

UJI AKTIVITAS ANTIPLASMODIUM FRAKSI N-HEKSANA DAUN *Peronema canescens* TERHADAP *Mus musculus*

Fenny Andriani*¹, Agus Sundaryono², Nurhamidah³

Program Studi Pendidikan Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu

^{1,2,3} Program Studi Pendidikan Kimia, jurusan PMIPA, FKIP, Universitas Bengkulu

*¹e-mail: fennyandriani42@gmail.com

Abstract

Peronema canescens (Sungkai) has been used in Bengkulu as raw herbal remedy to reduce the fever, some people are using as a malaria drug. *P. canescens* leaves contain alkaloids, flavonoids, tannins and terpenoids – steroids. This study aims to analyze the effect of *P. canescens* leaves n-hexane fraction against paracetemias in *Mus musculus* infected with *Plasmodium berghei*, then to prove whether the *P. canescens* leaves n-hexane fraction has potential as alternative medicine for malaria. To make *P. canescens* extract, leaves was macerated using EtOH (96%), then filtrate was evaporated using a rotary evaporator, then fractionated with n-hexane. The 25 healthy *M. musculus* weighing 20-40g each, infected with *P. berghei*, grouped into 5 ie group 1 (K-) was treated orally with aquades, group 2 (K+) was treated orally with 0.42 mg of Chloroquine, Group 3 (P₁) Group 4 (P₂), group 5 (P₃) was treated orally with a *P. canescens* leaves n-hexane fraction each at a dose of 0.028, 0.056 and 0.084 g / kgBW. After 3 days of digestion for each treatment, the amount of erythrocytes was calculated under a microscope. : The giving of the with dose 0,028 g / kgBW able to inhibit paracetemia 33,49%, 0,056 g / kgBW able to 57.91% and 0,084 g / kgBW able to 61.69% The conclusion is the *P. canescens* leaves n-hexane fraction at a dose of 0.028, 0.056, and 0.084 g / kgBW orally will be decreased the amount of paracetemia in *M. musculus*, and the higher the dose given the higher percent of the inhibition.

Keywords: *Peronema canescens*, *Mus musculus*, *Plasmodium berghei*.

Abstrak

Peronema canescens (Sungkai) oleh masyarakat Bengkulu digunakan sebagai obat herbal untuk menurunkan panas, dan sebagian masyarakat menggunakan rebusan daun *P. canescens* sebagai obat malaria. Daun tanaman *P. canescens* mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan terpenoid – steroid. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur pengaruh pemberian fraksi n-heksan daun *P. canescens* terhadap jumlah parasitemia pada *Mus musculus* yang diinfeksi *Plasmodium berghei*, kemudian menganalisa apakah fraksi n-heksan daun *P. canescens* berpotensi sebagai obat alternatif penyakit malaria. Daun kering *P. canescens* di maserasi menggunakan EtOH (96%), filtrat diuapkan menggunakan rotary evaporator, kemudian difraksinasi dengan n-heksana. 25 ekor *M. musculus* sehat dengan berat 20-40g diinfeksi dengan *P. berghei*, kemudian dikelompokkan menjadi 5 yaitu kelompok 1 (K-) diberi perlakuan secara oral dengan aquades, kelompok 2 (K+) diberi perlakuan secara oral dengan 0,42 mg Klorokuin, kelompok 3 (P₁), kelompok 4 (P₂), kelompok 5 (P₃) diberi perlakuan secara oral dengan fraksi n-heksana daun *Peronema canescens* sungkai masing-masing dengan dosis 0,028, 0,056 dan 0,084 g/kgBB. Setelah 3 hari digavage untuk setiap perlakuan, jumlah eritrosit dihitung di bawah mikroskop. Pemberian fraksi n-heksana daun *P. canescens* sungkai secara oral pada *M. musculus* dengan dosis 0,028 g/kgBB mampu menghambat persen parasitemia sebesar 33.49%, dosis 0,056 g/kgBB sebesar 57.91% dan dosis 0,084 g/kgBB sebesar 61.69%. Pemberian fraksi n-heksana daun *P. canescens* dengan dosis 0,028, 0,056, dan 0,084 g/kgBB secara oral mampu menurunkan jumlah parasitemia pada *M. musculus*, dan semakin tinggi dosis yang diberikan semakin tinggi persen penghambatannya.

Kata kunci : *Peronema canescens*, *Mus musculus*, *Plasmodium berghei*.

PENDAHULUAN

Tumbuhan obat adalah salah satu sumber senyawa yang berkhasiat untuk mengobati berbagai penyakit. [1, 2] Hal ini menjadi penting karena tanaman banyak mengandung berbagai senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti terpenoid, steroid, alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan fenolik yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas [3] sehingga sangat berpotensi sebagai sumber baru obat [4]. Salah satu jenis tanaman yang telah digunakan oleh masyarakat di daerah Bengkulu sebagai obat tradisional untuk mengobati penyakit infeksi seperti malaria adalah

Peronema canescens (Sungkai). Seperti pada suku Lembak Delapan di daerah Bengkulu, diketahui bahwa tanaman *P. canescens* merupakan bahan baku obat herbal untuk menurunkan panas [5], dan rebusan daunnya secara tradisional juga digunakan oleh penduduk lokal Curup, Provinsi Bengkulu sebagai obat penyakit malaria [6]. Sampai saat ini, penyakit malaria masih menjadi masalah yang serius di Indonesia, apalagi provinsi Bengkulu telah dikategorikan sebagai daerah zona merah penderita malaria, [7]. ditambah lagi adanya resistensi parasit terhadap obat-obatan antiplasmodium seperti klorokuin [8]. Karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mencari ta-

naman yang berpotensi sebagai obat alternatif terhadap malaria.

Penelitian ini bertujuan untuk mengukur pengaruh pemberian fraksi n-heksan daun *P. canescens* terhadap jumlah parasitemia pada *Mus musculus* yang diinfeksi *Plasmodium berghei*, kemudian menganalisa apakah fraksi n-heksan daun *P. canescens* berpotensi sebagai obat alternatif untuk penyakit malaria

METODE PENELITIAN

Daun *P. canescens* segar dicuci bersih kemudian dipotong kecil-kecil dan dilakukan pengeringan dengan cara diangin-anginkan, kemudian di maserasi dengan etanol 96% selama 7 hari. Hasil maserasi diuapkan, kemudian di fraksinasi dengan pelarut n-heksana. Hasil fraksinasi dipekatkan dengan penguapan menggunakan seperangkat *rotary evaporator* sehingga diperoleh fraksi n-heksana daun *P. canescens*.

M.musculus jantan diadaptasikan di dalam kandang selama beberapa hari. Setelah diadaptasi, *M. musculus* jantan dibagi ke dalam 5 kelompok. Pada setiap kelompok, kelompok control negative -*M. musculus* yang diinfeksi *P. berghei* diberi aquades secara oral, kontrol positif diberi kloroquin, kelompok perlakuan P₁, P₂, dan P₃ yang merupakan *M.musculus* yang diinfeksi *P.berghei* diberi fraksi n-heksan daun *P.canescens* dengan dosis secara berturut-turut 0,028, 0,056 dan 0,084 g/KgBB.

Dalam menggunakan dosis efektif 0,028 , 0,056 dan 0,084 g/Kgbb digunakan dosis yang disesuaikan dengan berat *M.Musculus*. [9] Konversi dosis efektif fraksi n-heksana daun sungkai yang diberikan pada *M. musculus* dengan berat rata-rata 35 g, untuk dosis 0,028 g/KgBB adalah 0,166 mL, dosis 0,056 g/KgBB adalah 0,33 mL, sedangkan dosis 0,084 g/KgBB adalah 0,5 mL.

Pengembangan *P.berghei* dilakukan dengan cara mengambil darah *M.musculus* yang diinfeksi dengan menggunakan spuit injeksi yang telah diisi dengan antikoagulan EDTA sebanyak 0,1 mL, selanjutnya diinjeksikan ke *M. musculus* yang belum terinfeksi *P. berghei* dengan volume 0,2 mL secara intra-peritoneal.

Untuk mengetahui jumlah eritrosit *M. musculus* yang telah terinfeksi *P. berghei* dilakukan dengan cara memotong ekor *M. musculus* sepanjang 0,1 mm, bagian pangkal ekor di tarik sampai ke ujung supaya darah *M. musculus* keluar, kemudian darah tersebut dibuat apusan di atas kaca preparat.

Perhitungan parasitemia adalah presentase dari sel darah merah yang terinfeksi malaria.

$$\% \text{ parasitemia} = \frac{\text{jumlah eritrosit yang terinfeksi}}{\text{jumlah eritrosit}} \times 100$$

$$\% \text{ pertumbuhan} = \frac{P(d2-d1)+P(d3-d2)+\dots+P(d7-d6)}{6}$$

$$\% \text{ penghambatan} = 100 - \left[\frac{Xe}{Xk} \times 100 \right]$$

Keterangan:

Xe = % pertumbuhan rata-rata parasit pada tiap kelompok uji

Xk = % pertumbuhan rata-rata parasit pada tiap kelompok kontrol negative

P[dx-(dx-1)] = % parasitemia hari ke-x dikurangi dengan % parasitemia hari sebelumnya

Data yang diperoleh dari hasil uji kuantitatif pada *M. musculus* yang terinfeksi *P. berghei* dilakukan analisa *One Way Anova*. Rumus anova yang digunakan adalah:

$$FK = \frac{(\sum x)^2}{n(k)}$$

$$JK \text{ Total} = \sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n(k)}$$

$$JK \text{ perlakuan} = \frac{\sum (\sum Xi)^2}{n} - \frac{(\sum X)^2}{n(k)}$$

$$\text{Varian (KT) perlakuan} = \frac{JK \text{ perlakuan}}{K-1}$$

$$JK = JK \text{ total} - JK \text{ perlakuan}$$

$$\text{Varian (KT) Galat} = \frac{JK \text{ Galat}}{k(n-1)}$$

$$F \text{ Hitung} = \frac{\text{varian perlakuan}}{\text{varian galat}}$$

Keterangan :

FK = faktor koreksi, JK = Jumlah Kuadrat ,

Varian = kuadrat tengah

Apabila F hitung > F tabel, maka menunjukkan hasil yang signifikan atau H₁ diterima dan H₀ ditolak, dan apabila H₁ diterima dilanjutkan dengan uji DMRT.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman *P.canescens* yang diperoleh di daerah Tugu Hiu, Kota Bengkulu. Bagian yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun.

Daun *P.canescens* segar yang digunakan sebanyak 7658 g, lalu dikeringkan. Berat sampel kering yang diperoleh adalah 3254 g. Sampel kering dimaserasi, kemudian sejumlah filtrat dipekatkan dengan *rotaty evaporator* dan diperoleh ekstrak etanol sebanyak 248 g. Ekstrak kental tersebut selanjutnya di fraksinasi dengan n-heksana dan diuapkan, sehingga diperoleh fraksi n-heksana daun *P.canescens* sebanyak 14,39 g. Berdasarkan Tabel 1, rendemen fraksi n-heksana daun *P. canescens* terhadap sampel kering adalah sebesar 0,44%.

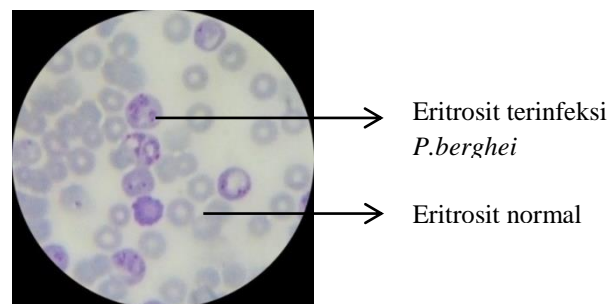
Tabel 1. Data Rendemen Daun *P.canescens*

No	Daun Sungkai	Rendemen Daun Sungkai		
		Sampel Segar (7658 g)	Sampel Kering (3254 g)	Ekstrak Kental Etanol (248 g)
1	Ekstrak kasar	3,23%	7,62%	-
2	Fraksi n-heksana (14,39 g)	0,19%	0,44%	5,80%

Fraksi n-heksana daun *P.canescens* yang sudah di evaporasi, selanjutnya diuji aktivitas biologisnya kepada *M. musculus* dengan berat badan rata-rata 35 g. *M. musculus* yang digunakan berjenis kelamin jantan karena tidak terjadi fluktuasi hormon yang dapat menyebabkan suhu tubuh *M.musculus* lebih tinggi $\pm 0,3-0,6$ °C di atas suhu biasa (36,5 °C-38,0 °C), akibat dari pengeluaran hormon progesteron pada masa ovulasi dan bentuk pertahanan homeostatis sekresi hormon yang diatur oleh hipotalamus.

Dari Gambar 1 mengenai pengamatan apusan sel darah *M.musculus* pada mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x, menunjukkan perbedaan karakteristik antara eritrosit normal dan yang terinfeksi. Eritrosit normal berwarna kekuningan dan tidak ada inti, sedangkan yang terinfeksi memiliki titik-titik dan lebih besar dibandingkan normal serta berwarna lebih pucat.

Perbedaan karakteristik tersebut disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Eritrosit Mencit Jantan

Dari total 25 ekor *M.musculus*, dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan didapat hasil rata-rata jumlah eritrosit *M.musculus* jantan yang terinfeksi *P.berghei* seperti dalam Tabel 2.

Tabel 2. Rata-Rata % Parasetemia *M.musculus* Jantan

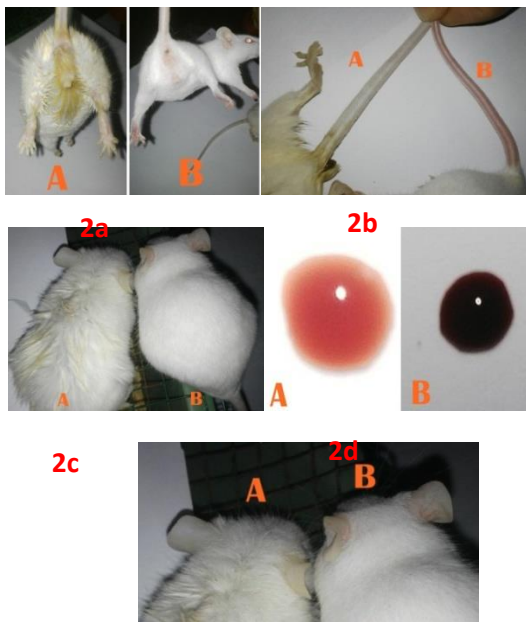
Perlakuan	Pengulangan	% Parasetemia \pm SD						
		Hari 1	Hari 2	Hari 3	Hari 4	Hari 5	Hari 6	Hari 7
K-	5	51.43	59.96	63.03	62.51	74.56	69.52	82.39
		± 7.50	± 9.81	± 10.4	± 9.35	± 10.63	± 8.78	± 4.44
K+	5	32.48	23.95	46.19	38.64	37.51	77.16	61.97
		± 7.33	± 3.9	± 8.5	± 6.73	± 9.91	± 5.84	± 3.83
P1	5	35.55	40.45	40.72	48.6	44.78	60.16	37.97
		± 5.23	± 6.15	± 7.72	± 10.79	± 8.91	± 7.51	± 9.08
P2	5	27.6	25.71	25.52	22.05	32.67	31.79	29.70
		± 5.47	± 1.02	± 5.92	± 4.60	± 7.04	± 4.49	± 5.37
P3	5	23.84	29.19	23.91	26.06	24.93	26.11	23.49
		± 7.10	± 6.87	± 2.06	± 1.11	± 3.24	± 3.31	± 3.13

Keterangan : K- : (*M. musculus* terinfeksi *P.berghei* + aquades); K+ : (*M.musculus* terinfeksi *P.berghei* + klorokuin); P1:(*M. musculus* terinfeksi *P.berghei* + fraksi n-heksana dosis efektif 0,028 g/kgbb); P2: (*M.musculus* terinfeksi *P.berghei* + fraksi n-heksana dosis efektif 0,056 g/kgbb); P3 : (*M.musculus* terinfeksi *P.berghei* + fraksi n-heksana dosis efektif 0,084 g/kgbb)

Dari Tabel 2, terlihat bahwa adanya perbedaan persen parasetemia setiap kelompok uji yang disebabkan oleh beberapa faktor yaitu faktor sampel, parasit dan *M. musculus*. Untuk faktor sampel, fraksi n-heksana daun *P. canescens* yang digunakan sebagai obat masih dalam dosis yang rendah sehingga masih banyak parasit yang mampu bertahan dan berkem-

bang. Faktor parasit dikarenakan kemungkinan adanya mutasi gen. [10] akibat adanya gen yang resistensi dan sensitif terhadap obat tertentu. Faktor *M.musculus* dikarenakan adanya perbedaan sistem imun antar *M.musculus* yang dapat mem-pengaruhi kemampuan *M.musculus* pada saat mengeliminasi parasit.

Dilihat dari segi fisik *M.musculus* yang terinfeksi *P.berghei*, pada hari pertama hingga hari ke-7, terjadi beberapa perubahan seperti pada Gambar 2. Awalnya *M.musculus* tersebut masih sehat dan segar dan semakin hari semakin lemas, pucat, menggigil, bulu tubuhnya menipis dan ekornya pucat.



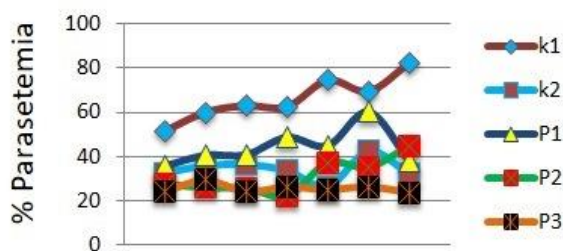
Keterangan :

A = *M.musculus* terinfeksi *P.berghei*

B = *M. musculus* Sehat

Gambar 2. Perbedaan *M. musculus* Sakit dan Sehat Ditinjau Dari Segi Fisik: (2a) Keadaan Perut (2b) Ekor (2c) Bulu (2d) Darah (2e) Telinga

Berdasarkan penelitian, fraksi n-heksana daun *P.canescens* memperlihatkan adanya perbedaan dan pengaruh terhadap penurunan % parasitemia pada *M. musculus* jantan pada setiap perlakuan yang disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Rata-rata %Parasitemia Pada Masing-masing Perlakuan Setelah Pengamatan H1-H7

- K- :(*M. musculus* terinfeksi *P.berghei* + aquades)
 K+ :(*M. musculus* terinfeksi *P.berghei* + klorokuin)
 P1 :(*Mus musculus* terinfeksi *P.berghei* + fraksi n-heksana dosis efektif 0,028 g/kgbb)
 P2 :(*M. musculus* terinfeksi *P.berghei* + fraksi n-heksana dosis efektif 0,056 g/kgbb)
 P3 :(*M. musculus* terinfeksi *P.berghei* + fraksi n-heksana dosis efektif 0,084 g/kgbb)

Kelompok perlakuan tiga adalah kelompok perlakuan yang paling bagus karena pada kelompok perlakuan ini kenaikan % parasitemia sangat kecil dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lain (Gambar 3). Kenaikan % parasitemia kecil berarti % hambatan pertumbuhan parasit yang besar. Pada kontrol negatif, terlihat adanya kenaikan % parasitemia, yang berlaku juga pada kontrol positif, perlakuan 1, dan perlakuan 2 yang mengalami kenaikan dan penurunan yang tidak signifikan. Semakin besar dosis fraksi n-heksana daun *P.canescens* yang diberikan maka akan semakin besar % hambatannya. Hal ini dikarenakan adanya kandungan zat aktif dalam dosis tersebut yang mampu menghambat pertumbuhan parasit. Data persentase pertumbuhan dan penghambatan setiap perlakuan disajikan pada Tabel 4.

Berdasarkan Tabel 4 terlihat bahwa % penghambatan pada kontrol (-) sebesar 0%, kontrol (+) sebesar 31.40%, P1 sebesar 33,49%, P2 sebesar 57.91% dan P3 sebesar 61.69%. Kelompok P3 memiliki %penghambatan yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lain.

Berdasarkan Tabel 5, data perhitungan % parasitemia yang dianalisis menggunakan anova *single* faktor, memperlihatkan adanya pengaruh dosis yang diberikan terhadap *Mus musculus* jantan.

Tabel 4. Persentase Pertumbuhan dan Penghambatan Parasit Setiap Perlakuan

Perlakuan	% Pertumbuhan	% Penghambatan
K (-)	5.16	0
K (+)	4.92	31.40
P1	0.40	33.49
P2	0.35	57.91
P3	-0.06	61.69

Keterangan :

K- :(*M.musculus* terinfeksi *P.berghei* + aquades)

K+ :(*M.musculus* terinfeksi *P.berghei* + klorokuin)

- P1 : (*M.musculus* terinfeksi *P.berghei* + fraksi n-heksana dosis efektif 0,028 g/kgbb)
 P2 : (*M.musculus* terinfeksi *P.berghei* + fraksi n-heksana dosis efektif 0,056 g/kgbb)
 P3 : (*M.musculus* terinfeksi *P.berghei* + fraksi n-heksana dosis efektif 0,084 g/kgbb)

Dari hasil analisis, diketahui bahwa hari pertama (H1), kedua, ketiga, keempat, kelima, keenam dan hari ketujuh nilai F Hitung > F tabel sehingga H1 diterima. Hal ini menunjukkan bahwa adanya perbedaan rata-rata persen parasitemia yang nyata antar kelompok perlakuan.

Tabel 5. Hasil analisa anova *single faktor*

No	F hitung	F tabel	
		5%	1%
1	6.04		
2	17.50		
3	23.16		
4	8.63	2.86	4.43
5	26.04		
6	15.61		
7	7.72		

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa Pengaruh pemberian fraksi n-heksana daun *P. canescens* terhadap jumlah parasitemia *M. musculus* jantan yang diinfeksi *P. berghei* menunjukkan adanya penurunan jumlah parasitemia pada *M. musculus* jantan. Pada dosis 0,084 g/kgbb memiliki nilai rata-rata penurunan yang lebih signifikan dibandingkan dengan dosis 0,028 dan 0,056 g/kgbb. Hal tersebut menunjukkan adanya hubungan peningkatan dosis fraksi n-heksana daun *P. canescens* terhadap penurunan % parasitemia *M. musculus* jantan berbanding lurus dengan peningkatan dosis sampel.

Dilihat dari segi fisik, terdapat perbedaan antara *M.musculus* yang sehat dan *M.musculus* yang terinfeksi *P.berghei* yang dapat diamati dari segi ekor, bulu, daun telinga, darah dan bagian perut.

SARAN

Perlu penelitian berupa pengujian lanjut dengan dosis yang lebih besar dan mengisolasi senyawa aktif berdasarkan bioaktivitasnya secara *in vivo* dan *in vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Mohamad H , Andriani Y , Bakar K, Siang CC, Syamsimir, DF Alias A and Radzi SAM, S, 2015, Effect of drying method on anti-micro-bial, anti-oxidant activities and isolation of bio-active compounds from *Peperomia pellucida* (L) Hbk, *Journal of Chemical and Pharma-ceutical Research*, 7(8). <http://www.jocpr.com>.
- [2] Andriani Y, 2014, The Miraculous Mahkota Dewa , Article in *Voyages of Discovery UMT* 2: 9, Publisher : University Malaysia Terengganu, Kuala Terengganu
- [3] Andriani. Y, Mohamad, H., 2013, Potential Therapeutic Lead Coumpouds From Our Local Coastal Forest, , *The 26th Symposium of Malaysia Analytical Sciences (SKAM 26)* , Khuching Serawak Malaysia, 4-5 December.
- [4] Andriani. Y, 2010, Study Correlation between antioxidant activity and total phenolics content of *Phaleria macrocarpa* leaves extract, *UMTAS International conference*, University Malaysia Terengganu (UMT) Kuala Terengganu Malaysia 6-8 Mei
- [5] Yani, A.P. 2013. *Kearifan Lokal Penggunaan Tumbuhan Obat Oleh Suku Lembak Delapan di Kabupaten Bengkulu Tengah, Bengkulu* <http://jurnal.fmipa.unila.ac.id/index.php/semirata/article/viewFile/575/395>.(diakses tanggal 17 November 2016).
- [6] Ningsih, A. 2013. *Potensi Antimikroba dan Analisis Spektroskopi Isolat Aktif Ekstrak N-Heksan Daun Sungkai (Peronema canescens. Jack) Terhadap Beberapa Mikroba Uji*. Molekul11(1):101-111, <http://pasca.unhas.ac.id/jurnal/files/pdf> (diakses tanggal 23 November 2016)
- [7] Ibrahim, A., dan Hadi Kuncoro. 2012. Identifikasi Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Terhadap Beberapa Bakteri Patogen. *Journal Of Tropical Pharmacy and Chemistry*. 2(1).
- [8] Depkes RI. 2008. Pedoman Penatalaksanaan Kasus Malaria Di Indonesia. D.J. Pengendalian. Jakarta. <http://www.depkes.go.id/download.php?file=download/pusdatin/buletin/buletin-dbd.pdf>
- [9] Darmawan, R. 2014. Uji Aktivitas Antiplasmodium (*Peronema canescens*) terhadap Mus musculus Jantan Serta Implementasinya sebagai LKS Pada materi Protista. <http://repository.unib.ac.id>.

- [10] Badiaraja, P.H.2014. *Uji Potensi Antipiretik Daun Muda Sungkai (Peronema canescens) Pada Mus musculus serta Implementasinya dalam pembelajaran sistem Imun di SMA*. Skripsi: FKIP UNIB. <http://repository.unib.ac.id>.

Penulisan Sitasi Artikel ini ialah :

Andriani. F, Sundaryono, A. Nurhamidah, 2017, Uji Aktivitas Antiplasmodium Fraksi n-Heksana Daun *Peronema canescens* Terhadap *Mus musculus*. *Alotrop*, 1(1):33-38.