



Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Batang Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Acute Toxicity of Ethanolic Extract of *Hyptis capitata* Jacq. Stem Using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Method

Nelsiani To'bungan¹, Wibowo Nugroho Jati¹, Felicia Zahida¹

¹Prodi Biologi, Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta

Jl. Babarsari No. 44, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta, Indonesia

Email: nelsiani.tobungan@uajy.ac.id

*Penulis korespondensi

Abstract

Knop weed (*Hyptis capitata* Jacq.) has ethnobotanical history. The safety information of using Knop weed as traditional medicine needs to be done. The safety test is carried out with a toxicity test. An acute toxicity test with the *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) is performed as a first toxicity test. Knop weed stems are extracted by maceration method, using ethanol. Ethanol extract of Knop weed stem is made with various concentrations, namely 1000, 500, 250, 125 and 62.5 µg / ml. *Artemia salina* (L.) larvae were exposed to Knop weed stem ethanolic extract for 24 hours. The toxicity of the extract was determined based on the number of larvae that died after exposure to the extract. The number of dead larvae was analyzed by probit analysis to determine the LC₅₀ value. The content of phytochemical compounds in Knop weed stem ethanolic extract was tested by qualitative phytochemical test. LC₅₀ Knop weed stem ethanol extract is 880,579 µg/ml. Knop weed stem ethanolic extract contains steroids.

Keyword: Toxicity, LC₅₀, Rumput Knop, Steroid Phytochemicals, Ethnobotany

Abstrak

Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) memiliki sejarah etnobotani. Informasi mengenai keamanan pemanfaatan rumput Knop sebagai obat tradisional masih terbatas, sehingga perlu dilakukan uji keamanan yang dapat dilakukan dengan uji toksisitas. Pada penelitian ini dilakukan uji toksisitas akut dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) sebagai uji toksisitas awal. Batang rumput Knop diekstrak dengan metode maserasi, menggunakan penyari etanol. Ekstrak etanol batang rumput Knop dibuat dengan berbagai konsentrasi, yakni 1000, 500, 250, 125 dan 62,5 µg/ml. Larva *Artemia salina* (L.) diberi paparan ekstrak etanol batang rumput Knop selama 24 jam. Toksisitas ekstrak ditentukan berdasarkan jumlah larva yang mati setelah paparan ekstrak. Jumlah larva yang mati, dianalisis dengan analisis probit untuk menentukan nilai LC₅₀. Kandungan senyawa fitokimia dalam ekstrak etanol batang rumput Knop diuji dengan uji fitokimia kualitatif. Besar nilai LC₅₀ ekstrak etanol batang rumput Knop adalah 880,579 µg/ml. Ekstrak etanol batang rumput Knop mengandung steroid.

Kata kunci: Toksisitas, LC₅₀, Knop Weed, Fitokimia steroid, Etnobotani

Diterima: 09 November 2020, disetujui: 22 Januari 2021

Pendahuluan

Setiap suku di Indonesia memiliki obat tradisional. Obat tradisional dapat berasal dari hewan maupun tumbuhan. Obat tradisional yang banyak digunakan di masyarakat umumnya berasal dari tumbuhan. Salah satu tumbuhan yang memiliki sejarah etnobotani adalah rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.).

Rumput Knop telah dimanfaatkan oleh beberapa suku di Indonesia untuk mengatasi berbagai macam penyakit, seperti obat pada luka terbuka, demam maupun diabetes (Khairiyah *et al.*, 2016; Rupa *et al.*, 2017 ; Pasorong *et al.*, 2015). Organ tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai obat juga bervariasi mulai dari daun, pucuk, batang muda dan bunga.

Penelitian tentang keamanan penggunaan rumput Knop sebagai obat tradisional masih terbatas. Oleh sebab itu, perlu dilakukan kajian lebih lanjut, untuk memperoleh informasi tentang keamanan penggunaannya. Metode uji untuk menilai keamanan suatu sediaan adalah dengan melakukan uji toksisitas. Uji toksisitas awal yang dapat dilakukan adalah uji toksisitas akut. Uji toksisitas akut dilakukan dengan memberikan perlakuan sediaan atau zat kimia tertentu, dengan dosis tunggal ataupun dosis berulang dalam kurun waktu 24 jam. Uji toksisitas akut dapat dilakukan dengan beberapa metode, salah satunya dengan menggunakan larva *Artemia salina* (L.) atau yang lebih dikenal dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) (Harmita & Radji, 2008). Uji toksisitas akut penting dilakukan untuk mengetahui toksisitas intrinsik suatu zat, menilai kepekaan suatu spesies, menentukan organ sasaran serta memperoleh informasi awal tentang tingkat dosis, yang penting dalam perencanaan uji toksisitas berikutnya (BPOM, 2014).

Berbagai khasiat rumput Knop yang dipercaya masyarakat mampu menyembuhkan berbagai penyakit, perlu untuk dikaitkan dengan kandungan senyawa fitokimianya. Oleh sebab itu perlu dilakukan skrining fitokimia, untuk mengetahui senyawa fitokimia yang berperan dalam penyembuhan penyakit, sekaligus mengaitkannya dengan tingkat toksisitasnya.

Metode Penelitian

Pembuatan Serbuk Simplisia

Rumput Knop diambil dari perkebunan kelapa sawit yang terletak di Desa Bungapati, Kecamatan Tana Lili, Kabupaten Luwu Utara, Sulawesi Selatan. Rumput Knop diambil pada pagi hari, dibersihkan dengan air mengalir dan dipisah-pisahkan berdasarkan organnya. Batang rumput Knop dikeringkan dengan cahaya matahari, dengan terlebih dahulu ditutup dengan kain berwarna hitam. Rumput Knop yang telah kering, dihaluskan dengan grinder, lalu diayak dengan ayakan mesh 44.

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi, menggunakan penyari etanol. Serbuk

batang rumput Knop ditimbang sebanyak 100 gram, lalu dimasukkan dalam Erlenmeyer dan kemudian ditambahkan etanol sebanyak 500ml. Erlenmeyer ditutup menggunakan aluminium foil, didiamkan selama 3x24 jam, sambil sesekali diaduk. Setelah 3x24 jam, campuran tersebut disaring, lalu penyari diuapkan dengan rotary evaporator, sampai penyari menguap sempurna dan terbentuk pasta.

Penetasan *Cyste Artemia salina* (L.)

Cyste Artemia salina (L.) diambil sebanyak 0,5 gram, kemudian dimasukkan ke dalam wadah botol plastik yang berisi 1 liter air laut. Wadah penetasan dilengkai dengan aerator dan diletakkan pada suhu ruang selama 36 jam, sampai *cyste* menetas menjadi larva.

Uji Toksisitas Akut dengan BSLT

Ekstrak etanol batang rumput Knop yang telah diperoleh, dilarutkan menggunakan dimetilsulfoxide (DMSO) menggunakan perbandingan 1:5. Larutan stok ekstrak etanol batang rumput Knop dibuat dengan konsentrasi 1000µg/ml. Larutan tersebut diencerkan dengan seri konsentrasi 500, 250, 125, 62,5 µg/ml. Tiap-tiap tabung diisi sebanyak 10ml air laut, kemudian tiap tabung diisi dengan 10 ekor larva *Artemia salina* (L.), yang telah berumur 36 jam. Tiap-tiap tabung yang telah berisi air laut dan larva *Artemia salina* (L.) diberikan 5 ml ekstrak etanol batang rumput knop mulai dari konsentrasi 1000, 500, 250, 125 dan 62,5 µg/ml. Tiap konsentrasi dibuat dalam 3 kali replikasi. Terdapat tabung kontrol negatif yang hanya diisi air laut tanpa DMSO, air laut dengan DMSO, kemudian masing-masing diberi 10 larva. Tabung disimpan tanpa ditutup dan tanpa sinar dalam waktu 24 jam. Setelah 24 jam, dilakukan penghitungan larva yang mati, untuk kemudian dianalisis untuk menentukan nilai LC₅₀.

Uji Fitokimia

a. Uji Alkaloid

Ekstrak diambil sebanyak 0,1 gram, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Tabung reaksi yang telah berisi sampel, diberi kloroform sebanyak 10ml, dihomogenkan dengan vortex. Larutan ammonia ditambahkan sebanyak 5 tetes. Lapisan bagian bawah dipisahkan ke dalam tabung baru. Tabung reaksi yang baru ditambahkan dengan larutan

asam sulfat sebanyak 2N, sebanyak 5 tetes, lalu diaduk sampai homogen. Lapisan atas yang terbentuk dibagi ke dalam 3 tabung yang berbeda. Tabung pertama diberi pereaksi Wagner. Tabung reaksi kedua diberi pereaksi Meyer dan tabung ketiga diberi pereaksi Dragendorf. Hasil positif alkaloid untuk pereaksi Wagner, Meyer dan Dragendorf berturut-turut adalah terbentuknya endapan berwarna coklat, putih dan merah (Emilia, 2009).

b. Uji Flavonoid

Uji flavonoid menggunakan dua cara yaitu uji flavonoid I dan II. Uji Flavonoid I, ekstrak ditimbang sebanyak 0,05 gram, lalu dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan dimasukkan air panas sebanyak 50 ml. Larutan tersebut dididihkan selama 5 menit, kemudian filtratnya diambil sebanyak 5 ml, lalu dimasukkan ke dalam tabung berbeda. Sebanyak 0,05 gram serbuk Mg dimasukkan ke dalam tabung serta 1 tetes larutan asam klorida 5 N dan 5 tetes amil alkohol. Hasil positif adanya flavonoid dicirikan dengan terbentuknya warna merah, jingga atau kuning. Uji flavonoid II, dilakukan dengan mengambil ekstrak sebanyak 0,1 gram, lalu dimasukkan ke dalam tabung. Tabung reaksi yang telah berisi sampel kemudian ditambahkan dengan 5 ml methanol 30%. Larutan dipanaskan 5 menit dan selanjutnya dimasukkan 3 tetes asam sulfat pekat. Hasil positif flavonoid dicirikan dengan terbentuknya warna merah (Noer et al., 2018; Emilia, 2009).

c. Uji Saponin

Ekstrak etanol batang rumput Knop diambil sebanyak 0,1 gram ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan akuades sebanyak 10 ml. Tabung reaksi dikocok selama 30 detik, kemudian dihomogenkan dengan vortex. Hasil positif saponin ditandai dengan terbentuknya busa stabil 1 cm selama lebih kurang 10 menit (Christien et al., 2014).

d. Uji Steroid/Triterpenoid

Ekstrak etanol batang rumput Knop diambil sebanyak 0,1 gram, kemudian diletakkan pada *drop plate*. Kemudian ditetesi larutan asetat anhidrat sebanyak 3 tetes. Reaksi positif triterpenoid ditandai dengan terbentuknya warna hijau. Reaksi positif steroid ditandai dengan terbentuknya warna merah (Emilia, 2009).

e. Uji Tannin

Ekstrak etanol batang rumput Knop diambil sebanyak 0,1 gram, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Tabung reaksi yang telah berisi sampel dimasukkan 10 ml akuades. Tabung reaksi didiamkan selama 5 menit, lalu disaring. Hasil penyaringan didiamkan lagi selama 5 menit, kemudian ditambahkan lagi dengan FeCl₃ 1% sebanyak 5 tetes. Reaksi positif tannin dicirikan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru (Marlinda et al., 2012).

Analisis Data

Nilai LC₅₀ ditentukan berdasarkan persentase kematian larva di tiap konsentrasi ekstrak etanol batang rumput Knop, yang dianalisis dengan analisis probit. Analisis probit dilakukan dengan program Ms. Excell 2010. Hasil uji Fitokimia dianalisis dengan analisis deskriptif.

Hasil dan Pembahasan

Efek penggunaan suatu zat terhadap tubuh dapat diselidiki melalui uji toksisitas. Uji toksisitas diawali dengan uji toksisitas akut. Uji toksisitas akut menggunakan hewan uji. Salah satu metode uji toksisitas akut adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode ini dipilih karena sederhana dan banyak digunakan untuk evaluasi toksisitas logam berat, pestisida dan obat, khususnya obat yang berasal dari ekstrak tumbuhan (Wu, 2014; Price et al., 1974; Sorgeloos et al., 1978). Pada penelitian ini, dilakukan pemaparan ekstrak etanol batang rumput Knop pada Larva *Artemia salina* (L.) selama 24 jam.

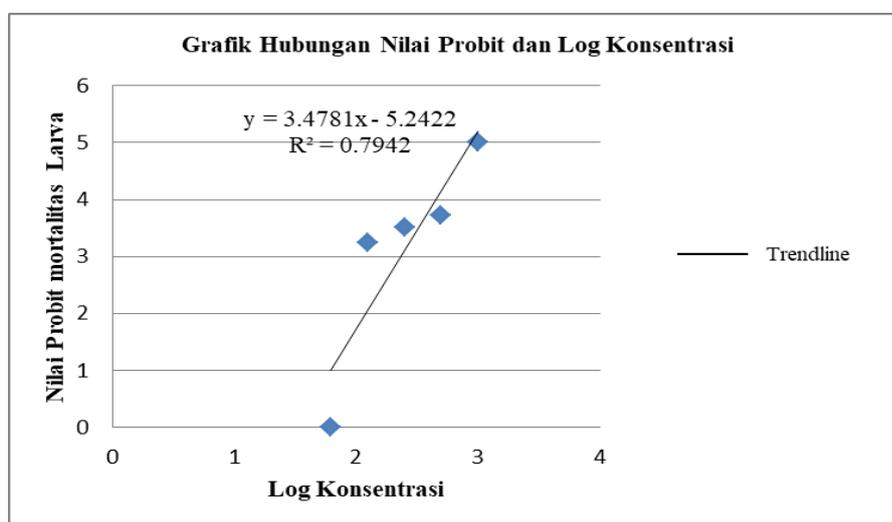
Etanol dipilih sebagai penyari karena merupakan pelarut organik yang banyak digunakan untuk ekstraksi metabolit sekunder dan relatif nontoksik dan nonkarsinogenik dibanding methanol. Ekstraksi dengan penyari etanol memiliki daya ekstraktif yang besar untuk alkaloid, flavonoid dan saponin (Do et al., 2014 ; Nuralifah et al., 2018). Pengaruh perlakuan ekstrak etanol batang rumput Knop berbagai konsentrasi pada larva *Artemia salina* (L.) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh Ekstrak Etanol Batang Rumput Knop Terhadap Kematian Larva *Artemia salina* (L.)

Bahan Uji	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Log Konsentrasi	Jumlah Kematian Larva	Total Larva	% Kematian	Probit
Ekstrak Etanol Batang Rumput Knop	1000	3	15	30	50	5
	500	2,70	5	30	10	3,72
	250	2,40	4	30	7	3,52
	125	2,10	2	30	4	3,25
	62,5	1,80	0	30	0	0
Air laut (control negatif)	-	-	0	30	0	0
Air laut+DMSO	-	-	0	30	0	0

Data pada Tabel 1. menunjukkan bahwa paparan ekstrak etanol batang rumput Knop berbagai konsentrasi menyebabkan kematian larva *Artemia salina* (L.) dengan jumlah kematian yang bervariasi di tiap konsentrasi, kecuali pada konsentrasi 62,5 $\mu\text{g/ml}$. Pada kontrol air laut, maupun air laut yang ditambahkan DMSO, tidak terdapat kematian larva. Hal ini menggambarkan bahwa, kematian larva pada kelompok perlakuan disebabkan karena perbedaan konsentrasi ekstrak etanol batang rumput Knop yang

dipaparkan. Konsentrasi ekstrak etanol 62,5 $\mu\text{g/ml}$ dapat dikatakan terlalu kecil sehingga tidak menyebabkan kematian pada larva. Persentase kematian larva *Artemia salina* (L.), digunakan untuk menentukan nilai probit. Nilai probit dan nilai log konsentrasi digunakan untuk menentukan persamaan dan nilai R^2 . Grafik hubungan nilai probit dan log konsentrasi dapat dilihat pada Gambar 1. Melalui persamaan $y=3,4781x-5,2422$ ($y=5$), diperoleh nilai LC_{50} sebesar 880,579 $\mu\text{g/ml}$.

**Gambar 1.** Hubungan Nilai Probit dan Log Konsentrasi

Suatu bahan/sediaan digolongkan toksik jika nilai $LC_{50} < 1000$ $\mu\text{g/ml}$ (Meyer *et al.*, 1982). Nilai LC_{50} 880,579 $\mu\text{g/ml}$ menunjukkan bahwa ekstrak etanol batang rumput Knop bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* (L.). Namun tingkat toksistas tersebut tergolong lemah (Umaru *et al.*, 2018). Tingkat toksistas yang lemah, dapat

dikaitkan dengan kandungan senyawa fitokimia pada suatu sediaan. Oleh sebab itu, kandungan senyawa fitokimia penting untuk diketahui, sebagai dasar untuk memprediksi penyebab kematian larva *Artemia salina* (L.) pada uji toksistas. Hasil skrining fitokimia pada ekstrak etanol batang rumput Knop dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Batang Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.)

Pengujian	Hasil
Alkaloid	
Mayer	-
Wagner	-
Dragendorf	-
Terpenoid	-
Steroid	+
Saponin	-
Tannin	-
Flavonoid	-

Keterangan:

+ : terdeteksi, - : tidak terdeteksi

Kandungan senyawa fitokimia yang terdeteksi pada ekstrak etanol batang rumput Knop adalah steroid. Steroid pada tumbuhan dapat dibedakan menjadi fitosterol dan brassinosteroid. Steroid pada tumbuhan dapat berperan sebagai regulator pertumbuhan (hormon), penyusun membran sel, menghambat proses penuaan ataupun pengguguran pada tumbuhan (Sultan & Raza, 2015; Suryelita *et al.*, 2017). Steroid pada tumbuhan berpotensi sebagai antiinflamasi maupun sebagai antikanker (Patel & Savjani, 2015; Sultan & Raza, 2015). Oleh sebab itu perlu dilakukan kajian lebih mendalam tentang potensi steroid yang terkandung dalam rumput Knop.

Selain bermanfaat, steroid dalam jumlah tertentu, juga dapat berperan sebagai penurun nafsu makan. Steroid dapat mempengaruhi saraf yang berperan dalam sebagai fungsi pengecap pada daerah oral, dengan menurunkan kepekaannya. Dengan kata lain, steroid dapat berperan sebagai antifedan. Kandungan steroid tersebut dapat menyebabkan terjadinya kematian larva *Artemia salina* (L.) yang telah dipaparkan ekstrak etanol batang rumput Knop selama 24 jam. Dalam hal ini steroid berperan sebagai antifedan pada Larva *Artemia salina* (L.) (Agustini & Setyaningrum, 2017).

Simpulan

Nilai LC₅₀ yang diperoleh dari uji toksisitas akut ekstrak etanol batang rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* adalah 880,579 µg/ml. Berdasarkan nilai tersebut diketahui bahwa ekstrak etanol batang rumput Knop

bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* (L.), namun tingkat toksisitasnya tergolong lemah. Senyawa fitokimia yang terkandung dalam ekstrak etanol batang rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) adalah steroid. Perlu dilakukan pemilihan penyari, metode ekstraksi serta uji fitokimia lebih lanjut untuk mengetahui kandungan senyawa fitokimia yang terkandung dalam rumput Knop.

Daftar Pustaka

- Agustini, N. wayan S., & Setyaningrum, M. 2017. Identifikasi Senyawa Aktif dan Toksisitas Hayati Ekstrak n-heksana, Etil Asetat dan etanol Mikroalga *Tetraselmis chuii* Secara *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Warta Industri Hasil Pertanian*, 34(1): 8–17. <https://doi.org/10.32765/wartaihp.v34i1.4063>
- BPOM. 2014. Pedoman Uji Toksisitas Nonklinis Secara In Vivo. Jakarta: BPOM RI.
- Christien, H., Yunasfi., Ezraneti, R. 2014. *Efektivitas Ekstrak Daun Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa) Sebagai Antibakteri Untuk Mencegah Serangan Bakteri Aeromonas hydrophila pada Ikan Gurami (Osphronemus gouramy)*. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara.
- Do, D.Q., Angkawijaya, A.E., Tran-Nguyen, P.L., Hyunh, L.H., Soetardjo, F.E., Ismadji, S. & Ju, Y. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug analysis*. 22:296-302.
- Emilia, I. (2009). Uji Fitokimia Pada Daun Tumbuhan Pulau (*Alstonia scholaris*). *SAINMATIKA*. 6(2): 32–38.

- Harmita & Radji, M. (2008). Buku Ajar Analisis Hayati. Jakarta: Erlangga.
- Khairiyah, N., Anam, S., & Khumaidi, A. (2016). Studi etnofarmasi tumbuhan berkhasiat obat pada Suku Banggai di Kabupaten Banggai Laut, Provinsi Sulawesi Tengah. *GALENIKA Journal of Pharmacy*. 2(1): 1–7.
- Marlinda, M., Sangi, M. S., & Wuntu, A. D. (2012). Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal MIPA*. 1(1):24–28. <https://doi.org/10.35799/jm.1.1.2012.427>.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., & Putnam, J. E. (1982). Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*. 45(1):31–34. <https://doi.org/10.1055/s-2007-971236>.
- Noer, S., Pratiwi, R. D., Gresinta, E., Biologi, P., & Teknik, F. (2018). Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin dan Flavonoid sebagai Kuersetin) Pada Ekstrak Daun Inggau (*Ruta angustifolia* L.). *Eksata: Jurnal Ilmu-Ilmu MIPA*. 18(1):19–29.
- Nuralifah, Jabbar, A., Parawansah, & Iko, R.A. (2018). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Notika (*Archboldiodendron caloserium* (Kobuski)) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Majalah Farmasi, Sains dan Kesehatan*. 4(1):1-5.
- Pasorong, Y.S., Tambaru, E., Umar, M.R., Masniawati, A. (2015). *Identifikasi Tumbuhan Berkhasiat Obat dan Potensi Pemanfaatannya pada Beberapa Desa di sekitar Gunung Sesean Kabupaten Tana Toraja*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Hasanuddin Makassar.
- Patel, S. S., & Savjani, J. K. (2015). Systematic review of plant steroids as potential anti-inflammatory agents: Current status and future perspectives. *The Journal of Phytopharmacology*. 4(42):121–125.
- Price K.S., Waggy, G.T., & Conway, R.A. (1974). Brine shrimp bioassay and seawater BOD of petrochemicals. *Journal Water Pollut Control Fed*. 46:63–77
- Rupa, D., Sulistyaningsih, C. Y., Dorly, & Ratnadewi, D. (2017). Identification of Secretary Structure, Histochemistry and Phytochemical compound of Medical Plant *Hyptis capitata* Jacq. *Biotropia*. 24(2):94–103. <https://doi.org/10.11598/btb.201>.
- Sorgeloos, P., Rémiche-Van Der Wielen, C., & Persoone, G. (1978). The use of *Artemia nauplii* for toxicity tests - A critical analysis. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2:249–55
- Sultan, A., & Raza, A. R. (2015). Steroids: A Diverse Class of Secondary Metabolites. *Medicinal Chemistry*. 5(7):310–317. <https://doi.org/10.4172/2161-0444.1000279>
- Suryelita, Etika, S. B., & Kurnia, Nivi, S. (2017). Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Steroid dari Daun Cemara Natal (*Cupressus funebris* Endl.). *Eksakta*. 18(1):87–94.
- Umaru, I. J., Badruddin, F., & Umaru, H. (2018). Cytotoxicity Brine Shrimp Activity of *Leptadenia Hastata* (PER) Decne Leaves, Stem-Bark and Root Extract. *International Journal of Biochemistry & Physiology*.3(2): 1–8. <https://doi.org/10.23880/ijbp-16000127>
- Wu.C. 2014. An important player in brine shrimp lethality bioassay: The solvent. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*. 5(1):57-58.