

**EFEKTIVITAS ANTI-ADHESI LARUTAN KOMBINASI NANO-
HIDROKSIAPATIT TULANG IKAN HARUAN (*Channa striata*) DAN
HIDROSIKAVIKOL TERHADAP BIOFILM *CROSS-KINGDOM*
Streptococcus mutans DAN *Candida albicans*
(Studi *in Vitro* dengan Konsentrasi Hidroksikavikol 0,125mg/ml, 0,25mg/ml,
0,5mg/ml, 1mg/ml pada Blok Enamel)**

Skripsi

Diajukan guna memenuhi sebagian syarat
untuk memperoleh derajat Sarjana Kedokteran Gigi
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Lambung Mangkurat

Diajukan oleh
Aura Amelia
211111320020



**UNIVERSITAS LAMBUNG MANGKURAT
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
PROGRAM STUDI KEDOKTERAN GIGI
BANJARMASIN**

Februari, 2025

**EFEKTIVITAS ANTI-ADHESI LARUTAN KOMBINASI NANO-
HIDROKSIAPATIT TULANG IKAN HARUAN (*Channa striata*) DAN
HIDROSIKAVIKOL TERHADAP BIOFILM *CROSS-KINGDOM*
Streptococcus mutans DAN *Candida albicans*
(Studi *in Vitro* dengan Konsentrasi Hidroksikavikol 0,125mg/ml; 0,25mg/ml;
0,5mg/ml; 1mg/ml pada Blok Enamel)**

Skripsi

Diajukan guna memenuhi sebagian syarat
untuk memperoleh derajat Sarjana Kedokteran Gigi
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Lambung Mangkurat

Diajukan oleh
Aura Amelia
211111320020



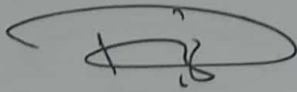
**UNIVERSITAS LAMBUNG MANGKURAT
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
PROGRAM STUDI KEDOKTERAN GIGI
BANJARMASIN**

Februari, 2025

HALAMAN PERSETUJUAN UJIAN USULAN PENELITIAN SKRIPSI

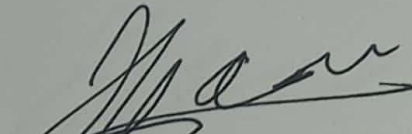
Usulan Penelitian Skripsi oleh Aura Amelia ini
Telah diperiksa dan disetujui untuk diseminarkan

Banjarmasin, 7 Juni 2024
Pembimbing Utama



(drg. Nurdiana Dewi, M.DSc, Sp.KGA)
NIP. 198304262010122003

Banjarmasin,
Pembimbing Pendamping



(Prof. Dr. drg. Maharani Laillyza Apriasari, Sp.PM)
NIP. 197704182009122001

**HALAMAN PENETAPAN PANITIA PENGUJI
USULAN PENELITIAN SKRIPSI**

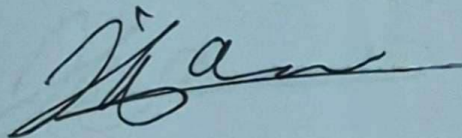
Usulan Penelitian Skripsi oleh Aura Amelia
Telah dipertahankan di depan dewan penguji
Pada tanggal

Dewan Penguji
Ketua (Pembimbing Utama)



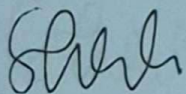
drg. Nurdiana Dewi, M.DSc, Sp.KGA

Anggota (Pembimbing Pendamping)



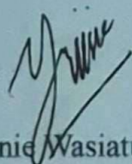
Prof. Dr. drg. Maharani Laillyza Apriasari, Sp.PM

Anggota



drg. Sherli Diana, Sp.KG

Anggota

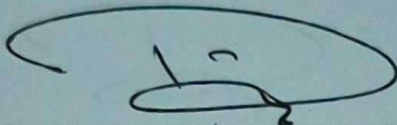


apt. Yusrinie Wasiaturrahmah, S.Farm, M.Farm.

HALAMAN PERSETUJUAN UJIAN SKRIPSI

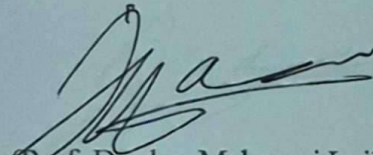
Skripsi oleh Aura Amelia ini
Telah diperiksa dan disetujui untuk diseminarkan

Banjarmasin, 11 Februari 2025
Pembimbing Utama



(drg. Nurdiana Dewi, M.DSc, Sp.KGA)
NIP. 198304262010122003

Banjarmasin, 06 Februari 2025
Pembimbing Pendamping

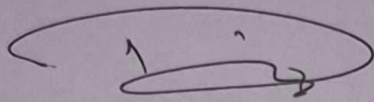


(Prof. Dr. drg. Maharani Laillyza Apriasari, Sp.PM)
NIP. 197704182009122001

HALAMAN PENETAPAN PANITIA PENGUJI SKRIPSI

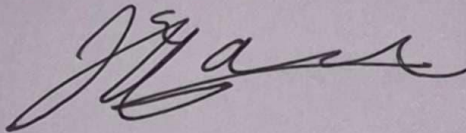
Skripsi oleh Aura Amelia
Telah dipertahankan di depan dewan penguji
Pada tanggal 21 Februari 2025

Dewan Penguji
Ketua (Pembimbing Utama)



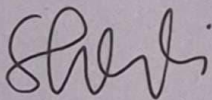
drg. Nurdiana Dewi, M.DSc, Sp.KGA

Anggota (Pembimbing Pendamping)



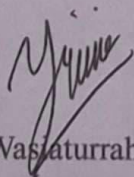
Prof. Dr. drg. Maharani Laillyza Apriasari, Sp.PM

Anggota



drg. Sherli Diana, Sp.KG

Anggota



apt. Yusrinie Wasjaturrahmah, S.Farm, M.Farm

Skripsi

EFEKTIVITAS ANTI-ADHESI LARUTAN KOMBINASI NANO-HIDROKSIAPATIT TULANG IKAN HARUAN (*Channa striata*) DAN HIDROKSIKAVIKOL TERHADAP BIOFILM *CROSS-KINGDOM Streptococcus mutans* DAN *Candida albicans* (*Studi in Vitro* dengan Konsentrasi Hidroksikavikol 0,125mg/ml; 0,25mg/ml; 0,5mg/ml; 1mg/ml pada Blok enamel)

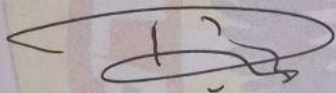
dipersiapkan dan disusun oleh

Aura Amelia

telah dipertahankan di depan dewan penguji
pada tanggal 21 Februari 2025

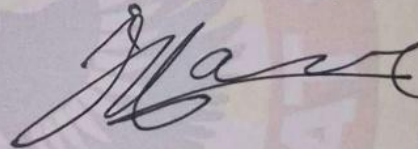
Susunan Dewan Penguji

Pembimbing Utama



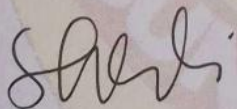
drg. Nurdiana Dewi, M.DSc., Sp.KGA

Pembimbing Pendamping



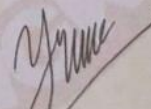
Prof. Dr. drg. Maharani Laillyza
Apriasari, Sp.PM

Penguji



drg. Sherli Diana, Sp.KG

Penguji



apt. Yusriane Wasiaturrahmah,
S.Farm., M.Farm.

Skripsi ini telah diterima sebagai salah satu persyaratan
untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Gigi



Dr. drg. Bayu Indra Sukmana, M.Kes
Koordinator Program Studi Kedokteran Gigi

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR
UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai civitas akademik Universitas Lambung Mangkurat, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Aura Amelia
NIM : 2111111320020
Program Studi : Kedokteran Gigi
Fakultas : Kedokteran Gigi
Jenis karya : Skripsi

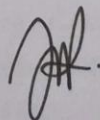
Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Lambung Mangkurat Hak Bebas Royalti Noneklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

“EFEKTIVITAS ANTI-ADHESI LARUTAN KOMBINASI NANO HIDROKSIAPATIT TULANG IKAN HARUAN (*Channa striata*) DAN HIDROKSIKAVIKOL TERHADAP BIOFILM *CROSS-KINGDOM Streptococcus mutans* DAN *Candida albicans* (*Studi in Vitro* dengan Konsentrasi 0,125mg/ml; 0,25mg/ml; 0,5mg/ml; 1mg/ml pada Blok enamel)”

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneklusif ini Universitas Lambung Mangkurat berhak menyimpan, mengalih media/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya

Dibuat di : Banjarmasin
Pada tanggal : 24 Februari 2025
Yang menyatakan



Aura Amelia

RINGKASAN

Karies merupakan permasalahan penting di dunia, sebab berbagai infeksi dan penyakit pada tubuh manusia memiliki hubungan dengan patogen rongga mulut. Karies dapat terjadi pada anak-anak yang dikenal sebagai *Early Childhood Caries* (ECC). Interaksi *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) dan *Candida albicans* (*C. albicans*) dalam biofilm ditemukan dalam kejadian ECC. Kontrol mikroba dengan bantuan pasta gigi dilakukan sebagai salah satu cara menanggulangi ECC. Kandungan dari pasta gigi harus memiliki sifat remineralisasi dan anti-demineralisasi serta antibiofilm. *Gold standard* dari kandungan pasta gigi dalam pencegahan karies adalah fluoride. Sediaan fluoride yang paling banyak digunakan salah satunya adalah sodium fluoride yang mampu berperan sebagai agen remineralisasi. Kelemahan dari sodium fluoride adalah apabila dikonsumsi terlalu banyak dapat menyebabkan fluorosis. Kelemahan ini menyebabkan diperlukannya bahan alternatif yang memiliki sifat yang sama dengan fluoride. Nano-hidroksiapatit merupakan sediaan lebih kecil dari hidroksiapatit. Nano-hidroksiapatit memiliki kemampuan anti-adhesi yang dapat berperan untuk memutus rantai pembentukan biofilm dengan menghalangi perlekatan mikroba dengan permukaan gigi sebab memiliki efek penyangga pH dan pelepasan dari Ca^{2+} dan PO_4 karena kedua senyawa tersebut menurunkan kekasaran pada enamel. Nano-hidroksiapatit tidak memiliki kemampuan antibiofilm, kekurangan tersebut dapat dimaksimalkan dengan penambahan bahan aktif lain yang memiliki sifat antibiofilm. Salah satu bahan alam yang memiliki kemampuan antibiofilm dan diformulasikan dalam pasta gigi adalah daun sirih. Hidroksikavikol merupakan salah satu kandungan aktif dalam daun sirih dengan aktivitas biologis yang tinggi.

Penelitian ini bersifat eksperimental murni dengan *posttest-only control group design* dengan 7 kelompok, yang terdiri dari 5 kelompok perlakuan, kontrol positif, dan kontrol negatif. Kelompok perlakuan diberikan larutan nano-hidroksiapatit 100mg/ml dan larutan kombinasi nano-hidroksiapatit 100mg/ml dengan hidroksikavikol 0,125mg/ml, 0,25mg/ml, 0,5mg/ml, dan 1mg/ml. Hasil penelitian kemudian dilakukan uji normalitas berdasarkan nilai *Saphiro-wilk* yang menunjukkan $p < 0,05$ yang berarti data tidak terdistribusi normal sehingga data kemudian dilakukan uji *Kruskal-Wallis* dengan hasil $p < 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan signifikan pada kelompok uji. Untuk menguji nilai kemaknaan, dilanjutkan uji *Post-hoc* menggunakan *Mann-Whitney* yang menunjukkan perbedaan secara signifikan antara beberapa kelompok ($p < 0,05$). Kesimpulan yang dapat ditarik dari penelitian ini adalah larutan kombinasi nano-hidroksiapatit dan

hidroksikavikol memiliki efektivitas terhadap penghambatan adhesi *cross-kingdom* *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans*.

SUMMARY

Caries is an important issue worldwide, as various infections and diseases in the human body are related to oral cavity pathogens. Caries can occur in children known as Early Childhood Caries (ECC). The interaction of Streptococcus mutans (S. mutans) and Candida albicans (C. albicans) in biofilms has been found in the occurrence of ECC. Microbial control with the help of toothpaste is done as one of the ways to combat ECC. The content of toothpaste must have remineralization and anti-demineralization properties as well as antibiofilm properties. The gold standard for toothpaste ingredients in caries prevention is fluoride. One of the most commonly used fluoride preparations is sodium fluoride, which can act as a remineralization agent. The drawback of sodium fluoride is that if consumed in excess, it can cause fluorosis. This weakness necessitates the need for alternative materials that have similar properties to fluoride. Nano-hydroxyapatite is a smaller preparation of hydroxyapatite. Nano-hydroxyapatite has anti-adhesive properties that can play a role in breaking the biofilm formation chain by preventing microbial adhesion to tooth surfaces due to its pH buffering effect and the release of Ca²⁺ and PO₄, as these two compounds reduce the roughness of enamel. Nano-hydroxyapatite does not have anti-biofilm capabilities; this deficiency can be maximized by adding other active ingredients with anti-biofilm properties. One of the natural ingredients that has antibiofilm properties and is formulated in toothpaste is betel leaves. Hydroxycavicol is one of the active compounds in betel leaves with high biological activity.

This research is true experimental with a posttest-only control group design with 7 groups, consisting of 5 treatment groups, a positive control, and a negative control. The treatment groups were given a solution of nano-hydroxyapatite 100mg/ml and combination solution of nano-hydroxyapatite 100mg/ml with hydroxycavicol 0.125mg/ml, 0.25mg/ml, 0.5mg/ml, and 1mg/ml. The results of the study were then subjected to a normality test based on the Shapiro-Wilk value, which showed $p < 0.05$, indicating that the data were not normally distributed. Therefore, the data were subsequently tested using the Kruskal-Wallis test, which yielded $p < 0.05$, indicating a significant difference in the test groups. To test the significance value, a Post-hoc test was conducted using Mann-Whitney, which showed significant differences between several groups ($p < 0.05$). The conclusion that can be drawn from this study is that the combination solution of nano-hydroxyapatite and hydroxycavicol is effective in inhibiting the adhesion of the cross-kingdom Streptococcus mutans and Candida albicans.

ABSTRAK

EFEKTIVITAS ANTI-ADHESI LARUTAN KOMBINASI NANO-HIDROKSIAPATIT TULANG IKAN HARUAN (*Channa striata*) DAN HIDROSIKAVIKOL TERHADAP BIOFILM *CROSS-KINGDOM Streptococcus mutans* DAN *Candida albicans* (Studi *in Vitro* dengan Konsentrasi Hidroksikavikol 0,125mg/ml, 0,25mg/ml, 0,5mg/ml, 1mg/ml pada Blok Enamel)

Aura Amelia, Nurdiana Dewi, Maharani Laillyza Apriasari

Latar Belakang: Kesehatan gigi dan mulut adalah bagian dari kesehatan umum tubuh dan tidak dapat dipisahkan dari kesehatan umum tubuh. Survey Kesehatan Indonesia 2023 (SKI 2023) melaporkan bahwa 84,8% anak menderita karies, yang dikenal sebagai *Early Childhood Caries* (ECC). Data ini menunjukkan bahwa perlu dilakukan upaya untuk mencegah karies pada anak-anak. ECC disebabkan oleh dua mikroba yang berinteraksi untuk membentuk biofilm, *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans*. Salah satu cara untuk mencegah ECC adalah dengan menghambat adhesi agen mikroba ke permukaan gigi. Nano-hidroksiapatit tulang ikan haruan dan hidroksiavikol memiliki kemampuan antimikroba. **Tujuan:** Menguji efektivitas anti-adhesi larutan kombinasi nano-hidroksiapatit tulang ikan haruan (*Channa striata*) 100mg/ml dan hidroksikavikol konsentrasi 0,125mg/ml, 0,25mg/ml, 0,5mg/ml, 1mg/ml terhadap *cross-kingdom Streptococcus mutans* dan *Candida albicans* pada enamel. **Metode:** *True experimental* dengan *post-test only with control group design* yang terdiri dari 7 kelompok perlakuan yaitu nHAp 100mg/ml dan kombinasi nHAp 100mg/ml dengan HC 0,125mg/ml, 0,25mg/ml, 0,5mg/ml, 1mg/ml, kontrol negatif DMSO 5%, dan kontrol positif sodium fluorida 0,05%. Setiap larutan akan diterapkan pada blok enamel dengan mikroba. Setiap kelompok perlakuan akan dibaca dengan *Colony Counter* untuk mengetahui jumlah koloni yang terbentuk setelah perlakuan. **Hasil:** Larutan kombinasi nano-hidroksiapatit 100mg/ml dan hidroksikavikol 0,125mg/ml, 0,25mg/ml, 0,5mg/ml, dan 1mg/ml memiliki efektivitas terhadap penghambatan adhesi *cross-kingdom Streptococcus mutans* dan *Candida albicans*.

Kata kunci: *Channa striata*, *cross-kingdom*, hidroksikavikol, nano-hidroksiapatit

ABSTRACT

ANTIADHESIVE EFFECTIVENESS OF NANO-HYDROXYAPATITE FROM SNAKE HEAD FISH BONE (*Channa Striata*) AND HYDROXYCHAVICOL COMBINATION ON CROSS-KINGDOM BIOFILM *Streptococcus mutans* AND *Candida albicans*

(Studi in Vitro with Hydroxychavicol 0,125mg/ml; 0,25mg/ml; 0,5mg/ml; 1mg/ml on Enamel Block)

Aura Amelia, Nurdiana Dewi, Maharani Laillyza Apriasari

Background: Dental and oral health is part of overall body health and cannot be separated from general body health. Indonesia Health Survey in 2023 reports that 84,8% children suffer from caries, known as Early Childhood Caries (ECC). These data indicate that efforts to prevent caries in children must be made. ECC is found caused by two microba interacting to made a biofilm, *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. One way to prevent ECC is to inhibit the adhesion of microbial agent to tooth surface. Nano-hydroxyapatite in haruan fish bone and hydroxychavicol is found as antimicrobial agent. Both materials contained active compound that could inhibit the adhesion of the cross-kingdom. **Objective:** To examine the antiadhesive activity of nano-hydroxyapatite in haruan fish bone (*Channa striata*) and hydroxichavicol combination solution with 0,125mg/ml, 0,25mg/ml, 0,5mg/m,; and 1mg/ml concentration on cross-kingdom *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* **Method:** Experimental study with a post-test only with control group design consisting 7 treatment groups namely nHAp 100mg/ml and 0,125mg/ml, 0,25mg/ml, 0,5mg/ml, 1mg/ml HC, negative control DMSO 5%, and positive control sodium flouride 0,05%. Each solution will be treated to enamel block with the microbe. Each treatment groups will be read by Colony Counter to know the total of colony formed after the treatment. **Results:** The combination of nHAp 100mg/ml and hydroxychavicol solution 0,125mg/ml, 0,25mg/ml, 0,5mg/ml, and 1mg/ml is effective in inhibit the colony to adhere on enamel block surface.

Keywords: *Channa striata*, cross-kingdom, hydroxychavicol, nano-hydroxyapatite

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“EFEKTIVITAS ANTI-ADHESI LARUTAN KOMBINASI NANO-HIDROKSIAPATIT TULANG IKAN HARUAN (*Channa striata*) DAN HIDROSIKAVIKOL TERHADAP BIOFILM *CROSS-KINGDOM Streptococcus mutans* DAN *Candida albicans* (Studi *in Vitro* dengan Konsentrasi Hidroksikavikol 0,125mg/ml; 0,25mg/ml; 0,5mg/ml; 1mg/ml pada Blok enamel)”**, tepat pada waktunya.

Skripsi ini disusun untuk memenuhi sebagian syarat guna memperoleh derajat Sarjana Kedokteran Gigi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Lambung Mangkurat. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dekan Fakultas Kedokteran Gigi, Prof. Dr. drg. Maharani Laillyza Apriasari, Sp. PM yang telah memberi kesempatan dan fasilitas dalam pelaksanaan penelitian.
2. Wakil Dekan Fakultas Kedokteran Gigi, yaitu drg. I Wayan Arya Krishnawan Firdaus, M.Kes., drg. Isnur Hatta, M.AP., dan drg. Deby Kania Tri Putri, M.Kes. yang telah memberi kesempatan dan fasilitas dalam pelaksanaan penelitian.
3. Koordinator Program Studi Kedokteran Gigi drg. Bayu Indra Sukmana, M.Kes yang telah memberi kesempatan dan fasilitas dalam pelaksanaan penelitian.
4. Kedua dosen pembimbing, drg. Nurdiana Dewi, M.DSc, Sp.KGA dan Prof. Dr. drg. Maharani Laillyza Apriasari, Sp.PM yang berkenan memberikan saran serta arahan dalam penyelesaian skripsi ini.
5. Kedua dosen penguji, drg. Sherli Diana, Sp.KG dan apt. Yusrinie Wasiaturrahmah, S.Farm., M.Farm. yang telah memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini menjadi semakin baik.
6. Seluruh staff pengajar di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Lambung Mangkurat yang telah mendidik, membantu dan memberikan masukan kepada penulis selama menjalani masa pendidikan dan menyelesaikan skripsi ini.

7. Seluruh karyawan dan laboran Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi ULM yang telah memberikan izin, fasilitas, ilmu, dan bantuan sehingga penelitian berjalan dengan lancar.
8. Kedua orang tua dan kakak serta adik-adik yang selalu memberikan perhatian dan dukungan penuh baik moril, materil, motivasi, harapan, dan doa sampai terselesaikannya skripsi ini.
9. Rekan-rekan seperjuangan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Lambung Mangkurat angkatan 2021 dan teman-teman dekat yang selalu kebersamai dan memberikan masukan serta semua pihak termasuk *role model* yang telah membantu proses penelitian serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas sumbangan pikiran dan bantuan yang telah diberikan.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, akan tetapi penulis berharap penelitian ini bermanfaat bagi dunia ilmu pengetahuan terutama di bidang Kedokteran Gigi.

Banjarmasin, ... Februari 2025

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PERSETUJUAN UJIAN USULAN PENELITIAN SKRIPSI....	ii
HALAMAN PENETAPAN PANITIA PENGUJI USULAN PENELITIAN SKRIPSI.....	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PERSETUJUAN UJIAN SKRIPSI.....	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PENETAPAN PANITIA PENGUJI SKRIPSI.....	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR SINGKATAN.....	xix
DAFTAR TABEL.....	xx
DAFTAR GAMBAR.....	xxi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xxii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	6
1.4.2 Manfaat Klinis.....	6
1.4.3 Manfaat bagi Masyarakat.....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 <i>Streptococcus mutans</i>	7
2.2 <i>Candida albicans</i>	8
2.3 Interaksi <i>Candida albicans</i> dan <i>Streptococcus mutans</i>	10
2.3.1. Interaksi Fisik.....	10
2.3.2. Interaksi Metabolik.....	12
2.4 <i>Early Childhood Caries</i>	14
2.5 Nano-hidroksiapatit.....	15
2.6 Hidroksikavikol.....	16

4.7.3 Pembuatan Larutan Kombinasi Nano-Hidroksiapatit Tulang Ikan Haruan dan Hidroksikavikol	30
4.7.4 Kultur dan Pembuatan Suspensi <i>Streptococcus mutans</i>	30
4.7.5 Kultur dan Pembuatan Suspensi <i>Candida albicans</i>	31
4.7.6 Kultur <i>Cross-kingdom Streptococcus mutans</i> dan <i>Candida albicans</i> ...	31
4.7.7 Persiapan Blok Enamel.....	31
4.7.8 Uji Efektivitas Anti-adhesi.....	32
4.8 Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data	33
4.9 Cara Pengolahan dan Analisis Data	33
4.10 Alur Penelitian.....	35
BAB 5 HASIL PENELITIAN	36
BAB 6 PEMBAHASAN	41
BAB 7 PENUTUP	47
DAFTAR PUSTAKA	49