

## **Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Umbi Sarang Semut (Myrmecodia tuberosa Jack.) Terhadap Kadar SOD (Superoxide Dismutase) Dan MDA (Malonildiadehide) Sel Darah Merah Domba**

### ***Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Sarang Semut Bulb (Myrmecodia tuberosa Jack.) Against SOD (Superoxide Dismutase) and MDA (Malonildiadehide) Levels of Lamb Red Blood Cells***

Putu Gita Maya W. Mahayasih<sup>1</sup>, Nisa Nurdiyanti<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Esa Unggul, Jakarta Barat, Indonesia

<sup>2</sup>Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945, Jakarta Utara, Indonesia

putu.gitamaya@esaunggul.ac.id

#### **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan umbi sarang semut (*Myrmecodia Tuberosa* Jack). Umbi sarang semut di ekstraksi menggunakan etanol 80% secara maserasi dan dilakukan pengujian karakteristik ekstrak meliputi nilai rendemen, kadar air, dan skrining awal fitokimia. Uji aktivitas antioksidan di lakukan secara in vitro dengan mengukur kadar *Superoxide dismutase* (SOD) dan *Malonildialdehide* (MDA) sel darah merah domba pada 6 kelompok perlakuan, yaitu: kelompok kontrol normal, kontrol negatif, kontrol positif (vitamin C), ekstrak dosis 0,6 mg/ml, 1,2 mg/ml, dan 2,4 mg/ml. Hasil penelitian terhadap karakteristik ekstrak menunjukkan ekstrak memiliki nilai rendemen 19,63%, susut pengeringan 12,26%, dengan kandungan kimia alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin. Hasil pemeriksaan kadar SOD dan MDA menunjukkan semua dosis ekstrak dapat meningkatkan kadar SOD dan menurunkan kadar MDA yang sebanding dengan vitamin C ( $P < 0,05$ ).

**Kata kunci** : *Myrmecodia tuberosa*, antioksidan, *Superoxide dismutase*, *Malonildialdehide*, Sel darah merah domba

#### **ABSTRACT**

The aim of this research was to determine the antioxidant activity of ant nest bulb (*Myrmecodia Tuberosa* Jack). Ant nest bulb was extracted using ethanol 80% by maceration and was tested for the characteristic of extract, especially yield of the extract, lost on drying, and preliminary phytochemical screening. Antioxidant activity was carried out in vitro by measuring the levels of *Superoxide dismutase* (SOD) and *Malonildialdehide* (MDA) sheep's red blood cells in 6 treatment groups: normal control group, positive control (vitamin C), extract dose 0.6 mg/ml, 1.2 mg/ml, and 2.4 mg/ml. The result for characteristic of the extract showed that yield of extraction was 19.63%, lost on drying was 12.26%, and the chemical content of the extract were alkaloids, flavonoids, terpenoids, and saponins. The examination of SOD and MDA levels showed that all doses of the extract can increase SOD levels and lower MDA levels comparable to vitamin C ( $P < 0.05$ ).

**Keyword** : *Myrmecodia tuberosa*, antioxidant, *Superoxide dismutase*, *Malonildialdehide*, Sheep Red Blood Cells

## PENDAHULUAN

Secara alamiah setiap makhluk hidup atau organisme akan sampai pada proses menjadi tua. Proses ini merupakan siklus hidup yang normal bagi manusia. Namun terkadang terjadi proses penuaan dini yang terlalu cepat. Terjadinya proses penuaan dini ini disebabkan antara lain karena faktor genetik, gaya hidup, lingkungan, mutasi gen, rusaknya sistem kekebalan dan radikal bebas. Dari semua faktor penyebab tersebut teori radikal bebas merupakan teori yang paling sering diungkapkan, (1) dimana dapat berasal dari polusi debu, maupun diproduksi secara kontinyu sebagai konsekuensi dari metabolisme normal (2).

Sebagaimana diketahui bahwa di dalam tubuh manusia dapat terbentuk radikal bebas. Radikal bebas adalah atom, molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri, mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Radikal bebas dapat menarik elektron yang ada di dalam tubuh dan menyebabkan ketidakstabilan sehingga sulit untuk dideteksi. Adanya radikal bebas yang berlebih dapat menyebabkan terjadinya gangguan kesehatan dan dapat menimbulkan beberapa penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, hipertensi dan kanker. Dalam keadaan normal suatu radikal bebas dapat dinetralkan

dengan menggunakan zat antioksidan (2,3).

Antioksidan merupakan senyawa atau molekul yang dapat mencegah terjadinya proses oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Secara alamiah semua organisme memiliki mekanisme untuk mengatasi radikal bebas misalnya dengan enzim *superoxide dismutase* (SOD) dan *katalase* (4), namun jumlahnya tidak cukup untuk menetralkan seluruh radikal bebas yang jumlahnya semakin menumpuk di dalam tubuh. Oleh karena itu, tubuh memerlukan antioksidan dari luar berupa makanan atau suplemen (1).

*Malonildialdehid* (MDA) adalah produk akhir dari *peroksidasi lipid*, yaitu senyawa aldehida berkarbon tiga yang reaktif. Pengukuran MDA telah digunakan sebagai indikator kerusakan oksidatif asam lemak tidak jenuh pada sel hidup yang menyebabkan perubahan struktural dan fungsi (5).

Indonesia memiliki berbagai jenis tanaman obat yang banyak digunakan dalam pengobatan tradisional atau modern. Salah satu tanaman obat adalah spesies sarang-semut (*Myrmecodia*) *Myrmecodia tuberosa* Jack. (*M. Tuberosa*) dipercaya memiliki zat aktif yang dapat berfungsi sebagai obat. *M. tuberosa* merupakan tanaman endemik

yang ditemukan di Papua, Indonesia. Oleh masyarakat Papua, tanaman ini digunakan sebagai obat herbal alternatif untuk mengobati maag, wasir, mimisan, sakit punggung, ruam kulit, alergi, gangguan asam urat, stroke, masalah jantung koroner, TBC, tumor, hepatitis, rematik, dan diare (6). Tanaman ini juga dipercaya dapat digunakan sebagai obat untuk menyembuhkan kanker (7).

Penelitian ini dilakukan untuk menilai aktivitas antioksidan dari umbi sarang semut *M. tuberosa*.

## **METODOLOGI PENELITIAN**

### **Alat**

Peralatan yang digunakan adalah alat-alat gelas dalam laboratorium, alat destilasi, *rotary evaporator*, *spektrofotometer* UV-Vis (Shimadzu), inkubator, alat sentrifugasi, pH meter, dan desikator.

### **Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sarang semut *Myrmecodia tuberosa* Jack. dari Papua, etanol 80 %, aquadest, sel darah merah domba (SDMD) segar dari Departemen Mikrobiologi FK UI dan vitamin C sebagai pembading. Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis seperti tetra etoksipropan, Asam Trikloroasetat (TCA) 20%, Asam Tiobarbiturat (TBA) 0,67%, (*Krebs Ringer Phosphate*) KRP, *tert-*

*Butil Hidroperoksida* (t-BHP), NaCl 0,9 %, kloroform, buffer karbonat, epinefrin, cairan *Phosphate Buffer Saline* (PBS).

### **Cara Kerja**

#### ***Pembuatan Ekstrak etanol 80% umbi sarang semut (Myrmecodia tuberosa Jack)***

Sebanyak kurang lebih 240 gram simplisia yang telah halus diekstraksi dengan cara maserasi selama 24 jam dengan sesekali pengadukan. Proses maserasi dilakukan beberapa kali hingga residu terakhir berwarna jernih. Kemudian maserat yang dikumpulkan dipampatkan dengan *rotary evaporator* dan dilanjutkan dengan pemanasan pada *waterbath* pada suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental (8).

#### **Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak**

Pemeriksaan ekstrak umbi sarang semut (*M. tuberosa*) meliputi :

a. Uji organoleptis

Uji organoleptis meliputi warna, bau, dan konsistensi ekstrak.

b. Perhitungan rendemen

Perhitungan nilai rendemen dapat diketahui dengan menggunakan rumus (%):

$$\% = \frac{\text{Berat hasil ekstraksi}}{\text{Berat awal simplisia}} \times 100\%$$

c. Susut pengeringan

Susut pengeringan merupakan pengukuran sisa zat setelah pengeringan pada temperatur 105° C sampai berat konstan. Penetapan dilakukan dengan menimbang ekstrak secara seksama sebanyak 1 g dalam botol timbang tertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105° C selama 30 menit dan telah ditara. Ekstrak diratakan di dalam botol, kemudian dimasukkan ke dalam lemari pengering dan dikeringkan pada suhu 105° C hingga bobot tetap. Kemudian botol dimasukkan ke dalam desikator dan setelah dingin ditimbang (9).

d. Pemeriksaan kandungan kimia ekstrak

Pemeriksaan kandungan kimia dilakukan berdasarkan metode dari Harborne (1991) dengan sedikit modifikasi. Pengujian yang dilakukan adalah identifikasi minyak atsiri, tannin, flavonoid, saponin, steroid, alkaloid, kumarin, dan triterpenoid (10).

**Uji Aktivitas Antioksidan**

a. Penyiapan Sel Darah Merah (SDMD) dan Plasma Darah Domba  
Sebanyak 10 ml darah domba disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm pada suhu 4°C selama 10 menit untuk memisahkan antara lapisan plasma dan endapan sel darah. Lapisan plasma digunakan untuk penentuan kadar MDA dan endapan sel darah digunakan dalam pengukuran aktivitas enzim SOD.

b. Penentuan Kadar MDA

*Penyiapan Sampel*

Sejumlah 4 mL lapisan sel darah dicuci menggunakan 4 mL larutan NaCl 0,9% kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm pada suhu 4°C selama 10 menit. Pencucian dilakukan sebanyak 2 kali (11). Sel darah merah kemudian dikelompokkan dalam enam kelompok seperti pada Tabel 1. Masing-masing kelompok terdiri dari enam tabung sesuai dengan rumus Frederer, dan dilakukan 5 kali pengulangan.

Tabel 1

Perlakuan pada setiap kelompok uji penentuan kadar MDA

Kelompok	Perlakuan	Jumlah
Kontrol normal (KN)	1 mL SDMD + 1 mL Krebs Ringer Phosphate	6
Kontrol negatif (KKN)	1 mL SDMD + 1 mL Krebs Ringer Phosphate + 1 mL <i>tert</i> -Butil Hidroperoksida	6
Kontrol positif (KKP)	1 mL SDMD + 1 mL Krebs Ringer Phosphate + 4µg/mL vitamin C	6
Dosis I (D1)	1 mL SDMD + 1 mL Krebs Ringer Phosphate + 1 mL <i>tert</i> -Butil Hidroperoksida + 600 µg/mL ekstrak uji	6
Dosis II (D2)	1 mL SDMD + 1 mL Krebs Ringer Phosphate + 1 mL <i>tert</i> -Butil Hidroperoksida + 1.200 µg/mL ekstrak uji	6
Dosis III (D3)	1 mL SDMD + 1 mL Krebs Ringer Phosphate + 1 mL <i>tert</i> -Butil Hidroperoksida + 2.400 µg/mL ekstrak uji	6

c. Analisis Kadar SOD  
 Sebanyak 10 µL plasma darah dari tiap-tiap kelompok perlakuan ditambah dengan 2730 µL buffer karbonat pH 10,2, 90 µL aquadest dan 170 µL efineprin 0,01 M kemudian divortex hingga homogen dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 480 nm pada suhu 30°C, setelah menit ke 1, 2, 3, 4. Sebagai blanko dimasukkan 2.740 µL buffer karbonat pH 10,2, 90 µL aquadest dan 170 µL efineprin 0,01 M. Aktivitas SOD dapat dihitung dengan mencari % hambat dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ hambat} = \frac{(\Delta \text{ Absorban blanko} - \Delta \text{ Absorban sampel})}{\Delta \text{ Absorban blanko}} \times 100\% = a \%$$

Setelah % hambat didapat, aktivitas SOD dapat dihitung dengan menggunakan rumus :  
 (a% x 1 unit x pengenceran sampel)  
 unit/mL

#### **Analisis Data**

Analisis data yang diperoleh dilakukan dengan menggunakan uji kenormalan menurut Kolmogorov-Smirnov dan uji homogenitas menurut Levene. Selanjutnya data dianalisis dengan ANOVA satu arah ( $\alpha = 0,05$ ).

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **Ekstraksi umbi sarang semut (*M. tuberosa Jack*)**

Hasil ekstraksi umbi sarang semut dengan pelarut etanol 80% diperoleh nilai rendemen ekstrak sebesar 19,63% atau dari 220 g serbuk simplisia umbi sarang semut diperoleh ekstrak

kental etanol sebanyak 43,24 g, dengan nilai susut pengeringan adalah 12,26%. Hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol 80% umbi sarang mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin, saponin dan minyak atsiri.

### **Aktivitas Antioksidan**

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol sarang semut (*M. tuberosa* Jack) dapat diketahui dengan mengukur kadar SOD dalam sel darah merah domba, yang merupakan enzim antioksidan alami yang ada di dalam darah. Selain itu, untuk mengetahui pengaruh peredaman radikal bebas yang

dihasilkan ekstrak sarang semut, dapat dilakukan dengan mengukur MDA sel darah merah Domba, dimana merupakan hasil dari peroksidasi lipid di darah. Kadar rata-rata SOD dan MDA pada sel darah merah domba hasil percobaan dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan data hasil pengamatan, diketahui bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok uji D1, D2, D3 dengan kelompok kontrol positif dan berbeda bermakna dengan kelompok kontrol negatif dan kontrol normal, baik pada kadar MDA maupun kadar SOD.

Tabel 2  
Kadar rata-rata SOD pada tiap kelompok perlakuan dapat dilihat pada

Kelompok	Kadar SOD (Unit/mL)	Kadar MDA (nmol/ $\mu$ L)
KN	57,31 $\pm$ 5,30 <sup>c</sup>	0,19 $\pm$ 0,01 <sup>f</sup>
KKN	50,53 $\pm$ 4,31 <sup>b</sup>	11,01 $\pm$ 0,81 <sup>e</sup>
KKP	118,30 $\pm$ 8,40 <sup>a</sup>	5,26 $\pm$ 0,20 <sup>d</sup>
D1	101,40 $\pm$ 7,87 <sup>a</sup>	6,05 $\pm$ 0,18 <sup>d</sup>
D2	103,60 $\pm$ 7,30 <sup>a</sup>	5,79 $\pm$ 0,29 <sup>d</sup>
D3	109,30 $\pm$ 7,21 <sup>a</sup>	5,25 $\pm$ 0,20 <sup>d</sup>

### **Pembahasan**

Pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol umbi sarang semut pada kadar parameter kimia darah, SOD (*Superoxide dismutase*) dan MDA (*Malonaldehyde*). Etanol dipilih sebagai pelarut karena merupakan pelarut yang

mudah menguap, tidak berwarna, inert, aman, ekonomis, dan diketahui dapat mengekstraksi kandungan senyawa yang ada di dalam sarang semut spesie *Myrmecodia tuberosa* Jack. Berdasarkan penelitian sebelumnya, umbi sarang semut jenis *M. tuberosa* memiliki kandungan kimia fenolik, flavonoid,

tokoferol dan terpenoid/steroid (12). Golongan senyawa fenol dan flavonoid telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antitumor, antikanker, antiinflamasi dan antimikroba (13,14). Tokoferol sendiri merupakan antioksidan sehingga dapat melindungi tubuh agar berfungsi dengan baik dan tanin dapat berfungsi sebagai astringen (15). Hal ini sejalan dengan hasil skrining fitokimia pada penelitian ini, dimana *M. Tuberosa* diketahui memiliki kandungan kimia alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid, saponin dan minyak atsiri.

MDA adalah produk akhir dari peroksidasi lipid yaitu senyawa aldehida berkarbon tiga yang reaktif. Tingginya kadar MDA dalam plasma menunjukkan kadar radikal bebas dalam tubuh yang tinggi. Indikator yang digunakan pada pengukuran MDA adalah kerusakan oksidatif asam lemak tidak jenuh pada sel hidup yang menyebabkan perubahan struktural dan fungsi MDA (5).

Dari hasil penelitian terlihat tingginya kadar MDA pada kontrol negatif dibanding kelompok normal, kelompok positif dan kelompok pemberian ekstrak, disebabkan karena pada kelompok kontrol negatif (KKN) tidak diberikan antioksidan dan hanya diinduksi t-BHP yang dapat menyebabkan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid

yang timbul akibat induksi t-BHP pada SDMD menyebabkan terbentuknya produk MDA dan timbul radikal bebas sehingga terjadi *stress oxidative* pada darah.

Kelompok kontrol positif (KKP) dengan penambahan antioksidan vitamin C berperan dalam menghambat pembentukan peroksidasi lipid. Selanjutnya vitamin C dapat pula bereaksi dengan radikal peroksidasi lipid menghasilkan substansi yang tidak bersifat radikal. Pemberian ekstrak pada kelompok ekstrak 1, 2, dan 3 dapat mengurangi terjadinya peroksidasi lipid lebih lanjut, sehingga produk MDA yang terbentuk lebih rendah dari kelompok kontrol negatif dan mendekati kondisi normal. Pada percobaan ini, secara matematis, dosis yang paling baik dalam menurunkan kadar MDA adalah pada dosis kelompok ekstrak 3 (D3) dengan dosis 2,4 mg/mL. Hal ini terjadi karena semakin besar konsentrasi atau dosis dari ekstrak, maka semakin besar zat aktif yang terkandung di dalamnya, sehingga mampu menurunkan kadar MDA dengan baik.

Enzim SOD memiliki peranan penting dalam sistem pertahanan tubuh, terutama terhadap peredaman aktivitas senyawa oksigen reaktif yang dapat menimbulkan *stress oxidative*. SOD

merupakan salah satu antioksidan enzimatis. Fungsi SOD untuk mempercepat *dismutase*  $O_2^-$  dan menjaga keseimbangan antara jumlah  $O_2^-$  dan pembentukan  $H_2O_2$  (16,17).

Berdasarkan hasil pengujian kadar SOD (Tabel 2) diketahui bahwa ekstrak sarang semut pada ketiga kelompok dosis dapat meningkatkan kadar SOD dalam sel darah merah. Secara matematis, kelompok dosis yang dapat memberikan peningkatan kadar SOD paling tinggi adalah pada kelompok dosis 2,4 mg/ml. Hasil pada penelitian ini juga diujikan secara statistik. Uji normalitas Kolmogorov-Smirnov menunjukkan bahwa data analisis konsentrasi MDA dan SOD terdistribusi secara normal (Sig > 0,05) dan uji homogenitas *Levene* menunjukkan bahwa data konsentrasi homogen (Sig > 0,05). Berdasarkan uji statistik dengan ANOVA satu arah diketahui bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol positif (KKP) dengan kelompok uji D1, D2, dan D3, baik pada analisis kadar MDA maupun SOD ( $\alpha > 0,05$ ). Namun terdapat perbedaan yang bermakna antara KKN, dengan KKP, D1, D2, dan D3 ( $\alpha < 0,05$ ). Berdasarkan hasil ini, dapat dikatakan bahwa semua dosis ekstrak dapat meningkatkan kadar SOD dan menurunkan kadar MDA yang sebanding dengan kontrol positif, vitamin C, namun

belum ada korelasi antara peningkatan dosis dengan efek peningkatan kadar SOD atau penurunan kadar MDA yang dihasilkan oleh ekstrak. Sehingga, dapat disimpulkan bahwa efek yang ditimbulkan oleh dosis ekstrak sarang semut 0,6 mg/mL sama dengan dosis 1,2 mg/mL dan sama dengan dosis 2,4 mg/mL.

## KESIMPULAN

Ekstrak umbi sarang semut memiliki aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan efek peningkatan kadar SOD dan penurunan kadar MDA yang sebanding dengan vitamin C.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Yadav A, Kumari R, Yadav A, Mishra JP, Srivastava S, Prabha S. Antioxidants and its functions in human body - A Review. Antioxidants and its functions in human body - A Review. 2016;(November).
2. Kumar S. The Importance Of Antioxidant And Their Role In Pharmaceutical Science - A Review. Asian J Res Chem Pharm Sci. 2014;1(1):27–44.
3. Carrocho M, Ferreira ICFR. A review on antioxidants, prooxidants and related



- controversy : natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. :1–39.
4. Prashant Tiwari, Bimlesh Kumar, Mandeep Kaur, Gurpreet Kaur HK. Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Int Pharm Sci.* 2011;1(1).
  5. Anggraeni S, Setyaningrum T, Listiawan MY. Perbedaan Kadar Malondialdehid (MDA) sebagai Petanda Stres Oksidatif pada Berbagai Derajat Akne Vulgaris (Significant Different Level of Malondialdehyde (MDA) as Oxydative Stress Marker in Severity Groups of Acne Vulgaris). 2015;
  6. Hamsar, M. N., and Mizaton HH. Potential of Ant-Nest Plants As An Alternative Cancer Treatment. *J Pharm Res.* 2012;5(6):3063–6.
  7. Simanjuntak P. Anticancer Activity Test for Extract of Sarang Semut Plant (*Myrmecodia pendens*) to HeLa and MCM-B2 Cells. 2010;(April 2015).
  8. Mahayasih PG, Elya B, Hanafi M. Alpha-Glucosidase Inhibitory Activity of *Garcinia lateriflora* Blume Leaves. 2017;7(10):100–4.
  9. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta; 2000. 2000 p.
  10. Harbone J. *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis.* 2nd ed. Vol. 2. 1991. 1991 p.
  11. Fransworth NR. Biological and Phytochemical Screening of Plant. *J Pharmaceutical Sci.* 1996;55(3):1996.
  12. Triana Hertiani, Ediati Sasmito, Sumardi MU. Preliminary Study on Immunomodulatory Effect of Sarang-Semut Tubers *Myrmecodia tuberosa* and *Myrmecodia pendens*. *Online J Biol Sci.* 2010;10(3):136–41.
  13. Lin D, Xiao M, Zhao J, Li Z, Xing B. An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes. (Figure 2).
  14. Corneliu Tanase, Sanda Cos arcă and D-LM. A Critical Review of Phenolic Compounds Extracted from the Bark of Woody Vascular Plants and Their. *Molecules.* 2019;
  15. Ahkam Subroto HS. *Gempur Penyakit Dengan Sarang Semut.* Bogor: Swadaya; 2006. 2006 p.
  16. Cristiana F, Elena A, Nina Z. *Superoxide Dismutase : Therapeutic Targets in SOD*

- Related Pathology.  
2014;(April):975–88.
17. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. Alexandria J Med. 2018;54(4):287–93.