

Care: Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan Vol 10, No. 3, 2022, hal 460-468

Tersedia online di <https://jurnal.unitri.ac.id/index.php/care>

ISSN 2527-8487 (online)

## **Potensi Pemanfaatan Jagung, Kacang Hijau dan Ubi Cilembu Sebagai Media**

### **Kultur Bakteri *Escherichia Coli***

Venny Patricia<sup>1</sup>, Hamtini<sup>2</sup>, Ahmad Yani<sup>3</sup>, Amalia Choirunnisa<sup>4</sup>, Ermala<sup>5</sup>, Indriani<sup>6</sup>

<sup>1,2,3,4,5,6</sup>Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Banten

e-mail : venny.tlmpolkesten@gmail.com

### ***ABSTRACT***

*Nutrient Agar is the dominant medium commonly used for microbiological culture examination. The price of this media is relatively expensive, thus encouraging researchers to find an alternative. Natural ingredients that can be used as growth media are corn, mung beans, and Cilembu sweet potato. This study aims to determine the potential of the three natural ingredients as a culture medium for the optimal growth of bacteria. The experiment with a Completely Randomized Design (CRD) was used. Bacterial samples tested on each alternative culture medium were Escherichia coli bacteria with five treatments and three replications by counting bacterial colonies that grew using the TPC (Total Plate Count) method. The results showed that the most grown colonies were  $162 \times 10^5$  CFU/ml (4.54%) in mung bean media, while in the corn media, it grew as much as  $63 \times 10^5$  CFU/ml (7.5%). The grown colonies on medium Cilembu were as much as  $46 \times 10^5$  CFU/ml (30%). The colony size that grew larger was on Cilembu media. It can be concluded that corn, mung beans, and Cilembu can be used as alternative growth media for Escherichia Coli. Further study may test the three ingredients with gram-positive bacteria and change the composition of the formula regarding the variety of colonies size.*

*Keywords:* *alternative media, Cilembu sweet potato, corn, Escherichia coli, mungbeans*

### ***ABSTRAK***

*Nutrient Agar merupakan media dominan yang umum digunakan untuk pemeriksaan kultur mikrobiologi. Harga media tersebut relatif mahal sehingga mendorong peneliti untuk menemukan media kultur alternatif. Bahan alam yang dapat dijadikan media pertumbuhan yaitu jagung, kacang hijau dan ubi cilembu. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ketiga bahan alam tersebut sebagai media kultur pertumbuhan bakteri yang tumbuh secara optimal. Metode penelitian yaitu eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sampel bakteri yang diuji pada setiap media kultur alternatif ialah bakteri *Escherichia coli* dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan dengan menghitung koloni bakteri yang tumbuh menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*). Hasil penelitian menunjukkan jumlah koloni kacang hijau yang paling banyak tumbuh sebesar  $162 \times 10^5$  CFU/ml pada konsentrasi 4,54%, pada media jagung tumbuh sebanyak  $63 \times 10^5$  CFU/ml pada konsentrasi 7,5% dan pada media ubi Cilembu sebanyak  $46 \times 10^5$  CFU/ml pada konsentrasi 30%. Ukuran koloni yang tumbuh lebih besar yaitu pada media ubi cilembu. Berdasarkan hasil penelitian media alternatif jagung, kacang hijau dan ubi Cilembu bisa dijadikan sebagai media pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Pertumbuhan terbaik yaitu pada media kacang hijau dengan konsentrasi 4,54%. Bagi peneliti selanjutnya dapat menguji ketiga bahan tersebut dengan bakteri gram positif dan merubah komposisi formula karena ukuran koloni yang dihasilkan masih bervariasi.*

*Kata kunci:* *media alternatif, jagung, kacang hijau, umbi cilembu, *Eschericia coli**

Cara mengutip: Patricia, V., Hamtini, Yani A., Choirunnisa , A., Ermala, Indriani (2022). Potensi Pemanfaatan Jagung, Kacang Hijau dan Ubi Cilembu Sebagai Media Kultur Bakteri *Escherichia Coli*. Care: Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan Vol 10, No 3, 2022, hal 460-468. Retrieved from <https://jurnal.unitri.ac.id/index.php/care/2677>.

## PENDAHULUAN

Ilmu yang mempelajari organisme jasad renik yang berukuran sangat kecil yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang merupakan bagian dari bidang mikrobiologi. Organisme jasad renik tersebut disebut mikroorganisme. Mikroorganisme untuk berkembang biak membutuhkan nutrisi yang optimal. Laboratorium mikrobiologi merupakan fasilitas yang dapat menumbuhkan mikroorganisme dapat pada sebuah media pertumbuhan bakteri (Putri *et al*, 2017). Media merupakan wahana pertumbuhan yang mengandung nutrisi yang diperlukan oleh mikroorganisme sebagai makanannya. Nutrisi yang diperlukan bakteri untuk pertumbuhannya mencakup karbon, nitrogen serta unsur non logam seperti sulfur serta fosfor, unsur logam yaitu Ca, Zn, Na, K, Cu, Mn, Mg, serta Fe, vitamin, air dan energi (Cappuccino dan Sherman, 2017).

Media yang seringkali dipergunakan untuk penunjang diagnostic kultur mikrobiologi ialah *Nutrient Agar* menjadi media universal yang mengandung komposisi krusial yaitu karbohidrat serta protein yang terdapat di ekstrak daging serta pepton sesuai kebutuhan sebagian besar bakteri. Tingginya harga media *Nutrient Agar* berkisar nominal nya yaitu ±Rp. 1.500.000

untuk setiap 500g serta melimpahnya kekayaan alam serta pemanfaatan limbah yang bisa dipergunakan menjadi media pertumbuhan mikroorganisme memacu peneliti untuk dapat menemukan media kultur alternatif berasal dari bahan-bahan yang praktis didapat dan tidak memerlukan biaya yang tinggi (Juariah, 2018). Bahan alam sebagai media alternatif juga dapat memelihara pertumbuhan bakteri, dimana terdapat beberapa penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya sebagai sarana membuat media kultur alternatif dari bahan alam yaitu, (Ariyanti dan Rahayu, 2016) memanfaatkan singkong, (Danelia *et al*, 2019) memanfaatkan kacang kedelai, dan (Rizki dan Syahnita, 2019) memanfaatan bengkuang dan tauge.

Jagung per 100 mg memiliki kandungan air 75,96 g, sumber energi 360 kkal, protein 3,27g, lemak 1,35g, karbohidrat 18,7g, kalium 270mg, besi (Fe) 0,52mg, fosfor 89mg, Magnesium (Mg) 37mg (USDA, 2018). Kacang hijau per 100g mempunyai kandungan kalsium 30mg, thiamine 0,1mg, riboflavin 0,1mg, niacin 0,61mg, vitamin C 2,4mg, karbohidrat 62,9g, protein 22g, dan lemak 1,20g (Thohari, dkk, 2019). Ubi Cilembu per 100g bahan mempunyai

kandungan sumber energi 86 Kcal, karbohidrat 20,1g, lemak 0,1g, protein 1,6g, vitamin B-1 (*thiamine*) 0,1mg, vitamin B-2 (*riboflavin*) 0,1mg, vitamin B-3 (*niacin*) 0,61mg, vitamin C 2,4mg, kalsium 30mg, magnesium 25mg, fosfor 47mg, kalium 337mg, sodium 55mg serta seng 0,3mg (Sari, 2019). Banyaknya kandungan protein serta karbohidrat yang relatif tinggi menunjukkan bahwa jagung, kacang hijau dan ubi Cilembu bisa dijadikan media kultur alternatif pengganti *Nutrient Agar* sehingga mampu membantu mengurangi pada segi biaya dan bisa memelihara pertumbuhan bakteri.

## METODE

Desain penelitian ini merupakan penelitian eksperimen atau percobaan (*experimental research*) laboratorik memakai Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sampel uji yang dipergunakan bakteri *E.coli* maka diperoleh 5 perlakuan dan 3 ulangan dimasing-masing bahan alam yang dipergunakan. Perhitungan pertumbuhan bakteri menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC), pengamatan pertumbuhan dari masing-masing bahan dan perlakuan dilakukan selama 3 minggu. Formula masing-masing bahan ada perbedaan dikarenakan mengikuti acuan penelitian dari sebelumnya, selain itu walaupun jenis

bahan mempunyai kandungan glukosa yang sama tinggi namun memiliki karakteristik bahan yang berbeda pada saat pengolahannya untuk menjadi media alternatif. Penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Diploma III Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Banten pada bulan Februari – Maret 2021.

## HASIL

Hasil data dalam penelitian ini disajikan dalam bentuk data naratif yang ditampilkan dalam bentuk teks, tabel serta gambar.

Tabel 1. Formula Media Jagung

Bahan	Formula Media		
	Formula I (5%)	Formula II (7,5%)	Formula III (10%)
Bubuk jagung halus	5g	7,5g	10g
Susu bubuk	8g	8g	8g
NaCl	5g	5g	5g
Agar	10g	7,5g	5g
Aquades	1000ml	1000ml	1000ml

Tabel 2. Formula Media Kacang Hijau

Bahan	Formula		
	Formula I	Formula II	Formula III
Tepung kacang hijau	2,27g	4,54g	6,81g
Aquades	200mL	200mL	200mL
Agar	1,5g	1,5g	1,5g
NaCl	0,5g	0,5g	0,5g

Tabel 3. Formula Media Umbi Jalar Cilembu

Bahan	Formula		
	Formula I	Formula II	Formula III
Perasan Umbi Cilembu	60mL	30mL	15mL
Gula	2 g	2 g	2 g
Agar quadest	3 g	3 g	3 g
	200mL	200mL	200mL

Tabel 4. Pertumbuhan Koloni *Escherichia coli* pada Media Kultur Jagung

Pengulangan Sampel	Jumlah Koloni CFU/ml Media Jagung ( $10^{-5}$ )			Kontrol Positif	Kontrol Negatif
	5%	7,5%	10%	NA ( $10^{-5}$ )	
1	53	67	22	154	0
2	82	68	28	219	0
3	48	56	26	153	0
Rata-rata Jumlah Koloni	61	63	25	175	0

Tabel 5. Pertumbuhan Koloni *Escherichia coli* pada Media Kultur Kacang Hijau

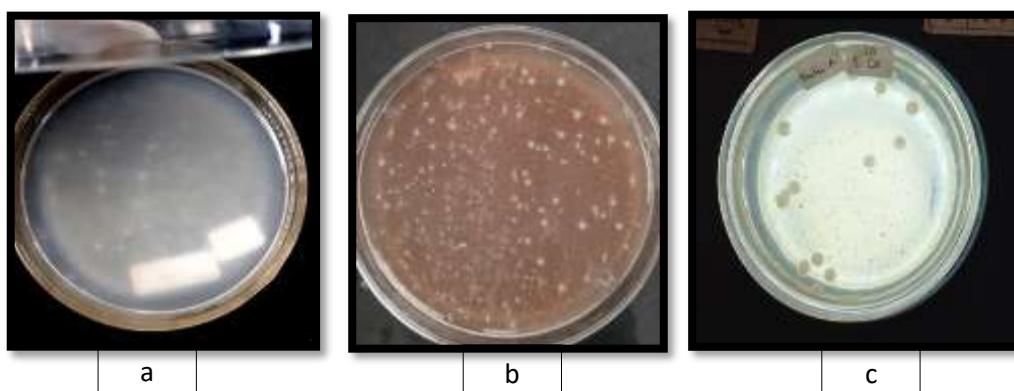
Pengulangan Sampel	Jumlah Koloni CFU/ml Media Kacang Hijau ( $10^{-5}$ )			Kontrol Positif	Kontrol Negatif
	2,27%	4,54%	6,81%	NA ( $10^{-5}$ )	
1	168	157	107	157	0
2	178	185	165	219	0
3	132	144	51	153	0
Rata-rata Jumlah Koloni	160	162	108	177	0

Tabel 6. Pertumbuhan Koloni *Escherichia coli* pada Media Kultur Ubi Cilembu

Pengulangan Sampel	Jumlah Koloni CFU/ml Media Ubi Cilembu ( $10^{-5}$ )			Kontrol Positif	Kontrol Negatif
	60%	30%	15%	NA ( $10^{-5}$ )	
1	15	71	11	154	0
2	17	35	14	219	0
3	20	30	9	153	0
Rata-rata Jumlah Koloni	18	46	12	175	0

Berdasarkan Tabel 4. Jumlah koloni *Escherichia coli* pada media jagung, jumlah koloni terbanyak terdapat di konsentrasi 7,5% dengan jumlah  $63 \times 10^5$  CFU/ml. Sedangkan Tabel 5 Jumlah koloni *Escherichia coli* pada media kacang hijau, jumlah koloni

terbanyak terdapat di konsentrasi 4,54% dengan jumlah  $162 \times 10^5$  CFU/ml dan Tabel 6. Pertumbuhan koloni *Escherichia coli* di media ubi Cilembu, pertumbuhan koloni terbanyak terdapat di konsentrasi 30% dengan jumlah  $46 \times 10^5$  CFU/ml.



Gambar 1. Pertumbuhan Koloni *Escherichia coli* pada Media Kultur  
Keterangan: a (Jagung), b (Kacang hijau) dan c (Ubi Cilembu )

Berdasarkan Gambar 1. Jumlah dan morfologi pertumbuhan koloni *E.coli* di media jagung, kecil sulit diamati serta warna media yang keruh dengan karakteristik koloni media jagung yaitu bulat (*circular*), elevasi rata (*flat*), tepi penuh (*entire*), warna putih susu dan koloni yang terbentuk terlihat kecil dan sulit diamati. Karakteristik koloni media kacang hijau yaitu bulat (*circular*), elevasi (*convex*), tepi penuh (*entire*), warna putih dan koloni kecil (*small*) mudah diamati. Karakteristik koloni media Ubi Cilembu yaitu bulat (*circular*), elevasi rata (*flat*), tepi penuh (*entire*), warna putih dan koloni besar (*moderate*) mudah diamati.

## PEMBAHASAN

Berdasarkan pengamatan secara visual jumlah pertumbuhan koloni *E.coli* yang tumbuh di media jagung, kacang hijau dan ubi Cilembu, jumlah koloni pada media kacang hijau menunjukkan jumlah koloni paling tinggi yaitu pada konsentrasi 4,54% sebanyak  $162 \times 10^5$  CFU/ml karena nutrisi yang dibutuhkan bakteri cukup dan mempercepat laju pertumbuhan bakteri. Apabila kandungan nutrisi yang relatif terpenuhi, proses metabolisme bakteri akan berlangsung optimal sebagai akibatnya proses pembelahan sel berjalan baik. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Mily Zamillah, Undang Ruhimat, dan Doni Setiawan (2020), menyatakan

bahwa kacang tanah bisa digunakan sebagai media alternatif dengan pertumbuhan sebanyak 43 CFU pada bakteri *E.coli*, potensi serupa juga pada kacang hijau dapat dijadikan media pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Kacang hijau memiliki kandungan yakni kalsium 30mg, thiamine 0,1mg, riboflavin 0,1mg, niacin 0,6 mg, serta vitamin C 2,4mg. Selain itu, kacang hijau juga mengandung karbohidrat sebanyak 62,9g, protein 22g, serta lemak 1,20g dalam 100 gramnya (Thohari, dkk, 2019). Jagung per 100mg memiliki kandungan air 75,96g, sumber energi 360kkal, protein 3,27g, lemak 1,35g, karbohidrat 18,7g, kalium 270mg, besi (Fe) 0,52mg, fosfor 89mg, Magnesium (Mg) 37mg (USDA, 2018). Ubi Cilembu per 100mg memiliki kandungan kalsium, vitamin B-1, karbohidrat 20,1g, protein 1,6g serta lemak 0,1 g. Dari kandungan nutrisi ketiga media tersebut bahwa kacang hijau memiliki nutrisi yang lebih besar dibanding jagung dan Ubi Cilembu . Sejalan pada penelitian Nuryati (2017) yang menyatakan bahwa kacang hijau memiliki kandungan karbohidrat serta protein yang memiliki potensi sebagai media pertumbuhan bakteri.

Media jagung masih mempunyai nutrisi yang lebih kompleks sehingga pertumbuhannya tidak optimal. Media jagung memerlukan waktu inkubasi yang lebih panjang untuk dapat melihat pertumbuhan koloni dengan jelas. Hal tersebut bisa dikarenakan oleh kandungan nutrisi pada media jagung. Pada media jagung, pertumbuhan koloni nya kecil dan warna medianya keruh putih susu sehingga pada pengamatannya memerlukan ketelitian yang lebih sebab koloni sulit diamati. Warna media keruh putih susu dapat mengakibatkan perubahan warna koloni bakteri sebagai akibatnya koloninya pun menjadi warna putih susu.

Pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada media ubi Cilembu, koloni yang terbentuk terlihat lebih besar dan mudah diamati. Hal tersebut dapat dikarenakan oleh kandungan nutrisi pada media dari umbi cilembu. Dengan kandungan nutrisi yang melimpah, proses metabolisme bakteri akan berlangsung optimal sehingga proses pembelahan sel berjalan baik yang dapat menyebabkan ukuran koloni semakin besar. Berdasarkan penelitian Anisah (2015) media pertumbuhan bakteri dengan bahan umbi ganyong, umbi Garut, dan umbi gembili menghasilkan koloni bakteri yang besar dan hampir menyerupai koloni bakteri yang tumbuh pada media nutrient agar. Sedangkan dari segi jumlah koloni Ubi Cilembu tumbuh sedikit dibanding media

jagung dan kacang hijau. Hal ini dikarenakan pertumbuhan bakteri di media umbi mempunyai kadar serat yang lebih banyak yang terkandung dalam ubi Cilembu. Ubi yang memiliki kadar serat lebih banyak akan sulit bila diekstrak (Koswara, 2010). Banyaknya serat akan berpengaruh untuk keluarnya nutrisi yang terkandung dalam ubi sehingga nutrisi di media juga akan berkurang. Jadi, semakin banyak serat yang terkandung berakibat pada semakin sedikit nutrisi yang keluar dari dalam ubi. Ubi Cilembu yang digunakan adalah perasan, pertumbuhan bakteri juga dipengaruhi oleh masa penyimpanan umbi sebelum digunakan sebagai media pertumbuhan bakteri. Penyimpanan umbi dengan suhu dingin pada suhu 7-10 °C dengan masa simpan 6-9 hari (Asgar, 2014).

Faktor penyebab pertumbuhan sesudah ditinjau dari populasi dan ukuran koloni bakteri *Escherichia coli* ialah kadar nutrisi yang berbeda pada masing-masing media (*jagung, kacang hijau dan ubi cilembu*). Pada media kacang hijau karbohidrat dan protein lebih tinggi dibanding jagung dan umbi cilembu, sehingga nutrisi yang diharapkan *Escherichia coli* tercukupi. Terdapat beberapa Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan koloni diantara nya faktor fisik yaitui: suhu, pH, tekanan osmotik dan cahaya. Sedangkan faktor kimia mencakup: karbon, oksigen

serta faktor pertumbuhan organik lainnya (Wulandari *et al*, 2019).

Media *Nutrient Agar* standar yang dijadikan kontrol, jumlah koloni *Escherichia coli* yang tumbuh lebih banyak dibandingkan dengan ketiga media kultur alternatif. Hal itu ditimbulkan oleh komposisi nutrisi media *Nutrient Agar* telah disesuaikan dengan karakteristik metabolisme bakteri sehingga nutrisi pada *Nutrient Agar* lebih cepat dan mudah diolah untuk aktivitas metabolisme bakteri yang menyebabkan bakteri tumbuh optimal didalamnya. Apabila syarat nutrisi cukup optimal, maka waktu yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri relatif cepat, sebaliknya jika nutrisi yang dibutuhkan tidak melimpah, sel-sel akan menyesuaikan dengan lingkungan serta pembentukan enzim-enzim untuk menguraikan substrat juga membutuhkan waktu yang lebih lama (Madigan *et al*, 2011).

## KESIMPULAN

Media kultur alternatif jagung (*Zea mays*), kacang hijau (*Vigna radiata L*) dan Ubi Cilembu (*Ipomoea batatas (L.) Lam*) bisa dipergunakan menjadi media pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Pertumbuhan jumlah koloni *Escherichia coli* di media kacang hijau lebih banyak

dibandingkan pada pertumbuhan jagung dan umbi cilembu.

Ada perbedaan nyata ukuran koloni dari ketiga media kultur alternatif ini dimana media Ubi Cilembu koloninya lebih besar dibanding media jagung dan kacang hijau.

### **UCAPAN TERIMAKASIH**

Terima kasih kepada seluruh pihak yang sudah membantu terlaksananya penelitian ini, terutama Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Banten serta kepada pihak yang membantu pelaksanaan sampai penelitian ini terpublikasi.

### **DAFTAR PUSTAKA**

- Anisah. 2015. Media Alternatif Untuk Pertumbuhan Bakteri Menggunakan Sumber Karbohidrat yang Berbeda. *Artikel publikasi ilmiah*. Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Ariyanti, W. 2016. Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus Subtilis* Pada Media Singkong, Ubi Jalar Putih, Dan Ubi Jalar Kuning Sebagai Substitusi Media NA. *Skripsi*. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Asgar, A., dan Rahayu, S.T. 2014. "Pengaruh Suhu Penyimpanan dan Waktu Pengkondisionan untuk Mempertahankan Kualitas Kentang Kultivar Margahayu". Balai Penelitian Tanaman Sayuran Berita Biologi, 13 (3).
- Cappuccino, J.G., dan Sherman, N. 2017. *Manual Laboratorium Mikrobiologi*; alih bahasa, Nur Miftahurrahmah. EGC. Jakarta.
- Danelia, S., Gede, L.S., dan Ariami, P. 2019. Kacang Kedelai Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa*. *Jurnal Analis Medika Bio Sains*.6(1).
- Juariah, S. 2018. Pemanfaatan Limbah Cair Industri Tahu Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan *Bacillus sp.* [Berasal dari <http://jurnal.univrab.ac.id/index.php/klinikal>].
- Koswara , Sutrisno. 2010. Teknologi Pengolahan Umbi-Umbian Bagian 7 : Pengolahan Umbi Garut. Tropical Plant Curriculum (TPC) Project. Bogor: IPB.
- Madigan, M.T., David, P., Clarck, David S., John, M., Martinko. 2011. *Brock microbiology of microorganism*. San Francisco: Benjamin Cummings Publishing. Hal 222-225.
- Nuryati, A., & Sujono, S. 2017. Media Agar Tepung Kacang Hijau, Kacang Merah, Kacang Tunggak, Kacang Kedelai Sebagai Media Kultur Jamur *Aspergillus flavus*. *Jurnal of Health Technology*. 13(1): 23-32.
- Putri, M.H., Sukini, dan Yodong. 2017. Mikrobiologi. Badan PPSDM Kesehatan. Jakarta.
- Rizki, Zuriani., dan Syahnita, Hastuti. 2019. Pemanfaatan Bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) dan Tauge (*Vigna radiata*) sebagai Media Alternatif untuk Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan

Care: Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan Vol 10, No. 3, 2022, hal 460-468

*Staphylococcus aureus. Jurnal Penelitian Kesehatan.* 6(1): 1-9.

Sari, LP. 2019. "Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri dengan Menggunakan Umbi Jalar Cilembu (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) untuk Bakteri *Lactobacillus acidophilus*, *Salmonella typhii* dan *Escherichia coli*". Skripsi. Medan : Fakultas Farmasi, Universitas Sumatra Utara.

Thohari, N.M, Pestariati dan Wisnu I. 2019. Pemanfaatan tepung Kacang Hijau (*Vigna radiata* L) sebagai media alternatif NA (*Nutrient Agar*) untuk pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Analis Kesehatan Sains.* 8(2): 725-737.

USDA (United States Departement of Agriculture). 2018. Glycine soja State Depaetement of Agriculture. United United State.

Wulandari, Kurniati, I., Dermawan, A., dan Nurhayati, D. 2019. Pemanfaatan Tepung Sayuran sebagai Media ALternatif Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Riset Kesehatan.* 11(1).

Zamilah, M., Ruhimat, U., & Setiawan, D. (2020). Media alternatif kacang tanah untuk pertumbuhan bakteri. *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science*, 1(01), 57-65.