

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka disimpulkan bahwa

1. Pemberian salep ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) secara lokal dengan konsentrasi 20% dan 40% dapat menurunkan jumlah sel makrofag dan limfosit pada tikus wistar jantan yang telah diinfeksi dengan *Staphylococcus aureus* sseiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak daun binahong.
2. Konsentrasi ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) yang optimal dalam menurunkan jumlah sel makrofag dan limfosit adalah konsentrasi 40%.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat dilakukan penelitian lebih lanjut lagi mengenai :

1. Dilakukan uji fraksinasi pada ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) untuk mendapatkan dosis ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) yang lebih efektif dalam menurunkan jumlah sel makrofag dan limfosit pada kondisi normal.
2. Dilakukan elusidasi struktur senyawa dalam daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) untuk mengetahui kandungan berkhasiat zat antiinflamasi.
3. Dilakukan uji toksisitas untuk mengetahui keamanan dalam pemakaian ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.)

Steenis) jangka panjang baik dalam pencegahan maupun dalam pengobatan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H. and Pillai, S. 2007, *Cellular and Molecular Immunology*, 6thed., Elsevier and Saunders, Philadelphia.
- Abbas, A.K., Lichtman, A.H. and Pillai, S. 2014, *Basic Immunology*, 4th ed., Elsevier and Saunders, Philadelphia.
- Adhi, Djuanda. 2007, *Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin*, edisi 5, Balai Penerbit FKUI, Jakarta.
- Ahmad, A.J. 2009, *Histoteknik Dasar*, Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Anief, M. 2008, *Ilmu Meracik Obat*, Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Ani, U., Dwi, K. dan Diah T.M. 2012, Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (TEN) Steenis) terhadap Kesembuhan Luka Infeksi *Staphylococcus aureus* pada Mencit, *Jurnal Analisis Kesehatan Sains*, 1:2.
- Anonim. 2007, *The United States Pharmacopoeia 30-The National Formulary 25*. United States Pharmacopoeia Convention, Inc. Electronic version
- Annisa, N. 2007, ‘Uji Aktivitas Anti bakteri Ekstrak Daun Binahong (*Anredera scandens* (L) Mor) terhadap Bakteri Klebsiella pneumonia dan Bacillus substilis ATCC 6633 beserta Skrining Fitokimia dengan Uji Tabung’, *Skripsi*, Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Arijani, E. dan Christian, K. 2008, The use of 90% *Aloe vera* freeze drying as the modulator of collagen extraction socket of insisivus *Cavia cobaya*, *Jurnal Universitas Airlangga*, **41**:2.

- Arisa, I., Nurdiana, D. dan Dewi, I.N.P. 2014, Ekstrak haruan (*Channastriata*) secara efektif menurunkan jumlah limfosit fase inflamasi dalam penyembuhan luka, *Jurnal Penelitian Dentofasial*, **13(3)**: 177.
- Aryulina, D., Choirul, M., Syalfinaf, M. dan Winarni E.2004, *Biologi Untuk SMA/MA Kelas X*, Erlangga, Bandung.
- Astuti, S.M. 2011, Determination of Saponin Compound from *Anredera cordifolia* (Ten) Steenis Plant (Binahong) to Potential Treatment for Several Diseases. *Journal of Agricultural Science*, **3(4)**: 224-231.
- Astuti, S.M. 2013, Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibiotika Ekstrak Etanol Daun, Batang, Bunga, dan Umbi Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), *Buletin Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan*, **19**: 1-13.
- Baratawidjaja, K. dan Rengganis, I. 2009, *Imunologi Dasar*, edisi 8, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Indonesia, Jakarta.
- Badan POM RI. 2008, *Informatorium Obat Nasional Indonesia*, Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Bloom, W., Don, W., and Fawcett. 2002, *Buku Ajar Histologi*, edisi 12, Diterjemahkan dari Bahasa Inggris oleh Jan Tambayong, ECG, Jakarta.
- Cahyadi, T.R.T., Christiyanto, M., dan Setiatin, E.T. 2016, Presentase Hidup dan Abnormalitas Sel Spermatozoa Kambing Peranakan Etawah (PE) dengan Pakan yang Disuplementasikan Daun

- Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Animal Agricoulture Journal*, **5(3)**: 23-32.
- Corwin, E.J. 2008, *Handbook of Pathophysiology*, 3th edition, Philadelphia: Lippincort Williams & Wilkins.
- Cronquist, A. 1981, *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*, Columbia University Press, New York.
- Crowe, M., Thomas D. dan David G. 2000, Delayed wound healing in immunodeficient TGF-β1 knockout mice, *Journal Inves Dermatol*, **115**:1.
- Demidova, R.T.N., Hamblin, M.R. and Herman, I.M. 2012, Acute and Impairing Wound Healing: Pathophysiology and Current Methods for Drug Delivery, *Adv Skin Wound Care*, **25(7)**: 304-314.
- Departemen Kesehatan RI, 1977, *Materiamedika Indonesia* jilid I, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan RI, 1979, *Materia medika Indonesia* jilid III, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan RI, 1989, *Materia medika Indonesia* jilid IV, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Diegelmann, R. and Evans, M.C. 2004, ‘Wound Healing: an Overview of Acute, Fibrotic and Delayed Healing’, *Frontiers in Bioscience*, **9(1-3)**: 283.

Ditjen POM Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995, Farmakope Indonesia, edisi 4, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Ditjen POM. 1977, *Materi Medika Indonesia*, jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Ditjen POM. 2000, Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, edisi I, Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

Djuanda, A.2007, *Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin*, edisi 5, Jakarta: Balai Penerbit FKUI.

Dorland, WAN. 2002, *KamusKedokteran Dorland*, edisi 9, Jakarta: EGC.

Dwijoseputro, D. 2005, *Dasar-dasar Mikrobiologi*, Djambatan, Jakarta.

Effendi, Z. 2003, *Peranan Leukosi tsebagai Antiinflamasi Alergik dalam Tubuh*, Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, Sumatera Utara.

Elomaa, O., Sankala, M., Pikkarainen, T., Bergmann, U., Tuutilla, A., Raatikainen-Ahokas, A., Sariola, H. and Tryggvason, K. 1998, Structure of Human Macrophage MACRO Receptor and Characterisation of Its Bacteria-binding Region, *The Journal of Biological Chemistry*, **273(8)**: 4530-4538.

Eming, S. 2007, Inflammation in wound repair: Molecular Cellular Mechanism, *Journal Investg Dermatol*, **127(3)**: 514-525.

Estina. 2010, *Jenis dan Ciri-ciri Tikus Laboratorium Disertai Gambar*,diakses tanggal 28 Maret 2015,

[https://dokterternak.files.wordpress.com/2010/11/tikua-wistar11.jpg.](https://dokterternak.files.wordpress.com/2010/11/tikua-wistar11.jpg)

Fanda, P.S.W. 2014, ‘Pengaruh Diet Tinggi Fruktosa terhadap Jumlah Makrofag dan Kadar TNF- α pada Tikus Wistar Jantan’, *Skripsi*, Sarjana Farmasi, Universitas Katolik Widya Mandala, Surabaya.

Furqon. 2009, *Statistika Terapan untuk Penelitian*, Cetakan Ketujuh, Alfabeta, Bandung.

Gunawan, H.A., Putri, A.R., Widodo, H.danMangundjaja, S., 2010, ‘The Effect of Fragaria x ananassaInfusum on Salivary MutansStrepcocci’, *KaryaIlmiah*, FakultasKedokteran Gigi Universitas Indonesia, Jakarta.

Guyton, A.C. and Hall, J.E. 1997, *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Diterjemahkan dari Bahasa Inggris oleh Setiawan, I., Tengadi, K.A. dan Santoso, A.,ECG, Jakarta.

Guyton, A.C. and Hall, J.E. 2007, *Buku Ajar FisiologiKedokteran*, Edisi 11.,PenerbitBukuKedokteran EGC, Jakarta.

Hapsari, A.V. 2008, ‘Pengaruh L-Arginin terhadap gambaran histopatologi sel tubulus ginjal tikus Sprague-Dawley yang diberikan iopamidol dosis tinggi intravena’, *Skripsi*, Sarjana Kedokteran, Universitas Katolik Widya Mandala, Surabaya.

Harbone, J.B. 1987, *Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, edisi 2, Diterjemahkan dari Bahasa Inggris olehDr. Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Institut Teknologi Bandung, Bandung.

- Hariana, A. 2013, *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*, edisi 1, Jakarta: Penebar Swadana.
- Harris, L.G., Foster, S.J. and Richards, R.G. 2002, An Introduction to *Staphylococcus Aureus*, and Techniques for Identifying and Quantifying *S. Aureus* Adhesins in Relation to Adhesion to Biomaterials: Review, *European Cells and Materials*, **4**: 39-60.
- Hunt, K.T. 2003, ‘Wound Healing’. In: Doherty MG. *Current Surgical Diagnosis and Treatment*. 12thed., McGraw-Hills, New York.
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg. 2008, *Mikrobiologi Kedokteran*, Penerbit Salemba Medika, Jakarta.
- Jones, W.P. and Kinghorn, A.D. 2006, ‘Extraction of Plant Secondary Metabolites’. In: Sharker, S.D. Latif Z., Gray A.L, eds. *Natural Product Isolation*, 2nd ed., Humana Press, New Jersey.
- Joseph, B., George, J. and Mohan, J. 2013, Pharmacology and Traditional uses of *Mimosa Pudica*, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, **5(2)**: 41-44.
- Junqueira, L.C., Carneiro, J. and Kelley, R.O. 1997, *Histologi Dasar*,edisi 8, Diterjemahkan dari Bahasa Inggris oleh Tambayang J., EGC, Jakarta.
- Junqueira, L.C., Carneiro, J. and Kelley, R.O. 2007, *Histologi Dasar*,edisi 8, EGC, Jakarta.
- Kresno, S.B. 2010, *Imunologi Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*, UI Press, Jakarta.

- Kumar, V. and Pandey, A.K. 2013, Chemistry and biological activities of flavonoids, *The Scientific World Journal*, **1**: 1-16.
- Kumar, V., Abbas, A.K. dan Fausto, N. 2008, *Robbin Basic Pathology*. 8thed., Saunder Elsevier, Philadelphia.
- Laurentia, A., Djawat, K., Vitayani, S. dan Suswardana, 2009, Karsinoma Sel Skuamosa yang berkembang dari Ulkus Marjolin Akibat Luka Gigit, *Berkala Ilmu Kulit dan Kelamin*, **21(1)**.
- MacFaddin, J.F. 1980, *Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria*, 2nd ed., Williams and Wilkins, Baltimore.
- Maharani, P. 2007, ‘Histopatologi Organ Hatidan Mata pada TikusPenderita Diabetes Mellitus Eksperimental’, Skripsi, SarjanaKedokteranHewan, InstitutPertanian Bogor.
- Makalalag,W.I., Wullur, A. dan Wiyono, W. 2013, Uji Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* Steen.) Terhadap Kadar Gula Darah Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Sukrosa,*Jurnal Ilmiah Farmasi*, **1(1)**:34.
- Malole, M.B.M. dan Pramono, C.S.U. 1983, *Penggunaan Hewan – hewan Percobaan di Laboratorium*, Departemen Pendidikan dan KebudayaanDirektorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat antar UniversitasBioteknologi Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Mann, A., Breuhahn, K., Schirmacher, P. and Blessing, M. 2001, Keratinocyte-Driven Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor Accelerates Wound Healing: Stimulation of Keratinocyte Proliferation, Granulation Tissue Formation, and Vascularization, *Journal Invest Dermatol*, **117**: 1382-1390.

- Manoi, F. 2009, Binahong (*Anredera cordifolia*) sebagai Obat, *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*, **15(1)**: 3-5.
- Mappa, T., Edi, J. dan Kojong, M. 2013, Formulasi Gel Ekstrak Daun Sasaladahan (*Peperomia pellucid L.*) dan Uji Efektivitas terhadap Luka Bakar pada Kelinci, *Jurnal Ilmiah Farmasi*, **2(20)**: 49-56.
- Mardiana, L. 2012, *Daun Ajaib Tumpas Penyakit*, Cetakan Pertama, Penebar Swadana, Jakarta.
- Marliana, S., Suryanti, dan Suyono. 2005, ‘Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol’, *Karya Ilmiah*, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas, Surakarta.
- Masir, O., Manjas, M., Putra, A.E. dan Agus, S. 2012, Pengaruh Cairan Cultur Filtrate Fibroblast (CFF) terhadap Penyembuhan Luka; Penelitian Eksperimental pada *Rattus norvegicus* Galur Wstar, *JurnalKesehatan Andalas*, **1(3)**: 112.
- Miksusanti. 2010, Proliferasi Sel Limfosit Secara In Vitro oleh Minyak Atsiri Temu Kunci dan Film Edibel Anti Bakteri, *Jurnal Penelitian Sains*, **10**: 6-7.
- Miladiyah, I. dan Prabowo, B.R. 2012, Ethanolic Extract of *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis Leaves Improved Wound Healing in Guinea Pigs, *Universa Medicina*, **31(1)**: 4-11.
- Mitchell. Kumar, V., Abbas, A.K. dan Fausto. 2008, Robbin & Cotran Buku Saku Dasar Patologis Penyakit, edisi 7, ECG, Jakarta.

- Mitruka, J. and Rawnsley, H. M. 1976, *Animal For Medical Research*, John Wiley and Sons, New York.
- Notoatmodjo, S. 2002, *Metodologi Penelitian Kesehatan*, Rineka Cipta, Jakarta.
- Paju, N., Paulina, V.Y. dan Novel, K. 2013, “Uji Efektivitas Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus*”. *Jurnal Ilmiah Farmasi* **2(1)**: 59.
- Plata, K., Rosato, A.E. and Wegrzyn, G. 2009, *Staphylococcus aureus* as an Infectious Agent: Overview of Biochemistry and Molecular Genetics of It's Pathogenicity, *Acta Biochimica Polonica*, **56(4)**: 597-612.
- Pohan, H. 2012, ‘Penurunan Jumlah Makrofag pada Gingiva Tikus Wistar Jantan Setelah Terpapar Stresor Rasa Sakit’, *Skripsi*, Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Priambodo, S. 1995, *Pengendalian Hama Tikus Terpadu*, Seri PHT, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Primatika, A.D. Budiono, U. dan Leksana, E. 2010, Pengaruh Infiltrasi Levobupivakain pada Skor Histologis MHC Kelas 1 pada Penyembuhan Luka, *Jurnal Anastesiologi Indonesia*, **2(2)**: 2089-2097.
- Rachmawati, S. 2007, ‘Studi Makroskopi dan Skrining Fitokimia Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis’), *Skripsi*, Sarjana Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya.

- Rahmawati, L. Fachriyah, E. dan Kusrini, D. 2012, Isolasi, identifikasi dan uji aktivitas antioksidan senyawa flavonoid daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), *Jurnal Penelitian Ilmiah*, **1**: 1-9.
- Rajan, V. dan Murray, R. 2008, The Duplicitous Nature of inflammation in Wound Repair, *Wound Practice and Research*, **16(3)**: 122-129.
- Regauer, S. and Compton, C.C. 1990, Keratinocyte sheet enhance spontaneous re-epithelialization in a dermal explants model of partial-thickness wound healing, *Journal Invest Dermatol.* **95**: 341-346.
- Riduwan. 2008, *Dasar-dasar Statistika*, Alfabeta, Bandung.
- Robinson, T. 1991, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Diterjemahkan dari Bahasa Inggris oleh Kosasih Padmawinata, Penerbit Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Robbins. 2004, *Buku Ajar Patologi Robbins*, edisi 7, Vol. 1. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Robbins, S.L. and Cotran, R. 2008, *Pathologic Basic of Disease*, 7th ed., Elsevier Saunders, pp 107.
- Rochani, N., 2009, ‘Uji Aktivitas Anti Jamur Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Candida albicans serta Skrining Fitokimianya’, *Skripsi*, Sarjana Farmasi Universitas Muhammadiyah, Surakarta.
- Saifudin, A., Rahayu, V. dan Teruna H.Y. 2011, *Standarisasi Bahan Obat Alam*, Graha Ilmu, Yogyakarta.

- Santosa, C.M. dan Salasia S.I.O. 2004, Efek Ekstrak Air Daun Bangun-bangun (*Coleus amboinicus*, L) pada Aktivitas Limfosit Tikus Putih. *Jurnal Sain Vet*, **22(2)**: 141-148.
- Sari, A. dan Maulidya, A. 2016, Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* Linn), **3(1)**: 16-23.
- Selawa, W., Runtuwene, M.R.J. dan Citraningtyas, G. 2013, Kandungan flavonoid dan kapasitas antioksidan total ekstrak etanol binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), *Jurnal Ilmiah Farmasi*, **2(1)**: 18-22.
- Sherwood, L. 2014, *Fisiologi Manusia : dari Sel ke Sistem*, edisi 8, EGC, Jakarta.
- Sim, Romi. 2009, ‘Kejadian Infeksi Luka Episiotomi dan Pola Bakteri pada Persalinan Normal di RSUP H. Adam Malik dan RSUD Dr. Pirngadi Medan’, *Tesis*, Spesialis Obstetri & Ginekologi, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Smith, J.B., dan Mangkoewidjojo. 1988, *Pemeliharan Pembibitan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*, Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Singer, A.J and Clark, R.A.F. 1999, Cutaneous Wound Healing. *The New England Journal of Medicine*.**341(10)**: 783-746.
- Soeksmanto, A., Y. Hapsari, dan P. Simanjuntak. 2008, *Kandungan Antioksidan pada Beberapa Bagian Tanaman Mahkota Dewa, Phaleria macrocarpa (Scheff) Boerl. (Thymelaceae)*. *Biodiversitas*, **8(2)**: 92-95.

- Sugiaman, V.K.2011, Peningkatan penyembuhan luka di mukosa oral melalui pemberian *Aloe vera* (*Linn.*) secara topical, *Jurnal Kedokteran Maranatha*, **11**:1.
- Suhariyanto, B. 2011, Antibiotik Topikal untuk Penyakit Kulit Pada Wisatawan. diakses pada 2 April 2013, <http://rsudrsoetomo.jatimprov.go.id/index.php?option=com>.
- Sudjana.1996, *MetodaStatistika*, Tarsito, Bandung.
- Sunny, W. dan Ronny, K. 2014, Komponen Sel Jaringan Ikat, *Jurnal Biomedik*, **6(3)**: 1-7.
- Sutton, S. 2011. Measurement of Microbial Cells by Optical Density,*Journal of Validation Technology*.**17**: 46-49.
- Takahashi, K. 2000, Development and Differentiation of Macrophages and Related Cells: Historical Review and Currents Concepts, *Journal of Clinical and Experimental Hemophatology*, **41(1)**.
- Tjokronegoro, A. 1978, *Pendidikan Imunologi di Fakultas Kedokteran*, jilid X, Bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Todar, K. 2008, ‘*Staphylococcus aureus*’ *Todar’s Online Textbook of Bacteriology*, diakses pada 3 Februari 2012, <http://www.bact.wisc.edu/bact3330/lecturestaph.html>.
- Tranggono, R.I. dan Latifah, F. 2007, *Buku Pegangan Ilmu Pengentahuan Kosmetika*, PT. Gramedia, Jakarta.
- Umar, A. Kriharyani, D. dan Mutiarahati, D.T. 2012, Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

terhadap Kesembuhan Luka Infeksi *Staphylococcus aureus* pada Mencit, *Jurnal Analisis Kesehatan Sains*, **1(2)**: 70-79.

USP XXX. 2007, *The United States Pharmacopeia 30 – National Formulary 25*, United States Pharmacopeia Convention, Inc. Electronic version.

Van Duin, C.F. 1954, *Buku Penuntun Ilmu Resep dalam Praktek dan Teori*, Soeroengan, Jakarta.

Wilmana, F.P. 2007, *Farmakologi dan Terapi*, edisi 5, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

World Health Organization, 2004, *International Statistical Classification of Disease and Related Health Problems Tenth Revision*, Vol. 2. World Health Organization, Geneva.

Wulff, B. 2012, Mast Cells Contribute to Scar Formation during Fetal Wound Healing, *Journal Investig Dermatology*, **132(2)**: 458-465.

Wynn, T.A., Chawla, A. and Pollard, J.W. 2013, Macrophage Biology in Development, Homeostasis and Disease, *Nature*, **496(7446)**: 445-455.