



**ANALISIS *IN SILICO* DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN  
SENYAWA NANO KOMPLEKS PADA DAUN DAN CABANG  
BIDARA (*Ziziphus mauritiana* Lamk)**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**KHOLISATUN NISA**  
**21701061020**



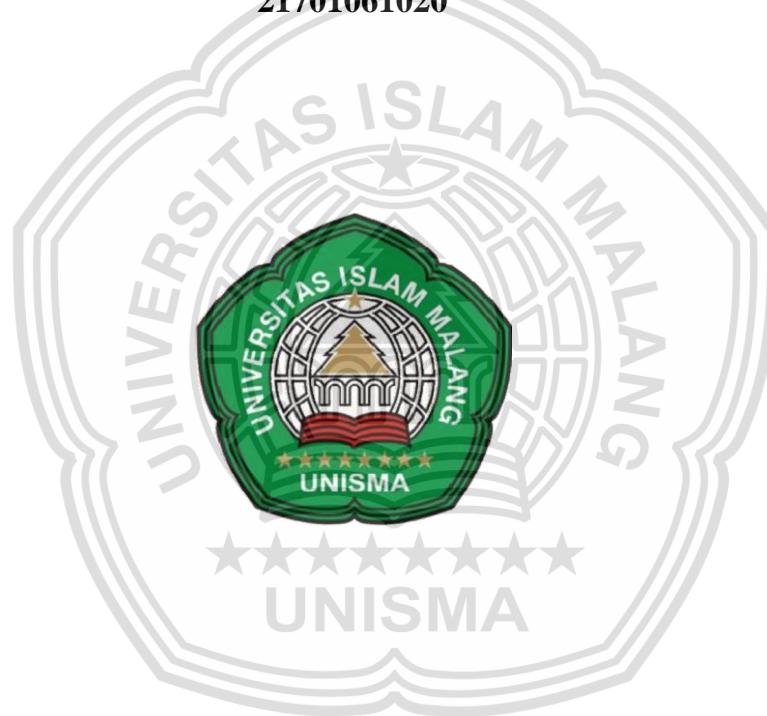
**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ISLAM MALANG  
2021**



**ANALISIS *IN SILICO* DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN  
SENYAWA NANO KOMPLEKS PADA DAUN DAN CABANG  
BIDARA (*Ziziphus mauritiana* Lamk)**

**Diajukan untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana (S1)  
Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Malang**

**Oleh:  
Kholisatun Nisa  
21701061020**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ISLAM MALANG  
2021**

## ABSTRAK

**Kholisatun Nisa (NPM. 21701061020) Analisis *In Silico* dan Aktivitas Antioksidan Senyawa Nano Kompleks Pada Daun dan Cabang Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.)**

Pembimbing (1) Ir.Hj.Tintrim Rahayu, M.Si

Pembimbing (2) Dr.Gatra Ervi Jayanti, S.Si, M.Si.

---

Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) adalah tanaman keluarga *Rhamnaceae*. Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui komposisi senyawa aktif yang berperan sebagai antioksidan pada daun, cabang kombinasi daun-cabang bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) melalui analisis *in silico* serta untuk mengetahui efektivitas dari uji antioksidan pada senyawa nano kompleks daun, cabang, serta kombinasi daun-cabang bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi senyawa aktif yang memiliki peran sebagai antioksidan pada daun bidara, cabang bidara, kombinasi daun-cabang bidara melalui analisis *in silico*, serta mengetahui efektivitas dari uji antioksidan pada senyawa nano kompleks, daun, cabang, serta kombinasi daun-cabang bidara. Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental dengan 3 perlakuan (daun,cabang, kombinasi daun-cabang) dan 3 kali ulangan. Analisis senyawa aktif melalui *in silico* dilakukan secara online dengan website Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases, Passonline, dan Stitch. Uji efektivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH. Hasil analisis *in silico* menunjukkan bahwa ada 4 senyawa dalam Tanaman Bidara yang memiliki peran tinggi sebagai antioksidan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dari tiga perlakuan memiliki perbedaan efektivitas antioksidan. Nilai aktivitas dari perlakuan daun, cabang, kombinasi daun-cabang, secara berturut-turut yaitu 24,026%, 9,889% dan -11,344%.

Kata kunci : Bidara, In silico, DPPH, Aktivitas Antioksidan.

### Abstract

#### **Kholisatun Nisa (NPM. 21701061020) In Silico Analysis and Antioxidant Activity of Nano Complex Compounds on Leaves and Branches of Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.)**

Supervisor (1) Ir.Hj.Tintrim Rahayu, M.Si

Supervisor (2) Dr.Gatra Ervi Jayanti, S.Si, M.Si.

---

Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) is a plant of the Rhamnaceae family. This study aims to determine the composition of active compounds that act as antioxidants in leaves, branches of combination leaves of bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) through in silico analysis and to determine the effectiveness of antioxidant tests on nano complex compounds of leaves, branches, and leaf combinations.bidara branch (*Ziziphus mauritiana* Lamk.). This study aims to determine the composition of active compounds that have a role as antioxidants in bidara leaves, bidara branches, combinations of bidara leaves through in silico analysis, and determine the effectiveness of antioxidant tests on nano complex compounds, leaves, branches, and combinations of leaves and branches. bidara. This research was conducted by experimental method with 3 treatments (leaves, branches, combination of leaves and branches) and 3 replications. The in silico analysis of the active compounds was carried out online with the website of Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases, Passonline, and Stitch. The antioxidant effectiveness test in this study used the DPPH method. The results of the in silico analysis showed that there are 4 compounds in the Bidara plant that have a high role as antioxidants. The results of this study indicate that the antioxidant activity of the three treatments has different antioxidant effectiveness. The activity values of leaf, branch, and leaf-branch combination treatments were 24.026%, 9.889% and-11.344%, respectively.

*Keywords:* Bidara, In silico, DPPH, Antioxidant Activity.

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Radikal bebas dari dalam dan luar tubuh dalam jumlah yang berlebih dapat menyebabkan berbagai macam penyakit. Menurut (Rizkayanti dkk, 2017), Penyakit kanker, diabetes, kardiovaskuler, dan penyakit paru obstruksi kronik merupakan penyakit degeneratif yang dialami mayoritas masyarakat Indonesia dalam dekade terakhir ini. Penyakit degeneratif dapat diantisipasi dengan mengonsumsi makanan yang kaya akan senyawa antioksidan. Senyawa antioksidan dapat mencegah berkembangnya reaksi oksidasi sehingga digunakan untuk meluruhkan radikal bebas. Menurut Samirana (2017), radikal bebas tersebut bisa ditanggulangi dengan berbagai ekstrak dari beberapa tanaman yang kaya antioksidan. Tumbuhan merupakan salah satu sumber antioksidan di alam. Kandungan metabolit sekunder tumbuhan dapat memiliki aktivitas antioksidan yang dapat dimanfaatkan manusia. Salah satu tumbuhan yang telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan adalah bidara. Menurut WHO (1996), tumbuhan merupakan sumber utama terapi bagi manusia sejak zaman dahulu hingga zaman sekarang. Meskipun, obat-obatan (kebanyakan obat sintetik) adalah obat yang dominan dalam pengobatan modern, tetapi obat fitomedisinal (kebanyakan turunan tanaman) lebih populer. WHO melaporkan bahwa hingga 80% penduduk dunia bergantung pada obat-obatan yang berasal dari tumbuhan terutama di negara berkembang. Namun, menurut Rates (2001) pendekatan pengembangan obat dari tanaman sangat rumit dan mahal, setiap obat baru menghabiskan biaya sekitar 100-360 juta dolar AS dan setidaknya 10 tahun kerja intensif dalam bentuk kegiatan multi-disiplin dan terpadu termasuk banyak bidang seperti botani, kimia, farmakologi, ilmu biomedis, bioteknologi dan bahkan antropologi.

Tanaman banyak digunakan untuk pengobatan, contohnya tanaman Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk). Bidara dari keluarga Rhamnaceae umumnya dikenal sebagai jujube India. Genus *Ziziphus* adalah tanaman yang

sangat umum ditemukan di banyak tempat di dunia. Berbagai bagian dari *Ziziphus mauritiana* Lamk digunakan untuk tujuan nutrisi dan medis. Daun digunakan secara tradisional sebagai zat dan anti-tifus (Akhtar, dkk 2016; Najafi, 2013). Banyak penelitian melaporkan bahwa *Ziziphus mauritiana* Lamk memiliki beberapa manfaat medis seperti antioksidan, anti mikroba, anti diare, anti diabetes, hepatoprotektif dan anti kanker (Lim, 2013). Bidara adalah salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Bidara memiliki kandungan fenolat dan flavonoid yang berkhasiat sebagai antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, antifungi dan menghambat pertumbuhan tumor (Abalaka, dkk 2011; Kaur, dkk 2015).

Antioksidan sendiri berkontribusi terhadap aktivitas adaptogenik yang dimiliki suatu tanaman. Antioksidan adalah senyawa yang berguna mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak dalam membantu mengatasi kerusakan oksidatif berpasangan dan dapat menimbulkan kerusakan akibat radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif. Menurut pendapat Hernani dan Rahardjo (2006), Suatu jenis tumbuhan dapat memiliki aktivitas antioksidan jika mengandung senyawa yang mampu menangkal radikal bebas seperti fenol, flavonoid, vitamin C dan E, katekin, karoten, dan resveratrol.

Tanaman bidara pada penelitian ini menggunakan keseluruhan senyawa yang ada dalam daun dan cabang tanpa mengekstraksi salah satu senyawa. Keseluruhan senyawa kompleks lebih efektif meluruhkan radikal bebas daripada senyawa kompleks.

Menurut Sumitro (2011), penyederhanakan atau aktivitas reduksionistik merupakan cara yang dianggap paling mudah dalam mendapatkan pengetahuan dari sebuah penelitian. Padahal, sistem dalam kehidupan merupakan obyek kajian yang kompleks. Maka dari itu, pada pertengahan abad ke-20, teori kompleksitas dikembangkan dari fisika sains. Menurut Miles (2009), *Complexity science* berhubungan dengan sistem kompleks dan masalah yang dinamis, tak terduga dan multi dimensi, serta terdiri dari sekumpulan hubungan dan bagian yang saling berhubungan. Salah satu bidang *complexity science* yang sedang dikembangkan yaitu nano kompleks.

Senyawa dalam keadaan kompleks berbeda dengan senyawa tunggal yang selama ini dipelajari. Senyawa tunggal yang diisolasi dari alam tersebut dianggap bioaktif dengan target spesifik, padahal belum pernah diperkirakan mekanisme alamiahnya. Sebaliknya, senyawa kompleks tidak didapatkan melalui isolasi dan memiliki kemampuan otomatis untuk mencari target dalam tubuh yang memerlukan senyawa tersebut. Contoh dari senyawa kompleks yaitu senyawa antioksidan kompleks. Senyawa antioksidan kompleks dapat membersihkan radikal bebas tanpa disertai adanya pembentukan radikal bebas baru. Sebaliknya, senyawa antioksidan tunggal dapat berubah menjadi pro-oksidan dengan adanya ion logam transisi, sehingga mengumpulkan radikal bebas. Selama interaksi dengan antioksidan tunggal, ion logam dapat dikurangi, teroksidasi, dan kemudian direduksi yang dapat menghasilkan radikal bebas (Jayanti dkk, 2018).

Selain kompleksitas, penelitian ini juga menggunakan teknologi nano, untuk mempermudah obat alami dari bidara lebih efektif. Keuntungan dari penggunaan teknologi nano yaitu dapat mengubah sifat permukaan serta ukuran partikel, sehingga obat herbal dapat ditargetkan untuk organ dengan kemanan yang tinggi. Selain itu, senyawa aktif yang telah dilepaskan dapat dikontrol sehingga efek samping dapat diperkecil, serta obat herbal yang berukuran nano dapat digunakan dalam konsentrasi tinggi (Dewandari dkk, 2013).

Pemanfaatan ekstrak senyawa tunggal tanaman bidara telah banyak dimanfaatkan, sedangkan untuk pemanfaatan dari senyawa kompleks bidara masih belum ada yang melakukan penelitian. Penelitian yang sudah dilakukan pada umumnya dilakukan secara terpisah antara penelitian tentang daun bidara dan penelitian tentang cabang bidara. Dari latar belakang tersebut, maka penelitian ini dilakukan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Adapun Rumusan Masalah dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Bagaimana komposisi senyawa aktif yang memiliki sebagai antioksidan pada daun, cabang, kombinasi daun-cabang bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) melalui analisis *in silico*?

2. Bagaimana efektivitas dari uji antioksidan pada daun, cabang, kombinasi daun-cabang bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.)?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Adapun Tujuan dari penelitian ini sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui komposisi senyawa aktif yang memiliki peran sebagai antioksidan pada daun, cabang, kombinasi daun-cabang bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) melalui analisis *in silico*.
2. Untuk mengetahui efektivitas dari uji antioksidan pada daun, cabang, kombinasi daun-cabang bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.).

### **1.4 Hipotesis**

Adapun Hipotesis dari penelitian ini sebagai berikut :

1. Terdapat senyawa dari daun dan cabang bidara (*Ziziphus Mauritina* Lamk.) yang berpotensi paling tinggi sebagai antioksidan
2. Terdapat perbedaan efektivitas dari uji antioksidan pada senyawa nano kompleks daun,cabang serta kombinasi daun-cabang (*Ziziphus Mauritina* Lamk.).

### **1.5 Batasan Penelitian**

Adapun Batasan dari penelitian ini sebagai berikut :

1. Uji aktivitas antioksidan senyawa nano kompleks daun, cabang, kombinasi daun-cabang menggunakan analisis DPPH.
2. Senyawa nano kompleks didapatkan dengan *Sentrifuge* dan *Freeze dry*.
3. Uji aktivitas antioksidan senyawa nano kompleks daun, cabang, kombinasi daun-cabang menggunakan metode DPPH.

### **1.6 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai informasi mengenai perbandingan efektivitas dari uji antioksidan pada senyawa nano kompleks daun, cabang, serta kombinasi daun-cabang bidara (*Ziziphus mauritina* Lamk) serta mengerti apa saja kandungan senyawa dari daun bidara. Selain itu penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi



pengembangan bahan dasar melalui hasil analisis DPPH untuk menunjang pengetahuan terkait gugus fungsi senyawa yang ada didalam daun bidara.



## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1 Kesimpulan

Senyawa aktivitas antioksidan dari daun dan cabang tanaman bidara dapat diketahui dari hasil *in silico* melalui uji PASS *online* dan STITCH. Berdasarkan hasil yang telah didapatkan 4 senyawa pada tanaman bidara yang memiliki peran penting dalam aktivitas antioksidan yaitu Betulinic-Acid,Ceanothic-Acid,Coumarin dan Rutin. Berdasarkan hasil uji lab didapatkan perbedaan efektivitas dari uji antioksidan pada senyawa nano kompleks daun, cabang, serta kombinasi daun-cabang (*Ziziphus mauritiana* Lamk.). Dari ketiga perlakuan didapatkan hasil beda nyata. Aktivitas antioksidan dari senyawa nano kompleks daun, cabang, daun-cabang terhadap DPPH masing-masing sebesar 24,760%, 9,889 %, -11,344 %.

#### 5.2 Saran

Pada penelitian berikutnya dapat dilakukan pengukuran senyawa nano menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) untuk mengetahui ukuran senyawa. Pengujian antioksidan dengan metode yang berbeda serta dapat menggunakan perbedaan konsentrasi. Pengujian toksisitas juga perlu dilakukan dengan tujuan pemanfaatan senyawa nano kompleks daun dan cabang bidara sebagai obat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Azizah, R. 2020. Analisis In Silico dan Aktivitas Antioksidan Senyawa Nano Kompleks pada Daun dan Biji Kelor (*Moringa oleifera* Lamk). *Skripsi*. Universitas Islam Malang : Malang.
- Abalaka, M.E., Mann, A., Adeyemo, S.O. 2011. Studies on in-vitro antioxidant and free radical scavenging potential and phytochemical screening of leaves of *Ziziphus mauritiana* L . and *Ziziphus spina-christi* L . compared with ascorbic acid. *Journal of Medical Genetics and Genomics*, 3(2):28–34.
- Akhtar, N., Ijaz, S., Khan, H. M. S., Uzair, B., Reich, A. and Khan, B.A. (2016): *Ziziphus mauritiana leaf extract emulsion for skin rejuvenation*. *Trop. J. Pharm. Res.* 15(5): 929-936.
- Anna, R., Suhandar, Jakaria, dkk 2013. Uji Fungsi Freeze Dryer Radiofarmaka. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian dan Pengelolaan Perangkat Nuklir*, Yogyakarta: 11 September 2013. Hal. 61-67.
- Belter, P. A., Cussler, E. L., & Hu, W. 1988. *Bioseparations: Downstream Processing for Biotechnology*. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Campbell, N.A., Reece, J.B., & Mitchell, L.G. 2002. *Biologi Jilid 1 Edisi Kelima*. Alih Bahasa: Wasmen. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Chelliah, D. A. 2008. Biological Activity Prediction of an Ethno Medicinal Plant *Cinnamomum camphora* Through Bio-informatics. *Ethnobotanical Leaflets*. 12: 181-190.
- Dewandari, K.T., Sri, Y., Sedarnawati, Y. 2013. Ekstraksi dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Sirih Merah (*Piper crocatum*). *Jurnal Pascapanen*. 10(2): 58-65.
- Haeria, Hermawati, Pine ATUD. Penentuan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.). *Journal of Pharmaceutical and Medical Sciences*. 2016; 1(2):57-61.

- Hernani & Rahardjo, M. 2006. Tanaman Berkhasiat Antioksidan. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Jayanti, G. E., Sri, E., Akhmad, S., and Sutiman, B.S. 2018. Egg White Albumin Form Complex with Aspirin And Caffeine And Its Role As Free Radical Scavenger. *Asian J Pharm Clin Res.* 11(7): 340-344.
- Khalaf, Nooman A., Ashok K. Shakya, Atif Al-Othman, Zaha El-Agbar, Husni Farah. 2007. *Antioxidant Activity of Some Common Plants. Turk J Biol.* 32(2008): 51-55.
- Khopkar S. M. 2007. *Konsep Dasar Kimia Analitik.* Terjemahan dari Basic Concepts Of Analytical Chemistry oleh Saptoraharjo. Jakarta: UI-Press.
- Lim, T. K. (2013): Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Fruits, Springer Science+Business Media Dordrecht. 605-613. DOI 10.1007/978-94-007-5653-3\_31.
- Malangngi, L.P., Sangi, M.S., & Paendong, J.J.E. (2012). Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea Americana* Mill.). *Jurnal Mipa Unstrat*, 1(1), 5-10.
- Miles, A. 2009. Complexity in Medicine and Healthcare: People and Systems, Theory and Practice. *Journal of Evaluation in Clinical Practice.* 15: 409410.
- Molyneux, P. 2004, The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklaenakarin J. Sci. Technol.*, 26(2) : 211-219.
- Nabavi S.F., et al. 2011, Antioxidant Activity of Wild Medlar (*Mespilus germanical*) Fruits, Stem Bark and Leaf, *African Journal of Biotechnology*, Vol. 10(2): 283-9.
- NanoPartz.2021.CentrifugeSpeeds.<https://www.nanopartz.com/goldnanoparticle-s-properties-centrifuge-speeds.asp>.
- Nazilah, N.R.K. 2019. *Uji Aktivitas Antioksidan dan Skrining Potensi Antikanker Ekstrak Metanol Buah Kurma Ajwa (Phoenix dactylifera).*

- Skripsi. Surabaya: Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Ampel Surabaya.
- Oktaviani, M. 2011. Penggunaan Metode Freezing (-4° C) dengan Konsentrasi DMSO 5% untuk Preservasi Strain-Strain *Nostoc* [Vaucher 1803] Bornet et Flahault 1886. *Skripsi*. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
- Pakade, V., Ewa, C., and Luke, C. 2013. *Comparison of Antioxidant Activity of Moringa oleifera and Selected Vegetables in South Africa. South African Journal of Science.* 109 (3/4): 1-5.
- Prakash, A., Rigelhoff, F., and Miller, E. 2001. Antioxidant Activity: Medallion Laboratories. *Analitycal Progress.* 19(2): 1-4.
- Pramely, R. T., Leon, S. R. 2012. Prediction of Biological Activity Spectra of a Few Phytoconstituents of *Azadirachta india* A. Juss. *Journal Biochem Tech.* 3(4): 375-379.
- Pubchem. 2021. Chemical Structure. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Rates, S. M. K. (2001): Plants as source of drugs. *Toxicon.*, 39: 603-0613.
- Rusli, T.R. 2016. Perbedaan Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Etanol 96% dan Ekstrak Freeze Drying Biji Mangga Gedong (*Mangifera indica L.*). *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia Ke-50.* Samarinda: 20-21 April 2016. Hal. 400-406.
- Samirana, P.O., Putra, P.A., Leliqia, N.P.E. (2017). Uji Penangkapan Radikal 2,2-Difenil,-1-Pikrihidrazil dan profil bioautografi ekstrak etanol kulit batang bidara. *Jurnal Farmasi Udayana*, 6(1).
- Samirana, P.O., Taradipta, I.D.M.R., Leliqia, N.P.E. 2018. Penentuan profil bioautografi dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Auct. non Lamk.) dengan metode penangkapan radikal DPPH. *Jurnal Farmasi Udayana*, 6(2):18- 22.
- Sastrohamidjojo, H, 1991, Spektroskopi, Liberty, Yogyakarta.
- Sumitro, S.B, Sri. W, Sofy.P. 2017. *Biology Sel: Sebuah Perspektif Memahami Kehidupan.* Malang: UB Press.

- Sumitro, S. B. 2011. Reconsider Our Understanding on Biological System (a New Concept Driven by Nanobiology and Complexity Science). Prosiding 49 Seminar Nasional VII Pendidikan Biologi FKIP UNS. Surakarta: Juli 2011. Hal. 1-14.
- Wachidah, L.N. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Naga (*Hylocereus Undatus* (Haw.) Britt. & Rose). *Jurnal Ilmu Dasar*. 8: 83-90.
- Way2drug. 2020. Interpretation. <http://www.way2drug.com/Cell-line/interpr.php>
- Weininger, D. 1988. SMILES, a chemical language and information system. 1. Introduction to methodology and encoding rules. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 28(1): 31–36.
- WHO (1996): WHO Guideline for the Assessment of herbal medicines. WHO Expert Committee on specification for pharmaceutical preparation. Technical Report series no. 863, Geneva.
- Winarsi, H. M. S. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Yuliani, N.N, Desmira. P dan Dienina. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Kelor (*Moringa oleifera*, Lamk) dengan Metode 1,1-diphenyl-2picrylhydrazyl (DPPH). *Jurnal Info Kesehatan*. 14(2): 1060-1082.
- W. Abdelwahed, G. Degobert, H. Fessi, Investigation of nanocapsules stabilization by amorphous excipients during freeze-drying and storage, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 63 (2006) 87–94.