

**Habbatussauda (*Nigella sativa*) Sebagai Supresan Nefrotoksitas pada Tikus Akibat Etilen glikol
Ditinjau dari Kadar Kreatinin**

Aqsha Isham

Jurusan Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, Medan,
Indonesia; aqsha1902@gmail.com

Isra Thristy

Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, Medan, Indonesia;
israthristy@umsu.ac.id (koresponden)

ABSTRACT

*Acute renal failure is a kidney disease that occurs acutely and is reversible. This disease is becoming widespread due to the ethylene glycol content in children's syrups, which is harmful to the body and can cause stone buildup, increased serum creatinine, impaired kidney function, and even death. Therefore, materials capable of reducing toxicity caused by ethylene glycol are needed, one of which is black seed (*Nigella sativa*) which contains thymoquinone compounds to help improve kidney function due to this toxic substance. The purpose of this study was to observe the suppressive factor of black seed against nephrotoxicity due to ethylene glycol in rats as seen from their creatinine levels. This type of research is an experimental analytic with divided control groups (without randomization) using a post-test with control design. Samples were taken at the end of treatment and data were analyzed using the Kruskal-Wallis test. Based on the results of the Kruskal-Wallis statistical test, a p-value of 0.000 was obtained, indicating a difference in creatinine levels in each group, as well as a decrease in creatinine levels after oral administration of black seed extract with a tube at two different doses. Furthermore, it was concluded that administration of black seed extract (*Nigella sativa*) was proven to be effective as a suppressant against ethylene glycol-induced nephrotoxicity in rats, as assessed by serum creatinine levels.*

Keywords: kidney disorders; nephrotoxicity; ethylene glycol; black seed; creatinine

ABSTRAK

Gagal ginjal akut merupakan salah satu penyakit pada ginjal yang terjadi secara akut dan reversibel. Penyakit ini menjadi marak akibat kandungan etilen glikol pada obat sirup anak-anak yang berbahaya bagi tubuh yang dapat menyebabkan penumpukan batu, peningkatan serum kreatinin, gangguan fungsi ginjal, hingga kematian, sehingga diperlukan bahan yang mampu menurunkan toksisitas yang disebabkan oleh etilen glikol, salah satunya habbatussauda (*Nigella sativa*) yang mengandung senyawa timokuinon untuk membantu memperbaiki fungsi ginjal akibat zat toksik tersebut. Tujuan penelitian ini adalah mengamati faktor supresif habbatussauda terhadap nefrotoksitas akibat etilen glikol pada tikus ditinjau dari kadar kreatininnya. Jenis penelitian ini adalah analitik eksperimental dengan kontrol terbagi atas kelompok (tanpa randomisasi) menggunakan rancangan *post-test with control design*. Sampel diambil pada akhir perlakuan dan data dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis. Berdasarkan hasil uji statistik Kruskal-Wallis diperoleh nilai $p = 0,000$, yang menunjukkan adanya perbedaan kadar kreatinin pada setiap kelompok, serta terjadi penurunan kadar kreatinin setelah pemberian ekstrak habbatussauda per oral dengan sonde pada dua dosis yang berbeda. Selanjutnya disimpulkan bahwa pemberian ekstrak Habbatussauda (*Nigella sativa*) terbukti memiliki efektivitas sebagai supresan terhadap nefrotoksitas yang diinduksi oleh etilen glikol pada tikus, ditinjau dari kadar kreatinin serum.

Kata kunci: gangguan ginjal; nefrotoksitas; etilen glikol; habbatussauda; kreatinin

PENDAHULUAN

Gagal ginjal akut (GGA) adalah penyakit pada ginjal terjadi secara akut dan reversibel yang memiliki gejala penurunan pada fungsi ginjal, seperti oliguria (volume air seni di bawah 0,5 atau 1 cc/jam), serum kreatinin yang meningkat (di atas 1,5 mg/dl), gangguan keseimbangan elektrolit, asam-basa, hingga cairan.⁽¹⁾ Berdasarkan data yang didapat dari RISKESDAS (Riset Kesehatan Dasar) di tahun 2018, kasus gagal ginjal pada penderita di atas 15 tahun di Republik Indonesia sekitar 3,8 permil (‰) dengan provinsi Kalimantan Utara sebagai provinsi dengan jumlah penderita gagal ginjal terbanyak pertama di Indonesia.⁽²⁾

Kinerja ginjal yang terganggu secara tiba-tiba ini disebabkan oleh umur (>75 tahun), hipotensi (tekanan sistolik di bawah 100 mmHg), sepsis, hipovolemia, medikasi yang nefrotoksik, ikterus, gagal jantung kongestif, hingga penyakit vaskular lain.⁽³⁾ Pada hasil studi yang lain, sekitar 25-60% dari kasus gagal ginjal akut disebabkan oleh faktor-faktor kegagalan ginjal pra-renal seperti sindroma kardiorenal tipe 1, gangguan hepatorenal, dan obat seperti ARB (Penghambat Reseptor Angiotensin), ACE-I (Penghambat Enzim Pengonversi Angiotensin), dan OAINS (Obat Anti Inflamasi Non-Steroid).⁽⁴⁾

Penyakit ini menjadi marak pada tahun 2022 disebabkan oleh tingkat kerusakan ginjal anak yang meningkat setelah mengonsumsi obat dalam sediaan sirup yang mengandung zat etilen glikol di dalamnya. Etilen glikol merupakan zat yang lazim digunakan sebagai anti-beku dalam otomotif, cairan rem hidrolik, bahan dalam tinta stempel, pelarut, bahan dalam cat, plastik, dan kosmetik.⁽⁵⁾ Penggunaan etilen glikol melebihi 100 mL atau 1-1,5 mL/KgBB atau dalam sumber lain menyebutkan di antara 1,4 sampai 1,6 mL/KgBB dapat menyebabkan efek akut pada tubuh dan diserap dengan cepat dari saluran pencernaan dengan puncak pada plasma darah dalam waktu 1-4 jam setelah pengonsumsiannya dan terjadi efek patologis pada ginjal setelah 24-72 jam setelah paparan Etilen glikol menurut Kruse di buku Pedoman Mitigasi Risiko Cemar Etilen glikol (EG) dan Dietilen glikol (DEG) pada Pangan Olahan oleh BPOM.⁽⁶⁾ Hal tersebut menyebabkan sebanyak 241 orang penderita dengan 133

laporan mortalitas dari 22 provinsi di Indonesia.⁽⁷⁾ Jika etilen glikol masuk ke tubuh manusia per oral dapat menyebabkan berbagai gangguan organ seperti organ otak, saluran pencernaan, sistem kardipulmoner, dan sistem perkemihan (ginjal). Hal ini tentunya penting dan harus diteliti dikarenakan wujud Etilen glikol yang tidak berwarna dan tidak berbau ini dapat dimasukkan ke obat dapat menyebabkan kerusakan organ hingga kematian karena susah untuk dibedakan dengan pelarut obat lainnya.⁽⁸⁾

Dari penjelasan di atas, diperlukan suatu zat yang menekan nefrotoksisitas salah satunya Habbatussauda. Habbatussauda (jintan hitam) atau secara ilmiah dikenal sebagai *Nigella sativa*, merupakan tanaman bunga yang asli dari daerah Eropa Timur hingga Asia Barat, namun telah meluas di mana-mana. Tanaman yang sering dianjurkan oleh Rasulullah SAW dengan pengobatan nabawinya telah digunakan selama ratusan hingga ribuan tahun untuk menyembuhkan penyakit. Timokuinon merupakan zat yang paling penting dalam jintan hitam yang bermanfaat sebagai antimikroba, antioksidan, antikarsinogen, antiinflamasi, dan antioksidan yang hal-hal ini bersifat nefroprotektif dalam kejadian gangguan ginjal.⁽⁹⁾ Jintan hitam digolongkan aman dan tidak memiliki efek samping yang serius jika dikonsumsi.⁽¹⁰⁾

Hal yang membedakannya dengan penelitian yang lain adalah penggunaan model nefrotoksisitas akibat etilen glikol yang jarang dikaji dengan agen protektif alami seperti habbatussauda, serta perbandingan efek dua dosis berbeda terhadap serum kreatinin. Dengan demikian, masih sedikit sekali publikasi yang memberikan penjelasan mengenai efektivitas supresif nefrotoksisitas yang dimiliki Habbatussauda pada kejadian gangguan ginjal ditinjau dari kadar kreatinin. Maka masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menonjolkan manfaat dan daya supresif nefrotoksisitas dalam keadaan gangguan ginjal. Selanjutnya, tujuan penelitian ini adalah mengamati faktor supresif habbatussauda terhadap nefrotoksisitas akibat etilen glikol pada tikus ditinjau dari kadar kreatininnya.

METODE

Penelitian ini adalah studi analitikal yang bersifat eksperimental dengan kontrol yang terbagi dari kelompok (tanpa randomisasi). Penelitian ini juga menggunakan desain *post-test with control* yaitu pengambilan sampel untuk diperoleh datanya pada akhir pemberian tindakan. Penelitian ini dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara (UMSU), Fakultas Pertanian UMSU, Laboratorium Kesehatan Daerah Sumatera Utara, dan Laboratorium ASPETRI Medan pada bulan Desember 2023 hingga bulan Februari 2024. Terlaksananya penelitian ini harus melewati pengkajian etik dan telah disetujui berdasarkan surat keterangan lolos kaji etik yang bernomor 1120/KEPK/FKUMSU/2023 oleh Komite Etik Fakultas Kedokteran UMSU.

Populasi dari penelitian ini yaitu tikus putih galur Wistar jantan dengan berat timbangan 200-300 gram dan berumur 7-8 minggu. Kriteria inklusi pada penelitian ini yaitu tikus jantan berwarna putih bergalur Wistar, dengan berat 200-300 gram, berumur 7-8 minggu, tikus dalam kondisi aktif dan sehat, dan tidak dijumpai kelainan anatomik. Untuk kriteria eksklusinya yaitu tikus yang pernah digunakan pada penelitian sebelumnya. Untuk kriteria *Drop-out*, berupa tikus yang mati pada saat percobaan dan tikus yang sakit atau cacat pada saat percobaan.

Tikus-tikus yang berjumlah 28 ekor pada penelitian ini dimasukkan ke kandang yang dilengkapi dengan lampu pijar, sekam, ventilasi yang baik, dan suasana yang tenang. Mereka diberikan juga makanan standar dan air minum melalui mulut dan harus melalui proses aklimatisasi selama 1 minggu. Untuk membuat tikus-tikus menjadi hiperkreatinik, dilakukan induksi dengan etilen glikol yang tercampur dalam air minum tikus dengan konsentrasi 0,75% per oral. Jintan hitam melewati identifikasi terlebih dahulu di Fakultas Pertanian UMSU Medan untuk memastikan biji-biji ini merupakan spesies *Nigella sativa*.

Pada penelitian ini, terdapat 4 kelompok percobaan di antaranya kelompok kontrol negatif (K-: tikus tidak diberikan zat induksi yaitu Etilen glikol dengan konsentrasi 0,75% per oral dan zat ekstrak (suspensi etanolik 96%) jintan hitam per oral selama 28 hari), kelompok kontrol positif (K+: tikus diberikan zat induksi Etilen glikol per oral tanpa zat ekstrak per oral selama 14 hari pertama, lalu dilanjutkan dengan air minum biasa mulai dari hari ke-15 sampai hari ke-28), kelompok kontrol pertama (K1: tikus diberikan air minum biasa yang bercampur dengan Etilen glikol 0,75% per oral selama 14 hari pertama, lalu diberikan ekstrak jintan hitam (NS) dengan dosis 500mg/kgBB per oral dengan air biasa per oral dengan sonde dimulai dari hari ke-15 hingga ke-28), dan kelompok kontrol kedua (K2: tikus diberikan air minum biasa yang bercampur dengan Etilen glikol 0,75% per oral selama 14 hari pertama, lalu diberikan ekstrak jintan hitam (NS) dengan dosis 700mg/kgBB per oral dengan sonde dengan air biasa per oral dimulai dari hari ke-15 hingga ke-28). Setiap kelompok percobaan, terdapat 6 ekor sampel tikus dan ditambah dengan 1 ekor tikus cadangan (n=28). Serta, dijumpai kematian 2 ekor tikus pada masa percobaan yang 1 ekor tikus dari kelompok K+ (pada hari ke-17) dan 1 ekor tikus dari kelompok K- (hari pembedahan).

Serum kreatinin diperoleh dari aspirasi darah pada jantung tikus yang sebelumnya dimatikan terlebih dahulu dengan kloroform atau eter lalu diuji untuk nilainya dengan alat spektrofotometer. Selanjutnya dilakukan uji perbedaan kadar kreatinin antar kelompok menggunakan uji Kruskal-Wallis.

HASIL

Pemeriksaan identifikasi tanaman jintan hitam di Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara mengonfirmasi dari uji identifikasinya bahwa sampel biji tersebut merupakan biji jintan hitam (*Nigella sativa*). Setelah melalui 28 hari percobaan dengan 26 ekor tikus, hasil uji deskriptif serum kreatinin tikus (SKr) pada setiap kelompok disajikan pada Tabel 1. Dapat disimpulkan bahwa kelompok K+ memiliki rerata serum kreatinin yang lebih besar dari tiga kelompok percobaan lainnya, sedangkan kelompok K2 memiliki rerata yang lebih kecil dari tiga kelompok lainnya. Rerata SKr pada kelompok K+ lebih besar dari kelompok K- dan kelompok K2 lebih kecil dari kelompok K1.

Pada uji Shapiro-Wilk dijumpai distribusi tidak normal pada kelompok K- ($p < 0,05$). Oleh karena itu, uji ANOVA satu arah tidak dapat dilaksanakan dan dilakukan uji non-parametrik yaitu uji Kruskal-Wallis. Pada uji Kruskal-Wallis, dijumpai nilai p sebesar 0,000 yang bermakna adanya perbedaan kadar serum kreatinin yang signifikan di setiap kelompok percobaan sehingga H_0 ditolak.

Tabel 1. Hasil uji deskriptif berbagai kelompok percobaan

Kelompok	Rerata SKr \pm simpangan baku	Minimum	Maksimum	Uji normalitas (p)	Uji Kruskal-Wallis (p)
K-	0,82 \pm 0,02	0,79	0,85	0,020	0,000
K+	0,83 \pm 0,05	0,74	0,91	0,650	
K1	0,51 \pm 0,03	0,46	0,56	0,867	
K2	0,41 \pm 0,02	0,39	0,46	0,221	

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan dengan etilen glikol menghasilkan kadar kreatinin yang relatif stabil dibandingkan kelompok normal. Kondisi ini mengindikasikan bahwa pemberian etilen glikol dalam konsentrasi dan durasi tertentu menimbulkan respons fisiologis yang masih dapat diadaptasi oleh tubuh hewan uji. Variasi tersebut dapat berkaitan dengan faktor-faktor seperti kualitas bahan induksi, durasi paparan zat toksik, kondisi kesehatan umum hewan percobaan, massa otot, fungsi hati, serta kemampuan eliminasi zat melalui jalur gastrointestinal. Faktor-faktor ini berpotensi memengaruhi hasil akhir kadar kreatinin, sehingga respons tiap individu dapat menunjukkan kestabilan yang berbeda-beda.⁽¹¹⁾

Temuan ini menunjukkan kecenderungan yang tidak sepenuhnya sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Rumondor & Komalig, di mana penggunaan metode induksi dengan etilen glikol diikuti perlakuan menggunakan ekstrak Nusa Indah Putih menunjukkan perbedaan kadar kreatinin yang lebih mencolok antara kelompok normal dan kelompok induksi.⁽¹²⁾ Perbedaan hasil antara penelitian ini dapat menggambarkan adanya pengaruh variasi metode, kondisi biologis hewan uji, maupun karakteristik bahan uji yang digunakan. Dengan demikian, hasil penelitian ini memperluas pemahaman bahwa respons terhadap etilen glikol dapat bersifat kontekstual dan bergantung pada banyak determinan biologis maupun teknis.^(11,13)

Pada hasil penelitian ini, jantan hitam ini efektif dalam menurunkan kadar serum kreatinin yang terlihat pada kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak jantan hitam menunjukkan penurunan kadar kreatinin serum dibandingkan dengan kelompok kontrol maupun kelompok induksi. Hal ini memperlihatkan bahwa ekstrak jantan hitam memiliki potensi memberikan efek supresif terhadap agen nefrotoksik dan protektif terhadap ginjal. Senyawa timokuinon yang terdapat dalam jantan hitam diketahui berperan penting dalam mendukung fungsi ginjal melalui aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antiapoptosis, dan antifibrosis.^(14,15)

Secara fisiologis, mekanisme antioksidan timokuinon bekerja dengan meningkatkan aktivitas enzim pelindung seperti glutathione peroksidase, katalase, dan superoksida dismutase, serta membantu menurunkan senyawa oksidatif yang berpotensi merusak sel ginjal. Efek antiinflamasi jantan hitam juga berperan penting dengan menekan mediator proinflamasi seperti nitrit oksida, TNF- α , IL-1 β , IL-6, dan COX-2 melalui penghambatan jalur AP-1/NF- κ B. Dengan demikian, jaringan ginjal dapat mempertahankan stabilitas strukturnya dari proses inflamasi berlebihan.⁽¹⁴⁾

Selain itu, efek antiapoptosis yang ditimbulkan oleh jantan hitam membantu menjaga keseimbangan regenerasi sel ginjal dengan mengatur ekspresi protein yang berperan dalam mekanisme apoptosis. Sementara efek antifibrosinya berkontribusi dalam menjaga jaringan ginjal dari pembentukan jaringan parut akibat stres oksidatif atau peradangan kronis. Kombinasi efek ini secara keseluruhan memperkuat fungsi filtrasi ginjal dan mendukung penurunan kadar kreatinin dalam darah.⁽¹⁴⁾

Berdasarkan hasil ini dapat diartikan bahwa jantan hitam memiliki potensi sebagai agen nefroprotektif yang mampu membantu mempertahankan fungsi ginjal dan menstabilkan kadar kreatinin serum, baik pada kondisi normal maupun kondisi yang terpapar zat induksi.⁽¹⁶⁾ Dengan hal ini, dapat dibuktikan juga bahwa jantan hitam dapat menjadi agen supresif terhadap paparan zat toksik terhadap ginjal.⁽¹⁶⁻²⁰⁾

Dengan demikian, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak jantan hitam memiliki kemampuan dalam menurunkan kadar kreatinin setelah paparan agen nefrotoksik serta memberikan perlindungan terhadap ginjal melalui mekanisme antioksidan, antiinflamasi, antiapoptosis, dan antifibrosis yang saling bersinergi.⁽¹⁵⁾

Penelitian ini memiliki keterbatasan pada jumlah sampel yang terbatas dan belum mencakup analisis parameter fungsi ginjal lain seperti ureum, sehingga hasilnya perlu dikonfirmasi dengan desain penelitian lanjutan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan ekstrak Habbatussauda (*Nigella sativa*) terbukti memiliki efektivitas sebagai supresan terhadap nefrotoksitas yang diinduksi oleh etilen glikol pada tikus, ditinjau dari kadar kreatinin serum yang menunjukkan adanya penurunan setelah pemberian perlakuan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Gameiro J, Agapito Fonseca J, Jorge S, Lopes JA. Acute kidney injury definition and diagnosis: a narrative review. *Journal of Clinical Medicine*. Oktober 2018;7(10):307.
2. Kemenkes RI. Staf RISKESDAS. Jakarta: Kemenkes RI; 2018.
3. Finlay S, Bray B, Lewington A, Hunter-Rowe C, Banerjee A, Atkinson J. Identification of risk factors associated with acute kidney injury in patients admitted to acute medical units. *Clin Med (Lond)*. 2013;13(3):233–238.

4. Turgut F, Awad AS, Abdel-Rahman EM. Acute kidney injury: medical causes and pathogenesis. J Clin Med. 3 Januari 2023;12(1):375.
5. Patel R, Mistry AM, Mistry CM. Unintentional ethylene glycol poisoning in an adolescent. Cureus. 12(11):e11521.
6. Lukito PK, Endang R, Presiana D, Oktaviany Y, Kartasasmita E. Pedoman mitigasi risiko cemaran etilen glikol (EG) dan dietilen glikol (DEG) pada pangan olahan. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan; 2022.
7. Umar TP, Jain N, Azis H. Endemic rise in cases of acute kidney injury in children in Indonesia and Gambia: what is the likely culprit and why? Kidney International. 2023;103(3):444–447.
8. Chopra H, Attia MS, Badshah SF, Dhama K, Emran TB. Cough syrups: silent killer of Gambian children. Int J Surg. 2023;109(2):150–2.
9. Samarghandian S, Azimi-Nezhad M, Mehrad-Majd H, Mirhafez SR. Thymoquinone ameliorates acute renal failure in gentamicin-treated adult male rats. Pharmacology. 2015;96(3–4):112–7.
10. Tavakkoli A, Mahdian V, Razavi BM, Hosseinzadeh H. Review on clinical trials of black seed (*Nigella sativa*) and its active constituent, thymoquinone. J Pharmacopuncture. September 2017;20(3):179–93.
11. Iqbal A, Glagola JJ, Nappe TM. Ethylene glycol toxicity. in: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025.
12. Rumondor R, Komalig R. Antioxidant activity test and effect of ethanol extract of nusa inda putih (*Mussaenda pubescens*) against creatinine, uric acid and ureum levels in white rats (*Rattus novergicus*). Indonesian biodiver J. 2022;2(1).
13. Elsevier. The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents. Elsevier; 2012.
14. Shaterzadeh-Yazdi H, Noorbakhsh MF, Samarghandian S, Farkhondeh T. An overview on renoprotective effects of thymoquinone. Kidney Dis (Basel). 2018;4(2):74–82.
15. Li W, Zhang H, Zhang L, Zhang T, Ding H. Effect of thymoquinone on renal damage induced by hyperlipidemia in LDL receptor-deficient (LDL-R^{-/-}) mice. Biomed Res Int. 2022;2022:7709926.
16. Hannan MA, Zahan MS, Sarker PP, Moni A, Ha H, Uddin MJ. Protective effects of black cummin (*Nigella sativa*) and its bioactive constituent, thymoquinone against kidney injury: an aspect on pharmacological insights. International Journal of Molecular Sciences. Januari 2021;22(16):9078.
17. Hannan MA, Rahman MA, Sohag AAM, Uddin MJ, Dash R, Sikder MH, Rahman MS, Timalisina B, Munni YA, Sarker PP, Alam M, Mohibullah M, Haque MN, Jahan I, Hossain MT, Afrin T, Rahman MM, Tahjib-Ul-Arif M, Mitra S, Oktaviani DF, Khan MK, Choi HJ, Moon IS, Kim B. Black cummin (*Nigella sativa* L.): A comprehensive review on phytochemistry, health benefits, molecular pharmacology, and safety. Nutrients. 2021 May 24;13(6):1784. doi: 10.3390/nu13061784. PMID: 34073784; PMCID: PMC8225153.
18. Chatterjee G, Saha AK, Khurshid S, Saha A. A comprehensive review of the antioxidant, antimicrobial, and therapeutic efficacies of black cummin (*Nigella sativa* L.) seed oil and its thymoquinone. J Med Food. 2025 Apr;28(4):325–339. doi: 10.1089/jmf.2024.k.0149. Epub 2025 Jan 14. PMID: 39807848.
19. Oskouei Z, Akaberi M, Hosseinzadeh H. A glance at black cummin (*Nigella sativa*) and its active constituent, thymoquinone, in ischemia: a review. Iran J Basic Med Sci. 2018 Dec;21(12):1200–1209. doi: 10.22038/ijbms.2018.31703.7630. PMID: 30627362; PMCID: PMC6312681.
20. Petejova N, Martinek A, Zadrazil J, Teplan V. Acute toxic kidney injury. Ren Fail. 2019 Nov;41(1):576–594. doi: 10.1080/0886022X.2019.1628780. PMID: 31237170; PMCID: PMC6598532.