

**PERBANDINGAN KADAR VITAMIN C PADA BROKOLI (*Brassica oleracea* L.)
SEGAR DAN REBUS SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI
(KCKT)**



Oleh :

Putri Agung Mustika Dewi

22101301C

PROGRAM STUDI DIII ANALIS FARMASI DAN MAKANAN

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS SETIA BUDI

SURAKARTA

2013

**PERBANDINGAN KADAR VITAMIN C PADA BROKOLI (*Brassica olerace L.*)
SEGAR DAN REBUS SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI
(KCKT)**

Karya Tulis Ilmiah

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai

Derajat Ahli Madya Farmasi

Program Studi DIII Analis Farmasi dan Makanan pada Fakultas Farmasi

Universitas Setia Budi

Oleh :

Putri Agung Mustika Dewi

22101301 C

PROGRAM STUDI DIII ANALIS FARMASI DAN MAKANAN

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS SETIA BUDI

SURAKARTA

2013

PENGESAHAN KARYA TULIS ILMIAH

Berjudul

**PERBANDINGAN KADAR VITAMIN C PADA BROKOLI (*Brassica oleracea* L.)
SEGAR DAN REBUS SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI
(KCKT)**

Oleh :
Putri Agung Mustika Dewi
22101301C

Dipertahankan sebagai Karya Tulis Ilmiah untuk
Memenuhi syarat mencapai derajat Ahli Madya Farmasi
Pada tanggal : 27 Mei 2013

Pembimbing,



Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt.



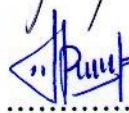
Mengetahui
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,



Prof. Dr. R.A. Oetari, SU, MM., Apt.

Penguji :

1. Drs. Supriyadi, M.Si.
2. Drs. Mardiyono, M. Si.
3. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt.

1. 
2. 
3. 

HALAMAN PERSEMBAHAN

Aku bukanlah orang yang pandai, tapi aku mau belajar dari orang pandai.

Aku adalah orang biasa, tapi aku ingin menjadi orang yang luar biasa.

Pengalaman adalah guru terbaik, belajar dari pengalaman membuat kita semakin lebih baik

Tanpa usaha, doa dan ikhtiar impian dan cita-cita tak akan tercapai

Kesabaran dan keyakinan hati mengantarkan pada pintu kesuksesan

Kupersembahkan untuk :

- ❖ *Allah SWT yang telah melimpahkan rahmatNYA*
- ❖ *Orangtuaku ibunda tercinta yang telah memberi doa, dukungan, semangat yang tiada henti dalam menyelesaikan KTI ini*
- ❖ *Alm. Ayah dan alm. Kakakku kiki meski telah tiada di dunia ini yang telah menjadi penyemangat dalam menyelesaikan KTI ini*
- ❖ *Dosen pembimbing saya ibu. Endang Sri Rejeki M.Si., Apt. terimakasih atas semua batuan dan bimbingannya*
- ❖ *Kakak (gundi dan berlina) yang telah memberi semangat, doa dan dukungan*
- ❖ *Teman-teman SMA, teman kuliah, adek kelas D-III anafarma yang selalu memberi support dan semangat*
- ❖ *Teman-temanku D-III anafarma yang senasib dan seperjuangan*
- ❖ *Pandu Bayu Murti Indrajaya yang telah memberi dukungan, doa dan semangat dalam menyelesaikan KTI ini*
- ❖ *Almamaterku-USB*

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa karya tulis ini adalah pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar ahli madya di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila karya tulis ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Mei 2013



1 Putri Agung Mustika Dewi

KATA PENGANTAR

Puji syukur panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah membimbing, melimpahkan karuniaNya, sehingga Tugas Akhir yang berjudul “PERBANDINGAN KADAR VITAMIN C PADA BROKOLI (*Brassica oleracea* L.) SEGAR DAN REBUS SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT) “ dapat diselesaikan dengan baik.

Tugas Akhir ini merupakan salah satu kewajiban yang harus diselesaikan penulis sebagai mahasiswa DIII Analis Farmasi dan Makanan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi untuk memperoleh gelar Ahli Madya Analis Farmasi dan Makanan. Dengan dilaksanakan Tugas Akhir ini maka diharapkan dapat memperoleh wawasan baru tentang segala sesuatu yang berkaitan dengan kefarmasian bagi penulis maupun pembaca.

Dalam penulisan Tugas Akhir ini penulis menyadari sepenuhnya memerlukan dan menerima bantuan dari berbagai pihak, untuk itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada yang terhormat :

1. Winarso Suryolegowo, SH., M.Pd. selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., Apt. selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Endang Sri Rejeki, M. Si., Apt. Selaku ketua program studi DIII Analis Farmasi dan Makanan serta selaku pembimbing dalam penelitian dan penulisan Tugas Akhir ini, terimakasih atas bimbingan dan waktu yang telah diberikan kepada penulis.

4. Bapak dan Ibu dosen, serta asisten dosen dan laboran Universitas Setia Budi Surakarta atas bimbingan dan kesempatan yang telah diberikan untuk melakukan penelitian Tugas Akhir ini.
5. Bapak dan ibu staff perpustakaan Universitas Setia Budi Surakarta atas kesempatan yang telah diberikan kepada penulis untuk menambah referensi daftar pustaka sebagai acuan dalam penulisan Tugas Akhir ini.
6. Berbagai pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu, atas segala bantuan dan saran-sarannya.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa Tugas Akhir ini masih belum sempurna dan masih banyak kekurangan. Tidak menutup kemungkinan penulis untuk menerima saran dan kritik yang bersifat membangun dari semua pihak demi kesempurnaan Tugas Akhir ini agar dapat bermanfaat bagi pembaca pada umumnya dan penulis pada khususnya, untuk menambah pengetahuan lebih mendalam dan pengembangan ilmu farmasi.

Surakarta, Mei 2013

Penulis

DAFTAR ISI

| | Hal |
|---|------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PENGESAHAN | ii |
| HALAMAN PERSEMBAHAN | iii |
| HALAMAN PERNYATAAN | iv |
| KATA PENGANTAR | v |
| DAFTAR ISI | vii |
| DAFTAR GAMBAR | x |
| DAFTAR TABEL | xi |
| DAFTAR LAMPIRAN | xii |
| INTISARI | xiii |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| A. Latar Belakang Masalah | 1 |
| B. Perumusan Masalah | 5 |
| C. Tujuan Penelitian | 5 |
| D. Manfaat Penelitian | 6 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 7 |
| A. Brokoli (<i>Brassica oleracea</i> L.) | 7 |
| 1. Sistematika Brokoli | 7 |
| 2. Deskripsi Brokoli | 7 |
| 3. Habitat dan Penyebaran | 7 |
| 4. Kandungan Brokoli | 8 |
| 5. Manfaat Brokoli | 8 |
| B. Vitamin | 8 |
| 1. Definisi Vitamin | 8 |
| 2. Definisi vitamin C | 9 |
| 2.1. Khasiat dan Kegunaan | 10 |
| 2.2. Dampak Kelebihan dan Kekurangan | 11 |
| C. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi | 12 |

| | |
|--|-----------|
| 1. Definisi | 12 |
| 2. Komponen | 13 |
| 2.1. Pompa | 13 |
| 2.2. Injektor | 14 |
| 2.3. Kolom | 14 |
| 2.4. Detektor | 14 |
| 2.5. Rekorder, Integrator, atau Komputer | 15 |
| 3. Kegunaan | 15 |
| 4. Kekurangan KCKT | 16 |
| 5. Sistem Elusi KCKT | 16 |
| 6. Analisis Dalam KCKT | 16 |
| 6.1. Analisa Kualitatif | 16 |
| 6.2. Analisa Kuantitatif | 17 |
| E. Landasan Teori | 18 |
| F. Hipotesis | 19 |
| BAB III METODE PENELITIAN | 20 |
| A. Populasi Dan Sampel | 20 |
| 1. Populasi | 20 |
| 2. Sampel | 20 |
| B. Variabel Penelitian | 20 |
| 1. Identifikasi Variabel Utama | 20 |
| 2. Klasifikasi Variabel Utama | 20 |
| 3. Definisi Operasional Variabel Utama | 21 |
| C. Alat Dan Bahan | 21 |
| 1. Alat | 21 |
| 2. Bahan | 22 |
| D. Jalannya Penelitian | 22 |
| 1. Analisis Kualitatif | 22 |
| 2. Penentuan Kurva Baku | 22 |
| 3. Pemilihan Komposisi Fase Gerak | 22 |

| | |
|--|-----------|
| 4. Pembuatan Kurva Kalibrasi | 23 |
| 5. Penetapan Kadar Sampel Vitamin | 24 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | 24 |
| A. Hasil Penelitian | 24 |
| 1. Determinasi atau Identifikasi Tanaman Brokoli | 24 |
| 1.1. Determinasi tanaman brokoli | 24 |
| 1.2. Hasil determinasi tanaman brokoli | 24 |
| 2. Hasil Pengambilan Bahan | 24 |
| 3. Penentuan Kondisi Alat | 25 |
| 4. Pembuatan Kurva Kalibrasi | 25 |
| 5. Uji Kualitatif | 26 |
| B. Pembahasan | 27 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN | 31 |
| A. Kesimpulan | 31 |
| B. Saran | 31 |
| DAFTAR PUSTAKA | 32 |
| LAMPIRAN | 33 |

DAFTAR GAMBAR

| | Hal |
|---|-----|
| 1. Gambar 1. Struktur vitamin C | 10 |
| 2. Gambar 2. Hubungan antara konsentrasi dan absorbansi | 26 |
| 3. Gambar 3. Surat keterangan determinasi tanaman brokoli | 40 |
| 4. Gambar 4. Kromatogram kondisi alir fase gerak 1.2 ml/menit | 47 |
| 5. Gambar 5. Kromatogram kondisi alir fase gerak 1.3 ml/menit | 48 |
| 6. Gambar 6. Kromatogram kondisi alir fase gerak 1.4 ml/menit | 49 |
| 7. Gambar 7. Kromatogram konsentrasi baku 10 ppm | 50 |
| 8. Gambar 8. Kromatogram konsentrasi baku 40 ppm | 50 |
| 9. Gambar 9. Kromatogram konsentrasi baku 50 ppm | 51 |
| 10. Gambar 10. Kromatogram konsentrasi baku 60 ppm | 51 |
| 11. Gambar 11. Kromatogram konsentrasi baku 100 ppm | 52 |
| 12. Gambar 12. Kromatogram sampel brokoli segar replikasi I | 52 |
| 13. Gambar 13. Kromatogram sampel brokoli segar replikasi II | 53 |
| 14. Gambar 14. Kromatogram sampel brokoli segar replikasi III | 53 |
| 15. Gambar 15. Kromatogram sampel brokoli rebus replikasi I | 54 |
| 16. Gambar 16. Kromatogram sampel brokoli rebus replikasi II | 54 |
| 17. Gambar 17. Kromatogram sampel brokoli rebus replikasi III | 55 |
| 18. Gambar 18. Foto alat KCKT | 55 |
| 19. Gambar 19. Foto alat jus | 56 |
| 20. Gambar 20. Foto alat centrifuge | 56 |
| 21. Gambar 21. Foto timbangan analitik | 56 |
| 22. Gambar 22. Foto sari brokoli | 56 |

DAFTAR TABEL

| | Hal |
|---|-----|
| 1. Tabel 1. Perbandingan kondisi analisa | 25 |
| 2. Tabel 2. Luas puncak dan waktu retensi baku dan sampel | 27 |
| 3. Tabel 3. Hasil pembacaan luas puncak sampel | 41 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Hal |
|---|-----|
| 1. Pembuatan Fase Gerak | 34 |
| 2. Pembuatan Volume dan Larutan Baku 200 ppm | 35 |
| 3. Perhitungan Kecepatan Alir Fase Gerak | 38 |
| 4. Surat Keterangan Determinasi Tanaman Brokoli | 40 |
| 5. Perhitungan Kadar Sampel | 41 |
| 6. Kromatogram Alir Fase Gerak, Baku, Sampel dan Foto Alat KCKT | 47 |
| 7. Foto Juicer, Centrifuge, Timbangan analitik dan Sari Brokoli | 56 |

INTISARI

DEWI, P.A.M., 2013. PERBANDINGAN KADAR VITAMIN C PADA BROKOLI (*Brassica oleracea* L.) SEGAR DAN REBUS SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT), KARYA TULIS ILMIAH, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Vitamin adalah zat-zat organik kompleks yang dibutuhkan dalam jumlah yang sangat kecil dan pada umumnya tidak dapat dibentuk oleh tubuh. Vitamin dikelompokkan menjadi dua, yaitu vitamin yang larut dalam lemak (vitamin A, D, E dan K) dan vitamin yang larut dalam air (vitamin B kompleks dan C). Vitamin adalah komponen tambahan makanan yang berperan sangat penting dalam gizi manusia. Salah satu vitamin yang diperlukan oleh tubuh meliputi vitamin C. Vitamin C disebut juga asam askorbat, merupakan vitamin yang paling sederhana, mudah berubah akibat oksidasi. Vitamin C berfungsi untuk meningkatkan sistem imunitas tubuh yang dapat diperoleh sayur seperti brokoli. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar vitamin C pada brokoli segar dan brokoli rebus.

Metode penelitian ini menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) untuk meneliti kadar vitamin C pada brokoli. Data waktu retensi diperoleh dari standar baku vitamin C. Sampel brokoli dibuat jus dilakukan *centrifuge* dan disaring menggunakan kertas *whatman* 0,2 μm untuk mendapatkan larutan jernih, kemudian diencerkan sebelum diinjeksikan pada alat KCKT.

Hasil penetapan kadar pada brokoli segar dan brokoli rebus pada panjang gelombang 254 nm menunjukkan kadar yang berbeda. Kadar vitamin C rata-rata brokoli segar adalah 0,215 %, sedangkan kadar vitamin C rata-rata brokoli rebus adalah 0,159 %.

Kata kunci : vitamin C, brokoli segar, brokoli rebus, KCKT

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Manusia membutuhkan energi (karbohidrat, protein dan lemak), mineral dan vitamin untuk melakukan aktifitas sehari-hari. Vitamin adalah zat-zat organik kompleks yang dibutuhkan dalam jumlah yang sangat kecil dan pada umumnya tidak dapat dibentuk oleh tubuh. Vitamin dikelompokkan menjadi dua, yaitu vitamin yang larut dalam lemak (vitamin A, D, E dan K) dan vitamin yang larut dalam air (vitamin B kompleks dan C) (Almatsier, 2004).

Vitamin adalah komponen tambahan makanan yang berperan sangat penting dalam gizi manusia. Banyak vitamin tidak stabil pada kondisi pemrosesan tertentu dan penyimpanan, dan karena aras kandungan vitamin dalam makanan diproses dapat sangat menurun. Vitamin sintetis dipakai secara luas untuk menggantikan vitamin yang hilang dan untuk mengembalikan aras kandungan vitamin dalam makanan. Kandungan vitamin dalam berbagai golongan makanan berkaitan dengan kelarutannya dalam air atau lemak. Beberapa vitamin berfungsi sebagai bagian dari koenzim, tanpa vitamin enzim tersebut tidak efektif sebagai biokatalis. Umumnya, koenzim seperti itu adalah bentuk vitamin yang difosforilasi dan berperan dalam metabolisme lemak, protein dan karbohidrat. Beberapa vitamin terdapat dalam makanan sebagai provitamin-senyawa yang bukan vitamin tetapi dapat diubah oleh tubuh menjadi vitamin (deMan dan John M, 1997).

Kekurangan vitamin mengakibatkan penyakit defisiensi yang serius. Kelebihan dosis vitamin, terutama vitamin yang larut dalam lemak, dapat mengakibatkan keracunan yang serius (deMan dan John M, 1997). Salah satu penyakit yang disebabkan kekurangan vitamin C yaitu penyakit *scurvy*. Penyakit *scurvy* telah di kenal sejak abad ke-15, yaitu penyakit yang menyebabkan pucat, rasa lelah berkepanjangan, diikuti oleh pendarahan gusi, pendarahan di bawah kulit, edema, tukak, dan pada akhirnya kematian (Ika D, 2009).

Vitamin C disebut juga asam askorbat, merupakan vitamin yang paling sederhana, mudah berubah akibat oksidasi, tetapi sangat berguna bagi manusia. Struktur kimianya terdiri atas rantai 6 atom C dan kedudukannya tidak stabil ($C_6H_8O_6$), karena mudah bereaksi dengan O_2 di udara menjadi asam dehidroaskorbat. Vitamin ini merupakan *fresh food* vitamin karena sumber utamanya adalah buah-buahan dan sayuran segar. Berbagai sumbernya adalah jeruk, brokoli, kubis, lobak dan strawberry. Salah satu dari beberapa vitamin dapat diketahui dari kegunaannya dalam membantu aktivitas berbagai enzim, misalnya banyak vitamin B-kompleks merupakan koenzim beberapa enzim tertentu yang terdapat dalam sel hidup. Vitamin C pada tumbuhan merupakan metabolit sekunder, karena terbentuk dari glukosa melalui jalur asam D-glukoronat dan L-gulonat. Pada manusia, binatang menyusui tingkat tinggi, dan marmot, biosintesis ini tidak terjadi, karena adanya hambatan biosintetik yang sifatnya genetik antara L-golonolakton dan 2 keto-L-gulonolakton sehingga untuk spesies tersebut vitamin C merupakan faktor penting dalam makanan (deMan dan John M, 1997).

Asam askorbat dengan adanya enzim asam askorbatoksidase akan teroksidasi menjadi asam L-dehidroaskorbat. Asam ini secara kimia juga sangat labil dan mengalami perubahan lebih lanjut menjadi asam L-diketogulonat yang tidak lagi memiliki keaktifan sebagai vitamin (deMan dan John M, 1997).

Vitamin C tersebar luas di alam, kebanyakan dalam produk tumbuhan seperti buah, terutama buah jeruk, sayur hijau, tomat, kentang dan buah beri. Salah satu sayuran hijau yang mengandung vitamin C yaitu brokoli. Brokoli merupakan sayuran bentuk kuntum bunga (*curd*), berwarna hijau tua atau muda. Tanaman ini tidak tahan terhadap suhu panas, sehingga cocok ditanam di dataran tinggi di atas 700 m dpl. Bunganya sangat mudah terserang penyakit busuk warna hitam. Sayuran ini sangat digemari masyarakat karena mengandung vitamin A, B dan C mineral dan kalsium serta besi, sehingga permintaan bertambah. Petani dalam mempertahankan pemeliharaan brokoli, perlu mengimbangi dengan menaikkan produksi dan kualitasnya. Untuk menaikkan kualitas brokoli penanganan pasca panen harus dilakukan dengan hati-hati agar penurunan mutu dapat diperkecil. Sifat-sifat penting yang menentukan kualitas brokoli adalah kepadatan, warna, keutuhan, dan besarnya diameter bunga. Brokoli mempunyai daya tahan sangat rendah setelah panen, kuncup bunganya akan cepat membuka dan berkembang. Warna bunga juga akan cepat berubah dari hijau ke kuning. Laju respirasi yang cepat menjadi ciri sayuran ini karena bagian bunga adalah organ yang disusun oleh jaringan muda dan sangat aktif dalam proses biologis (Haryanti *et al*, 2007).

Bagian tanaman yang dimanfaatkan adalah bunga yang belum terbuka dan berwarna hijau. Bunga yang telah terbuka akan berubah menjadi kuning. Bunga tanaman ini kaya kandungan vitamin A dan D. Bunga sangat mudah terkena jamur bila terkena air secara terus menerus. Oleh sebab itu, masa panen yang tepat sebaiknya setelah musim hujan. Tanaman dapat dipanen pada umur 60-120 hari setelah tanam (tergantung pada kultivar dan iklimnya) dengan interval waktu sekitar 1-2 minggu (Raharjo dan Hernani, 2005).

Setelah panen dilakukan, brokoli biasanya akan mudah rusak sehingga harus cepat dibungkus dengan plastik polietilen untuk mencegah penguningan. Penyimpanan sebaiknya dilakukan dengan cara memasukkan brokoli ke dalam plastik berpori tanpa pencucian. Penyimpanan brokoli tidak boleh dalam keadaan basah karena akan mudah berjamur dan busuk. Suhu terbaik adalah dalam kulkas pendingin. Sebelum dikonsumsi, brokoli sebaiknya dicuci di air mengalir dan jangan direndam dalam air karena akan menyebabkan kandungan gizinya hilang (Raharjo dan Hernani, 2005).

Kandungan dalam 100 g brokoli segar terdapat antioksidan di antaranya asam folat sebanyak 20 mg, tokoferol 30 mg, beta-karoten 800 mg, vitamin C 100 mg, dan senyawa flavonoid. Senyawa ini bersifat sebagai antioksidan dan dapat mencegah penyakit kanker serta jantung (Raharjo & Hernani, 2005).

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Kromatografi Cair Kinerja Tinggi paling sering digunakan untuk menetapkan kadar senyawa-senyawa tertentu seperti asam amino, asam-asam nukleat, dan protein-protein dalam cairan fisiologis,

menentukan kadar senyawa-senyawa aktif obat, produk hasil samping proses sintesis, atau produk-produk degradasi dalam sediaan farmasi memonitor sampel-sampel yang berasal dari lingkungan, memurnikan senyawa dalam suatu campuran, memisahkan polimer dan menentukan distribusi berat molekulnya dalam suatu campuran, kontrol kualitas, dan mengikuti jalannya reaksi sintesis (Gandjar dan Rohman, 2009) .

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka dapat dirumuskan permasalahannya sebagai berikut:

1. Berapakah kadar vitamin C dalam brokoli segar yang ditetapkan dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi ?
2. Berapakah kadar vitamin C dalam brokoli rebus yang ditetapkan dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi ?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Mengetahui kadar vitamin C dalam brokoli segar yang ditetapkan dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.
2. Mengetahui kadar vitamin C dalam brokoli rebus yang ditetapkan dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan masukan serta sumbangan informasi ilmiah dalam kepustakaan, khususnya dibidang farmasi mengenai kandungan vitamin C pada brokoli segar dan rebus.