



ARTIKEL RISET

URL artikel: <http://e-jurnal.fkg.umi.ac.id/index.php/Sinnunmaxillofacial>

Efektivitas Minyak Atsiri Rimpang Bangle (*Zingiber montanum*) Kalimantan dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

^KLilies Anggarwati Astuti¹, Verry Asfirizal², Nuryanni Dihin Utami³, Listyawati⁴, Rizky Putri Fabiola⁵

¹Departemen Periodontologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mulawarman

²Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mulawarman

³Departemen Kedokteran Gigi Klinik, RSUD AW Sjahranie, Fakultas Kedokteran, Universitas Mulawarman

⁴Departemen Ilmu Kesehatan Gigi Masyarakat, Fakultas Kedokteran, Universitas Mulawarman

⁵Mahasiswa Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mulawarman

Email Penulis Korespondensi (K): liliesanggarwati@fk.unmul.ac.id

liliesanggarwati@fk.unmul.ac.id¹, asfirizalverry@gmail.com², nuryannidihin@gmail.com³,

listiya@ymail.com⁴, putrifabiola98@gmail.com⁵

(085255890557)

ABSTRAK

Pendahuluan: Berdasarkan data Riskesdas tahun 2018 prevalensi periodontitis di Indonesia sebesar 74,1%. Periodontitis disebabkan oleh bakteri salah satunya adalah bakteri *P.gingivalis*. Bangle (*Z. montanum*) dilaporkan kaya akan minyak atsiri yang efektif melawan berbagai macam bakteri patogen dan bagian rimpang bangle digunakan sebagai obat tradisional. **Tujuan Penelitian:** Guna melihat efektivitas minyak atsiri rimpang bangle dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P.gingivalis*. **Bahan dan Metode:** Desain penelitian yang digunakan adalah *posttest only control group*, dengan metode difusi sumuran. Bakteri *P.gingivalis* ditumbuhkan pada meda *Brain Heart Infusion Agar* (BHIA) dan diberi perlakuan minyak atsiri rimpang bangle dengan konsentrasi sebesar 50%, 25%, 12,5%, 6.25% dan 3.12%. Kontrol positif menggunakan eugenol dan kontrol negatif menggunakan aquades+tween 80. Pengulangan dilakukan sebanyak 4 kali perlakuan di setiap kelompok. Data dikaji menggunakan pengujian *Kruskal Wallis* dengan nilai $p < 0,05$. **Hasil:** Hasil memperlihatkan bahwa minyak atsiri rimpang bangle dapat memperlambat pertumbuhan bakteri *P.gingivalis* dengan ditemukannya zona hambat, namun termasuk dalam kategori lemah karena diameter yang dihasilkan $< 5\text{mm}$. **Kesimpulan:** Minyak atsiri rimpang bangle efektif menghambat pertumbuhan *P.gingivalis*, tetapi masih termasuk kategori lemah.

Kata Kunci: Periodontitis; minyak atsiri rimpang bangle (*Z.montanum*); *P.gingivalis*

Article history:

PUBLISHED BY:

Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Muslim Indonesia

Address:

Jl. Pajonga Dg. Nagalle. 27 Pab'batong (Kampus I UMI)
Makassar, Sulawesi Selatan.

Email:

sinnunmaxillofacial.fkgumi@gmail.com,

Received 25 Februari 2023

Received in revised form 5 September 2023

Accepted 24 Oktober 2023

Available online 30 Oktober 2023

licensed by [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).



ABSTRACT

Introduction: According to Riskesdas (National Basic Health Research) data from 2018, the prevalence of periodontitis in Indonesia was 74.1%. Bacteria, one of which is *P. gingivalis*, cause periodontitis. Bangle (*Z. montanum*) is considered to be high in essential oils that are effective against a variety of pathogenic bacteria, and its rhizome is used in traditional medicine. **Research Objectives:** The purpose of this study is to reveal how effective bangle rhizome essential oil is at inhibiting the growth of *P. gingivalis* bacteria. **Materials and Methods:** The well diffusion method was utilized using a posttest-only control group design. In Brain Heart Infusion Agar (BHIA) media, *P. gingivalis* bacteria were cultured and then exposed to bangle rhizome essential oil at concentrations of 50%, 25%, 12.5%, 6.25% and 3.12%. Eugenol was the active control that was utilized. There were four repetitions in total. The Kruskal-Wallis test was used to examine the data, and a p-value of 0.05 was required. **Results:** The results show that bangle rhizome essential oil can inhibit the growth of *P. gingivalis* bacteria by creating an inhibition zone, but it falls into the weak category due to the 5mm diameter produced. **Conclusion:** Although bangle rhizome essential oil inhibits the growth of *P. gingivalis*, it falls into the weak category.

Keywords: Periodontitis; bangle rhizome essential oil (*Z.montanum*); *P.gingivalis*

PENDAHULUAN

Karies gigi dan periodontitis menjadi penyakit yang umum terjadi pada rongga mulut. Pada Pusdatin Kemenkes tahun 2019, disebutkan berdasarkan pada *The Global Burden of Disease Study* tahun 2016, karies dialami oleh setengah populasi dunia dan penyakit periodontal berada di peringkat ke 11 di dunia. Data Riskesdas tahun 2018 menyatakan bahwa prevalensi karies di Indonesia 88,8% dan periodontitis 74,1%. Bakteri *P. gingivalis* berhubungan dengan tingkat keparahan penyakit periodontal dan diidentifikasi oleh para peneliti sebagai salah satu agen penyebab utama di patogenesis periodontitis.¹ Bakteri *P. gingivalis* ditemukan pada 87,75% sampel plak *subgingiva* dari pasien periodontitis kronis.²

Bangle (*Z. montanum*) dikenal sebagai "Banada" di Bangladesh, "Phlai" di Thailand, "Jangliadrak" di India dan "Bangle" di Malaysia.³ Bangle memiliki rimpang yang jika dibuka bagian dalam berwarna kuning muda sampai kuning kecoklatan.⁴ Padmasari *et al* (2013) melaksanakan pengujian skrining fitokimia ekstrak etanol sebesar 70% rimpang bangle, dari penelitian tersebut didapatkan jika didalam rimpang bangle terkandung minyak atsiri, *alkaloid*, *tanin*, *saponin* serta *flavonoid*.⁵ Rimpang bangle dilaporkan kaya akan minyak atsiri yang efektif melawan berbagai macam penyakit bakteri patogen diantaranya *E.coli*, *K. pneumonia*, *S. paratyphi*, *S. typhi* dan *S. flexner*.³ Rimpang bangle dapat menghasilkan minyak atsiri dengan aktivitas antimikroba yang kuat terhadap *Streptococcus mutans*, bakteri tersebut terlibat dengan terjadinya gigi berlubang.⁶ Penelitian antibakteri minyak atsiri rimpang bangle terhadap bakteri *P.gingivalis* yang terkait penyakit periodontal belum dilakukan sebelumnya, berdasarkan hal tersebut peneliti ingin mengetahui efek antibakteri dari minyak atsiri rimpang bangle terhadap pertumbuhan bakteri *P.gingivalis*.

BAHAN DAN METODE

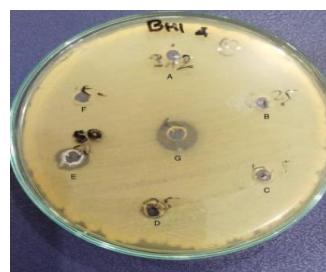
Eksperimental laboratoris dengan memakai desain *posttest only control group* ialah jenis penelitian yang digunakan. Penelitian dilaksanakan bulan November - Desember 2022 dan dilakukan di tiga laboratorium, yaitu Laboratorium Kesehatan Daerah Kalimantan Timur untuk pengujian antibakteri, Laboratorium Fitofarmaka Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman untuk pengenceran minyak atsiri dan Laboratorium Kimia Hasil Hutan dan Energi Terbarukan Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman untuk penyulingan minyak atsiri.

Penyulingan minyak atsiri dilakukan dengan metode distilasi uap. Rimpang bangle diiris setebal 3-5 mm untuk penyulingan, kemudian dimasukkan ke dalam alat penyuling. Lama penyulingan selama empat jam, setelahnya diperoleh minyak atsiri yang masih bercampur dengan air. Selanjutnya minyak dan air dipisahkan menggunakan corong pemisah, kemudian dilakukan pemurnian minyak atsiri dengan menambahkan Na₂SO₄ anhidrat untuk memisahkan air yang terkandung dalam minyak atsiri. Minyak atsiri yang dihasilkan disimpan dalam botol vial yang dilapisi alumunium voil. Tahapan selanjutnya dilakukan pengenceran minyak atsiri menggunakan campuran larutan aquades+tween 80. Pengenceran minyak atsiri dengan cara 1ml minyak atsiri di encerkan dengan 1ml larutan aquades+tween 80. Dilakukan berulang hingga didapatkan lima konsentrasi minyak atsiri yang diinginkan. Aquades menjadi pelarut karena mudah didapat dan tidak menghambat bakteri, untuk penambahan tween 80 bertujuan sebagai emulgator yang membantu minyak dan air menyatu.

Pada penelitian ini kelompok perlakuan menggunakan minyak atsiri dengan konsentrasi sebesar 50%, 25%, 12,5%, 6.25% dan 3.12%. Kontrol positif menggunakan eugenol dan kontrol negatif menggunakan campuran larutan aquades+tween 80. Pada setiap kelompok perlakuan, kelompok control positif dan kelompok control negative dilakukan 4x pengulangan/replikasi Uji pada bakteri *P.gingivalis* dilaksanakan memakai suatu metode yang disebut difusi sumuran pada media *Brain Heart Infusion Agar* atau BHIA, dengan memasukkan larutan uji kedalam lubang sumuran sebanyak 20µl. Inkubasi dilakukan dalam waktu 24 jam didalam temperatur 37°C, kemudian dilaksanakan pengukuran zona hambat dengan jangka sorong. Data yang didapatkan diolah dengan SPSS versi 23, dengan uji normalitas *Shapiro-wilk*, uji beda dengan uji *Kruskal wallis* lalu kemudian diteruskan oleh uji *Mann whitney*.

HASIL

Hasil yang didapatkan minyak atsiri rimpang bangle dapat menghambat tumbuhnya bakteri *P.gingivalis*, dengan ditemukannya zona hambat yang terbentuk, seperti yang ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1 Konsentrasi minyak atsiri: (A) 3,12%; (B) 6,25%; (C) 12,5%; (D) 25%; (E) 50%, (F) kontrol negatif, (G) kontrol positif

Tabel 1 Nilai rata-rata zona hambat (mm) minyak atsiri rimpang bangle

Perlakuan	Konsentrasi (%)	Mean ± SD
Minyak atsiri rimpang Bangle		
3,12	0,85 ± 2,26	
6,25	1,92 ± 2,26	
12,5	2,96 ± 2,26	
25	3,91 ± 2,26	
50	4,37 ± 2,26	
Kontrol positif (eugenol)	25	5,75
Kontrol negatif (Aquades+Tween 80)		0,00

Hasil dari pengamatan pengujian antibakteri minyak atsiri rimpang bangle terhadap bakteri *P.gingivalis* dapat dilihat pada Tabel 1. Nilai rerata diameter zona hambat dari terkecil hingga terbesar yakni, konsentrasi 3,12%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50% serta kontrol positif. Terlihat tingkat perbedaan zona hambat dari konsentrasi terkecil 3,12% dan konsentrasi tertinggi 50% dari minyak atsiri rimpang bangle. Diameter zona hambat terbesar pada kontrol positif serta kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat.

Tabel 2 Uji Statistik Kruskal Wallis

Kruskal Wallis H	df	Asymp. Sig.
20,672	6	.002

Tabel 3 Uji Statistik Mann Whitney

Variabel	Konsentrasi rimpang bangle minyak atsiri (p-value)					Kontrol positif	Kontrol negatif
Konsentrasi rimpang bangle minyak atsiri	3,12%	6,25%	12,5%	25%	50%		
	3,12%						
	6,25%	0,321					
	12,5%	0,166	0,554				
	25%	0,018	0,142	0,564			
	50%	0,018	0,042	0,386	0,110		
Kontrol positif	0,018	0,20	0,021	0,021	0,021		
Kontrol negatif	0,317	0,131	0,047	0,014	0,014	0,014	

Data penelitian yang di dapatkan kemudian dilaksanakan pengujian normalitas *Shapiro wilk* guna melihat data yang dihasilkan mempunyai distribusi yang normal ataukah tidak. Hasil pengujian normalitas memperlihatkan bahwa nilai $p < 0,05$ menunjukkan data tidak berdistribusi dengan normal. Sehingga dengan begitu, dipakai pengujian memakai non-parametrik *Kruskal Wallis*. Uji *Kruskal Wallis* memperlihatkan jika terdapat perbedaan bermakna antar kelompok dengan $p < 0,05$ (tabel 2). Kemudian dilaksanakan uji *Mann Whitney*, guna melihat kelompok yang mempunyai perbedaan bermakna (tabel 3).

PEMBAHASAN

Penelitian efektivitas antibakteri dari minyak atsiri rimpang bangle ini memperlihatkan bahwa minyak atsiri rimpang bangle memiliki sifat antibakteri terhadap bakteri *P. gingivalis*. Hal ini ditunjukkan dengan adanya zona hambat disekitar sumuran media BHIA (*Brain Heart Infusion Agar*). Hal ini sejalan dengan yang disebutkan dalam Qumri *et al* (2020) bahwa minyak atsiri terbukti mengandung sifat antimikroba yang penting dalam mengatasi masalah yang terkait dengan mikroba seperti bakteri, virus, dan protozoa.⁷ Pada penelitian yang dilaksanakan oleh Pardosi *et al* (2022) menunjukkan bahwa minyak atsiri rimpang bangle menghasilkan antibakteri kategori kuat terhadap bakteri *S. mutans*.⁶ Minyak atsiri bangle juga memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Batubara *et al.*, 2018).⁸

Zona hambat yang dihasilkan terjadi karena adanya zat aktif yang diduga sebagai antibakteri yang terkandung dalam minyak atsiri rimpang bangle. Pardosi *et al* (2022) menyebutkan minyak atsiri rimpang bangle memiliki beberapa zat aktif yang terkandung dalam diantaranya, *sabinene*, *gamma-terpinene*, *alpha-terpinene*, *terpinene-4-ol*, dan *(E)-1-(3,4 dimetoksifenil) butadiena* (DMPBD).⁶ Pada penelitian Devkota *et al* (2021) disebutkan kandungan pada minyak atsiri terdapat *sabinene* sebesar 27-34%, *gamma-terpinene* sebesar 6-8%, *alpha-terpinene* sebesar 4-5%.³ Pardosi *et al* (2022) menyebutkan kandungan *terpinene-4-ol* dalam rimpang bangle sebesar 21-29%.⁶ *Terpinene-4-ol* dilaporkan dapat menghancurkan biofilm yang terbentuk dari patogen rongga mulut misalnya *P. gingivalis*, *F.nucleatum*, *S. mutans*, dan *L. acidophilus*.⁶ *Gamma terpinene* memiliki sifat bakterisidal, sifat tersebut berfungsi untuk menghancurkan lapisan lipid membran luar dari bakteri yang memiliki struktur fenolik.⁶

Pada penelitian ini zona hambat terbesar terbentuk dari minyak atsiri konsentrasi 50% yang merupakan konsentrasi tertinggi. Zona hambat dari uji minyak atsiri rimpang bangle pada penelitian ini mengalami peningkatan bersamaan meningkatnya konsentrasi, hal ini sesuai dengan pernyataan dari Baharun *et al* (2013) apabila konsentrasi bahan yang semakin meningkat maka, zat aktif yang terkandung akan semakin banyak. Dengan demikian daya penghambatan akan semakin kuat.⁹ Hal ini sesuai dengan yang dilakukan Hasanuddin & Subakir (2020), pada pengujian antibakteri minyak atsiri Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dilakukan terhadap bakteri *S. mutans*, dengan rerata zona hambat tertinggi konsentrasi minyak atsiri sebesar 100%.¹⁰

Penelitian ini menggunakan konsentrasi minyak atsiri rimpang bangle (*Z.montanum*) sebesar 50%, 25%, 12,5%, 6,25% dan 3,12%. dimana hasil zona hambat dari konsetrasi tersebut semua memiliki aktivitas antibakteri yang lemah, hal tersebut dilihat berdasarkan kategori zona hambat Greenwood karena berukuran <5mm. Bakteri *P.gingivalis* merupakan bakteri Gram negatif. Faktor yang dapat mempengaruhi daya hambat dari minyak atsiri adalah bakteri Gram negatif mempunyai tiga lapisan dengan lemak 11-22%, sehingga komponen antibakteri susah untuk lewat atau melalui dinding sel bakteri Gram negatif (Buldani *et al.*, 2017).¹¹ Sejalan dengan penelitian Astiani *et al* (2014) yang melakukan uji antibakteri minyak atsiri *Eucalyptus* berbagai spesies terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*, didapatkan bahwa bakteri *S.aureus* mempunyai zona bening yang lebih besar dikarenakan termasuk ke dalam bakteri Gram positif dibanding bakteri *E.coli* yang termasuk ke

dalam bakteri Gram negatif.¹²

Hasil nilai rata-rata zona hambat penelitian ini tidak relevan terhadap riset yang dilaksanakan oleh Boonyanugomol et al (2017) yang melaporkan adanya aktivitas antimikroba yang signifikan dari minyak atsiri rimpang bangle (*Z.montanum*) terhadap Gram negatif dengan uji agar *disc diffusion*.¹³ Hasil penelitian yang tidak relevan dengan penelitian sebelumnya diduga karena metode sumuran yang digunakan memiliki kelebihan tetapi juga kekurangan. Kesulitan ketika membuat sumuran seperti adanya sisa agar pada media, media agar bisa pecah atau rusak disekitaran sumuran sehingga dapat mengganggu proses penyerapan antibiotik ke dalam media dan akan mempengaruhi diameter zona bening (Nurhayati *et al.*,2020).¹⁴

Berdasarkan riset yang telah dilaksanakan diperoleh bahwa minyak atsiri rimpang bangle memiliki efektivitas menghambat bakteri *P.gingivalis*, walaupun diameter zona hambat yang dihasilkan kategori lemah. Pada penelitian lainnya oleh Astuti et al. (2019) menyatakan keefektifan ekstrak etanol umbi sarang semut dalam menghambat bakteri *P. gingivalis* pada konsentrasi 25% dan 50%, memiliki rata-rata zona daya hambat kuat. Konsentrasi 25% efektif dalam menghambat bakteri *P. gingivalis* dengan rata-rata zona daya hambat sebesar $17,03 \pm 0,832$ mm dan konsentrasi 50% efektif dalam menghambat bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan rata-rata zona daya hambat sebesar $18,75 \pm 1,10$ m. Zat aktif dalam tumbuhan sarang semut yang diduga bertindak sebagai antimikroba antara lain saponin, alkaloid, fenolik, triterfenoid, dan glikosida¹⁵

KESIMPULAN DAN SARAN

Sesudah dilaksanakan penelitian maka bisa ditarik kesimpulan yakni minyak atsiri rimpang bangle efektif atau ampuh dalam mengurangi tumbuhnya bakteri *P.gingivalis* dari terbentuknya zona hambat, namun termasuk dalam kategori lemah dan daya hambat yang terbentuk meningkat seiring meningkatnya konsentrasi minyak atsiri. Saran untuk penelitian berikutnya dapat menguji minyak atsiri rimpang bangle (*Z.montanum*) terhadap bakteri *P.gingivalis* dengan nilai konsentrasi lebih tinggi, dapat melakukan kombinasi terhadap agen antibakteri lain/minyak atsiri tanaman aromatik lainnya untuk menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih kuat dalam melawan bakteri *P.gingivalis* dan menguji efek antibakteri minyak atsiri rimpang bangle (*Z.montanum*) terhadap pertumbuhan bakteri lainnya dalam rongga mulut.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Xu W, Zhou W, Wang H, Liang S. Roles of *Porphyromonas gingivalis* and its virulence factors in periodontitis. Advances in Protein Chemistry and Structural Biology. 2021;120:45-84.
- [2] Yan YJ, Wang BW, Yang CM, Wu CY, Ou-Yang M. Autofluorescence detection method for dental plaque bacteria detection and classification: Example of *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, and *Streptococcus mutans*. Dentistry Journal. 2021;9(7).

- [3] Devkota HP, Paudel KR, Hassan MM, Dirar AI, Das N, Devkota AA, Dua K. Bioactive compounds from *Zingiber montanum* and their pharmacological activities with focus on zerumbone. *Appl.Sci.* 2021;11(10205):1-24.
- [4] Santoso HB. Farm big book budi daya empon-emponberkhasiat.2020.Yogyakarta:Lily Publisher.
- [5] Padmasari PD, Astuti KW, Warditiani NK. Skrining fitokimia ekstrak metanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum Roxb.*). *Jurnal Farmasi Udayana.*2013;2(4):1–7.
- [6] Pardosi DRS, Purnamasari CB, Paramita,S, Astuti LA, Masyhudi M, Arung ET.Antibacterial activity of bangle rhizome essential oil (*Zingiber montanum*) against *Streptococcus mutans*. *Journal of Dento maxillofacial Science (J Dentomaxillofac Sci).* 2022;7(1):5–8.
- [7] Qumri AM, Salah EMAA, Faisal MBAS. A Review: Antibacterial Activity of Several Essential Oils Used in Saudi Domestic Markets Against Certain Bacterial Pathogens. *Acta Scientific Microbiology.* 2020;4(1):96–102.
- [8] Batubara I, Trimulia R, Rohaeti E, Darusman LK. Hubungan lama distilasi, kandungan senyawa, dan bioautografi antioksidan minyak atsiri bangle (*Zingiber..purpureum*). *Indonesian Journal of Essential Oil.* 2018;3(1): 37–44.
- [9] Baharun K, Rukmi I, Lunggani AT, Fachriyah E. Rimpang temu hitam (*Curcuma aeruginosa roxb.*) terhadap *Bacillus subtilis* dan *Staphylooccous aureus* secara *in vitro*. *Jurnal Biologi.* 2013; 2(4): 16–24.
- [10] Hasanuddin ARP, Subakir S. Uji bioaktivitas minyak cengkeh (*Syzgium aromaticum*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* penyebab karies gigi. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar.*2020;5(2):241-250
- [11] Buldani A, Retno Y, Pertiwi S. Uji efektivitas ekstrak eimpang bangle (*Zingiber Cassumunar Roxb.*) sebagai antibakteri terhadap *Vibrio Cholerae* dan *Staphylococcus aureus* secara *in Vitro* dengan metode difusi cakram. *2nd Seminar Nasional IPTEK Terapan (SENIT).* 2017:15–17.
- [12] Astiani DP, Afghani J, Savante A. Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri *Eucalyptus pellita* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *JKK.* 2014;3(3): 49-53.
- [13] Boonyanugomol W, Kraisriwattana K, Rukseree K, Boonsam K, Narachai P. In vitro synergistic antibacterial activity of the essential oil from *Zingiber cassumunar Roxb* against extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains. *Journal of Infection and Public Health.* 2017;10(5):586–592.
- [14] Nurhayati LS, Yahdiyani N, Hidayatulloh A. Perbandingan pengujian aktivitas antibakteri starter yogurt dengan metode difusi sumuran dan metode difusi cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan.* 2020;1(2):41.
- [15] Astuti, L., Anas, R., Husein, H., Puspitasari, Y., Eva, A., & Danto, S. Efektivitas Ekstrak Etanol Umbi Sarang Semut Jenis Myrmecodia pendens Terhadap Daya Hambat Bakteri *Porphyromonas gingivalis* (Studi In Vitro). *Sinnun Maxillofacial Journal.* 2019; 1(1): 19–29.