JPSCR: *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, **20xx**, xx, xx-xx

DOI: xxx/jpscr.vxix

**Ekstrak Etanolik Seledri Memperbaiki Indeks Aktivitas Penyakit Kolitis Ulseratif dan Makroskopik Panjang Kolon Pada Tikus yang diinduksi Asam Asetat**

**Abstrak:** Kolitis ulseratif (KU) adalah kondisi inflamasi yang menyerang kolon, dipengaruhi faktor genetik, gangguan imun, dan lingkungan. KU ditandai dengan adanya peradangan pada kolon dan bisa berlanjut pada pembentukan luka atau ulkus serta juga dapat memicu tumbuhnya kanker. Pengobatan KU dilakukan untuk mengurangi peradangan akut dan kronis menggunakan obat imunosupresi, inhibitor TNF (*Tumor Necrosis Factor*), 5-aminosalisilat, dan kortikosteroid, tetapi penggunaan obat – obat tersebut memiliki efek samping seperti gangguan pencernaan, sakit kepala, dan demam. Seledri adalah tumbuhan herba yang mengandung mengandung flavonoid total sebesar 11,76% yang memiliki aktivitas farmakologis sebagai antiinflamasi dan antioksidan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanolik seledri untuk perbaikan indeks aktivitas penyakit KU pada tikus yang diinduksi asam asetat.

Pada penelitian ini digunakan tikus jantan galur wistar yang dibagi menjadi 5 kelompok (n=3). Kelompok 1 (kontrol normal sehat) diberikan CMC-Na 0,25% tanpa induksi asam asetat 4%; kelompok 2 (kontrol negatif) diberikan CMC-Na 0,25% dengan induksi asam asetat 4%; kelompok 3 (kontrol positif) diberikan larutan 5-ASA dengan induksi asam asetat 4% dan kelompok 4 dan 5 masing – masing diberikan ekstrak etanolik seledri dosis 100 mg/kg BB, dan 300 mg/kg BB. Parameter KU yang diuji pada masing – masing kelompok adalah pengamatan indeks aktivitas penyakit KU seperti penurunan berat badan, keberadaan darah pada feses, dan konsistensi feses serta pengamatan makroskopik panjang kolon. Data yang diperoleh dari masing – masing disajikan dalam bentuk rata – rata dan SD, kemudian diuji statistik menggunakan *one way* ANOVA dan dilanjutkan dengan *post hoc* menggunakan metode *Least Significant Difference* (LSD).

Dari hasil penelitian diketahui bahwa ekstrak etanolik seledri menurunkan indeks aktivitas penyakit KU dan makroskopi panjang kolon pada dosis 100 dan 300 mg/kgBB pada tikus yang diinduksi asam asetat 4%, dimana dosis 300 mg/kgBB menunjukkan aktivitas yang lebih tinggi dan menunjukkan perbedaan siginifkan dibandingkan kontrol negatif pada pengukuran panjang kolon (p<0,05).

**Kata kunci:** ekstrak etanolik seledri, kolitis ulseratif, asam asetat, tikus

**Abstract**: Ulcerative colitis (UC) is an inflammatory condition of the colon that is influenced by genetic, immune, and environmental factors. UC is characterized by inflammation of the colon and can lead to the formation of wounds or ulcers and can also trigger the growth of cancer. Treatment of UC is to reduce acute and chronic inflammation using immunosuppressive drugs, TNF inhibitors (Tumor Necrosis Factor), 5-aminosalicylate, and corticosteroids, but the use of these drugs has side effects such as indigestion, headache, and fever. Celery is a herbaceous plant that contains a total flavonoid of 11.76% which has pharmacological activity as anti-inflammatory and antioxidant. This study was conducted to determine the effect of ethanolic extracts of celery to improve UC diseases activity index in rats induced by acetic acid.

The study was conducted on male Wistar rats which were divided into 5 groups (n=3). Group 1 (normal control) was given CMC-Na 0.25% without 4% acetic acid induction; group 2 (negative control) was given CMC-Na 0.25% with 4% acetic acid induction; Group 3 (positive control) was given 5-ASA solution with 4% acetic acid induction, group 4 and 5 were given celery ethanolic extract at a dose of 100 mg/kg BW and 300 mg/kg BW, respectively. UC parameters tested in each group were observations of UC disease activity index such as weight loss, blood in feces, and feces consistency as well as macroscopic observation of colon length. The data obtained from each are presented in the form of average and SD, then statistically tested using one way ANOVA and followed by post hoc using the Least Significant Difference (LSD) method.

The results showed that the ethanolic extract of celery decreased the disease activity index of UC and colonic length macroscopy at doses of 100 and 300 mg/kg BW in rats induced by 4% acetic acid, a dose of 300 mg/kg BW showed higher activity and showed a significant difference compared to controls. negative on colon length measurement (p<0.05).

**Keywords**: ethanolic extracts of celery, ulcerative colitis, acetic acid, rats

**1. Pendahuluan**

Inflamasi merupakan respon protektif terhadap kerusakan jaringan akibat berbagai rangsangan yang merugikan (Terry *et al*., 2019). Salah satu bagian tubuh yang sering terjadi inflamasi adalah saluran cerna, hal itu bisa disebabkan karena trauma fisik, bakteri patogen dan bahan kimia yang masuk dalam saluran cerna. Salah satu penyakit inflamasi pada saluran cerna terutama pada kolon adalah Kolitis Ulseratif (KU). Patofisiologi KU melibatkan kerusakan pada epitel barrier, respons imun dan mikroflora kolon (Sugiarto, 2016). Penyakit KU ditandai dengan feses yang berlendir dan berdarah, demam, tenemus rektal (Akiho *et al*., 2015). Secara makroskopik peradangan pada kolon ditandai dengan bentuk kolon yang berubah, kolon menjadi lebih pendek, dinding usus menebal dan menjadi besar, berat kolon bertambah, warna kemerahan, dan jumlah jaringan limfatik menjadi lebih banyak (Khoramian *et al*., 2020; Mahdavi *et al*., 2019).

Pengobatan KU yang dilakukan kebanyakan untuk mengurangi peradangan akut dan kronis menggunakan terapi medis seperti obat imunosupresi, inhibitor TNF (*Tumor Necrosis Factor*), 5-aminosalisilat, dan kortikosteroid serta terapi pembedahan (Vickers *et al.*, 2016). Penggunaan obat – obat tersebut banyak memiliki efek samping seperti gangguan pencernaan, sakit kepala, demam, hepatitis, pneumonia, dan untuk penggunaan kortikosteroid jangka panjang dapat menyebabkan *moon face* (Beci & Shabani, 2020). Alternatif pengobatan KU adalah pemanfaatan tanaman sebagai obat herbal yang dinilai lebih aman dari segi toksisitas dan efek samping (Wijayanti & Hasyati, 2018).

Salah satu tanaman yang sering digunkan untuk pengobatan adalah seledri. Seledri adalah tumbuhan herba yang banyak berada disemua wilayah Indonesia (Widyowati & Agil, 2018). Seledri digunakan sebagai obat yang memiliki efek untuk menurunkan proses peradangan, terutama pada gastrointestinal (Kooti *et al*., 2014). Seledri memiliki kandungan utama yaitu flavonoid yang berpotensi sebagai antiinflmasi dan antioksidan (Liu *et al*., 2020). Ekstrak etanol seledri mengandung flavonoid total sebesar 11,76% yang dihitung sebagai apigenin (Depkes RI, 2017). Dosis efektif ekstrak hidro-alkoholik seledri sebagai antiinflmasi adalah 300 mg/kgBB dengan model tikus yang dinduksi karagenan pada kaki. Walaupun demikian, belum terdapat penelitian tentang aktivitas antiinflamasi herba seledri yang lebih spesifik pada penyakit KU. Oleh karena itu, penelitian bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanolik seledri dengan pengamatan indeks aktivitas penyakit KU dan makroskopik kolon pada tikus yang diinduksi asam asetat.

**2. Bahan dan Metode**

* 1. Alat dan Bahan

Alat – alat yang digunakan adalah neraca analitik (Ohaus), Sonikator (Selecta), rotary evaporator, alat – alat gelas (Pyrex), dan kanula 22G. Bahan – bahan yang digunakan adalah simplisia herba seledri dari B2P2TOOT Tawangmangu, Etanol 70% (Bratachem), aquades, CMC-Na, dan asam asetat glasial (Merck), dan 5 *Aminosalicylic acid* (ASA) (Sigma-Aldrich).

* 1. Pembuatan ekstrak etanolik seledri

Simplisia herba seledri digiling menjadi serbuk simplisia, kemudian 300 gram serbuk simplisia herba seledri diekstraksi dengan metode sonikasi selama 30 menit. Setelah itu, maserat disaring kemudian larutan filtratnya diambil dan diuapkan dengan rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak kental. Untuk pengujian pada tikus ekstrak etanolik seledri dilarutkan pada CMC-Na 0,25%.

* 1. Penyiapan dan pengelompokan hewan uji

Penelitian ini menggunakan 15 ekor tikus jantan galur wistar dengan usia 2 – 3 bulan dan berat 200 – 300 g. Sebelum perlakuan, tikus diadaptasikan selama 7 hari dan diberi makan minum standar. Tikus dikelompokkan menjadi 5 kelompok, masing – masing kelompok berisi 3 ekor tikus. Kelompok 1 merupakan kelompok kontrol normal (KN) tanpa induksi asam asetat dan perlakuan. Kelompok 2 merupakan kontrol negatif (NE) yang diberikan induksi asam asetat 4% tanpa perlakuan sampel. Kelompok 3 merupakan kontrol positif (PS) yang diberikan induksi asam asetat 4% hari pertama dan dilanjutkan dengan pemberian 5-ASA dosis 100 mg/kgBB dan Kelompok 4 dan 5 merupakan kelompok perlakuan yang diinduksi asam asetat 4% hari pertama dan diberi ekstrak etanolik seledri dengan dosis berturut 100 (EES 100) dan 300 (EES 300) mg/kgBB. Skema perlakuan dan induksi asam asetat terdapat pada Gambar 1.

* 1. Induksi Asam asetat

Tikus dipuasakan selama 24 jam sebelum dilakukan induksi. Dilakukan anestesi dengan ketamine 100 mg/kgBB – xylazine 10 mg/kgBB, kemudian 2 mL asam asetat 4% diberikan melalui intrakrektal menggunakan kanula IV 22G (Minaiyan et al., 2014). Induksi asam asetat 4% diberikan 1 kali induksi pada hari pertama satu kali pemberian.

1

3

5

Asam Asetat 4%

Pemberian 5-ASA, EES 100, EES 300

Hari

**(B)**  Kelompok Kontrol Positif (5-ASA) dan Perlakuan (EES 100, EES 300)

1

3

5

Asam Asetat 4%

Hari

Pemberian *Vehicle*

**(A)**  Kelompok Kontrol Negatif

Pengamatan indeks aktivitas penyakit kolitis pada setiap hari

**Gambar 1**. Diagram skema untuk menggambarkan desain eksperimen. Pada kontrol negatif diberikan asam asetat 4 % hari pertama secara intrarektal dilanjutkan pemberian *vehicle* per oral sampai hari ke 5. Pada kelompok kontrol positif diberikan asam asetat 4 % hari pertama secara intrarektal dilanjutkan pemberian 5-ASA. Pada kelompok EES 100, dan EES 300 diberikan asam asetat 4 % hari pertama secara intrarektal dilanjutkan pemberian ekstrak etanolik seledri dosis 100 dan 300 mg/kgBB.

* 1. Pengamatan indeks aktivitas penyakit Kolitis Ulseratif

Indeks aktivitas penyakit dinilai dengan skoring aktivitas KU yang dilakukan pada masing – masing kelompok selama periode perlakuan meliputi berat badan dan keberadaan darah pada feses. Skor untuk setiap parameter dijumlahkan untuk menghasilkan skor total dan dibandingkan dengan masing – masing kelompok untuk mengetahui tingkat keparahan KU (Jeengar et al., 2017).

**Tabel 1**. Skoring Indeks Aktivitas Kolitis (Tian et al., 2016)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Berat Badan | Konsistensi Feses | Keberadaan darah pada feses |
| *Range* | **Skor** | **Kriteria** | **Skor** | **Kriteria** | **Skor** |
| *None* | 0 | Bentuk normal | 0 | Negatif/tidak ada darah | 0 |
| 1-5% | 1 |  |  |  |  |
| 5-10% | 2 | lembek | 2 | Positif/ada penampakan darah | 2 |
| 10-20% | 3 |  |  |  |  |
| >20% | 4 | Diare | 4 | Perdarahan | 4 |

* 1. Pengamatan Makroskopi dengan pengukuran Panjang kolon

Tikus dikorbankan, kemudian diambil bagian kolon. Jaringan kolon lalu dicuci dengan larutan NaCl 0,9 % dan diukur panjang kolon menggunkan penggaris. Setelah itu dibandingkan panjang kolon pada masing – masing kelompok.

* 1. Analisis data

Data yang terkumpul kemudian dianalisis secara statistik. Tes Kolmogorov untuk mengetahui distribusi data dilanjutkan uji homogenitas kemudia uji ANOVA dan Post Hoc Test dengan p<0,05 untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar kelompok.

**3. Hasil dan Pembahasan**

Proses ekstraksi herba seledri diperoleh 65,02 g ekstrak etanolik seledri dari simplisia kering 300 g dengan rendemen sebesar 21,26%. Pemberian asam asetat 4% pada tikus secara intra rektal digunakan untuk penginduksi KU karena sifat asam asetat yang iritatif menyebabkan kerusakan oksidatif dan menyebabkan peradangan pada kolon (Randhawa *et al*., 2014). Pada kontrol positif digunakan 5-ASA karena 5-ASA merupakan antiinflmasi yang saat ini sering digunakan untuk terapi KU (Vickers *et al*., 2016).

**Gambar 2**. Total skoring indeks aktivitas penyakit KU selama 5 hari (KN= kontrol normal, NE= kontrol negatif, PS= kontrol positif, EES 100 = ekstrak etanolik seledri dosis 100 mg/kgBB, EES 300= ekstrak etanolik seledri dosis 100 mg/kgBB)

\*

\*\*

\*\*\*

+ + +

**Gambar 3**. Rata – rata panjang kolon. Kontrol normal (KN) rata – rata 16,17 ± 0,29 cm, kontrol negatif (NE) rata – rata 11,67 ± 0,58 cm, kontrol positif, (PS) rata – rata 14,50 ± 0,50 cm, ekstrak etanolik seledri dosis 100 mg/kgBB (EES 100) rata - rata 12,83 ± 0,76 cm, ekstrak etanolik seledri dosis 300 mg/kgBB (EES 300) rata – rata 13,67 ± 1,53 cm. Data yang disajikan menunjukkan mean ± SD (n=3). + + +p<0,05 vs KN. \*p<0,05; \*\*p>0,05; dan \*\*\*p<0,05 vs NE.

Hasil pengamatan indeks aktivitas penyakit KU pada tikus setelah diinduksi asam asetat 4% dengan pemberian EES dapat dilihat pada Gambar 2. Indeks aktivitas penyakit KU dihitung dari gabungan skoring penurunan berat badan, konsistensi feses, dan keberadaan darah pada feses selama 5 hari perlakuan untuk mengetahui potensi antikolitis dari EES. Pemberian asam asetat 4% pada hari pertama langsung membuat kolon iritasi dan menyebabkan konsistensi menjadi lembek sampai diare, adanya darah pada feses terutama pada hari pertama sampai hari ke 3 dan nafsu makan berkurang sehingga berat badan tikus berkurang setiap hari dengan ditunjukkan skoring yang tinggi pada Gambar 2.

Pada Gambar 2 memperlihatkan pada kontrol negatif (NE) yang tidak diberikan perlakuan pasca induksi asam asetat 4% memilik tingkat keparahan paling tinggi. Pada kelompok perlakuan EES dosis 100 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB masing – masing memberikan penurunan skoring, dan dosis 300 mg/kgBB memperlihatkan penurunan lebih baik dari dosis 100 mg/kgBB dari hari ke 3 sampai hari ke 5. Pemberian EES dosis 300 mg/kgBB maupun dosis 100 mg/kgBB memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan kontrol negatif pada hari ke 2 sampai hari ke 5 yang perbedaannya tampak jelas pada grafik diatas, tetapi pemberian EES dosis 300 mg/kgBB tidak lebih baik dari kontrol positif (PS).

Pada hari ke 6 tikus dikorbankan dan diambil kolon. Kolon yang diambil diukur panjangnya sebagai salah satu parameter keparahan penyakit KU. Peradangan kolon ditandai salah satunya dengan penurunan panjang kolon (Jeengar *et al*., 2017). Kontrol negatif dengan rata – rata panjang kolon 11,67 ± 0,58 cm menunjukkan penurunan panjang kolon yang signifikan dibandingkan dengan kelompok normal (16,17 ± 0,29 cm) atau tanpa induksi asam asetat dan kontrol positif (14,50 ± 0,50 cm) dengan p<0,05. Pada Gambar 3, kolon tikus yang diterapi dengan EES dosis 100 mg/kgBB (12,84 ± 0,76 cm), EES dosis 300 mg/kgBB (13,67 ± 1,53 cm) dan kontrol positif menunjukkan kolon yang lebih panjang jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Setelah dilakukan analisis dengan Anova satu arah dilanjutkan *post hoc test*, perlakuan EES dosis 100 mg/kgBB (12,84 ± 0,76 cm) tidak menunjukkan perbedaan siginfikan dibanding kontrol negatif (p>0,05), sedangkan EES dosis 300 mg/kgBB (13,67 ± 1,53 cm) menunjukkan perbedaan siginfikan jika dibandingkan dengan kontrol negatif (p<0,05).

Dari beberapa parameter KU diatas menunjukkan bahwa ESS mempunyai potensi yang baik dalam terapi KU. Ekstrak etanol daun seledri mengandung flavonoid total sebesar 11,76% (Depkes RI, 2017). Flavonoid memiliki aktivitas antiinflamasi dengan menghambat aktivitas sel imun dan sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-6 dan TNF- α (Ginwala *et al*., 2019; Rao *et al*., 2017). Flavonoid juga digunakan sebagai terapi dalam penyakit saluran pencernaan dengan memperbaiki sirkulasi darah mukosa dan meningkatkan prostaglandin, dan sebagai antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas yang berperan dalam patogenesis tukak lambung (Ali Khan *et al*., 2017).

**4. Kesimpulan**

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanolik seledri (*Apium graveolens*) berpengaruh pada perubahan indeks aktivitas penyakit KU dan makroskopi panjang kolon pada dosis 100 dan 300 mg/kgBB pada tikus yang diinduksi asam asetat 4%, dimana dosis 300 mg/kgBB menunjukkan aktivitas yang lebih tinggi dan menunjukkan perbedaan siginifkan dibandingkan kontrol negatif pada pengukuran panjang kolon (p<0,05).

**Ucapan Terimakasih**

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Universitas Gadjah Mada atas bantuan pendanaan melalui program Rekognisi Tugas Akhir (RTA) Tahun 2021.

**Konflik Kepentingan**

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini

**Daftar Pustaka**

Akiho, H., Yokoyama, A., Abe, S., Nakazono, Y., dan Murakami, M. (2015). Promising biological therapies for ulcerative colitis: A review of the literature. *World J Gastrointest Pathophysiol*, 6(4): pp. 219-227. https:// doi: 10.4291/wjgp.v6.i4.219

Depkes RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi III*, Jakarta, Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Ginwala, R., Bhavsar, R., Chigbu, D.I., Jain, P., dan Khan, Z.K. (2019). Potential Role of Flavonoids in Treating Chronic Inflammatory Diseases with a Special Focus on the Anti-Inflammatory Activity of Apigenin. *Antioxidants*, 8(35). https://doi: 10.3390/antiox8020035.

Jeengar, M.K., Thummuri, D., Magnusson, M., Naidu, V.G.M., dan Uppugunduri, S. (2017). Uridine Ameliorates Dextran Sulfate Sodium (DSS)-Induced Colitis in Mice. *Scientific Reports*, 7(3924). https://doi:10.1038/s41598-017-04041-9

Khoramian, L., Sajjadi, S.E., dan Minaiyan, M. (2020). Anti-inflammatory effect of Adiantum capillus-veneris hydroalcoholic and aqueous extracts on acetic acid-induced colitis in rats, *Avicenna Journal of Phytomedicine,10(5): pp.492-503.*

Kooti, W., Ali-Akbari, S., Asadi-Samani, M., Ghadery, H., dan Ashtary-Larky, D. (2014). A review on medicinal plant of Apium graveolens. *Advanced Herbal Medicine*, 1(1): pp.48–59.

Liu, D.K., Xu, C.C., Zhang, L., Ma, H., Chen, X.J., Sui, Y.C., dan Zhang, H.Z. (2020). Evaluation of bioactive components and antioxidant capacity of four celery (*Apium graveolens L.*) leaves and petioles. International Journal of Food Properties, 23 (1): pp.1097–1109. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1778027>

 Mahdavi, N.S., Talebi, A., dan Minaiyan, M. (2019). Ameliorative effect of galantamine on acetic acid-induced colitis in rats. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 14(5): pp.391-399.391. https://doi: [10.4103/1735-5362.268199](https://dx.doi.org/10.4103/1735-5362.268199%22%20%5Ct%20%22_blank)

Minaiyan, M., Asghari, G., Taheri, D., Saeidi, M., dan Esfahani, S.N. (2014). Anti-inflammatory effect of *Moringa oleifera* Lam. seeds on acetic acid-induced acute colitis in rats. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 4(2): pp.127–136.

Randhawa, P.K., Singh, K., Singh, N., dan Jaggi, A.S. (2014). A Review on Chemical-Induced Inflammatory Bowel Disease Models in Rodents. *Korean J. Physiol Pharmacol*, 18(4): pp.279.-288. https://doi: [10.4196/kjpp.2014.18.4.279](https://doi.org/10.4196/kjpp.2014.18.4.279%22%20%5Ct%20%22_blank)

Rao, V.P., Kiran, S., Bhagyasree, R.P. (2017). Flavonoid: A review on Naringenin. *J. Pharmacogn. Phytochem*, 6(5): pp.2778–2783.

Sugiarto, (2016). Hubungan *Inflamatory Bowel Disease* dengan Kanker Kolorektal. J. Kedokt. Dan Kesehat. Ed. Suplemen 61–74.

Terry, R., Chintanaboina, J., Patel, D., Lippert, B., Haner, M., Price, K., Tracy, A., Lalos, A., Wakeley, M., dan Gutierrez, L.S. (2019). Expression of WIF-1 in inflammatory bowel disease. *Histology and Histopathology*, 34(2): pp.149–157. https://doi:[10.14670/hh-18-031](http://doi.org/10.14670/hh-18-031%22%20%5Ct%20%22_blank)

Tian, Z., Liu, J., Liao, M., Li, W., Zou, J., Han, X., Kuang, M., Shen, W., dan Li, H. (2016). Beneficial Effects of Fecal Microbiota Transplantation on Ulcerative Colitis in Mice. *Digestive Diseases and Sciences*. 61, pp.2262–2271. https://doi: [10.1007/s10620-016-4060-2](https://doi.org/10.1007/s10620-016-4060-2%22%20%5Ct%20%22_blank)

Vickers, A.D., Ainsworth, C., Mody, R., Bergman, A., Ling, C.S., Medjedovic, J., dan Smyth, M. (2016). Systematic Review with Network Meta-Analysis: Comparative Efficacy of Biologics in the Treatment of Moderately to Severely Active Ulcerative Colitis. *PLos One,*11(10). https://doi: 10.1371/journal.pone.0165435

Widyowati, R., dan Agil, M. (2018). Chemical Constituents and Bioactivities of Several Indonesian Plants Typically Used in Jamu. *Chem. Pharm. Bull*, 66, pp.506–518. https://doi: 10.1248/cpb.c17-00983

© 2019 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>).