

BAB II TINJAUAN PUSATAKA

2.1 Vitamin C

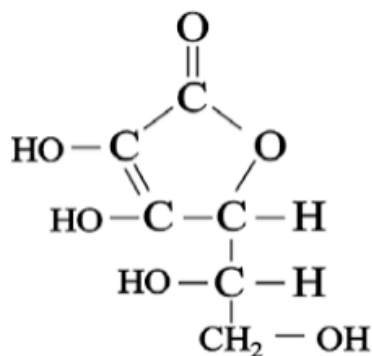
2.1.1 Definisi Vitamin C

Vitamin C (nama kimia: asam askorbat dan asam askorbat) adalah lakton 6 karbon yang disintesis dari glukosa oleh banyak hewan. Vitamin C disintesis di hati beberapa mamalia dan ginjal burung dan reptil. Namun, beberapa spesies tidak dapat mensintesis vitamin C, seperti manusia, primata non-manusia, kelinci percobaan, kelelawar buah India, dan umbi Nepal. Manusia dan primata tidak memiliki enzim akhir di jalur biosintesis asam askorbat, lphoronolactone oxidase ini karena kode gen enzim diperoleh secara signifikan. Protein tidak diproduksi dan bermutasi (Akhilender, 2003).

Vitamin C dan sifat Vitamin C adalah vitamin yang disintesis dari glukosa di hati semua spesies mamalia kecuali manusia. Manusia tidak dapat mensintesis vitamin C dalam tubuh mereka sendiri karena manusia tidak memiliki enzim chronolactidase, enzim penting untuk sintesis prekursor vitamin C, 2-keto-1-gronolactone (Padayatty, 2003). Dalam tubuh, vitamin C hadir dalam darah (terutama leukosit), di korteks ginjal, kulit dan tulang. Vitamin C diserap ke dalam saluran pencernaan melalui mekanisme transportasi aktif (Akhilender, 2003).

2.1.2 Sifat fisika kimia

Vitamin C adalah donor elektronik (mengurangi agen atau antioksidan), dan mungkin semua fungsi biokimia dan molekuler dapat dijelaskan oleh fungsi ini. Peran protektif potensial vitamin C sebagai antioksidan dijelaskan dalam laporan dalam bab ini tentang antioksidan. Vitamin C bertindak sebagai donor elektron untuk 11 enzim. Tiga enzim tersebut ditemukan pada jamur tetapi tidak pada manusia atau mamalia lainnya. Mereka terlibat dalam reutilisasi Jalur untuk pirimidin dan moiety deoksiribosa deoksirinukleosides. Dari 8 enzim manusia yang tersisa, tiga berpartisipasi dalam hidroksilasi kolagen dan dua di biosintesis karnitin dari tiga enzim yang berpartisipasi dalam kolagen hidroksilasi, satu diperlukan untuk biosintesis dari katekolamine norepinefrin. Satu diperlukan untuk amidasi hormon peptida, dan satu terlibat dalam tirosin metabolisme (FAO, 2018).



Gambar 2.1 Struktur Vitamin C

Bron: (FAO, 2018)

Vitamin C atau asam askorbat memiliki berat molekul 176,13 dengan berat molekul $C_6H_8O_6$. Pada pH yang lebih rendah, vitamin C lebih stabil daripada pH yang lebih tinggi. Vitamin C mudah teroksidasi, terutama di hadapan katalis untuk Fe, Cu, enzim oksidase asam askorbat, sinar cahaya dan suhu tinggi. Larutan pengenceran vitamin C pada pH di bawah 7,5 masih stabil tanpa katalis seperti yang dijelaskan di atas. Ketika vitamin C teroksidasi, asam dihidroaskorbat terbentuk. Vitamin C yang mengandung yodium membentuk ikatan dengan C normalatom 2 dan 3, sehingga ikatan rangkap hilang (FAO, 2018). Dalam bentuk kristal tidak berwarna, titik cair adalah $190-192\text{ }^\circ\text{C}$. Kelarutan dalam air sedikit larut dalam aseton atau alkohol berat molekul rendah. Vitamin C kurang larut dalam kloroform, eter dan benzena. Dengan garam pembentuk logam. Sifat asam ditentukan oleh ionisasi gugus fenolik dengan atom C-number 3 (FAO, 2018).

2.1.3 Stabilitas Larutan Vitamin C

Sifat dari larutan vitamin C mudah teroksidasi hal ini karena vitamin C mudah bereaksi dengan Oksigen (O_2) menjadi asam dehidroaskorbat. Menurut (Pracaya, 1999) kandungan vitamin C dapat berkurang hingga 50% dalam beberapa hari pada suhu ruangan yang tinggi sehingga makin lama waktu pemanasan maka semakin banyak vitamin C yang teroksidasi, kehilangan vitamin C pada sayuran dapat dicegah dengan menyimpan sayuran pada suhu yang rendah. Stabilitas vitamin C dapat meningkat dengan adanya penurunan suhu pada penyimpanan sampel akan tetapi penyimpanan pada suhu rendah hingga terjadi pembekuan akan

mengakibatkan kerusakan jaringan yang besar pada bahan sehingga stabilitas vitamin C akan mengalami penurunan. (Ashari, 1995) menyatakan bahwa kerusakan hasil panen akan terjadi pada saat suhu rendah (beku) hal ini karena dalam jaringan bahan akan terbentuk lapisan es akan tetapi disetiap bahan akan terjadi perbedaan stabilitas vitamin C yang berbeda-beda pada suhu beku. Kerusakan pada bahan terjadi akibat jaringan yang mudah terpengaruh oleh oksiden pada udara, sehingga memungkinkan vitamin C teroksidasi menjadi asam dehidroaskorbat.

2.1.4 Manfaat Vitamin C

Vitamin C merupakan salah satu nutrisi yang sangat penting bagi kesehatan tubuh. Tubuh makhluk hidup membutuhkan sekitar 20-30 mg vitamin C per harinya. Hal ini dikarenakan vitamin C bermanfaat untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan mencegah segala penyakit yang menyerang tubuh. Vitamin C adalah asam askorbat merupakan senyawa kimia yang larut dalam air. Sumber vitamin C sebagian besar tergolong dari sayur-sayuran dan buah-buahan yang segar (Cakrawati & Mustika, 2011). Sebagian besar komponen dalam tubuh kita berupa cairan karena itu asupan cairan yang sehat sangat penting bagi kelangsungan hidup yang sehat (Ambasari, 2012). Manfaat daun kelor dapat mengobati sakit mata, penyakit kuning (liver), rematik, pegallinu, sukar buang air kecil, alergi, cacangan dan luka bernanah. Tentunya hal ini tidak lepas dari peran daun kelor sebagai antioksidan dan antiperadangan pada sel (Utami & Puspaningtyas, 2013).

Beberapa manfaat vitamin C yang telah diketahui sampai saat ini, yaitu :

- a. Sebagai penguat sistem kekebalan tubuh. Vitamin C dapat meningkatkan daya tahan tubuh. Namun, ini masih kontroversial, dan tidak ada kesepakatan yang jelas tentang mekanisme (Almasier, 2009).
- b. Sebagai antioksidan, vitamin C adalah donor elektron dan agen pereduksi. Disebut antioksidan dengan menyumbangkan elektron, vitamin ini mencegah oksidasi senyawa lain (Almatsier, 2009). Setelah terbentuk, radikal ascorbine (elektron yang tidak berpasangan serta senyawa dengan asam dehidroaskorbat) dapat direduksi menjadi asam askorbat oleh enzim 4-hydroxyphenyl piglut dioxide.

Namun, dalam tubuh manusia, reduksi hanya terjadi sebagian, dan asam oksidaratbat tidak kembali sepenuhnya.

Vitamin C dapat dioksidasi oleh senyawa lain dengan kemungkinan penyakit. Jenis senyawa yang menerima elektron dan dikurangi dengan vitamin C dapat dibagi menjadi beberapa kelas, seperti:

- a. Senyawa yang mengandung elektron yang tidak berpasangan (radikal), seperti radikal oksigen (superoksida, radikal hidroksil, radikal peroksidase, radikal sulfur, radikal nitrogen-oksigen)
- b. Senyawa yang reaktif tetapi tidak radikal, seperti asam hipoklorit, nitrosamin, asam nitrat dan ozon.
- c. Senyawa ini terbentuk sebagai hasil dari reaksi senyawa kelas primer atau kedua dengan vitamin C.
- d. Reaksi transien yang dimediasi logam (misalnya besi atau remah-remah).
- c. Sebagai obat untuk common cold. Menurut Beck (2011) vitamin C megadosis dapat menyembuhkan common cold, akan tetapi hal ini juga dipengaruhi beberapa faktor, antara lain sistem imun penderita dan gejala yang timbul, serta derajat keparahan penderitanya. Penggunaan vitamin C dengan dosis 3-10 gram/hari, akan dapat mengurangi insidensi dari common cold.
- d. Sebagai obat peremajaan. Vitamin C juga dikenal sebagai pencegah penuaan. Menurut Almatsier (2009) Vitamin C, bila dikonsumsi secara teratur, dapat melindungi kulit dari gigitan oksidatif dan ultraviolet, yang merupakan penyebab kerusakan kulit. Proses vitamin C, yang mencegah penuaan, selalu sintesis kolagen di kulit.

2.2 Penetapan Kadar Vitamin C

2.2.1 Titrasi Iodimetri

Titration oksida adalah titration yang melibatkan proses oksidasi dan reduksi. Kedua proses tersebut selalu dilaksanakan secara bersamaan. Titration redoks biasanya menggunakan potentiometry untuk mendeteksi titik akhir. Untuk menentukan metode titration redoks vitamin C yang digunakan, titration langsung menggunakan Iodium dilakukan. Iodium akan mengoksidasi senyawa-senyawa yang mempunyai potensial reduksi yang lebih kecil dibanding iodium. Vitamin C mempunyai potensial reduksi yang lebih kecil daripada iodium sehingga

dapat dilakukan titrasi langsung dengan iodium. Pendeteksian titik akhir pada titrasi iodimetri ini adalah dilakukan dengan menggunakan indikator amilum yang akan memberikan warna biru pada saat tercapainya titik akhir (Gandjar, dkk., 2007)

Penelitian analisis kandungan vitamin C dalam daun kelor yang dilakukan oleh Oktaria, U (2017) menggunakan metode titrasi iodometri dengan melakukan pembuatan ekstrak daun kelor, sampel dihaluskan dan dilarutkan kedalam 50ml aquadest selanjutnya filtrat dipipet sebanyak 25ml dan dilarutkan kembali sebanyak 100ml dengan aquadest. Selanjutnya dilakukan titrasi dengan menambahkan H_2SO_4 10% kedalam filtrat dan diteteskan dengan indikator amilum. Selanjutnya dilakukan titrasi menggunakan iodium hingga larutan berwarna biru, titrasi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

2.2.2 Spektrofotometri Uv-Vis

Sesuai dengan namanya spektrofotometri sinar tampak adalah sebuah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spectrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi. Spektrofotometer digunakan untuk mengukur energy relatif jika energy tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi panjang gelombang. Kelebihan spektrofotometer dengan fotometer adalah panjang gelombang dari sinar putih dapat lebih di deteksi dan cara ini diperoleh dengan alat pengurai seperti prisma, grating atau celah optis. Pada fotometer filter dari berbagai warna yang mempunyai spesifikasi melewati trayek pada panjang gelombang tertentu (Gandjar, 2007).

Spektrofotometri dapat mengukur energi cahaya oleh suatu sistem kimia dalam panjang gelombang tertentu. Pada Sinar ultraviolet (UV) terdapat panjang gelombang antara 200-400nm dan sinar tampak (visible) yang mempunyai panjang gelombang antara 400-700nm. Spektrofotometri merupakan sebuah metode analisis dengan sasaran pada absorb elektromagnet dimana hanya terjadi bila terdapat perpindahan elektron dari tingkat energi rendah ke energi tinggi. Menurut (Rohman, 2017) dimana penyerapan sinar Uv dan tampak umumnya dihasilkan oleh eksitasi elektron-elektron ikatan.

Spektrofotometri dianggap sebagai perluasan suatu pemeriksaan visual, yang lebih mendalam dimana dari absorpsi energi radiasi dengan macam-macam zat kimia dapat dilakukan pengukuran cirri serta kadar secara kuantitatif dengan ketelitian yang lebih besar (R.A.Day.IR/A.I. Underwood, 1993).

Penelitian penentuan kadar vitamin C menggunakan spektrofotometri UV-Vis dilakukan oleh (Wahab dkk., 2016), penentuan kadar asam askorbat pada daun kelor menggunakan spektrofotometri Uv-Vis dengan melakukan ekstraksi pada sampel daun kelor yang sudah dibersihkan dan dihaluskan dengan menambahkan larutan $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 0,01N dan dilakukan sentrifugasi pada 200rpm selama 10 menit kemudian didekantasi, pengulangan sentrifugasi dilakukan hingga residu tidak berwarna kemudian filtrat diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri Uv-Vis.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Khadijah,. dkk (2020) penentuan kadar vitamin C pada daun kelor dilakukan menggunakan metode Spektrofotometri Uv-Vis dimana sampel daun kelor yang sudah dibersihkan dan dihaluskan di ekstraksi menggunakan 4ml larutan $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 0,01N, selanjutnya dilakukan sentrifugasi dan didekantasi hingga residu tidak berwarna selanjutnya dilakukan penetapan kadar vitamin C menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis. Penelitian kadar vitamin C pada daun kelor juga dilakukan oleh Rahmawati,.dkk (2016) dimana sampel daun kelor yang sudah dibersihkan dan dihaluskan dilakukan ekstraksi menggunakan metode maserasi menggunakan etanol 96% sehingga diperoleh ekstrak kental daun kelor dan dilakukan pengukuran kadar dengan melarutkan ekstrak kental dengan larutan etanol 96% kemudian larutan ditambahkan dengan H_2SO_4 5% kemudian ditanda bataskan dengan ammonium moblidat 5%, dan dilakukan inkubasi selama 30 menit. Selanjutnya larutan uji yang diperoleh dilakukan penetapan kadar vitamin C menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis.

2.2.3 Hukum Lambert Beer

Hukum Lambert-Beer adalah rumus yang mendeskripsikan melemahnya intensitas pencahayaan saat melalui suatu medium dengan substansi. Hukum ini menyatakan terdapat hubungan linear antara absorbansi dengan konsentrasi larutan sampel. Dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu maka konsentrasi dari sampel di dalam larutan dapat ditentukan.

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Keterangan

Dimana : A = absorban

ϵ = absorbtivitas molar (L/mol cm)

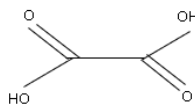
b = lebar kuvet (cm)

c = konsentrasi larutan (mol/cm)

Dimana saat senyawa kimia menyerap ultraviolet atau visible , akan terjadi proses absorbansi. Hukum Lambert-Beer merupakan dasar aspek kuantitatif spektrofotometri dimana dapat dihitung konsnetrasi berdasarkan rumus Absorbktivitas (ϵ) merupakan konstanta yang tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel. (Day and Underwood, 1986)

2.3 Asam Oksalat

Asam oksalat ($H_2C_2O_4$) merupakan senyawa kimia yang dikenal dengan nama sistematis ethanedioic acid. Asam oksalat merupakan asam dikarboksilat yang paling sederhana dengan rumus $HOOC-COOH$ dan merupakan asam organik dengan 10.000 kali lebih kuat dari asam asetat. Asam oksalat banyak di temukan di dalam tanaman (Atikah, 2017). Asam oksalat memiliki karakteristik hygroskopis, berwarna putih dan tidak memiliki bau dengan struktur kristal anhidrous, dan berbentuk piramida rombik. Asam oksalat terdiri dari 2 jenis yaitu asam oksalat anhidrat dan asam oksalat dehidrat.



1.1 Gambar Struktur Asam Oksalat (Sunarti, 2016).

Asam oksalat memiliki sifat khas dimana asam oksalat larut pada air dingin maupun air panas, larut pada alkohol, berbentuk kristal dengan mengikat dua molekul air dan air akan menguap pada suhu diatas 100°C, garam alkali oksalat larut dalam air namun tidak pada kalsium oksalat, serta mudah dioksidasi oleh kalium permanganat tempertur 60-70°C. (Coniwati.,dkk, 2008).

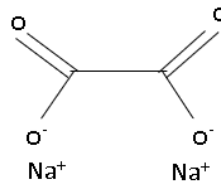
Tabel 2.1 Sifat fisika dan kimia Asam Oksalat (Oghome.,dkk, 2012)

Asam oksalat dihidrat	
Sifat fisika dan kimia	Nilai
Titik lebur	101.5 °C
Densitas	1.653 g/ml
Indeks bias	1.475
Kelarutan dalam air	-35.5 KJ/mol

Asam oksalat anhidrat	
Sifat fisika dan kimia	Nilai
Titik lebur	187.0 °C
Panas pembakaran	60.1 kkal
Panas pembentukan	195.36(pada suhu 18°C)
Kelarutan dalam air	-9.58 KJ/mol
Konstanta ionisasi, KI	6.5×10^{-2}
Koefisien ekspansi	1.784×10^{-2}

2.4 Natrium Oksalat

Natrium oksalat memiliki rumus molekul ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) merupakan garam asam oksalat. Natrium oksalat merupakan pereduksi serta dapat digunakan sebagai standar primer dalam satndarisasi KmnO_4 . Natrium oksalat berbentuk kristal, padatan pth, tidak memiliku bau dan dapat terurai pada suhu diatas 290°C.



1.2 Gambar struktur Natrium Oksalat

(<https://chem.nlm.nih.gov/>)

2.2 Tabel Sifat fisika dan kimia natrium oksalat (Shiota T., dkk, 1978).

Natrium Oksalat	
Sifat fisika dan kimia	Nilai
Titik lebur	260 °C (500 °F; 533 K) terurai di atas suhu 290 °C
Densitas	2.34 g cm ⁻³
Kelarutan	2.69 g/100 mL (0 °C) 3.7 g/100 mL (20 °C) 6.25 g/100 mL (100 °C)
Kelarutan dalam air	-35.5 KJ/mol

2.5 Kelor (*Moringa oleifera lamk*)

2.5.1 Toksonomi

Kingdom : Plantae (tumbuhan)
 Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
 Kelas : Dicotyledone (berkeping dua dikotil)
 Sub Kelas : Dilleniidae
 Ordo : Capparales
 Famili : Moringaceae
 Genus : *Moringa*
 Spesies : *Moringa Oleifera Lamk*

(Paikra et al., 2017)

2.5.2 Daun Kelor

Daun kelor (*Moringa leifera*) merupakan daun bertangkai memiliki bentuk daun bulat dengan lebar daun 1 - 2cm, panjang daun 1 - 2cm, memiliki pangkal daunnya tidak bertoreh, tipis, ujung dan pangkal membulat (rotundatus) dengan susunan tulang daun kelor yang menyirip 8 (penninervis) dengan satu ibu tulang

dari pangkal ke ujung. (Krisnandi, 2015). Daun kelor adalah tanaman herbal multiguna memiliki banyak nutrisi dan berkhasiat sebagai obat yang banyak tersebar khususnya di daerah tropis, tanaman yang memiliki banyak senyawa aktif dan kandungan antioksidan pada daunnya. Kandungan fitokimia yang terdapat dalam kelor adalah flavonoid, tanin, saponin, polifenol, antocyanin dan alkaloid. Daun kelor memiliki kandungan antinutrien yang tergolong rendah sehingga tidak menimbulkan resiko bagi manusia dan hewan (Dhakad et al., 2019).



2.4 Gambar Daun Kelor

Sumber : gizigo.id/sayur-daun-kelor/

Daun kelor memiliki kandungan fenol yang cukup tinggi. Fenol berfungsi sebagai penangkal senyawa radikal bebas. Daun kelor mengandung vitamin C setara dengan 7 buah jeruk, vitamin A setara dengan 4 buah wortel, protein setara dengan 2 yoghurt, kalium setara dengan 3 buah pisang, dan kalsium setara dengan 4 gelas susu (Aminah, Ramdhan dan Yanis, 2015). Kandungan vitamin C, vitamin A, protein, kalium dan kalsium dalam jumlah sangat tinggi yang mudah dicerna oleh tubuh manusia. Kandungan zat besi daun kelor kering ataupun dalam bentuk serbuk/tepung setara dengan 25 kali lebih tinggi dari bayam sehingga dapat dijadikan alternatif dalam penanggulangan anemia penelitian yang dilakukan pada ibu hamil secara alami dengan adanya peningkatan kadar Hb sebelum dan setelah konsumsi ekstrak daun kelor (Rahmawati Mutia, 2017).

2.5.3 Kandungan Nutrien Daun Kelor Segar Dan Daun Kelor Kering

Tabel 2.3 Kandungan nutrien daun kelor segar dan daun kelor kering

Nutrien	Daun segar	Daun kering
Makronutrien		
Kadar air (%)	75,0	7,5
Protein (g)	92	205
Lemak (g)	1,7	2,3
Karbohidrat (g)	13,4	38,2
Serat (g)	0,9	19,2
Kalsium (mg)	350-550	1600-2200
Fosfor (mg)	70	204
Kalium (mg)	259	1324
Zat besi (mg)	7,0	28,2
Mikronutrien (mg)		
Vitamin A	6,8	16,3
Vitamin B	423	-
Vitamin B1	0,21	2,64
Vitamin B2	0,05	20,5
Vitamin B3	1,08	8,2
Vitamin C	220	17,3

(Rani, K.C dkk., 2019).

2.6 Penelitian Analisis Vitamin C Pada Daun Kelor

2.4 Tabel Penelitian Analisis Vitamin C Pada Daun Kelor

No.	Nama Peneliti	Judul Penelitian	Hasil
1.	Oktaria, U (2017)	Analisis Kandungan Vitamin C Dalam Daun Kelor.	Kandungan vitamin C rata-rata pada daun kelor sebesar 3,99 mg/gram.
2.	Wahab,. dkk (2016)	Analisis Kadar Asam Askorbat Dalam Ekstrak Daun Kelor (<i>Moringa oleifera lam</i>) Dari Daerah Pesisir Dan Pegunungan Serta Potensinya Sebagai Antioksidan	Kadar daun kelor muda pesisir adalah 9,901g/mL, daun kelor tua pesisir adalah 26,109g/mL, daun kelor muda pegunungan adalah 6,583g/mL, dan daun kelor tua pegunungan adalah 7,891g/mL
3.	Khadijah,. dkk (2020)	Analisis Kandungan Vitamin C Ekstrak Daun Kelor (<i>Moringa eleifera lam</i>) Pada Ketinggian Berbeda di Kota Baubau	Kadar vitamin C daun kelor didaerah tinggi sebesar 296,40 ppm, pada ketinggian menengah sebesar 267,12 ppm dan pada ketinggian sebesar 413,71 ppm.

4.	Rahmawati,.dkk (2016)	Analisis Kandungan Vitamin C dan β -Karoten Dalam daun Kelor (Moringa oleifera Lem.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis.	Kadar vitamin C pada daun kelor sebesar 7,96 mg/gram.
5.	Saputri A.A.T.,dkk (2022)	Perbandingan Kadar Vitamin C Pada Daun Kelor (Moringa Oleifera) Yang Tumbuh Di Dataran Rendah, Dataran Menengah Dan dataran Tinggi	Kadar vitamin C pada dataran tinggi 0,3252%, dataran menengah 0,1951% dan pada dataran rendah 0,0975%.
6.	Cahyati R.D.,dkk (2016)	Analisis Kadar Asam Askorbat Dalam ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera Lam) Dari Daerah Pesisir Dan Pegunungan serta Potensinya Sebagai Antioksidan	Kadar vitamin C pada daun kelor muda pesisir sebesar 361,71 mg/l, pada daunkelor tua pesisir 363,49 mg/l dan daun muda pegunungan 308,66 mg/l.

7.	Asghari.G,.dkk (2015)	Quantitative Analysis of The Nutritional Components in Leaves And Seeds of The Persian <i>Moringa peregrina</i> (Forssk.) Fiori	Kadar vitamin C pada daun kelor segar 204 mg/100g dan daun kelor kering sebesar 83mg/100g.
8.	Sankhyan.N,.dkk (2013)	Determination And Comparision Of Vitamin C Content From <i>Moringa Oleifera</i> By Different Methods	Kadar vitamin C daun kelor segar sebesar 0,82 mg/g.