
Uji Aktivitas Antidiabetes dari Ekstrak Metanol Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*) melalui Penghambatan Aktivitas α -Glukosidase

(Antidiabetic Activity of Kiwi Fruit (Actinidia deliciosa) Extract through Inhibition of α -Glucosidase Activity)

Okpri Meila*, Noraini

Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945, Jalan Sunter Permai Jaya, Jakarta Utara 14356

Article Info:

Received: 02 Juli 2017

in revised form: 18 Juli 2017

Accepted: 30 Agustus 2017

Available Online: 01 Oktober 2017

Keywords:

Diabetes melitus,

Phytochemicals,

Kiwi fruit

Actinidia deliciosa

IC₅₀.

ABSTRACT

Diabetes melitus (DM) is defined as a chronic metabolic disease or disorder with multiple etiologies characterized by high blood sugar levels. One way to treat diabetes mellitus is inhibiting the α -glucosidase enzyme. This study aims to determine the inhibition of α -glucosidase of methanol extract of kiwi fruit (*Actinidia deliciosa*). Kiwi fruit (*Actinidia deliciosa*) contains saponins characterized by the formation of foam, positive flavonoid characterized by the formation of a yellow color (orange) and positive alkaloid which is characterized by brown color in wagner test. The inhibition activity test of α -glucosidase enzyme was performed by using spectrophotometric method. The results of the inhibition activity test of α -glucosidase enzyme in acarbose showed the value of 13,672 μ g/mL, while the methanol extract of kiwi fruit showed IC₅₀ value of 7.219 μ g/mL. It demonstrated that the methanol extract of kiwi fruit has the inhibition activity greater than acarbose.

Corresponding Author:

Okpri Meila

Fakultas Farmasi

Universitas 17 Agustus 1945,

Indonesia

Phone : +62 82123677577

Email: okprimeila@gmail.com

Copyright © 2017 JFG-UNTAD

This open access article is distributed under a Creative Commons Attribution (CC-BY-NC-SA) 4.0 International license.

How to cite (APA 6th Style):

Meila O., Noraini. (2017). Uji Aktivitas Antidiabetes dari Ekstrak Metanol Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*) melalui Penghambatan Aktivitas α -Glukosidase. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)*, 3(2), 132-137. doi:10.22487/j24428744.2017.v3.i2.8814

ABSTRAK

Diabetes melitus (DM) didefinisikan sebagai suatu penyakit atau gangguan metabolisme kronis dengan multi etiologi yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah. Salah satu cara pengobatan diabetes melitus adalah dengan mekanisme kerja penghambatan enzim α -glukosidase. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui penghambatan enzim α -glukosidase pada ekstrak metanol buah kiwi (*Actinidia deliciosa*). Buah kiwi (*Actinidia deliciosa*) mengandung saponin yang ditandai dengan terbentuknya busa, positif flavonoid yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning (jingga) dan positif alkaloid dengan terbentuknya endapan warna coklat pada uji wagner. Pengujian aktifitas penghambatan enzim α -glukosidase menggunakan metode spektrofotometri. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase pada acarbose menunjukkan nilai 13,672 ug/mL sedangkan ekstrak metanol buah kiwi menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 7,219 ug/mL. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah kiwi memiliki aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase lebih besar dari pada akarbose.

Kata Kunci : Diabetes Melitus, Fitokimia, Buah kiwi (*Actinidia deliciosa*), IC₅₀.

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan salah satu masalah kesehatan yang besar. Data dari studi global menunjukkan bahwa jumlah penderita Diabetes Melitus pada tahun 2011 telah mencapai 366 juta orang. Jika tidak ada tindakan yang dilakukan, jumlah ini diperkirakan akan meningkat menjadi 552 juta pada tahun 2030 (IDF, 2011). Diabetes mellitus telah menjadi penyebab dari 4,6 juta kematian.

Diabetes mellitus (DM) didefinisikan sebagai suatu penyakit atau gangguan metabolisme kronis dengan multi etiologi yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein sebagai akibat insufisiensi fungsi insulin. Penyebab dari insufisiensi fungsi insulin adalah defisiensi produksi insulin oleh sel-sel β Langerhans kelenjar pankreas atau kurang responsifnya sel-sel tubuh terhadap insulin.

Salah satu cara pengobatan diabetes melitus tipe 2 yaitu dengan penghambatan kerja enzim α -glukosidase yang berperan dalam konversi karbohidrat menjadi glukosa. Dengan dihambatnya kerja enzim α -glukosidase kadar glukosa dalam darah dapat dikembalikan dalam batas normal (Bösenberg, 2008).

Banyak tumbuhan yang mengandung senyawa bioaktif seperti glukosida, alkaloid, terpenoid, dan flavonoid mempunyai aktifitas sebagai antioksidan dan antidiabetes (Suarsana, *et al.* 2008). Salah satu tumbuhan tersebut adalah buah kiwi sebagai antioksidan. Berdasarkan penelitian Msc Herry Santoso, Senyawa yang di miliki buah kiwi

(*Actinidia deliciosa*) adalah flavonoid dan polifenol. Diketahui bahwa buah kiwi mengandung zat-zat yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan karena kemampuannya melindungi DNA didalam inti sel manusia dari kerusakan akibat radikal bebas, untuk menghambat penuaan dini dan beberapa jenis penyakit degeneratif, untuk mencegah kanker dan kardiovaskuler, penyumbatan darah, stroke dan tekanan darah tinggi, gagal ginjal, diabetes, katarak dan glukoma. Penelitian lain (Anitha Roy, 2011) menyebutkan bahwa buah kiwi mempunyai senyawa bioaktif terutama polipenol. Hal ini menunjukkan bahwa buah-buahan dan sayuran mencegah insitol gula alkohol alami pada buah kiwi berperan positif dalam mengatur diabetes. Menurut hasil tersebut, ekstrak metanol buah kiwi memiliki menyerahkan efek yang menguntungkan terhadap penyakit diabetes.

Pengujian aktivitas penghambat enzim α -glukosidase dalam penelitian ini dilakukan pada ekstrak metanol dari buah kiwi. pengujian ini menggunakan metode spektrofotometri. Jika ternyata efektif, buah kiwi tersebut sebagai terapi diabetes melitus data penelitian ini akan dijadikan data pendukung pada uji klinis ekstrak buah kiwi terhadap pasien diabetes melitus. Selanjutnya ekstrak ini diharapkan dapat menjadi suplemen dalam terapi pasien diabetes melitus yang pada akhirnya mampu menurunkan morbiditas (angka kesakitan) dan mortalitas (angka kematian) akibat penyakit tersebut.

METODE PENELITIAN

Alat

Timbangan analitik, *rotary vacuum evaporator* (Buchi R-125, Jerman), dan *microplate reader*.

Bahan

Bahan kimia yang akan digunakan adalah enzim α -glukosidase yang berasal dari rekombinan *Saccharomyces cerevisiae* (Sigma Aldrich, USA), akarbose, p-nitrofenil- α -Dglukopiranosidasi (PNPG) (Wako Pure Chemical Industries Ltd., Jepang), dimetil sulfoksida (DMSO) (Merck, Jerman), Bovine Serum Albumin (BSA) (Merck, Jerman), dan Metanol.

Cara Kerja

Pembuatan ekstrak Metanol Buah Kiwi

Sebanyak 500 gram serbuk buah kiwi diambil dan proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol. Proses maserasi selama 3 x 24 jam. Kemudian dilakukan penyaringan dan didapat filtratnya. Filtrat yang didapat diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50⁰C hingga diperoleh ekstrak kental yang bebas dari pelarut. Ekstrak Buah Kiwi yang dihasilkan akan digunakan untuk pengujian selanjutnya.

Uji Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak Metanol buah kiwi sehingga dapat diketahui senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri.

a. Identifikasi Tanin

Ekstrak kental ditambahkan 3 tetes larutan FeCl₃ lalu diamati perubahan warna. Jika terbentuk warna biru kehijauan maka positif tanin (Farnsworth, 1996).

b. Identifikasi Flavonoid

Ekstrak kental 2 mL ditambahkan 1 mL HCl pekat dan ditambahkan 0,05 serbuk Mg. Jika terbentuk busa berwarna merah atau jingga, berarti positif tanin. Kemudian dinginkan dan ditambahkan amil alkohol, kocok. Jika warna merah naik ke atas positif flavonoid. Ekstrak metanol positif terhadap flavonoid dengan terbentuknya warna merah setelah direaksikan dengan HCl dan serbuk Mg (Arum et al, 2012).

c. Identifikasi Saponin

Ekstrak kental sebanyak 2-3 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu dikocok ditambahkan 10

ml air panas kemudian didinginkan lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik lalu ditambahkan 1 tetes HCL 2 N. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih selama tidak kurang dari 10 menit. Dapat terbentuk busa dikarenakan oleh sifat saponin yang dapat menurunkan tegangan permukaan air. Seperti sabun atau detergen, saponin mempunyai molekul besar yang mengandung gugus hidrofilik dan lipofilik (hidrofobik) (Farnsworth, 1996).

d. Identifikasi Alkaloid

Ekstrak kental buah kiwi ditambahkan dengan HCl 2 N. Jika pada penambahan HCl 2 N diperoleh larutan bening, maka dapat langsung diuji dengan pereaksi Meyer, Dragendorff dan Bouchardad. Jika tidak bening, maka tambahkan NH₄OH + CHCl₃, lalu tambahkan HCl 2 N, kocok lalu ambil lapisan air dan reaksikan dengan pereaksi Meyer, Dragendorff dan Bouchardad. Adanya senyawa alkaloid ditunjukkan oleh terjadinya endapan putih dengan pereaksi Meyer, endapan coklat jingga dengan pereaksi Dragendorff, dan endapan coklat pada pereaksi wagner (Depkes RI, 2000).

e. Identifikasi Triterpenoid

Sebanyak 2 mL ekstrak buah kiwi ditambahkan CH₃COOH glasial sebanyak 10 tetes dan H₂SO₄ pekat sebanyak 2 tetes. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. triterpenoid memberikan warna merah atau ungu (Harborne, 1987).

Penyiapan Larutan Enzim

Pembuatan larutan enzim dilakukan dengan cara menimbang 2,9 mg α -glukosidase dan dilarutkan dalam 100 ml larutan dapar fosfat pH 7,0 yang mengandung 200 mg Bovine Serum Albumin (BSA) dalam kondisi dingin sehingga diperoleh larutan induk 0,8 U/ml. Selanjutnya di pipet 5 ml dari larutan induk enzim, diencerkan dengan dapar fosfat pH 7,0 yang megandung Bovine Serum Albumin (BSA) 200 mg hingga 10 ml ,kemudian dipipet kembali 1 ml dari pengenceran kemudian di encerkan dengan buffer fosfat pH 7,0 hingga 10 ml. hingga diperoleh larutan enzim 0,01 U/mL. Larutan enzim dapat disimpan dalam freezer dengan temperature -20⁰C dan tetap stabil hingga 1 bulan.

Penyiapan Larutan StandarAkarbose

Ditimbang 100 mg akarbose kemudian dilarutkan dalam buffer fosfat 10 ml. hingga di dapatkan konsentrasi 10 ug/mL. kemudian dilakukan pengenceran sampai diperoleh konsentrasi larutan

0,25 ug/mL, 1 ug/mL, 2 ug/mL, 5 ug/mL, 7 ug/mL dan 10 ug/mL.

Persiapan Ekstrak

Ekstrak sebanyak 10 mg dilarutkan dengan 100 µL dimetil sulfoksida (DMSO) kemudian dicukupkan volumenya dengan dapar fosfat pH 7,0 pada labu ukur 10 ml sehingga diperoleh larutan ekstrak dengan konsentrasi 10.000 ug/mL, selanjutnya dilakukan pengenceran menjadi 125 ug/mL, 250 ug/mL, 500 ug/mL, 1000 ug/mL, 1500 ug/mL dan 2000 ug/mL.

Uji Efek Inhibisi α -Glukosidase

Pada ekstrak metanol, dilakukan uji efek inhibisi α -glukosidase.

a. Pengujian Blanko

Larutan dapar fosfat pH 7,0 sebanyak 50 µL ditambahkan dengan 10 µL larutan dimetil sulfoksida (DMSO), 25 µL paranitrofenil α -D- glukopiranosida dengan konsentrasi 10 mM, dan enzim α -glukosidase 0,01 U/mL sebanyak 25 µL. Kemudian campuran diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, ditambahkan 100 mL N_2CO_3 200 mM. Larutan kemudian diukur adsorbansinya dengan microplate reader pada panjang gelombang 410 nm.

b. Pengujian Sampel

Larutan dapar fosfat pH 7,0 sebanyak 50 µL ditambahkan dengan 10 mL larutan sampel (ekstrak) yang konsentrasinya 125 ug/mL, 250 ug/mL, 500 pm, 1000 ug/mL, 1500 ug/mL, 2000 ug/mL dan juga ditambahkan 25 µL p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida dengan konsentrasi 10 mM Campuran diinkubasi selama selama 30 menit pada suhu 37°C lalu ditambahkan 25 µL larutan enzim dengan konsentrasi 0,01 U/mL. Setelah masa inkubasi selesai, kemudian ditambahkan 100 µL Na_2CO_3 200 mM. Larutan sampel kemudian diukur adsorbansinya dengan microplate reader pada panjang gelombang 410 nm.

c. Pengujian Larutan Standar Akarbose

Larutan dapar fosfat pH 7,0 sebanyak 50 µL ditambahkan dengan 10 µL larutan sampel yang konsentrasinya 0,25 ug/mL, 1 ug/mL, 2 ug/mL, 5 ug/mL, 7 ug/mL, 10 ug/mL dan 25 µL p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida dengan konsentrasi 10 mM, enzim α -glukosidase 25 µL, kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, tambahkan 100 µL Na_2CO_3 200 nm. Larutan sampel diukur adsorbansinya dengan microplate reader pada panjang gelombang 410 nm.

Persen penghambatan dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ hambatan} = \frac{c-s}{c}$$

Keterangan :S= absorbansi sampel

C=absorbansi kontrol (Blanko DMSO)

Sedangkan, IC_{50} dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y.

Dari persamaan: $y = a + bx$ dapat dihitung nilai IC_{50} dengan menggunakan rumus:

$$IC_{50} = \frac{50-a}{b}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan organoleptis ekstrak

Adapun organoleptis yang dihasilkan adalah : Ekstrak yang diperoleh berbentuk cairan kental, berwarna coklat dan berbau khas

Hasil ekstraksi buah kiwi dengan pelarut metanol menghasilkan bobot ekstrak sebesar 119 gram dengan nilai rendemen 23,81%. Untuk nilai susut pengering yang diperoleh dari ekstrak metanol buah kiwi sebesar 6,86 %.

Maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam. Filtrat hasil ekstraksi tersebut disaring agar terpisah dari residunya. Seluruh filtrat yang didapat ditampung dan diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C hingga metanol menguap seluruhnya Keuntungan penggunaan *rotary evaporator* yaitu suhu pada proses penguapan dapat dikontrol sehingga dapat menghindari kerusakan zat aktif karena pemanasan. Selanjutnya ekstrak metanol yang diperoleh, ditimbang untuk menghitung rendemen. (Depkes RI, 2000).

Ekstraksi cara maserasi dipilih karena metode maserasi adalah salah satu metode ekstraksi cara dingin yang mudah dilakukan karena alat dan caranya sederhana, dan memungkinkan senyawa aktif yang terkandung didalam simplisia tidak rusak karena cara dingin dapat digunakan untuk simplisia yang tahan dan tidak tahan akan pemanasan. Sedangkan metode ekstraksi cara panas hanya dapat digunakan untuk simplisia yang tahan dalam pemanasan. Bila dibandingkan dengan metode cara dingin yang lain (perkolasi), metode maserasi di nilai lebih efisien dan mudah dilakukan, karena metode perkolasi membutuhkan waktu ekstraksi dan pelarut yang lebih banyak

Skrining Fitokimia dilakukan terhadap senyawa kimia golongan alkaloid, flavonoid,

saponin, tanin dan triterpenoid dari ekstrak metanol buah kiwi. Dari hasil skrining fitokimia dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol dari buah kiwi (*Actinidia deliciosa*) positif mengandung flavonoid, saponin dan alkaloid pada uji wagner.

Metanol dapat menarik alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid dari tanaman (Thompson,1985). Penelitian Suryanto (2009) menunjukkan bahwa metanol mampu menarik lebih banyak jumlah metabolit sekunder yaitu senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin.

Sebelum dilakukan uji aktivitas penghambat enzim α -glukosidase, uji pendahuluan dilakukan terlebih dahulu, yang bertujuan untuk mencari kondisi yang optimum untuk uji aktivitas enzim. Prinsip uji pendahuluan dan aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase adalah enzim α -glukosidase akan menghidrolisis p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida menjadi p-nitrofenol yang berwarna kuning dan glukosa. Aktivitas enzim diukur berdasarkan hasil absorbansi warna kuning p-nitrofenol (Sugiwati dkk, 2009). Uji aktivitas penghambat enzim α -glukosidase digunakan metode spektrofotometri. Faktor koreksi dibuat untuk sampel (S) dan blanko (B). Koreksi sampel meliputi dua hal yaitu memastikan bahwa natrium karbonat benar-benar sudah menghambat kerja enzim dan mengetahui apakah ada absorbansi yang terbaca dari senyawa selain p-nitrofenol dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 410 nm. (Dewi, et al. 2007).

Pengujian dilakukan dengan berbagai konsentrasi ekstrak buah kiwi agar mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak terhadap daya inhibisi yang dapat dinyatakan dalam persen inhibisi atau IC_{50} . Persen inhibisi menunjukkan jumlah persentase enzim yang dihambat oleh konsentrasi sampel, sehingga makin besar nilai persen menunjukkan makin besar inhibisinya terhadap enzim, dan sebaliknya (Hardoko dkk, 2015). IC_{50} menunjukkan kemampuan dari sampel dalam menghambat aktivitas enzim sebesar 50 persen, sehingga makin kecil nilai IC_{50} menunjukkan aktivitas inhibisi makin tinggi, dan sebaliknya. Mardawati et al (2008) menyatakan bahwa $IC_{50} < 50$ ug/mL sangat kuat jika bernilai 50-100 ug/mL, sedang jika IC_{50} bernilai 100-150 ug/mL, lemah jika IC_{50} adalah 150-200 ug/mL, dan sangat lemah jika nilai $IC_{50} > 200$ ug/mL. Pengujian terhadap akarbose digunakan sebagai acuan atau pembandingan pada pengujian terhadap ekstrak metanol. Akarbose mempunyai IC_{50} sebesar 13,672 ug/mL, sedangkan ekstrak metanol buah kiwi, persamaan regresi linier yang diperoleh adalah $y = -12,618 + 8,673x$. Dari

persamaan regresi linier tersebut diperoleh nilai koefisien korelasi (r atau r^2) sebesar 0,971 dan IC_{50} pada ekstrak metanol buah kiwi sebesar 7,219 ug/mL. Berdasarkan hasil uji aktivitas ekstrak metanol buah kiwi, apabila dilihat hasil IC_{50} yang dicapai maka ekstrak metanol buah kiwi memiliki nilai hambatan yang lebih besar dari akarbose

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut: Hasil uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase pada akarbose menunjukkan nilai IC_{50} 13,672 ug/mL termasuk kategori kuat, sedangkan ekstrak Metanol buah kiwi menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 7,219 ug/mL hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah kiwi memiliki aktivitas penghambatan α -glukosidase, hal ini menunjukkan aktivitas ekstrak etanol buah kiwi menghambat α -glukosidase lebih kuat daripada akarbose.

DAFTAR PUSTAKA

- Arum YP, Supartono, Sudarmin. (2012). Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*), *Jurnal MIPA*, 35(2), 165-174
- Bosenberg, L. H. (2008). The mechanism of action of oral antidiabetic drugs :a review of recent literatur. *The Journal of Endocrinology, Metabolism and Diabetes of South Africa*, 13(3),80-88
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Jakarta
- Farnsworth, N.R, (1996), Biological and Pytochemical Screening of Plants, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55(3), 226-227
- Hardoko, Febriani A, Siratantri T. (2015). Aktivitas Antidiabet Secara In vitro Agar-agar, Agarosa, Dan Agaropektin Dari Rumput Laut *Gracilaria gigas*. *Jurnal pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 18(2), 128-139
- Harborne JB. (1987). *Metode Fitokimia*, Bandung, ITB
- International Diabetes Federation. (2011). *Diabetes Evidence Demands Real Action From The*

Un Summit On Non-Communicable Diseases, retrieved from <http://www.idf.org/diabetes-evidence-demands-real-action-un-summit-non-communicable-diseases>.

International Diabetes Federation. (2011). *One Adult In Ten Will Have Diabetes By 2030*. Retrieved from <http://www.idf.org/media-events/press-releases/2011/diabetes-atlas-8th-edition>.

Mardawati E, Filianty F, Marta H. (2008). Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana L*) Dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis Di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya, *Jurnal Teknotan*, 2(3)

Sugiwati, Sri., Siswati Setiasih, & Efy Afifah. (2009). *Antihyperglycemic activity of the mahkota dewa (Phalerria macrocarpa (Scheff.) Boerl.) leaf extracts as an alpha-glucosidase inhibitors*. Makara Kesehatan, 3(2), hal berapa? .

Suryanto E, & Katja DG. (2009). Aktivitas Penangkal Radikal bebas dan Penstabil Oksigen Singlet dari Ekstrak Daun Kunyit (*Curcuma domestica Val.*), *Chemistry Progress.*, 2(2); 87-95

Thompson, E. B. (1985). *Drug Bioscreening*. America, Graceway Publishing Company, Inc. Pp. 40, 118.

Roy, Anitha & friends. (2011). *Edible Fruits-Nature's Gift For Diabetes patients –A Comprehensive Review*. Retrieved from [http:// globalresearchonline.net/journalcontents/volume9issue2/article-029.pdf](http://globalresearchonline.net/journalcontents/volume9issue2/article-029.pdf).