

EFEKTIVITAS PEMBERIAN GEL BINAHONG (*ANREDERA CORDIFOLIA*) 5% TERHADAP JUMLAH SEL FIBROBLAST PADA SOKET PASCA PENCABUTAN GIGI MARMUT (*CAVIA COBAYA*)

Tifani Ardiana*, Andina Rizkia Putri Kusuma**, Muhammad Dian Firdausy**

ABSTRACT

Keywords:
Binahong leaf, socket post extraction, guinea pig (*Cavia cobaya*)

Background: Binahong Leaf (*Anredera Cordifolia*) is known as a medicinal plant. Binahong gel contains an assortment of phytochemicals. **Purpose:** This study was conducted to determine the effectiveness of the Binahong gel (*Anredera cordifolia*) 5% application into the socket after tooth extraction of guinea pig (*Cavia cobaya*), and then its fibroblast cells histologically observed at days 4 and 7. **Method:** This research method was a quasi-experimental. The sample used were 16 guinea pigs (*Cavia cobaya*) males, aged 3-5 months and divided into 4 groups. Group 1 consisted of four guinea pigs were given a gel Binahong until day 4, 1 control group consisted of four guinea pigs were not given gel Binahong until day 4, 2 treatment groups were given gel Binahong until day 7 and 2 control groups were not given gel Binahong until day 7, then the guinea pigs decapitated to be made histological preparats, the aim to see and count the number of fibroblast cells. Kemudian dimasukkan dalam data lalu dianalisis. The data analyzed by Kruskal Wallis test with probability $p < 0.05$, and Mann Whitney to determine differences in effectiveness between variables. **Result:** Based on the Kruskal-Wallis test, there is a significant difference between the number of fibroblasts which had giving Binahong gel after tooth extraction of guinea pigs ($p < 0.05$). From the Mann Whitney test concluded the treatment group 1 and control group 1 showed not significant ($p > 0.05$). In the second treatment group and control group 2 can be concluded there is a significant difference ($p < 0.05$). **Conclusion:** From the results of this study application gel Binahong 5% for 4 days after tooth extraction does not effectively influence the number of fibroblasts, for 7 days proved effective influence fibroblast cell count after tooth extraction of guinea pig (*Cavia cobaya*).

PENDAHULUAN

Pencabutan gigi adalah suatu proses mengeluarkan gigi dari prosesus alveolaris. Proses pencabutan gigi akan selalu menyebabkan kerusakan jaringan, baik jaringan keras maupun jaringan lunak seperti perdarahan, rasa sakit, dan edema¹.

Reepitelisasi jaringan merupakan suatu proses dalam penyembuhan luka, yaitu proses kembalinya epitel yang hilang pada suatu luka yang melibatkan sel *fibroblast*². *Fibroblast* merupakan sel utama yang ditemukan dalam mekanisme penyembuhan luka³. Pada jaringan normal (tanpa

perluasan), pemaparan sel *fibroblast* sangat jarang dan biasanya bersembunyi di matriks jaringan penunjang. Saat jaringan mengalami peradangan, maka *fibroblast* akan bermigrasi ke arah luka, berproliferasi dan memproduksi matriks kolagen untuk memperbaiki jaringan yang rusak. Saat kolagen dan *Extra Celluler Matrix* (ECM) disintesa, terbentuk epitel baru pada mukosa untuk menutup permukaan luka. Pembentukan *fibroblast* dimulai pada hari ke 4 dan mencapai puncaknya pada hari ke 7 setelah luka⁴. Proliferasi *fibroblast* pada tahap penyembuhan luka mengindikasikan adanya proses penyembuhan yang berangsur cepat⁵.

*Program Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Unissula Semarang, ** Staff Pengajar Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung Semarang
Korespondensi: ardhianat@yahoo.com

Indonesia adalah negara yang terkenal akan kebudayaan dan keanekaragaman suku bangsanya termasuk dalam hal obat tradisional, salah satu tanaman tradisional yang dipercaya berfungsi untuk mengobati berbagai macam penyakit dan menyembuhkan luka, misalnya luka sayatan, luka bekas operasi, luka khitan dan luka memar terpukul adalah tanaman Binahong⁶. Daun Binahong antara lain mengandung flavonoid sebagai analgesik, anti inflamasi, dan antioksidan⁷. Kandungan flavonoid yang tinggi pada Binahong berperan pada fase proliferasi sel selama proses penyembuhan luka dengan meningkatkan proses mitogenesis, interaksi sel serta adhesi molekul⁵. Asam oleanolik, saponin, dan triterpenoid juga terkandung dalam Binahong⁸. Bentuk sediaan hidrogel mengandung sifat fisis yang mampu memberikan lingkungan yang kondusif untuk perbaikan luka. Sediaan hidrogel Binahong yang telah terbukti efektif terhadap proses penyembuhan luka adalah 5%⁹.

Penelitian ini bertujuan Mengetahui jumlah sel *fibroblast* yang terdapat pada soket pasca pencabutan gigi marmut (*Cavia cobaya*) setelah diberi gel Binahong (*Anredera Cordifolia*) 5% pada hari ke 4 dan ke 7. Mengetahui jumlah sel *fibroblast* yang terdapat pada soket pasca pencabutan gigi marmut yang tidak diberi gel Binahong (*Anredera Cordifolia*) 5% npada hari ke 4 dan ke 7. Melihat perbedaan jumlah sel *fibroblast* pada soket pasca pencabutan gigi marmut (*Cavia cobaya*) yang diberi gel Binahong (*Anredera Cordifolia*) 5% dan yang tidak diberi gel Binahong (*Anredera Cordifolia*) 5%.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini yaitu eksperimental kuasi dengan rancangan *post test only control group design*. Tempat penelitian di Klinik hewan Kasih Satwa Semarang, Laboratorium Kimia Universitas Negeri Semarang, dan Laboratorium Patologi Anatomi Universitas

Diponegoro.

Dalam penelitian ini digunakan bahan gel Binahong 5% yang dibuat di Lab Kimia, dan menggunakan alat untuk pencabutan gigi marmut (pinset, *needle holder*). Sampel menggunakan 20 ekor marmut jantan berumur 3-5 bulan, dan berat badan 300-500 mg. Dibagi menjadi kelompok perlakuan 1 yang diberi gel Binahong 5% sampai hari ke 4, kelompok kontrol 1 yang tidak diberi gel Binahong 5% sampai hari ke 4, perlakuan 2 yang diberi gel Binahong 5% sampai hari ke 7, kelompok kontrol 2 yang tidak diberi gel Binahong 5% sampai hari ke 7, dicabut gigi Incisivus rahang bawah kanan, diberi gel Binahong 5%, 3 kali sehari pagi, siang, malam dengan selisih waktu 6 jam dengan cara memasukan gel Binahong (*Anredera Cordifolia*) 5% kedalam *syringe* yang ujungnya dibengkokkan, lalu dimasukan kedalam soket perlahan jangan sampai melukai dinding soket hewan coba. Kemudian marmut tersebut dilakukan dekaputasi untuk dibuat preparat histologi dilakukan di laboratorium patologi anatomi, tujuannya untuk melihat dan menghitung jumlah sel *fibroblast* antara kelompok perlakuan dan kelompok control. Kemudian dimasukan dalam data, dan dianalisis menggunakan sistem olah data SPSS.

HASIL PENELITIAN

Dari penelitian yang dilakukan pada 20 ekor marmut *cavia cobaya*, dengan mengaplikasikan gel Binahong, hasil penelitian dapat diuraikan pada tabel 1.

Berdasarkan pengamatan pada preparat soket pasca pencabutan marmut *cavia cobaya* menunjukkan adanya kenaikan jumlah *fibroblast* antara kelompok perlakuan 1 dan kelompok kontrol 1 dan antara kelompok perlakuan 2 dan kelompok kontrol 2. Selanjutnya dilakukan pengujian homogenitas dan normalitas untuk mengetahui apakah data terdistribusi normal atau tidak menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan *Levene test* karena data berskala rasio.

Tabel 1 Rata-rata jumlah *fibroblast* pada masing-masing kelompok perlakuan dengan pengamatan 5 lapang pandang

Perlakuan	Rerata
Kelompok perlakuan 1 atau P1 (aplikasi gel daun Binahong sampai hari ke 4)	5,76
Kelompok Perlakuan 2 atau P2 (aplikasi gel daun Binahong sampai hari ke 7)	20,48
Kelompok kontrol 1 atau K1 (tidak diberikan aplikasi gel daun Binahong sampai hari ke 4)	5,16
Kelompok kontrol 2 atau K2 (tidak diberikan aplikasi gel daun Binahong sampai hari ke 7)	11,8

Tabel 2 Hasil uji normalitas dan homogenitas *Saphirowilk*

Kelompok	Mean ± SD	Median (min – maks)	<i>Shapiro Wilk</i> (sig.)	<i>Levene statistic</i> (sig.)
P1	5,76 ± 2,347	5,6 (3 – 9,2)	0,946	0,014
P2	20,48 ± 8,544	21,8 (11,4 – 30,8)	0,450	
K1	5,16 ± 2,071	5,8 (1,8 – 7,4)	0,376	
K2	11,8 ± 5,240	10,4 (8,4 – 21)	0,013	

Dari hasil uji normalitas data dengan menggunakan *Shapiro Wilk* didapatkan pada kelompok K2 mempunyai nilai $p < 0,05$ dan dari uji *Levene Statistic* nilai $p < 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa distribusi data tidak normal dan tidak homogen, sehingga untuk selanjutnya dilakukan uji non parametrik *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan *Mann Whitney*.

Tabel 3 Hasil uji *Kruskal Wallis*

Kelompok	Mean ± SD	p
P1	5,76 ± 2,347	0,002
P2	20,48 ± 8,544	
K1	5,16 ± 2,071	
K2	11,8 ± 5,240	

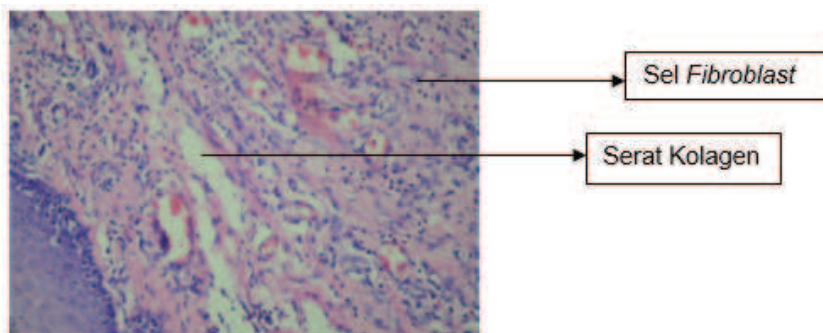
Dari uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai $p = 0,002$, karena $p < 0,05$ maka dapat disimpulkan terdapat perbedaan bermakna (signifikan)

antara pemberian gel Binahong 5% terhadap jumlah sel *Fibroblast* pasca pencabutan gigi marmut. Untuk mengetahui perbedaan antara kelompok dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*.

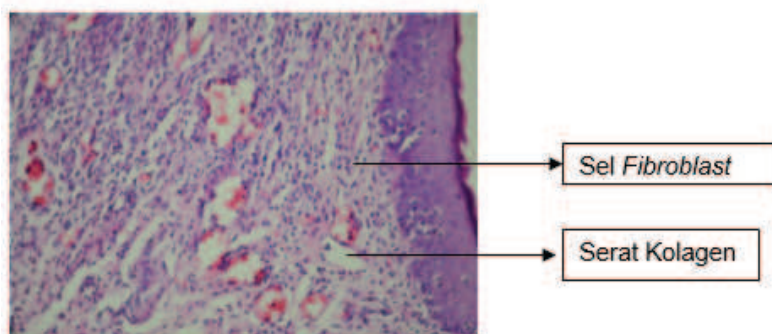
Tabel 4 Hasil uji *Mann Whitney*

Kelompok	Mean ± SD	p
P1	5,76 ± 2,347	0,917
K1	5,16 ± 2,071	
P2	20,48 ± 8,544	0,028
K2	11,8 ± 5,240	

Dari hasil uji *Mann Whitney* didapatkan antara P1 (diberi gel Binahong 5% sampai hari ke 4) dan K1 (tidak diberi gel Binahong 5% sampai hari ke 4) didapatkan nilai $p = 0,917$, karena $p > 0,05$ maka tidak signifikan. Sedangkan antara P2 (diberi gel Binahong 5% sampai hari ke 7) dan K2 (tidak diberi gel Binahong 5% sampai hari ke 7) didapatkan nilai $p = 0,028$, karena p



Gambar 1 *Fibroblast* kelompok kontrol 1 atau K1



Gambar 2 *Fibroblast* kelompok perlakuan 2 atau P2

$< 0,05$ maka dapat dinyatakan signifikan antara pemberian gel Binahong 5% terhadap jumlah sel *Fibroblast* pasca pencabutan gigi marmut.

DISKUSI

Pada proses penyembuhan luka, respon inflamasi adalah yang pertama kali muncul. Pada fase ini terjadi proses hemostasis yang terjadi karena vasokonstriksi pembuluh darah di daerah luka, retraksi pembuluh darah, dan terjadi penumpukan trombosit dan pengendapan fibrin serta eritrosit di daerah luka. Proses fagositosis oleh leukosit juga terjadi untuk membersihkan debris di daerah luka¹⁰. Fase inflamasi berakhir sekitar hari ketiga hingga keempat pasca terjadinya luka, setelah itu luka akan mengalami fase proliferasi hingga kurang lebih 14 hari. *Fibroblast* sangat berperan penting pada fase ini, sehingga fase ini juga dikenal dengan fase fibroplasi, dimana sel-sel *fibroblast* akan bergerak aktif menuju

jaringan yang rusak dan mengalami proliferasi serta mensintesis kolagen yang menghasilkan jaringan granulasi untuk kembali menyatukan luka¹¹.

Sel *fibroblast* digunakan sebagai indikator penyembuhan luka dikarenakan sel ini merupakan sel yang dominan dalam proses penyembuhan luka. Sel ini berasal dari sel mesenkim yang bertanggung jawab untuk memproduksi matriks baru yang diperlukan untuk mengembalikan struktur dan fungsi pada jaringan yang terluka¹². *Fibroblast* muncul pertama kali pada hari ke 4 dan mencapai puncak pada hari ke 7. Pada hari ke 4 merupakan awal dari fase proliferasi. Terjadi proliferasi epitel pada permukaan bekuan darah, *fibroblast* yang berasal dari dinding-dinding tulang alveolar mulai berproliferasi dan menyebar masuk kedalam bekuan darah. Pada hari ke 7 terjadi proliferasi sel *fibroblast* dari jaringan ikat pada ligamen periodontal dan didapatkan jumlah sel fibroblast yang maksimal pada proses penyembuhan luka¹³.

Pada gambar sel *fibroblast* yang diamati melalui mikroskop perbesaran 400x, dilihat dari rata-rata jumlah sel *fibroblast* antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol, didapatkan rata-rata jumlah sel *fibroblast* yang signifikan antara kelompok perlakuan 2 dan kelompok kontrol 2 dimana jumlah antara kelompok perlakuan 2 lebih banyak disbanding kelompok kontrol 2. Sedangkan jumlah sel *fibroblast* pada kelompok perlakuan 1 jumlahnya hampir sama dibanding kelompok kontrol 1.

Hewan coba yang telah dilakukan pengaplikasian gel Binahong 5% memberi efek yang lebih besar terhadap kesembuhan pada proses penyembuhan luka yang terjadi dalam soket pasca pencabutan. Hal ini karena gel daun Binahong mempunyai kandungan fitokimia seperti flavonoid, saponin, asam askorbat, dan asam oleanolik yang berpengaruh dalam mekanisme antiinflamasi, antimikroba dan antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa pemberian gel daun Binahong¹⁴.

Kandungan Flavonoid berfungsi sebagai anti inflamasi dan berpengaruh pada proliferasi sel *fibroblast*. Flavonoid mampu mengurangi proses inflamasi melalui hambatan terhadap pembentukan prostaglandin yang dibentuk oleh asam arachidonat dan mediator inflamasi lain seperti histamin dan serotonin. Fase inflamasi menyebabkan migrasi neutrofil, kemudian berlanjut menuju ke daerah luka yang digantikan oleh monosit⁶. Flavonoid juga diketahui mempunyai kemampuan menghambat kerja asam arakhidonat melalui jalur lipooksigenase dan siklooksigenase yang diikuti dengan terhambatnya produksi prostaglandin, tromboksan dan leukotrien sebagai mediator peradangan sehingga emigrasi leukosit ke area radang menurun. Dengan demikian maka mempercepat proses radang ke tahap proliferasi sehingga proses penyembuhan menjadi lebih cepat. Efek antibakteri pada saponin dapat sebagai pelindung jaringan granulasi dari bakteri dan virus sehingga proses penyembuhan tidak terganggu¹⁵.

Dalam teori sebelumnya¹⁴ menerangkan bahwa flavonoid juga berfungsi sebagai antioksidan. Antioksidan akan berikatan dengan radikal bebas yang tidak stabil yang

dapat menyebabkan kerusakan membran sel sehingga sel tidak bisa berfungsi secara sempurna. Dengan adanya ikatan ini, maka radikal bebas tidak akan stabil sehingga kerusakan membran sel dapat berkurang sehingga fase proliferasi dapat lebih cepat terjadi.

Pada gel daun Binahong juga terdapat dan saponin yang berfungsi sebagai antimikroba. Anti mikroba mempengaruhi tahapan penyembuhan luka yang selanjutnya. Saponin merupakan zat aktif yang dapat meningkatkan permeabilitas membrane sehingga terjadi hemolisis sel, apabila saponin berinteraksi dengan sel kuman, kuman tersebut akan pecah atau lisis. Selain itu, saponin dapat meningkatkan proliferasi monosit sehingga dapat meningkatkan jumlah makrofag. Makrofag akan mensekresi *growth factor* seperti FGF, PDGF, TGF- β , dan EGF yang dapat menarik lebih banyak *fibroblast* ke daerah luka dan mensintesis kolagen serta meningkatkan proliferasi pembuluh darah kapiler¹¹.

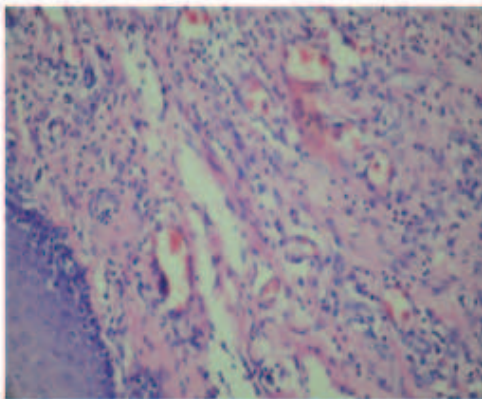
Jumlah *fibroblast* yang meningkat pada kelompok perlakuan sesuai dengan teori sebelumnya⁶, bahwa asam oleanolik yang berfungsi sebagai anti inflamasi, anti bakteri, anti oksidan terbukti mampu menstimulasi sel *fibroblast* oleh fibronectin. Asam oleanolik juga sering dikaitkan dengan aktivasi TGF-B. TGF-B yang merupakan salah satu faktor pertumbuhan (*growth factor*) akan mengalami perbanyakan sel atau proliferasi yang kemudian akan menjadi kerangka bagi reepitelisasi dan proliferasi fibroblast. Jadi apabila gumpalan fibrin cepat terbentuk, maka *fibroblast* akan segera berproliferasi sehingga secara otomatis jumlah fibroblast akan meningkat¹².

Setelah analisis data menggunakan program SPSS, ketika dilakukan uji normalitas dan homogenitas, dihasilkan data yang tidak normal dan tidak homogen nilai p seharusnya $p > 0,05$ tapi data yang ada $p 0,14$, karena pada beberapa preparat dari kelompok kontrol dan perlakuan didapatkan perbedaan jumlah sel *fibroblast* dengan rentang hasil data yang berbeda jauh dari yang lain. Ada yang jumlahnya sedikit dan ada juga yang banyak. Hal ini perlu diketahui bahwa ada

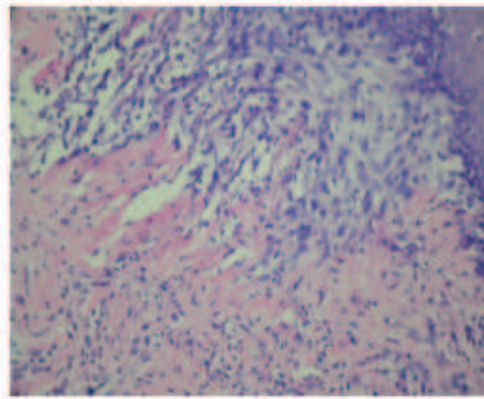
beberapa faktor yang dapat mempengaruhi penyembuhan luka, faktor-faktor tersebut dapat mempengaruhi satu atau lebih dari fase perbaikan jaringan. beberapa faktor antara lain imunitas dari masing-masing individu marmut. Pada saat perlakuan sedang berlangsung ada beberapa ekor marmut yang kurang sehat karena mungkin merasa kesakitan atau nyeri pasca pencabutan gigi.

Pada saat analisis data signifikansi atau uji beda *Kruskal wallis* data terbukti signifikan karena nilai p pada data adalah 0,002 dengan ketentuan signifikansi $p < 0,05$. Hal ini menandakan bahwa pemberian gel daun Binahong terbukti efektif berpengaruh terhadap jumlah *fibroblast*. Namun pada uji antar variabel *Mann Whitney* diketahui bahwa hasil signifikansi pada penelitian perlakuan 1 (P1) dan kontrol 1 (K1) lebih dari 0,05 artinya bahwa data tersebut tidak signifikan dikarenakan jumlah fibroblast pada kelompok perlakuan 1 selisihnya tidak

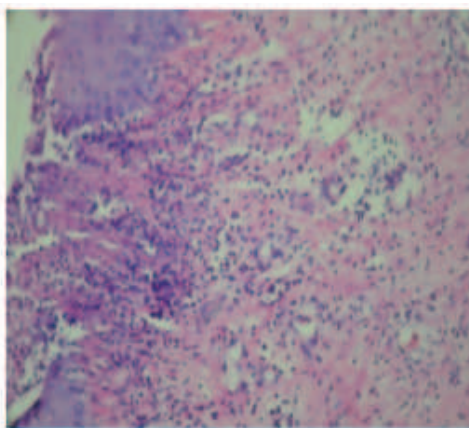
terlalu jauh dengan kelompok kontrol 1, berbeda dengan kelompok perlakuan 2 yang signifikan karena jumlah *fibroblast* pada kelompok perlakuan 2 jumlahnya jauh lebih banyak jika dibandingkan dengan jumlah *fibroblast* pada kelompok kontrol 2. Kemungkinan yang dapat mempengaruhi hasil yang tidak signifikan dari penelitian ini dikarenakan proliferasi sel *fibroblast* mencapai puncaknya pada hari ke 7 setelah diaplikasikan gel Binahong. Hal ini diperkuat dengan teori sebelumnya¹³ bahwa tahap proliferasi dimulai pada hari ke 4 sampai hari ke 7, dimana dalam tahap proliferasi terjadi migrasi *fibroblast* ke area luka yang mencapai puncaknya pada hari ke 7. Kemungkinan hal ini berkaitan antara satu sama lain karena jumlah *fibroblast* antara kelompok perlakuan 1 yang diberi gel Binahong sampai hari ke 4 dan kelompok perlakuan 2 yang diberi gel Binahong sampai hari ke 7 hasilnya cukup signifikan.



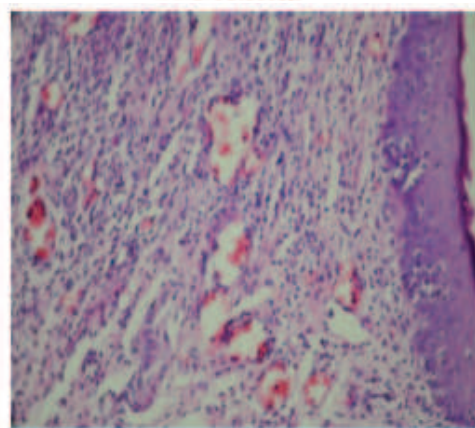
Gambar 3 *Fibroblast* kelompok kontrol 1



Gambar 4 *Fibroblast* kelompok perlakuan 1



Gambar 5 *Fibroblast* kelompok kontrol 2



Gambar 6 *Fibroblast* kelompok perlakuan 2

KESIMPULAN

1. Pemberian gel daun Binahong (*Anredera Cordifolia*) 5% efektif terhadap jumlah sel fibroblast pada soket pasca pencabutan gigi marmut (*cavia cobaya*)
2. Lama pemberian gel Binahong (*Anredera Cordifolia*) 5% selama 4 hari pasca pencabutan gigi marmut (*Cavia Cobaya*) terbukti tidak efektif terhadap jumlah sel fibroblast.
3. Lama pemberian gel Binahong (*Anredera Cordifolia*) 5% selama 7 hari pasca pencabutan gigi, terbukti efektif berpengaruh terhadap peningkatan jumlah sel fibroblast
4. Terdapat perbedaan jumlah sel fibroblast pada soket pasca pencabutan gigi marmut (*Cavia Cobaya*) yang diberi gel Binahong dan tidak diberi gel Binahong.

DAFTAR PUSTAKA

1. Junqueira et a.l. *Histologi dasar* edisi 8. Jakarta: EGC (1997)
2. Guyton dkk. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. EGC. Jakarta. h. 480-481 (2007)
3. Baxter, L.C., Frauchiger,V., Textor,M., Gwynn,l. ap, and Richards,R.G. *Fibroblast and Osteoblast Adhesion and Morphology on Calcium Phosphate Surface.*(2002)
4. Syamsuhidayat, R.Windejong. *Buku Ajar Ilmu Bedah*. Jakarta:EGC (2004)
5. Taqwim, Ali. *Peran Fibroblast pada Proses Penyembuhan Luka*. [http:// dentosca.wordpress.com/2011/04/18/peran-fibroblast-pada-proses-penyembuhan-luka/](http://dentosca.wordpress.com/2011/04/18/peran-fibroblast-pada-proses-penyembuhan-luka/) (2011). Dikutip pada 4 November 2013
6. Lalage, Zerlina. *Libas Berbagai Penyakit Dengan sirsak, Manggis, dan Binahong*. Klaten. Cable book h.79-89 (2013)
7. Mardiana, Lina. *Daun Ajaib Tuntas Penyakit*. Jakarta: Penebar Swadaya h.94-109. (2013)
8. Senthil, P., Kumar, A.A., Manasa,M., Kumar, K.A., Sravanthi, K., Deepa, D., *Wound Healing activity of alcoholic extract of " Guazuma ulmifolia" leaves on albino wistar rats*. International Journal of Pharma and Bio Science, 2, h.34-38 (2011)
9. Yuliani, S.H. *Formulasi Sediaan Hidrogel Penyembuhan Luka Ekstrak Etanol Daun Binahong (Anredera Cordifolia (Ten) Steenis)*. Program Pasca Sarjana. Program Study Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi UGM. Yogyakarta (2012)
10. Abbas Ak & Litchman AH, *Cellular and mollecular immunology*. Philadelphia:Elsavier (2005)
11. Sumartiningsih, Sri. *Pengaruh Pemberian Binahong (Anredera Cordifolia) terhadap Sel Radang dan Sel Fibroblast pada Hematoma Regio Femoris Ventralis Rattus Norvegicus Strain Wistar Jantan*. Karya Ilmiah. Diterbitan, Program Pascasarjana Unnair, Surabaya (2009)
12. Diegelmann dkk. *Wound Healing: An Overview of Acute, Fibrotic, and Delayed Healing*. Frontiers in Bioscience, h 283-289 (2004)
13. Zulfitri, AML. *Efek Gel Ekstrak Daun Binahong (Andrera Cordifolia) Terhadap Jumlah Sel Fibroblas Dan Pembuluh Darah Kapiler Pada Luka Pasca Pencabutan Gigi Marmut (CaviaCobaya)*. Skripsi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya, h.41, 43 (2013)
14. Susetya, Darma . *Khasiat dan Manfaat Daun Ajaib Binahong* Ed 1. Yogyakarta. Pustaka Baru Press h.15-31 (2013)
15. David,L., Dunn, MD.*Wound Closure Manual*. Ethicon Inc: Sommerville, h.4-7 (2004)