

Efektivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun gambir (*Uncaria gambir.roxb*) dalam menurunkan jumlah sel inflamasi pada tikus Wistar yang mengalami gingivitis: eksperimental laboratoris

Euis Reni Yuslianti^{1*}
Herryawan²
Teja Koswara³
Tria Pragita¹

¹Departemen Biologi Oral dan Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi Indonesia

²Departemen Periodonti Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi Indonesia

³Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi Indonesia

*Korespondensi
Email ery.unjani@yahoo.co.id

Submisi | 21 September 2024
Revisi | 29 Desember 2024
Penerimaan | 19 April 2024
Publikasi Online | 30 April 2024
DOI: [10.24198/jkq.v36i1.50120](https://doi.org/10.24198/jkq.v36i1.50120)

Sitasi | Yuslianti ER, Herryawan, Teja Koswara, Tria Pragita. Efektivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun gambir (*Uncaria gambir.roxb*) dalam menurunkan jumlah sel-sel inflamasi tikus wistar gingivitis. J Ked Gi Univ Padj. 2024; 36(1): (46-56). DOI: [10.24198/jkq.v36i1.50120](https://doi.org/10.24198/jkq.v36i1.50120)



Copyright: © 2024 oleh penulis. diserahkan ke Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran untuk open akses publikasi di bawah syarat dan ketentuan dari Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

ABSTRAK

Pendahuluan: Gingivitis merupakan penyakit inflamasi pada gingiva terjadi karena faktor lokal, konsumsi obat, dan malnutrisi. Inflamasi merupakan respons pertahanan tubuh dapat merugikan apabila terjadi berlebihan. Bahan alternatif obat antiinflamasi adalah daun gambir. Daun gambir mengandung katekin, tanin, dan gambirin. Tujuan penelitian untuk menganalisis efektivitas ekstrak etanol daun gambir sebagai antiinflamasi dilihat dari jumlah sel inflamasi dan mengetahui efek antiinflamasi ekstrak etanol daun gambir dengan dosis 5%, 10%, dan 20% pada tikus jantan galur wistar yang mengalami gingivitis. **Metode:** Penelitian adalah eksperimental laboratoris menggunakan *Post-test randomized control group design* sebanyak 40 sampel tikus dibagi menjadi empat kelompok yaitu kontrol negatif (KN), tikus yang mengalami gingivitis diberikan ekstrak etanol daun gambir 5%(Do-1), tikus gingivitis diberikan ekstrak etanol daun gambir 10%(Do-2), dan tikus yang mengalami gingivitis diberikan ekstrak etanol daun gambir 20%(Do-3). Ekstrak bentuk sediaan pasta diberikan topikal di area gingiva gigi anterior rahang bawah tikus pada pagi dan sore hari selama lima hari. Jaringan diambil hari ke-1, ke-3, dan ke-5 setelah perlakuan, diwarnai dengan *hematoxylin eosin*. Data dianalisis dengan uji *ANOVA* dan uji *Bonferroni* ($p < 0,05$). **Hasil:** Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun gambir topikal memiliki aktivitas antiinflamasi terhadap tikus galur Wistar gingivitis dilihat dari penurunan jumlah sel inflamasi yaitu sel neutrofil, eosinofil, makrofag, limfosit, dan sel mast ($P = 0,000$). Konsentrasi ekstrak 5% tidak menunjukkan perbedaan efektivitas. Konsentrasi ekstrak yang paling efektif pada konsentrasi 10% dan 20%. **Simpulan:** Ekstrak etanol daun gambir topikal efektif menurunkan jumlah sel inflamasi tikus Wistar yang mengalami gingivitis. Konsentrasi ekstrak yang paling efektif adalah 10% dan 20%.

Kata kunci

ekstrak etanol daun gambir, gingivitis, sel inflamasi

The effectiveness of ethanol extract of gambir leaves (Uncaria gambir.roxb) as an anti-inflammatory agent in reducing the number of inflammatory cells in Wistar strain gingivitis rats: experimental laboratory

ABSTRACT

Introduction: Gingivitis is an inflammatory disease of the gingiva that occurs due to local factors, medication consumption, and malnutrition. Inflammation is a body defense response that can be detrimental. An alternative anti-inflammatory drug is gambir leaf, which contains catechins, tannins, and gambirin. The purpose of this study was to determine the effectiveness of gambir leaf ethanol extract as an anti-inflammatory agent based on the number of inflammatory cells and to determine the anti-inflammatory effect at doses of 5%, 10%, and 20% in Wistar rats with gingivitis. **Methods:** The study was an experimental laboratory using a post-test randomized control group design with a total of 40 rat samples divided into four groups: negative control (NC), gingivitis rats treated with 5% gambir leaf ethanol extract (Do-1), gingivitis rats treated with 10% gambir leaf ethanol extract (Do-2), and gingivitis rats treated with 20% gambir leaf ethanol extract (Do-3). The paste form extract was applied topically to the lower anterior teeth gingival area of rats in the morning and evening for five days. Tissue samples were taken on days 1, 3, and 5 after treatment and stained with hematoxylin and eosin. Data were analyzed using ANOVA and Bonferroni ($p < 0.05$). **Results:** The study showed that the topical ethanol extract of gambir leaves has anti-inflammatory activity against Wistar strain gingivitis rats seen from a decrease in the number of inflammatory cells such as neutrophils, eosinophils, macrophages, lymphocytes, and mast cells ($p = 0.000$). This effect is likely due to the presence of catechin, tannin, and gambirin, which may inhibit arachidonic acid via the cyclooxygenase and lipoxygenase pathways. The 5% extract concentration did not show differences in effectiveness. The most effective extract concentrations were 10% and 20%. **Conclusion:** Topical ethanol extract of gambir leaves is effective in reducing the number of inflammatory cells in Wistar rats with gingivitis. The most effective extract concentrations are 10% and 20%.

Keywords

Gambir leaf ethanol extract, gingivitis, inflammatory cell

PENDAHULUAN

Penyakit periodontal adalah salah satu jenis penyakit gigi dan mulut yang masih banyak diderita oleh masyarakat Indonesia.^{1,2} Menurut data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018, prevalensi penyakit periodontal adalah tertinggi kedua setelah karies.¹ Salah satu jenis penyakit periodontal adalah gingivitis, yaitu suatu penyakit inflamasi pada daerah gingiva yang dihubungkan dengan adanya sejumlah mikroorganisme dalam rongga mulut dan faktor iritan yang menimbulkan inflamasi. Sel inflamasi mengeluarkan mediator untuk merespons iritan tersebut.³

Inflamasi ditandai dengan adanya tanda dan gejala seperti bengkak (*tumor*), berwarna kemerahan (*rubor*), nyeri (*dolor*), hangat (*calor*), dan gangguan fungsi (*functio laesa*).⁴ Penyakit pada gingiva dibagi menjadi dua jenis, yaitu karena diperantarai adanya plak dan tanpa adanya plak. Penyakit gingiva tanpa adanya plak yang sering terjadi adalah gingivitis karena trauma fisik. Trauma fisik disebabkan penggunaan material kedokteran gigi seperti bahan tambal dan penggunaan kawat ortodontik.^{3,5} Trauma yang terjadi menyebabkan respons dari tubuh sehingga mengeluarkan mediator-mediator inflamasi yang merangsang peningkatan sel-sel inflamasi seperti leukosit, sel mast, limfosit, dan makrofag.⁶

Terapi utama dari gingivitis yang disebabkan trauma adalah menghilangkan iritan penyebab inflamasi dan memperbaiki *oral hygiene*. Terapi lain yang digunakan adalah dengan pemberian Anti Inflamasi Non Steroid (AINS) seperti ibuprofen dan flurbiprofen. Mekanisme AINS dalam gingivitis yaitu dengan menghambat *cyclooxygenase* (COX) akan berikatan pada bagian aktif enzim, pada COX-1 dan atau COX-2, sehingga enzim ini menjadi tidak berfungsi dan tidak mampu mengubah asam arakidonat menjadi mediator inflamasi prostaglandin. Penggunaan AINS dalam kurun waktu yang lama akan menimbulkan berbagai efek samping.^{3,5} Beberapa efek samping penggunaan AINS jangka panjang dapat mengakibatkan kelainan pencernaan, ginjal, dan hati. Efek samping dari obat AINS tersebut, perlu dicari bahan alternatif yang memiliki efek samping yang rendah dan berkhasiat.^{3,7,8}

Bahan alternatif yang dipakai masyarakat sebagai antiinflamasi adalah bahan alam, yaitu daun gambir (*Uncaria gambir roxb*).⁹ Tanaman gambir berasal dari Sumatera dan Kalimantan. Daun gambir memiliki kandungan flavonoid, katekin, tanin, dan gambirin. Daun gambir memiliki banyak manfaat yaitu, untuk mengobati disentri, diare, luka bakar, obat kumur, antibakteri, dan antiinflamasi.^{9,10} Ekstrak daun gambir konsentrasi 28 mg efektif dalam penyembuhan luka mukosa mulut dibandingkan antiseptik klorheksidin glukonat 0,2% pada luka palatum tikus Wistar.¹¹

Rebusan daun gambir efektif terhadap halitosis yang disebabkan oleh plak.¹² Ekstrak kasar daun gambir cubadak memiliki kemampuan menghambat *Escherichia coli* pada konsentrasi ekstrak 100%, *Salmonella typhimurium* pada konsentrasi ekstrak 90%, *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi ekstrak 90% dan *Bacillus cereus* pada konsentrasi ekstrak 80%.¹³ Ekstrak daun gambir 200 mg berefek sebagai antioksidan dan antiinflamasi dalam menurunkan kadar malondialdehid mencit yang diinduksi radikal bebas.¹⁴

Penggunaan ekstrak etanol daun gambir (*Uncaria gambir Roxb*) 20 mg secara topikal terbukti memiliki aktivitas antiinflamasi pada luka bakar. Ekstrak daun gambir dapat diformulasikan dalam sediaan krim yang homogen, dan mampu menyembuhkan luka bakar hewan coba. Konsentrasi ekstrak 10% merupakan konsentrasi yang paling cepat menyembuhkan luka bakar.¹⁵ Penurunan jumlah sel inflamasi pada hewan coba dengan model gingivitis dapat diamati pada hari ke-1, ke-3, dan ke-5.¹⁶ Model tikus gingivitis dengan prosedur induksi gingivitis menggunakan *silk ligature* ukuran 3.0 pada margin gingiva gigi anterior rahang bawah selama enam hari.¹⁷

Penggunaan ekstrak etanol daun gambir sebagai antiinflamasi secara topikal dan dosis efektif antiinflamasi daun gambir pada tikus gingivitis belum pernah dilakukan pengujian,

sehingga peneliti tertarik untuk melakukan Tujuan penelitian untuk menganalisis efektivitas ekstrak etanol daun gambir sebagai antiinflamasi dilihat dari jumlah sel inflamasi dan mengetahui efek antiinflamasi ekstrak etanol daun gambir dengan dosis 5, 10, dan 20% pada tikus jantan galur wistar yang mengalami gingivitis.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan *Post-test randomized control group design*. Randomisasi dilakukan dengan mengacak tikus-tikus yang diberi nomor di ekor dengan diundi kertas tertutup kemudian dimasukkan ke dalam setiap kelompok perlakuan. Randomisasi dilakukan memastikan tikus dipilih untuk masing-masing kelompok perlakuan memiliki karakteristik seragam dan tidak bias.

Jumlah sampel yang digunakan adalah berdasarkan hasil perhitungan menggunakan rumus Federer maka jumlah sampel tikus yang dibutuhkan 24 ekor tikus dan dibagi menjadi 4 kelompok, namun tikus yang digunakan sebanyak 40 ekor untuk pengambilan serial hari ke-1, ke-3, dan ke-5 masing-masing 10 tikus per kelompok yaitu KN sebagai kontrol negatif gingivitis, Do-1 dengan gingivitis dan diberikan ekstrak etanol daun gambir 5%, Do-2 dengan gingivitis dan diberikan ekstrak etanol daun gambir 10%, dan Do-3 dengan gingivitis dan diberikan ekstrak etanol daun gambir 20%.

Semua tikus dilakukan pengacakan ketika pemilihan dalam kelompok dengan menggunakan metode Rancang Acak Lengkap (RAL). Objek pada penelitian ini yaitu tikus galur Wistar (*Rattus norvegicus*) dari famili *Muridae* yang diperoleh dari unit perkembangan hewan Biofarma dengan kriteria inklusi: tikus jantan galur Wistar, berusia antara 3 sampai 4 bulan, berat badan 200-250 gram, sehat ditandai dengan pergerakan aktif, makan dan minum tidak bermasalah, serta memiliki respons terhadap rangsangan yang baik serta didapatkan dari tempat pembiakan yang sama dengan pakan tikus yang sama dan perlakuan yang sama.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan untuk menghitung berat badan tikus, kandang tikus, tempat makan dan minum untuk tikus, neraca analitik untuk menimbang ekstrak etanol daun gambir, *syringe* 1cc, mikroskop, kapas, kasa, alat proteksi diri, mortir, pipet, gelas ukur, dan alat dalam pembuatan preparat histopatologi. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ekstrak etanol daun gambir yang telah dideterminasi di PAU ITB, *silk ligature simacloous*, alkohol 70% sebagai antiseptik sebelum memulai tindakan penyuntikan, ketamine untuk anestesi, akuades, makanan pelet untuk pakan tikus, etanol, *zinc oxyde*, *amylum manihot*, *vaseline flavum*, dan *Hematoxylin Eosin*.

Prosedur pembuatan ekstrak etanol daun gambir adalah dengan metode maserasi menggunakan pelarut alkohol 96% daun gambir segar dihancurkan menjadi ukuran yang lebih kecil, kemudian direndam dalam pelarut alkohol 96% dalam wadah tertutup selama lima hari, Setelah proses maserasi sisa padatan daun gambir dipisahkan dengan penyaringan. Selanjutnya, ekstrak dikeringkan menggunakan *rotary evaporator* untuk menghilangkan pelarut alkoholnya.

Pembuatan pasta dari ekstrak daun gambir dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi, Indonesia. Hasil maserasi ekstrak daun gambir dicampur bahan pengental karbomer dan bahan pengikat gliserin hingga konsentrasi 5%, 10%, dan 20% serta tekstur konsistensi stabil untuk pasta topikal. Proses pencampuran dilakukan secara homogen hingga bahan-bahan tercampur sempurna.

Tikus diaklimatisasi selama tujuh hari dan pada seluruh kelompok sebelum dilakukan tindakan aseptik dan antiseptik dengan alkohol 70%, selanjutnya di anestesi umum dengan injeksi ketamine dengan dosis sebanyak 1000/10ml, dengan masing-masing tikus mendapatkan injeksi ketamine sebanyak 0,1-0,2 ml secara *intraperitoneal*. Injeksi

dilakukan 2/3 posterior dari abdomen sebelah kanan, hindari abdomen sebelah kiri karena adanya *caecum*. Tikus akan berada dibawah anestesi selama 3 menit, dan akan sadar setelah $\pm$ 1 jam.

Selanjutnya dilakukan induksi gingivitis dengan memasang *silk ligature* pada leher gigi anterior rahang bawah selama enam hari pada seluruh tikus. Sampel dibagi menjadi empat jenis perlakuan, yaitu KN sebagai kontrol negatif dengan dipasang *silk ligature*, Do-1 dengan dipasang *silk ligature* dan ekstrak etanol daun gambir 5%, Do-2 dengan dipasang *silk ligature* dan diberi ekstrak etanol daun gambir 10%, dan Do-3 diberikan ekstrak etanol daun gambir 20% secara topikal 2 kali sehari yaitu setiap pagi dan sore hari pada area gingiva gigi anterior rahang bawah tikus perlakuan.

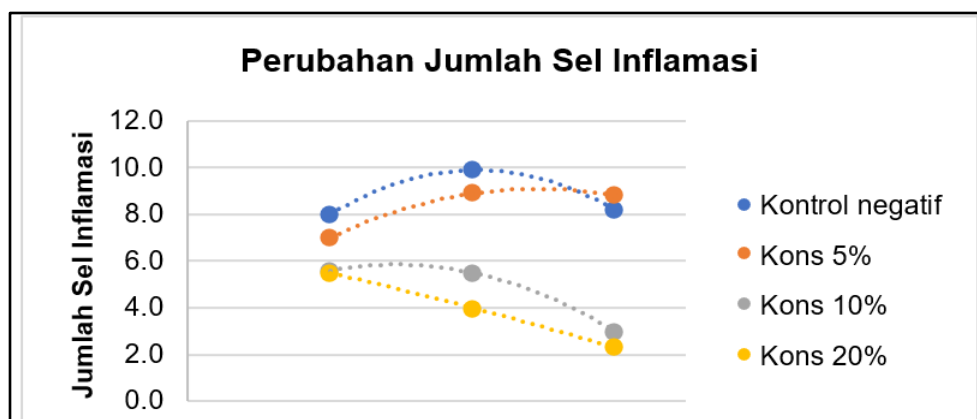
Tikus dilakukan euthanasia, diambil jaringan gingiva regio gigi anterior rahang bawah tikus dan dibuat preparat pada hari ke-1, ke-3, dan ke-5. Sampel gingiva tikus Wistar diproses untuk pemeriksaan histopatologi melalui teknik fiksasi menggunakan larutan formalin, dalam blok parafin sampel dipotong menjadi potongan tipis menggunakan mikrotom. Pewarnaan dengan hematoxylin dan eosin (H&E), dan pemeriksaan mikroskopis.

Pemeriksaan mikroskopis dilakukan untuk mengidentifikasi perubahan histologis dan jumlah sel inflamasi. Aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun gambir ditunjukkan oleh kemampuannya dalam menurunkan jumlah sel-sel inflamasi sel neutrofil, eosinofil, makrofag, limfosit, dan sel mast yaitu pada tikus gingivitis. Jumlah sel inflamasi akan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 40 kali pada 5 lapang pandang besar (LPB) yang dipilih secara acak. Jumlah sel inflamasi akan diamati di bawah mikroskop.

Gambaran mikroskopis, sel inflamasi diidentifikasi berdasarkan morfologi dan pewarnaan spesifik hematoxylin dan eosin. Sel neutrofil berinti berbentuk segitiga dengan granula berwarna ungu gelap, eosinofil berinti dua lobus dengan granula berwarna merah. Makrofag berinti bentuk bulat atau oval dengan sitoplasma berwarna terang. Sel limfosit berinti padat dan relatif sedikit sitoplasma, sedangkan sel mast memiliki granula sitoplasma besar dan berwarna. Hasil yang muncul disimpan lalu dicetak dan dibuat bilik hitung dengan cara manual dan dilakukan analisis secara statistik dengan uji Shapiro-Wilk untuk menguji normalitas data karena sampel penelitian kurang dari 50 dan uji Levene untuk homogenitas varians antar kelompok. Hasil menunjukkan data berdistribusi normal dan homogenitas varians terpenuhi ($p > 0,05$) sehingga perbedaan signifikan antara rerata beberapa kelompok menggunakan uji ANOVA dilanjutkan uji Post hoc Bonferroni untuk menentukan perbedaan signifikan antara kelompok dengan tingkat kepercayaan 95%.¹⁸

HASIL

Jaringan gingiva tikus yang sudah mengalami gingivitis dilakukan pelepasan benang ligasi pada hari keenam setelah adaptasi dan diberikan perlakuan pemberian ekstrak etanol daun gambir dengan dosis 5%, 10%, dan 20% pada kelompok yang berbeda 2 kali sehari. Pengambilan jaringan dilakukan pada hari ke-1, ke-3 dan ke-5 setelah induksi gingivitis dan dibuat preparat histopatologi. Didapatkan hasil rerata jumlah sel inflamasi yang dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pengaruh ekstrak etanol daun gambir konsentrasi 5, 10, dan 20% terhadap jumlah sel inflamasi pada hari ke-1, ke-3, dan ke-5.

Data hasil penelitian jumlah sel inflamasi seluruh kelompok tersebut kemudian diuji normalitasnya dengan menggunakan uji Shapiro wilk ($p > 0,05$) dan uji homogenitas dengan menggunakan uji Levene seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengujian normalitas dan homogenitas jumlah sel inflamasi hari ke-1, ke-3, dan ke-5

Pengamatan	Kelompok	Uji data	
		Normalitas Nilai p	Homogenitas Nilai p
Hari ke-1	Kontrol Negatif (KN)	0,193*	0,090*
	Konsentrasi 5% (Do-1)	0,410*	
	Konsentrasi 10% (Do-2)	0,245*	
	Konsentrasi 20% (Do-3)	0,258*	
Hari ke-3	Kontrol Negatif (KN)	0,748*	0,155*
	Konsentrasi 5% ((Do-1)	0,05*	
	Konsentrasi 10% (Do-2)	0,228*	
	Konsentrasi 20% (Do-3)	0,391*	
Hari ke-5	Kontrol Negatif (KN)	0,732*	0,186*
	Konsentrasi 5% (Do-1)	0,263*	
	Konsentrasi 10% (Do-2)	0,245*	
	Konsentrasi 20% (Do-3)	0,328*	

Keterangan: Uji *Saphiro wilk* dan Uji *Levene* * $p > 0,05$ bermakna

Berdasarkan pengujian normalitas *Saphiro wilk* seluruh jumlah sel-sel inflamasi setiap kelompok sebagian besar memiliki distribusi yang normal maka disimpulkan keseluruhan data cenderung memiliki sebaran distribusi normal. Berdasarkan pengujian homogenitas menggunakan uji *Levene* didapatkan hasil data homogen. Hasil uji normalitas dan homogenitas adalah data berdistribusi normal dan homogen sehingga kemudian dilakukan uji ANOVA seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh ekstrak etanol daun gambir terhadap jumlah sel inflamasi pada hari ke-1, ke-3, dan ke-5
Nilai Rerata $\pm$ Standar Deviasi (sel/lpb)

Kelompok	Hari ke-1	Hari ke-3	Hari ke-5
KN	8 $\pm$ 0,03	10 $\pm$ 1,07	8 $\pm$ 0,79
Do-1	7 $\pm$ 0,97	9 $\pm$ 1,30	9 $\pm$ 0,75
Do-2	6 $\pm$ 0,80	6 $\pm$ 1,04	3 $\pm$ 0,06
Do-3	6 $\pm$ 0,32	4 $\pm$ 0,05	2 $\pm$ 0,95
Nilai p	p= 0,000*	p= 0,000*	p= 0,000*

Keterangan: Uji *ANOVA*, *p<0,05 bermakna; KN: Kontrol Negatif, Do-1: Ekstrak daun gambir konsentrasi 5%, Do-2: Ekstrak daun gambir konsentrasi 10%, Do-3: Ekstrak daun gambir konsentrasi 20%

Hasil uji *ANOVA* menunjukkan bahwa terdapat pengaruh ekstrak etanol daun gambir terhadap jumlah sel inflamasi antara kelompok kontrol negatif (KN), tikus gingivitis dengan konsentrasi ekstrak 5%(Do-1), tikus gingivitis dengan konsentrasi ekstrak 10%(Do-2), dan tikus gingivitis dengan konsentrasi ekstrak 20% (Do-3) pada hari ke-1 (p=0,000), pada hari ke-3 (p=0,000), dan hari ke-5 (p=0,000), sehingga untuk mengetahui dosis paling efektif dalam menurunkan jumlah sel inflamasi pada tikus Wistar gingivitis diperlukan uji lanjut dengan uji *Post hoc* Bonferroni dapat dilihat pada Tabel 3.

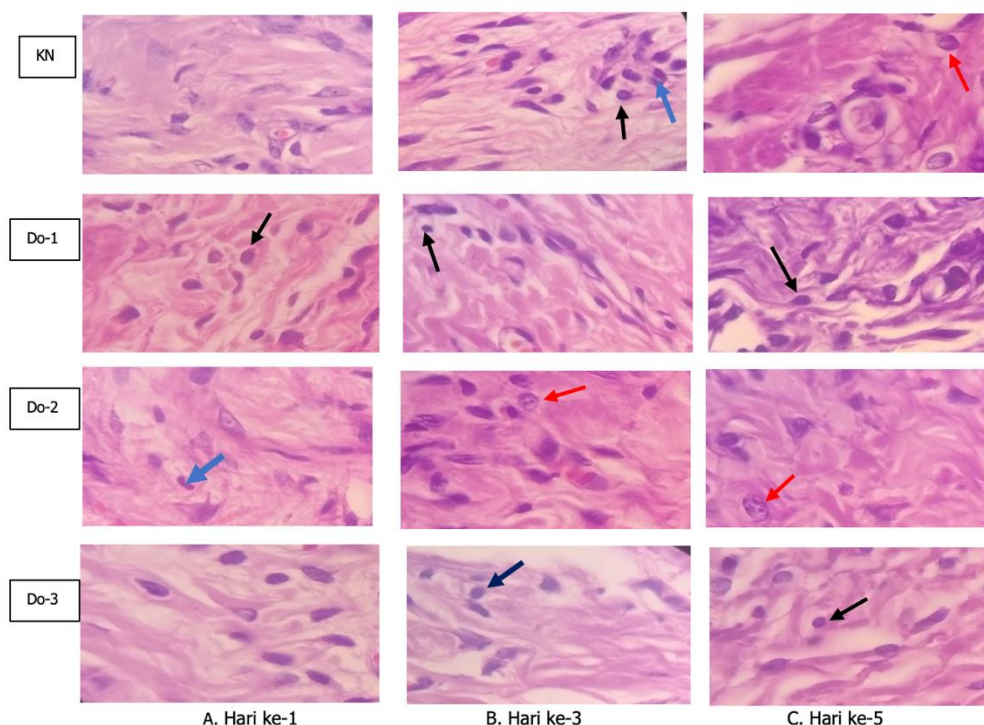
Tabel 3. Perbedaan jumlah sel inflamasi antar kelompok negatif (KN), daun gambir konsentrasi 5%(Do-1), konsentrasi 10%(Do-2), dan konsentrasi 20%(Do-3) hari ke-1, ke-3, dan ke-5

Pengamatan	(I) Kelompok	(J) Kelompok	P
Hari ke-1	Kontrol Negatif (KN)	Konsentrasi 5% (Do-1)	0,437
		Konsentrasi 10% (Do-2)	0,000*
		Konsentrasi 20% (Do-3)	0,000*
	Konsentrasi 5% (Do-1)	Konsentrasi 10% (Do-2)	0,053
		Konsentrasi 20% (Do-3)	0,033*
	Konsentrasi 10% (Do-2)	Konsentrasi 20% (Do-3)	1,000
Hari ke-3	Kontrol Negatif (KN)	Konsentrasi 5% (Do-1)	1,000
		Konsentrasi 10% (Do-2)	0,001*
		Konsentrasi 20% (Do-3)	0,000*
	Konsentrasi 5% (Do-1)	Konsentrasi 10% (Do-2)	0,014*
		Konsentrasi 20% (Do-3)	0,000*
	Konsentrasi 10% (Do-2)	Konsentrasi 20% (Do-3)	0,543
Hari ke-5	Kontrol Negatif (KN)	Konsentrasi 5% (Do-1)	1,000
		Konsentrasi 10% (Do-2)	0,000*
		Konsentrasi 20% (Do-3)	0,000*
	Konsentrasi 5% (Do-1)	Konsentrasi 10% (Do-2)	0,000*
		Konsentrasi 20% (Do-3)	0,000*
	Konsentrasi 10% (Do-2)	Konsentrasi 20% (Do-3)	0,488

Keterangan: Uji *Bonferroni*, *p<0,05 bermakna

Berdasarkan uji *Bonferroni* didapatkan perbandingan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok uji daun gambir konsentrasi 10% dan 20% (p<0,05) bermakna, kecuali perbandingan kontrol negatif dengan daun gambir konsentrasi 5% yang menghasilkan pengujian yang tidak bermakna (p>0,05) pada hari ke-1, hari ke-3, dan hari ke-5.

Perbandingan antara kelompok uji daun gambir konsentrasi 5% dengan kelompok uji daun gambir konsentrasi 10% dan 20% ($p < 0,05$) bermakna hari ke-3, dan hari ke-5, kecuali daun gambir konsentrasi 5% dengan uji daun gambir konsentrasi 10% hari ke-1 menghasilkan pengujian yang tidak bermakna ($p > 0,05$). Perbandingan antara kelompok daun gambir konsentrasi 10% dengan kelompok daun gambir konsentrasi 20% menghasilkan pengujian yang tidak bermakna ($p > 0,05$) hari ke-1, ke-3 dan ke-5. Perbandingan antara kelompok daun gambir konsentrasi 20% dengan kelompok daun gambir konsentrasi 5% serta kelompok negatif menghasilkan pengujian bermakna ($p > 0,05$) sedangkan dengan dengan daun gambir konsentrasi 10% hari ke-1, ke-3 dan ke-5. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi efektif dalam menurunkan jumlah sel-sel inflamasi tikus galur Wistar gingivitis adalah daun gambir konsentrasi 10% dan 20% karena antara kedua konsentrasi tersebut tidak terdapat perbedaan. Hasil tersebut diperkuat dengan hasil pemeriksaan histologis pada Gambar 2 berikut ini.



Keterangan : KN: Kontrol Negatif; Do-1: Dosis konsentrasi ekstrak 5%; Do-2: Dosis konsentrasi ekstrak 10%
Do-3: Dosis konsentrasi ekstrak 20%; ▼ Limfosit; ▽ Neutrofil; ▲ Makrofag

Gambar 2. Gambaran histologi jaringan gingiva tikus Wistas gingivitis dengan pemberian ekstrak daun gambir konsentrasi 5%, 10%, dan 20% pada hari ke-1, ke-2, dan ke-3 dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin* menggunakan perbesaran 40×. pada hari ke-1 (A), hari ke-3 (B), dan hari ke-5 (C) terlihat sebaran sel inflamasi kelompok kontrol negatif (KN) lebih banyak dibandingkan dengan kelompok konsentrasi 5% (Do-1), kelompok konsentrasi 10% (Do-2), dan kelompok konsentrasi 20% (Do-3) secara berurutan.

PEMBAHASAN

Kelompok kontrol negatif menunjukkan rerata jumlah sel inflamasi sebesar 8 pada hari pertama, naik menjadi 10 pada hari ketiga, dan kembali turun menjadi 8 pada hari kelima. Kelompok yang diberikan ekstrak daun gambir dengan konsentrasi 5% menunjukkan rerata jumlah sel inflamasi sebesar 7 pada hari pertama, naik menjadi 9 pada hari ketiga dan kelima sebagaimana terlihat pada Gambar 1 dan Gambar 2. Penelitian Prasetya dkk

menunjukkan bahwa rerata jumlah sel inflamasi menurun pada periode awal dan meningkat di hari berikutnya setelah pemberian ekstrak etanolik kulit manggis. Perbandingan dengan penelitian tersebut menunjukkan bahwa efek ekstrak daun gambir dengan konsentrasi 5% pada tikus yang mengalami gingivitis memiliki efek yang lebih baik dalam menurunkan jumlah sel inflamasi pada periode yang sama. Meskipun bahan dan kondisi yang diuji berbeda antara kedua penelitian, hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun gambir memiliki potensi sebagai agen antiinflamasi yang efektif pada kondisi jaringan periodontal.¹⁶

Kelompok dengan konsentrasi 10% menunjukkan rerata jumlah sel inflamasi sebesar 6 pada hari pertama dan ketiga, dan turun menjadi 3 pada hari kelima sedangkan kelompok dengan konsentrasi 20% menunjukkan rerata jumlah sel inflamasi sebesar 6 pada hari pertama, turun menjadi 4 pada hari ketiga, dan kembali turun menjadi 2 pada hari kelima, sebagaimana terlihat pada Gambar 1 dan Gambar 2. Hasil penelitian tersebut sesuai dengan hasil Isnurhakim dkk yang melihat efektivitas antara ekstrak daun pepaya dan daun gengigel signifikan jumlah sel inflamasi pada penyembuhan gingivitis. Dalam konteks perbandingan dengan hasil penelitian tersebut, kelompok dengan konsentrasi 10% dan 20% dari ekstrak daun gambir menunjukkan efek yang lebih baik dalam menurunkan jumlah sel inflamasi pada periode yang sama. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun gambir memiliki potensi yang menjanjikan sebagai agen antiinflamasi untuk perawatan gingivitis.¹⁹

Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun gambir efektif sebagai agen antiinflamasi pada tikus Wistar jantan galur gingivitis. Hal ini dapat dilihat dari penurunan jumlah sel-sel inflamasi pada tikus yang mengalami gingivitis setelah diberikan ekstrak daun gambir. Selain itu, efek antiinflamasi ekstrak etanol daun gambir juga terlihat berdasarkan dosis yang diberikan, dengan dosis 10% dan 20% menunjukkan penurunan jumlah sel inflamasi yang lebih signifikan dibandingkan dengan dosis 5% dan kelompok kontrol negatif.

Jaringan gingiva yang sehat baik pada manusia maupun tikus tidak terdapat infiltrasi sel-sel inflamasi, namun pada kondisi terinflamasi, sel-sel inflamasi akan mulai menginfiltrasi jaringan sebagai respons terhadap kerusakan.³ Proses ini merupakan bagian dari sistem pertahanan tubuh untuk mengatasi penyebab kerusakan atau efeknya. Inflamasi pada gingiva diawali oleh berbagai molekul bioaktif seperti histamin, bradikinin, PGE2, dan oksida nitrat yang diproduksi oleh sel pertahanan di jaringan periodontal. Sel neutrofil atau leukosit polimorfonuklear (PMN) akan tertarik ke area yang terinfeksi oleh molekul bioaktif lainnya, seperti IL-8, yang bergerak melalui lapisan epitel sulkus gingiva untuk menghadapi bakteri plak dan produknya.⁴

Sel neutrofil berperan pada atas pertahanan awal yang bersifat non-spesifik, diikuti oleh peningkatan jumlah monosit/makrofag, serta masuknya sel T dan B.³ Fase awal ini, yang biasanya berlangsung hingga 48 jam, ditandai oleh reaksi yang dominan dari sel neutrofil. Proses inflamasi yang terus berlanjut akan mengakibatkan infiltrasi sel-sel mononuklear seperti makrofag, monosit, limfosit, dan sel plasma.^{4,7} Penurunan jumlah sel inflamasi yang diamati pada kelompok yang menerima ekstrak etanol daun gambir dengan konsentrasi 10% dan 20% disebabkan oleh kandungan katekin, tanin, dan gambirin dalam daun gambir. Kandungan ini berperan sebagai agen antiinflamasi. Daun gambir juga telah diteliti untuk penyembuhan luka dan pengurangan edema.^{9,14,15,20}

Komponen katekin daun gambir kemungkinan mampu menghambat enzim siklooksigenase dan lipooksigenase, sementara tanin dapat menghambat pelepasan asam arakidonat dan memblokir jalur siklooksigenase, lipooksigenase, dan fosfolipase A2. Gambirin, di sisi lain, dapat menghambat asam arakidonat menjadi endoperoksida dan menurunkan aktivitas enzim lipooksigenase. Oleh karena itu, penghambatan enzim siklooksigenase dan lipooksigenase dapat mengurangi pembentukan prostaglandin dan leukotrien, yang dapat menyebabkan penurunan permeabilitas dan vasodilatasi pembuluh darah, serta menghambat agregasi dan kemotaksis neutrofil, sehingga jumlah neutrofil

pun berkurang. Dengan demikian, penghambatan enzim ini dapat mengurangi tanda-tanda inflamasi dan jumlah sel inflamasi secara keseluruhan.^{9,14,20,21}

Hasil pengujian ANOVA menunjukkan signifikansi $p=0,000$ ($p<0,05$), mengindikasikan adanya aktivitas antiinflamasi yang kuat dari ekstrak etanol daun gambir. (Tabel 2). Hal ini terbukti dari penurunan jumlah sel-sel inflamasi secara statistik sangat signifikan pada kelompok yang menerima perlakuan dengan ekstrak daun gambir pada berbagai konsentrasi yang berbeda. Dengan demikian, dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dalam jumlah sel-sel inflamasi sesuai dengan konsentrasi ekstrak etanol daun gambir yang diberikan. Hasil ini juga mendukung hipotesis awal yang menyatakan bahwa ekstrak etanol daun gambir memiliki efek antiinflamasi terhadap jumlah sel-sel inflamasi pada tikus galur Wistar dengan gingivitis. Pengamatan terhadap perubahan jumlah sel inflamasi dari waktu ke waktu menunjukkan bahwa waktu juga dapat mempengaruhi proses penyembuhan radang, meskipun tanpa pemberian obat atau ekstrak. Hal ini terlihat dari perlahan-lahan menurunnya persentase maksimum jumlah sel inflamasi pada waktu tertentu. Dengan demikian, penelitian ini memberikan dukungan kuat terhadap potensi penggunaan ekstrak etanol daun gambir sebagai agen anti inflamasi pada pengobatan gingivitis.²²

Selama fase awal inflamasi, leukosit PMN (neutrofil) mendominasi dalam jumlah sel inflamasi, yang kemudian digantikan oleh sel mononuklear pada fase akhir inflamasi. Neutrofil memiliki rentang masa hidup sekitar 6-8 hari. (Gambar 2) Setelah neutrofil berkurang, limfosit akan muncul. Limfosit T dan B, keduanya, berpindah ke lokasi inflamasi dengan menggunakan molekul adhesi dan kemokin untuk merekrut monosit. Monosit kemudian berubah menjadi makrofag di dalam jaringan untuk melawan jejas yang terjadi.^{4,7}

Dalam proses peradangan, sel-sel inflamasi yang berperan penting adalah neutrofil, monosit, dan limfosit. Neutrofil bertanggung jawab untuk merespons secara cepat terhadap infeksi dan menghilangkan bakteri. Kemudian, monosit akan bermigrasi ke daerah inflamasi dan berubah menjadi makrofag, yang memiliki peran penting dalam membersihkan sisa-sisa sel mati, bakteri, dan bahan asing lainnya. Limfosit, khususnya limfosit T, juga berperan dalam mengatur respon inflamasi dan memicu reaksi imun spesifik terhadap patogen tertentu.^{4,7}

Proses migrasi dan aktivasi sel-sel ini diatur oleh berbagai mediator inflamasi, seperti molekul adhesi dan kemokin. Molekul-molekul ini berperan dalam mengarahkan pergerakan sel-sel inflamasi ke tempat yang tepat dalam jaringan yang terinfeksi atau terluka. Pemahaman yang lebih dalam tentang dinamika selama proses peradangan, dapat dirancang strategi intervensi yang lebih efektif dalam mengontrol respon inflamasi yang terjadi.^{4,7}

Efektivitas suatu ekstrak dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain sifat fisikokimia bahan, seperti kelarutan, stabilitas, dan ukuran partikel, dapat memengaruhi kemampuan ekstrak dalam melewati membran sel dan berinteraksi dengan target biologis. Bentuk sediaan obat, seperti tablet, kapsul, atau cairan, juga dapat mempengaruhi efektivitas ekstrak. Sediaan yang sesuai dapat meningkatkan bioavailabilitas dan stabilitas zat aktif dalam ekstrak. Semakin tinggi dosis yang diberikan, semakin banyak kandungan zat aktif yang masuk ke dalam tubuh. Namun, dosis yang terlalu tinggi juga dapat menyebabkan efek samping yang tidak diinginkan. Waktu kontak antara ekstrak dengan permukaan absorpsi dalam tubuh juga berperan penting dalam efektivitasnya.^{20,21,22}

Waktu kontak yang cukup memungkinkan zat aktif dalam ekstrak untuk diserap dengan optimal. Kondisi integritas membran sel juga memengaruhi efektivitas ekstrak. Membran sel yang rusak atau tidak utuh dapat mengurangi kemampuan sel untuk menyerap zat aktif dari ekstrak. Rute pemberian obat juga berpengaruh terhadap efektivitas ekstrak. Rute pemberian yang sesuai dapat meningkatkan absorpsi zat aktif dan mencapai target biologis dengan lebih efisien.^{20,21,22}

Dalam konteks ekstrak etanol daun gambir, efektivitasnya dipengaruhi oleh kandungan

katekin, tanin, dan gambirin. Kandungan ini memiliki sifat anti inflamasi yang dapat mengurangi jumlah sel inflamasi pada kondisi gingivitis. Dengan memahami faktor-faktor yang memengaruhi efektivitas ekstrak, dapat dilakukan optimasi formulasi dan dosis untuk mencapai efek terapeutik yang maksimal.^{20,21,22}

Pengujian menggunakan uji *Post hoc Bonferroni* untuk mengetahui perbedaan setiap kelompok dengan tingkat kepercayaan 95%. (Tabel 3). Hasil pengujian ini dapat dilihat dari nilai rerata setiap kelompok. Jumlah sel inflamasi pada kelompok yang diberikan ekstrak daun gambir dengan konsentrasi 20% dan 10% lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang diberikan konsentrasi 5%. Hasil ini sama dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Aldelina yang melaporkan bahwa ekstrak daun pepaya muda efektif dalam menurunkan jumlah sel makrofag pada konsentrasi 75% dibandingkan dengan dosis 25 dan 50%. Hal ini menunjukkan bahwa efektivitas suatu ekstrak dapat dipengaruhi oleh konsentrasinya, di mana konsentrasi yang lebih tinggi cenderung memiliki efek yang lebih kuat dalam menurunkan jumlah sel inflamasi.²¹

Penelitian lain juga menunjukkan bahwa baik ekstrak daun pepaya maupun ekstrak daun gambir memiliki kandungan katekin dan tanin sebagai zat aktif anti inflamasi. Namun, keunggulan ekstrak daun gambir terletak pada kandungan gambirin, senyawa yang dapat menghambat enzim siklooksigenase dan lipooksigenase. Dengan menghambat enzim tersebut, gambirin dapat mengurangi produksi prostaglandin dan leukotrien, mediator inflamasi utama dalam tubuh.^{11,14}

SIMPULAN

Ekstrak etanol daun gambir topikal efektif menurunkan jumlah sel inflamasi tikus Wistar yang mengalami gingivitis. Konsentrasi ekstrak yang paling efektif adalah 10% dan 20%. Penelitian ini menghasilkan penemuan bahwa dosis konsentrasi 10% dan 20% dari ekstrak etanol daun gambir memiliki efektivitas lebih tinggi dalam menurunkan jumlah sel inflamasi pada tikus gingivitis. Meskipun demikian, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami mekanisme kerja ekstrak daun gambir secara lebih mendalam, terutama dalam pengobatan kondisi inflamasi seperti gingivitis.

Kontribusi Penulis: Konseptualisasi ERY, Her; metodologi ERY; perangkat lunak TK, TP; validasi, ERY, Her, TK; analisis formal, ERY; investigasi TK, TP; penulisan penyusunan draft awal, ERY, TP; penulisan tinjauan dan penyuntingan, ERY. Semua penulis telah membaca dan menyetujui versi naskah yang diterbitkan.

Pendanaan: Penelitian ini tidak menerima dana dari pihak luar

Persetujuan Etik: Penelitian ini dilaksanakan sesuai dengan deklarasi Helsinki, Protokol penelitian pada hewan telah disetujui oleh Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran (NO 175/UN6.KEP/EC/2018 dan tanggal pengesahan 27 September 2018).

Pernyataan kesediaan: Bersedia untuk membagikan data yang digunakan dalam penelitian ini kepada pihak yang membutuhkan untuk keperluan penelitian atau tujuan akademis lainnya melalui email korespondensi penulis.

Konflik Kepentingan: Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan

DAFTAR PUSTAKA

1. Riset Kesehatan Dasar 2018. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2018. h.1
2. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Situasi Kesehatan Gigi dan Mulut. Infodatin. Jakarta 2020. h.1
3. Abdulkhaleq LA, Assi MA, Abdullah R, Zamri-Saad M, Taufiq-Yap YH, Hezmee MNM. The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. *Vet World*. 2018 May;11(5):627-635. DOI: [10.14202/vetworld.2018.627-635](https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.627-635).
4. Kumar. Robbins dan Cotran, Buku ajar patologi dasar. Edisi 10. Elsevier; 2020; 93. ISBN 978-981-4666-28-2
5. Herawati, H, Himawati, M, Nisa Nurfadillah, D. The effect of katuk leaf gel extract as an anti-inflammatory orthodontic treatment on carrageenan-induced paw edema in rats. *J Health Dent Scie* 2023; 3(2), 135–146. <https://jhds.fkg.unjani.ac.id/index.php/jhds/article/view/>
6. Abdulkhaleq LA, Assi MA, Abdullah R, Zamri-Saad M, Taufiq-Yap YH, Hezmee MNM. Peran penting mediator inflamasi dalam

- peradangan: Sebuah tinjauan. Dunia Dokter Hewan. 2018 Mei;11(5):627-635. DOI: [10.14202/vetworld.2018.627-635](https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.627-635).
7. Arfania, M., Friyanto, D., Musfiroh, E. N., Sathi'ah, F. A., Irawan, L., Yuliani, N. D., & Herawati, S. H. (2023). Efek Samping Terhadap Pemakaian Analgetik Golongan Nsaid (Ibu Profen). *Innovative: J Of Social Science Research*, 3(2), 8065–8075. DOI: [10.31004/innovative.v3i2.1342](https://doi.org/10.31004/innovative.v3i2.1342)
 8. Beck JD, Papapanou PN, Philips KH, Offenbacher S. Periodontal Medicine: 100 Years of Progress. *J Dent Res*. 2019 Sep;98(10):1053-1062. DOI: [10.1177/0022034519846113](https://doi.org/10.1177/0022034519846113).
 9. Munggar IP, Kurnia D, Deawati Y, Juliaha E. Penelitian Terkini tentang Penggunaan Fitokimia, Obat dan Non-Obat *Uncaria gambir* Roxb.: Suatu Tinjauan. *Molekul*. 2022 3 Oktober; 27(19):6551. DOI: [10.3390/molekul27196551](https://doi.org/10.3390/molekul27196551).
 10. Magdalena NV, Kusnadi J. antibakteri dari ekstrak kasar daun gambir (*uncaria gambir* var *cubadak*) metode microwave-assisted extraction terhadap bakteri patogen. 2015; 1(1): 124-135
 11. Tavita GE, Ashari AM, Apindiati RK, Linda R. Pengujian Aktivitas Antibakteri dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Cakar Gambir (*Uncaria gambir*) secara In Vitro. *Simbiosis*. 2022; 11(2):128-134. DOI: [10.33373/sim-bio.v11i2.4662](https://doi.org/10.33373/sim-bio.v11i2.4662).
 12. Dita Septiani, Euis Reni Yuslianti, & Saskia Lenggogeni Nasroen. (2015). Pengaruh ekstrak etanol daun gambir (*uncaria gambir*) dibandingkan dengan chlorhexidine gluconate 0,2% topikal terhadap penyembuhan luka mukosa palatum tikus galur wistar: effect of ethanol gambir leaves (*uncaria gambir*) compared with chlorhexidine gluconate 0,2% topical for wound healing on palate mucosal galur wistar rat. *Dentika: Dent J*, 18(3), 262-267. DOI: [10.32734/dentika.v18i3.1973](https://doi.org/10.32734/dentika.v18i3.1973)
 13. Magdalena NV, Kusnadi J. Antibakteri dari ekstrak kasar daun gambir (*uncaria gambir* var *cubadak*) metode microwave-assisted extraction terhadap bakteri patogen [in press januari 2015]. *J Pangan Dan Agroindustri*, 2015; 3(1), 124–135. Retrieved from <https://jpa.ub.ac.id/index.php/jpa/article/view/117>
 14. Sinaga, I. M., Sari, M. I., & Ichwan, M. M. Efek ekstrak daun gambir (*Uncaria gambir roxb*) terhadap tingkat stress oksidatif dan ekspresi sirtuin 3 pada hipokampus mencit betina model penuaan yang diinduksi d -galaktosa. *J Farmasimed (JFM)*, 2023;3(1): 17–25. DOI: [10.35451/jfm.v3i1.473](https://doi.org/10.35451/jfm.v3i1.473)
 15. Thaib CM, Sinaga TR, Manurung K. Formulasi krim ekstrak daun gambir (*uncaria gambir roxb*.) sebagai penyembuh luka bakar. *Farmanesia*. 2021; 8(1):76-82. <http://e-journal.sari-mutiara.ac.id/index.php/2/article/view/3419>
 16. Prasetya RC, Purwanti N, Haniastuti T. Infiltrasi Neutrofil pada Tikus dengan Periodontitis setelah Pemberian Ekstrak Etanolik Kulit Manggis. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. 2014; 21(1): 33-38. DOI: [10.22146/majkedgiind.8520](https://doi.org/10.22146/majkedgiind.8520)
 17. Handajani, J., & Narissi, D. H. (2015). The effects of Curcuma zedoaria oil on high blood sugar level and gingivitis. *Dent J*, 48(2), 69–73. DOI: [10.20473/j.djmg.v48.i2.p69-73](https://doi.org/10.20473/j.djmg.v48.i2.p69-73)
 18. Dahlan, M. S. Besar Sampel dalam Penelitian Kedokteran dan Kesehatan. Jakarta: Epidemiologi Indonesia. 2014: 6-25
 19. Isnurhakim A, Suhartono B, Putranto R. Comparison for carica papaya and gengigel leaves extraction for gingivitis healing effectiveness in orthodontic application. *Medali J* 2021.3(1):29-33. DOI: [10.30659/medali.v3i1.17055](https://doi.org/10.30659/medali.v3i1.17055)
 20. Ilham NM, Irahmah M., Endrinaldi. Efek pemberian salep ekstrak katekin gambir (*uncaria gambir r.*) terhadap reepitelisasi dalam penyembuhan luka bakar derajat ii tikus (*rattus norvegicus*) pada fase proliferasi. *Archives Pharmacia*. 2021;3(2): 58-72. DOI: [10.47007/ap.v3i2.4399](https://doi.org/10.47007/ap.v3i2.4399)
 21. Utama BSD, Yuliana MDA, Muhammad MA. Pengaruh ekstrak daun pepaya terhadap jumlah sel limfosit pada gingiva tikus wistar jantan yang mengalami periodontitis . *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2014; 2(1): 50-57. <https://jurnal.unej.ac.id/index.php/JPK/article/view/596>.
 22. Herawati H, Yuslianti ER, Salsabila A. Sauropus androgynus effect on periodontal tissue inflammatory cells with orthodontic-separators. *Insisiva Dent J*. 2023; 12(2): 84-93. DOI: [10.18196/di.v12i2.19735](https://doi.org/10.18196/di.v12i2.19735)

23.