkan 10 larva udang *A. salina* yang telah berumur 24 jam ke dalam masing-masing vial kemudian dilihat jumlah kematian larva udang setelah 24 jam didiamkan dibawah penerangan (Meyer et al., 1982).

Analisa Data

Analisa data toksisitas menggunakan persentase kematian/mortalitas dari hewan uji yang dihitung dengan rumus berikut (Meyer et al., 1982).

$$\%Mortalitas = \frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{Jumlah larva total awal}} \times 100$$

Data persentase mortalitas selanjutnya dianalisis dengan analisis probit untuk menentukan nilai *lethal concentration* 50% (LC₅₀). Penentuan nilai LC₅₀ menggunakan program *Software Package used for Statistical Analysis* (SPSS) 26.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Pemurnian Jamur Endofit

Langkah awal isolasi jamur endofit yaitu sterilisasi permukaan untuk membunuh mikroorganisme epifit pada permukaan sampel tanaman. Sampel tanaman diinokulasikan pada media isolasi yang mengandung antibiotik kloramfenikol untuk mencegah tumbuhnya bakteri endofit pada media (Wathan & Imaningsih, 2019). Setiap jamur endofit yang tumbuh dengan morfologi berbeda pada media isolasi dipindahkan ke media pemurnian untuk memperoleh isolat jamur endofit. Berdasarkan hasil isolasi dan pemurnian jamur endofit dari *S. alba* diperoleh isolat jamur dengan kode SA-L1-1 (Gambar 1).



Gambar 1. Isolat Jamur Endofit *Sonneratia alba* (SA-L1-1)

Keterangan: (a) Tampak Atas, (b) Tampak Bawah

Karakterisasi Isolat Jamur Endofit

Berdasarkan penampakan makroskopik (Gambar 1) dapat dilihat bahwa isolat SA-L1-1 berwarna abu-abu keputihan pada tampak atas, sedangkan pada tampilan bawah berwarna abu-abu. Hasil pengamatan mikroskopis isolat PM1 (Gambar 1) yaitu konidiofor hialin; konidia isolat SA-L1-1 tunggal, berwarna hitam, berbentuk bulat, dengan dinding halus, dan hifa vegetative terdapat septat. Berdasarkan hasil tersebut, isolat SA-L1-1 memiliki kesamaan karakteristik makroskopik dan mikroskopik dengan *Nigrospora* sp. Pitt and Hocking (1997) menyatakan bahwa koloni *Nigrospora oryzae* tumbuh menutupi cawan petri dengan miselium berwarna abu-abu. Gandjar dkk. (1999), menyatakan *Nigrospora sphaerica* memiliki konidiofor tidak berwarna, dan berdinding halus. Konidia tunggal, berwarna hitam, berbentuk bulat atau elips, berdinding halus dan tidak terdapat septum.



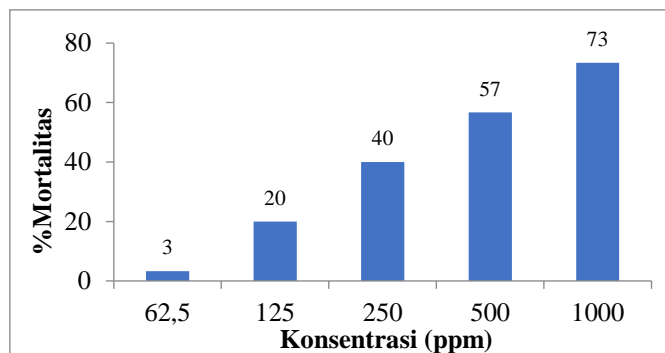
Gambar 2. Isolat Jamur Endofit *Sonneratia alba* (SA-L1-1)
Keterangan: (a) Tampak Atas, (b) Tampak Bawah

Kultivasi dan Ekstraksi Jamur Endofit pada Media Beras

Isolat SA-L1-1 dikultivasi pada media beras untuk memperbanyak jumlah jamur sehingga jumlah ekstrak dan metabolit sekunder yang dihasilkan semakin banyak. Hasil kultivasi dimaserasi menggunakan pelarut etil asetat. Pelarut etil asetat digunakan dalam maserasi karena mudah diuapkan, tidak higroskopis, dan toksisitas rendah (Rowe *et al.*, 2009). Hasil ekstrak total etil asetat SA-L1-1 yaitu sebanyak 692,2 mg. Ekstrak etil asetat diekstraksi cair-cair dengan pelarut metanol-air dan n-heksan untuk memisahkan senyawa dalam sampel berdasarkan perbedaan kepolarannya. Senyawa polar akan larut pada methanol, sedangkan senyawa non-polar akan larut pada n-heksan. Dari hasil ekstraksi cair-cari diperoleh ekstrak metanol jamur endofit SA-L1-1 sebanyak 256,2 mg, sedangkan ekstrak n-heksan sebanyak 321,6 mg. Selanjutnya, ekstrak metanol diuji toksisitasnya dengan metode BSLT.

Toksisitas Ekstrak Jamur Endofit

Metode BSLT merupakan salah satu skrining awal untuk senyawa sitotoksin potensial karena uji BSLT memiliki korelasi dengan pertumbuhan *in vitro cell lines tumor*. Kelebihan dari metode BSLT yaitu pengerjaannya yang mudah, cepat, tidak memerlukan teknik aseptis, menggunakan sampel uji dalam jumlah kecil, dan hasilnya representatif serta dapat dipercaya (Nastiti *et al.*, 2017). Larva udang yang biasanya digunakan dalam uji BSLT yaitu *A. salina* karena memiliki kesamaan sistem enzim (DNA-dependent RNA polymerase dan *oubaine sensitive* ATPase) pada mamalia (Susithra *et al.*, 2011). Oleh sebab itu, uji toksisitas menggunakan larva udang ini diharapkan dapat memberikan rekomendasi isolat dan ekstrak isolat jamur endofit yang memiliki potensi toksik terhadap *A. salina* untuk dilakukan pengujian menggunakan sel kanker. Persentase mortalitas dari ekstrak jamur endofit *S. alba* kode SA-L1-1 (Gambar 3).



Gambar 3. Pengaruh Variasi Konsentrasi Ekstrak Jamur Endofit *S. Alba* (SA-L1-1) terhadap %Mortalitas

Pada diagram batang (Gambar 3) dapat dilihat bahwa persentase mortalitas larva *A. salina* paling rendah berada pada konsentrasi 62,5 ppm yaitu 3%. Sedangkan persentase paling tinggi berada pada konsentrasi 1000 ppm yaitu 73%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka semakin tinggi pula persentase kematian larva *A. salina* dikarenakan semakin tinggi konsentrasi maka zat yang masuk juga semakin banyak sehingga melebihi ambang batas yang bisa diterima *A. salina*. Kematian larva *A. salina* ini diduga disebabkan karena kandungan senyawa dalam ekstrak jamur endofit tersebut. Senyawa ini bertindak sebagai *antifeedant* dan *stomach poisoning*. Hasil analisis probit ekstrak jamur endofit diperoleh nilai LC_{50} sebesar 405,109 ppm. Kategori toksisitas suatu ekstrak ada tiga yaitu $LC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$ termasuk kategori sangat toksik, $LC_{50} 30\text{-}1000 \mu\text{g/mL}$ toksik, dan $LC_{50} > 1.000 \mu\text{g/mL}$ tidak toksik (Meyer et al., 1982). Sehingga berdasarkan kategori toksisitas tersebut, ekstrak jamur endofit SA-L1-1 masuk dalam kategori toksik. Hingga saat ini penelitian mengenai toksisitas ekstrak jamur endofit dari *S. alba* dengan metode BSLT belum ditemukan. Akan tetapi terdapat beberapa penelitian lain seperti penelitian Notarte et al. (2019) yang melakukan uji toksisitas dengan metode BSLT terhadap jamur endofit *Nigrospora* sp. yang dikoleksi dari daun *Uvaria grandifora*. Ekstrak jamur endofit *Nigrospora* sp. menunjukkan toksisitas terhadap larva *A. salina* dengan LC_{50} sebesar 390 ppm (Notarte et al., 2019)

KESIMPULAN

Isolat jamur endofit dari daun *S. alba* diperoleh isolat dengan kode SA-L1-1 yang setelah diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis memiliki kemiripan ciri makroskopis dan mikroskopis dengan *Nigrospora* sp. Hasil uji toksisitas terhadap ekstrak jamur endofit SA-L1-1 memberikan persentase kematian tertinggi 73% dengan nilai LC_{50} yaitu 405,109 ppm yang masuk dalam kategori toksik. Sehingga, ekstrak jamur endofit SA-L1-1 potensial untuk diujikan lebih lanjut pada sel kanker untuk menggali potensi antikankernya.

DAFTAR PUSTAKA

Aly, A. H., Debbab, A., & Proksch, P. (2011). Fungal endophytes: Unique plant inhabitants with great promises. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90(6), 1829–1845. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3270-y>

- Anam, S., Syamsidi, A., Ambianti, N., Widodo, A., & Zubair, M. S. (2022). Isolation of endophytic fungi from benalu batu (*Begonia Medicinalis*) and their toxicity on *Artemia Salina* Isolasi jamur endofit dari benalu batu (*Begonia Medicinalis*) dan toksisitasnya terhadap *Artemia Salina* Intisari kandungan metabolit yang dapat be. *Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy)*, 20–30.
- Ariantari, N. P., Ancheeva, E., Frank, M., Stuhldreier, F., Meier, D., Gröner, Y., Reimche, I., Teusch, N., Wesselborg, S., Müller, W. E. G., Kalscheuer, R., Liu, Z., & Proksch, P. (2020). Didymellanosine, a new decahydrofluorene analogue, and ascolactone C from: *Didymella* sp. IEA-3B.1, an endophyte of *Terminalia catappa*. *RSC Advances*, 10(12), 7232–7240. <https://doi.org/10.1039/c9ra10685e>
- Artasasta, M. A., Yanwirasti, Y., Taher, M., Djamaan, A., Ariantari, N. P., Edrada-Ebel, R. A., & Handayani, D. (2021). Apoptotic activity of new oxisterigmatocystin derivatives from the marine-derived fungus *aspergillus nomius* nc06. *Marine Drugs*, 19(11), 1–10. <https://doi.org/10.3390/md19110631>
- Gandjar, I., R.A. Samson, K. Twell, Vermeulen, A. Oetari, & I. Santoso. 1999, *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta.
- Gouda, S., Das, G., Sen, S. K., Shin, H. S., & Patra, J. K. (2016). Endophytes: A treasure house of bioactive compounds of medicinal importance. *Frontiers in Microbiology*, 7(SEP), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01538>
- Harizon, Pujiastuti, B., Kurnia, D., Sumiarsa, D., Shiono, Y., & Supratman, U. (2015). Antibacterial Triterpenoids from the Bark of *Sonneratia alba* (Lythraceae). *Natural Product Communications*, 10(2), 277–280. <https://doi.org/10.1177/1934578x1501000215>
- Kjer, J., Wray, V., Edrada-Ebel, R. A., Ebel, R., Pretsch, A., Lin, W., & Proksch, P. (2009). Xanalteric acids I and II and related phenolic compounds from an endophytic *Alternaria* sp. isolated from the Mangrove plant *Sonneratia alba*. *Journal of Natural Products*, 72(11), 2053–2057. <https://doi.org/10.1021/np900417g>
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., & McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45(1), 31–34. <https://doi.org/10.1055/s-2007-971236>
- Nastiti, M., Erwin, & Kusuma, I. W. (2017). SKRINING FITOKIMIA DAN UJI TOKSISITAS PADA DAUN TERAP (*Artocarpus elasticus*) DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT). *Prosiding Seminar Nasional Kimia*, 60, 69–73.
- Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2016). Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products*, 79(3), 629–661. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b01055>
- Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2020). Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, 83(3), 770–803. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>
- Niksic, H., Becic, F., Koric, E., Gusic, I., Omeragic, E., Muratovic, S., Miladinovic, B., & Duric, K. (2021). Cytotoxicity screening of *Thymus vulgaris* L. essential oil in brine shrimp nauplii and cancer cell lines. *Scientific Reports*, 11(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92679-x>

- Notarte, K. I. R., Devanadera, M. K. P., Mayor, A. B. R., Cada, M. C. A., Pecundo, M. H., & Macabeo, A. P. G. (2019). Toxicity, antibacterial, and antioxidant activities of fungal endophytes *colletotrichum* and *nigrospora* spp. isolated from *uvaria grandiflora*. *Philippine Journal of Science*, *148*(3), 503–510.
- Ola, A. R. B., Soa, C. A. P., Sugi, Y., Da Cunha, T., Belli, H. L. L., & Lalel, H. J. D. (2020). Antimicrobial metabolite from the endophytic fungi *aspergillus flavus* isolated from *sonneratia Alba*, a mangrove plant of Timor-Indonesia. *Rasayan Journal of Chemistry*, *13*(1), 377–381. <https://doi.org/10.31788/RJC.2020.1315585>
- Pavithra, G., Bindal, S., Rana, M., & Srivastava, S. (2020). Role of endophytic microbes against plant pathogens: A review. *Asian Journal of Plant Sciences*, *19*(1), 54–62. <https://doi.org/10.3923/ajps.2020.54.62>
- Pitt J. I. & Hockin, A. D. 1997, *Fungi and Food Spoilage*, 2nd edition, Academic Press, Sydney, Australia.
- Rowe, R. C., Shekey, P. J., & Quinn, M. E., 2009. *Handbook of Pharmaceutical Exipients*. USA: Pharmaceutical Press and American Pharmacist Assosiation.
- Strobel, G. (2018). The emergence of endophytic microbes and their biological promise. *Journal of Fungi*, *4*(2). <https://doi.org/10.3390/jof4020057>
- Susithra, E., Ramseshu, K. V., Meena, S., & Veni, V. G. (2011). Bench Top Bioassays - An Animal Sparing Bioassay for Anti-Tumor Compounds. *Journal of Global Trends in Pharmaceutical Sciences*, *2*(1), 79–90. <http://www.jgtps.com>
- Wathan, N., & Imaningsih, W. (2019). Isolasi Jamur Endofit Dari Akar Tumbuhan Seluang Belum (*Luvunga sarmentosa* (Blume) Kurz.). *Jurnal Pharmascience*, *6*(1), 68. <https://doi.org/10.20527/jps.v6i1.6077>