

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang dilakukan pada penelitian ini adalah penelitian eksperimental. Penelitian eksperimental digunakan untuk menentukan hubungan sebab-akibat antara dua fenomena dengan karakteristik utama yaitu mengontrol variabel bebas. Penelitian eksperimen memungkinkan peneliti untuk mengontrol atau mengawasi setiap tindakan bebas sebelum dan selama penelitian, sehingga mengurangi faktor lain yang dapat memengaruhi hasil penelitian. Variabel bebas yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah waktu inkubasi, variabel kontrol dalam penelitian ini yaitu bakteri selulolitik *Escherichia* dan *Cellvibrio* sedangkan variabel terikatnya adalah aktivitas enzim selulase yang dihasilkan (Yusuf, 2014).

#### **3.2. Desain Penelitian**

Desain penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), dimana rancangan ini digunakan untuk kondisi bahan percobaan dan faktor lingkungan bersifat homogen. Rancangan Acak Lengkap (RAL) digunakan karena penelitian dilakukan di laboratorium dengan kondisi lingkungan, alat, bahan, dan media yang homogen. Rancangan ini dikatakan acak karena setiap satuan percobaan memiliki peluang yang sama untuk menerima perlakuan. Selain itu, karena seluruh perlakuan yang dirancang dalam percobaan digunakan, rancangan ini dianggap lengkap.

#### **3.3. Waktu dan Lokasi Penelitian**

Penelitian dimulai pada bulan Februari 2023 sampai dengan bulan Mei 2023. Penelitian dilakukan di Laboratorium Riset Bioteknologi Departemen Pendidikan Biologi, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia.

#### **3.4. Populasi Penelitian**

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri

selulolitik tunggal 1 dan 2 yang diperoleh dari hasil isolasi cairan sampah

(*leachate*) yang diambil dari tempat pembuangan sampah sementara yang berada di pasar tradisional. Selanjutnya sampel penelitian yang digunakan adalah enzim yang diproduksi oleh isolat bakteri selulolitik T1 dan T2 yang diperoleh dari hasil isolasi cairan sampah (*leachate*).

### **3.5. Prosedur Penelitian**

#### **3.5.1. Persiapan Alat dan Bahan Penelitian**

Isolasi bakteri dari *leachate*, pemilihan bakteri selulolitik, pengenalan dan identifikasi spesies bakteri selulolitik, pembuatan media substrat untuk serbuk tongkol jagung, produksi enzim melalui *Submerged Fermentation* (SmF), dan optimalisasi produksi enzim selulase adalah semua bahan dan alat yang diperlukan untuk penelitian ini. Seluruh alat dan bahan dipersiapkan secara aseptik selama tahap persiapan. Alat yang akan disterilisasi dibungkus oleh kertas agar tetap kering kemudian dimasukkan kedalam plastik dan untuk bahan yang perlu disterilisasi dimasukkan ke wadah yang bersih berbahan kaca kemudian diberi sumbat, dibungkus kertas, dan bungkus plastik. Setelah dibungkus, alat dan bahan yang ingin disterilisasi dimasukkan ke dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 15 psi.

#### **3.5.2. Pengambilan Sampel**

Penelitian ini memerlukan alat dan bahan untuk isolasi bakteri dari *leachate*, seleksi bakteri selulolitik, penentuan dan identifikasi spesies bakteri selulolitik, pembuatan media substrat serbuk tongkol jagung, produksi enzim secara *Submerged Fermentation* (SmF) dan optimasi produksi enzim selulase. Alat dan bahan tersedia di Laboratorium Riset, Gedung B Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia.

Pengambilan sampel *leachate* diambil di tempat pembuangan sampah sementara pasar tradisional Gegerkalong yang berada di Desa Gegerkalong, Kecamatan Sukasari, Kota Bandung. Pengambilan sampel *leachate* dilakukan dari kedalaman 0-20 cm (Omoniyi *et al.*, 2016). Pengambilan sampel *leachate* dan pengenceran sampel *leachate* didasari oleh penelitian yang dilakukan oleh

Murtiyaningsih & Hazmi (2017). Sebanyak 1 gr sampel *leachate* dilarutkan dalam 9 ml akuades steril lalu divortex sehingga diperoleh pengenceran 10-1. Sampel yang sudah diencerkan diambil sebanyak 1 ml lalu dimasukkan ke dalam 9 ml akuades steril, sehingga didapatkan pengenceran 10-2. Selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat hingga didapatkan pengenceran 10-8.

### 3.5.3. Isolasi Bakteri

Dalam melakukan isolasi bakteri, merujuk pada penelitian yang dilakukan oleh Murtiyaningsih dan Hazmi (2017). Pengenceran yang digunakan untuk isolasi bakteri yaitu pengenceran 10-4, 10-6, dan 10-8. Dari pengenceran tersebut, masing-masing diambil 0,1 ml secara aseptik dan diinokulasikan dengan metode sebaran (*spread plate*) pada media nutrient agar. Setelah sampel dimasukkan ke dalam media, sebar sampel menggunakan batang L atau batang bengkok. Setelah itu, selama 24 jam diinkubasi pada suhu 37°C. Setelah koloni bakteri campuran tumbuh pada medium NA, biakan murni diisolasi pada medium NA miring. Alur kerja isolasi bakteri dapat dilihat pada Gambar 3.2.

### 3.5.4. Pemiakan Isolat Bakteri

Untuk pembiakan bakteri digunakan tiga media untuk inokulasi bakteri, diantaranya:

#### 1. *Nutrient Agar* (NA) dan *Nutrient Broth* (NB)

Medium agar ditimbang sebanyak 15 gr, 10 gr pepton, 5 gr natrium klorida, dan 10 gram ekstrak daging ke dalam gelas kimia berisi 100 mililiter aquadest untuk membuat nutrisi medium agar. Sambil diaduk, larutan dipanaskan hingga semua bahan terlarut sepenuhnya. Setelah itu, media dimasukkan ke dalam cawan Petri dan tabung reaksi. Di sisi lain, medium nutrien broth dibuat dengan menggunakan campuran bahan yang sama kecuali agar. Setelah itu, semua media dibersihkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi.

#### 2. *Carboxymethylcellulose* (CMC) Agar

Teknik skrining umum untuk mikroorganisme dengan aktivitas selulolitik ekstraseluler melibatkan uji lempeng, di mana penggabungan turunan atau substrat polimer target diterapkan ke media pertumbuhan basal. Aktivitas selulolitik ekstraseluler yang banyak ditemukan pada media plate agar terdiri dari

*carboxymethylcellulose* (CMC) sebagai substrat (Khoirunnisa, *et al.*, 2020). Media CMC terdiri dari: Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 0,5 gr/100 ml, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0,05 gr/100 ml, CMC 1 gr/100 ml, NaCl 0,23 gr/100 ml, *yeast extract* 0,2 gr/100 ml, dan agar 2,5 gr/100 ml

### 3. Medium Fermentasi

Untuk membuat media fermentasi, campuran (sukrosa 8 gram, yeast extract 4 gram, FeSO<sub>4</sub> 0,01 gram/l, dan K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 4 gram) dicampur dengan solusi garam basal 0,5 mililiter (NaNO<sub>3</sub> 10 gram, kcl 2,5 gram, MgSO<sub>4</sub> 2,5 gram) dan air distilasi 50 mililiter. Ditambahkan 2% (w/v) jerami padi, dimasukkan ke dalam 250 mililiter tabung erlenmeyer, dan dibersihkan dengan autoklaf pada 121 °C dan tekanan 15 psi selama lima belas menit (Sreedevi, 2013).

#### 3.5.5. Seleksi Bakteri Selulolitik pada Media CMC Agar

Isolat bakteri murni yang sudah tumbuh pada media agar miring NA, akan dilakukan seleksi bakteriselulolitik menggunakan media CMC agar. Inokulasi 1 ose kultur murni pada media NA miring ke media CMC menggunakan cotton swab steril. Bakteri diinokulasikan pada media CMC agar diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 37°C. Setelah inkubasi, biakan diwarnai dengan Congo red 0,1% dan diinkubasikan kembali selama 30 menit kemudian dibilas dengan larutan NaCl 1% (Ji *et al.*, 2003). Zona bening yang terbentuk pada media CMC dilihan untuk menyeleksi bakteri selulolitik. Nilai Indeks Selulolitik (IS) dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$IS = \frac{\text{Diameter zona bening} - \text{Diameter koloni}}{\text{Diameter koloni bakteri}}$$

(Sinaga, 2013).

#### 3.5.6. Identifikasi Bakteri Selulolitik

Identifikasi bakteri selulolitik dilakukan dengan tiga tahapan, yaitu:

##### 1. Pengamatan morfologi koloni

Ciri morfologi yang diamati yaitu meliputi bentuk, warna, kenampakan bakteri (mengkilat atau suram), kenaikan permukaan (elevasi), kepekatan koloni dan tepian (Cappucino & Sherman, 2014). Pengamatan morfologi koloni bakteri dilakukan dengan melihat langsung koloni bakteri yang tumbuh pada media agar

setelah inkubasi 1x24 jam selesai.

## 2. Pewarnaan bakteri

Untuk mengetahui ciri-ciri fisiologis bakteri selulolitik, dilakukan teknik pewarnaan yaitu pewarnaan Gram, pewarnaan kapsul dan pewarnaan endospora (Indah, 2018).

### 1) Pewarnaan Gram

Dilakukan dengan membuat apusan bakteri pada preparat. Cairan kristal violet dituangkan pada apusan bakteri selama 3 menit kemudian bilas dengan akuades tunggu sampai kering. Tuang lugol pada apusan selama 1 menit, cuci dengan alkohol 96% kemudian dibilas dengan akuades tunggu sampai kering. Tuang safranin diamkan selama 3 menit kemudian bilas dengan akuades dan dikeringkan.

### 2) Pewarnaan endospora

Dilakukan dengan membuat apusan bakteri pada preparat kemudian disimpan di atas penangas air. taruh kertas saring diatas apusan kemudian tetesi dengan malakit hijau diamkan selama 5 menit. Bilas dengan akuades dan dikeringkan, kemudian tetesi dengan safranin biarkan selama 1 menit lalu dibilas dengan akuades lalu dikeringkan.

### 3) Pewarnaan kapsul

Dilakukan dengan membuat apusan bakteri tanpa fiksasi panas. Kemudian tetesi dengan kristal violet biarkan selama 5 menit. Kemudian dicuci dengan tembaga sulfat 20% ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) lalu dikeringkan dengan kertas hisap.

Semua preparat pewarnaan diberikan minyak imersi terlebih dahulu lalu dilihat menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x.

## 3. Uji biokimia

Pengamatan secara fisiologi dapat dilakukan dengan uji biokimia, pengamatan fisiologi dapat dilakukan dengan cara pengujian seperti fermentasi karbohidrat, pengujian *Metyl red*, pengujian *Vogest Paskauer*, pengujian oksidase, pengujian protease dan lain-lain (Indah, 2018).

### 1) Uji Hidrolisis

Dalam hidrolisis pati, bakteri yang mampu menghidrolisis pati ditunjukkan dengan terbentuknya daerah zona bening di sekitar koloni setelah lugol ditetesi.

Hasil yang baik menunjukkan bahwa bakteri memiliki enzim amylase yang diperlukan untuk memecah pati. Bakteri yang diinkubasi pada medium agar pati dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Cappucino & Sherman, 2014).

Hidrolisis lipid menggunakan medium lipid agar dengan hasil positif ditunjukkan dengan terdapat zona bening di sekitar koloni dan terdapat perubahan medium lipid menjadi warna merah pada bagian bawah koloni bakteri. Perubahan warna tersebut diakibatkan oleh terbentuknya asam lemak yang mengakibatkan pH medium menurun. Medium agar lipid diinokulasikan bakteri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Cappucino & Sherman, 2014).

Uji hidrolisis gelatin menunjukkan hasil yang baik jika gelatin tetap cair setelah diinkubasi oleh bakteri meskipun disimpan pada suhu 4°C. Prosedur pengujian melibatkan inokulasi bakteri pada media gelatin, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, kemudian 30 menit pada suhu 4°C sebelum disimpan dalam inkubator.

Media agar susu skim digunakan dalam uji hidrolisis kasein, dan bakteri diinokulasi pada media dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Uji hidrolisis kasein menunjukkan zona berbeda di sekitar koloni, yang positif.

## 2) Uji Fermentasi

Uji fermentasi dilakukan untuk mengetahui kapasitas bakteri isolasi untuk memfermentasi karbohidrat. Dalam penelitian ini, tiga jenis gula yaitu laktosa, dekstrosa, dan sukrosa. Sebagai indikator, *brom cresol violet* (BCP) ditambahkan. Isolat bakteri dimasukkan ke dalam medium dan kemudian diinkubasi selama 1-2 kali 24 jam pada suhu 37°C. Perubahan warna medium menjadi kuning dan adanya gas atau gelembung pada tabung Durham menunjukkan hasil positif.

## 3) Tes Susu Litmus

Bakteri yang akan diuji diinokulasikan dengan ose pada medium susu litmus lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna pada medium.

## 4) Uji Reaksi Katalase

Uji reaksi katalase dilakukan dengan menginokulasi bakteri pada kaca preparat. Apusan bakteri ditetesi larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%. Hasil positif ditunjukkan oleh adanya gelembung yang terbentuk setelah ditetesi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> maka organisme tersebut menghasilkan enzim katalase (Allinya, 2019).

### 5) *Indole, Methyl red, Voges-proskauer, Citrate* (IMVIC)

Uji IMVIC digunakan untuk membedakan sesama mikroba yang termasuk dalam kelompok Enterobacteriaceae. Uji IMVIC terdiri dari uji indol, uji metil merah, uji voger-proskauer, dan uji sitrat. Uji metil merah dilakukan dengan memasukkan bakteri ke dalam media MRVP dan kemudian diinkubasi selama 24 jam. Setelah itu, media ditetesi metil merah pada masing-masing tabung reaksi, dan warna merah muda menunjukkan hasil positif, sedangkan warna kuning menunjukkan hasil negatif.

Bakteri dimasukkan ke dalam medium MRVP dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah itu, lima tetes reagen VP A dan lima tetes reagen VP B ditambahkan ke dalam biakan dan semuanya dihomogenkan. Adanya perubahan menjadi merah muda atau merah menunjukkan reaksi positif, sedangkan tidak ada perubahan pada medium atau menjadi tembaga menunjukkan reaksi negatif.

Uji sitrat dilakukan dengan inokulasi satu ose bakteri diinkubasi pada medium Simmons citrate agar dan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna pada media menjadi biru.

### 6) Uji Produksi H<sub>2</sub>S

Bakteri diinokulasikan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1-2x 24 jam pada media SIM agar untuk mengetahui produksi H<sub>2</sub>S. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna medium menjadi hitam (Aryal, 2018).

### 7) Motilitas

Uji motilitas dilakukan dengan inokulasi bakteri pada medium nutrisi agar menggunakan cara stab kemudian diinkubasi selama 24 jam dan diamati pertumbuhannya. Apabila bakteri bersifat motil maka, terdapat pertumbuhan disekitar bakteri yang diinokulasi dan medium berubah menjadi keruh.

### 3.5.7. Pembuatan Kurva Tumbuh Bakteri Selulolitik

Fase pertumbuhan bakteri dapat diketahui dengan membuat kurva pertumbuhan, fase pertumbuhan bakteri dapat dideteksi, dan temuan berupa waktu inkubasi bakteri yang optimal dalam pembuatan enzim selulase dapat tercapai. Satu ose isolat bakteri selulolitik diinokulasikan ke dalam 100 ml media *Nutrient Broth* dan diagitasi pada suhu 37°C dengan kecepatan 120-150 rpm selama 24 jam. Setiap 1 jam diperoleh 1 ml inokulum bakteri untuk diukur OD (*Optical*

*density*) atau kerapatan sel dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm. Pengukuran dilakukan hingga nilai OD turun atau fase kematian muncul. Memplot nilai OD terhadap waktu inkubasi menghasilkan kurva pertumbuhan (Wahyuningsih & Zulaika, 2018).

### **3.5.8. Pre-treatment Tongkol Jagung dan Delignifikasi**

Jagung (*Zea mays*) diambil dari perkebunan jagung yang berada di Desa Karangmangu, Kecamatan Kramatmulya, Kabupaten Kuningan. Jagung yang digunakan dalam penelitian ini adalah jagung manis yang memiliki varietas saccharata (*Zea mays* var. *Saccharata*). Proses pencucian, pemotongan, dan pengeringan dilakukan selama tiga hari dalam oven dengan suhu 70°C hingga berat tongkol jagung tetap. Tongkol jagung yang sudah kering diblender dan disaring hingga ukuran 100 mesh. Selanjutnya, proses delignifikasi dilakukan dalam dua tahap. Pencucian pertama dilakukan dengan 2 N NaOH pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian dilanjutkan dengan 0,1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pada suhu ruang sampai pH netral dengan rasio pencucian 1:10 (tongkol jagung: pencucian) (Sukumaran *et al.*, 2009). Setelah itu, serbuk tongkol jagung dikeringkan dalam oven pada suhu 50- 70°C sampai kering. Alur kerja *pretreatment* tongkol jagung dapat dilihat pada Gambar 3.3.

### **3.5.9. Produksi Enzim Secara *Submerged Fermentation* (SmF)**

1 ose bakteri selulolitik diinokulasi dengan 100 mL NB dalam labu Erlenmeyer 250 mL yang telah disterilkan pada suhu 121°C, tekanan 15 selama 20 menit, kemudian dikultur pada suhu 37°C, 120 rpm selama 24 jam sebelum tahap sintesis enzim SmF (Shahid *et al.*, 2016). Dalam 100 mL media fermentasi (4 gram ekstrak ragi, 8 gram sukrosa, 4 gram K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, dan 0,01 gram/l FeSO<sub>4</sub>) yang mengandung 2 ml *basal salt solution* (NaNO<sub>3</sub> 10 gr, KCl 2,5 gr, MgSO<sub>4</sub> 2,5 gr dan akuades 50 mL). Semua bahan dimasukkan ke dalam tabung 250 mL dan diautoklaf selama lima belas menit pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi setelah ditambahkan tongkol jagung yang diberi perlakuan 2% (w/v). Media fermentasi kemudian diinokulasi dengan inokulum 1% kultur murni bakteri selulolitik yang memiliki kepadatan bakteri 10<sup>6</sup> CFU/mL. Setelah inokulasi, media fermentasi diinkubasi selama 0, 24, 48, 72, 96, dan 120 jam pada suhu 37°C dengan agitasi



120 rpm.

Media fermentasi disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3500 rpm pada suhu 4°C setelah disaring melalui kertas saring dengan interval waktu fermentasi 0, 24, 48, 72, 96, dan 120 jam. Ekstrak kasar enzim, juga dikenal sebagai supernatan, dibuat mengikuti prosedur sentrifugasi (Sholihati *et al.*, 2015). Alur kerja produksi enzim secara SmF dapat dilihat pada Gambar 3.4.

### **3.5.10. Pembuatan Larutan Standar Glukosa**

Pada pembuatan larutan standar glukosa, konsentrasi yang dipakai adalah konsentrasi glukosa 100, 200, 250, 300, 350, 400, 450, dan 500 ppm. Pembuatan larutan stok glukosa dilakukan dengan konsentrasi 1000 ppm dengan melarutkan sebanyak 0,05 gram glukosa dengan 50 mL akuades. Larutan stok dengan konsentrasi glukosa 1000 ppm kemudian dilarutkan menjadi konsentrasi yang yang ditentukan dengan pengenceran (Allinya, 2019).

### **3.5.11. Pembuatan Kurva Standar Glukosa**

Pembuatan kurva standar glukosa dapat digunakan dalam penelitian enzim untuk menentukan konsentrasi glukosa dalam suatu sampel dengan tepat. Kurva standar glukosa dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi glukosa dalam sampel dengan menggunakan metode kalibrasi, yang melibatkan pengukuran konsentrasi glukosa dalam sampel dengan menggunakan standar glukosa yang diketahui. Dalam penelitian enzim, pembuatan kurva standar glukosa dapat digunakan untuk mengevaluasi performa suatu enzim dalam mengkatalisis reaksi glukosa. Kurva standar glukosa dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi glukosa dalam sampel sebelum dan sesudah reaksi enzim, yang kemudian dapat digunakan untuk menghitung laju reaksi enzim.

Larutan glukosa standar dibuat dalam konsentrasi 100, 200, 250, 300, 350, 400, 450, dan 500 ppm. 1 mililiter dari masing-masing konsentrasi diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian, sebanyak 1 mililiter reagen DNS ditambahkan ke dalam tabung reaksi dan vorteks digunakan untuk menghomogenkannya. Larutan dididihkan selama 5-15 menit hingga berwarna merah-coklat. Satu mililiter KNa tartrat ditambahkan dan kemudian didinginkan. Aquades ditambahkan hingga volumenya menjadi 10 mL, lalu campurkan dengan benar. Absorbansi konsentrasi glukosa masing-masing diukur dengan

spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm. (Andriani, 2022).

### 3.5.12. Pengukuran Parameter

#### 1. Biomassa bakteri selulolitik

Pengukuran biomassa dilakukan selama fermentasi dilakukan dengan mengambil satu mililiter medium fermentasi dari masing-masing sampel dimasukkan ke dalam kuvet. Selanjutnya, nilai absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 610 nm. (Lizayana *et al.*, 2016; Yaqin *et al.*, 2020).

#### 2. Uji aktivitas enzim selulase

Aktivitas enzim selulase diukur dengan menggabungkan 0,5 mL CMC 1% dengan 0,5 mL larutan enzim, dan kemudian menginkubasi campuran tersebut pada suhu 50°C selama 30 menit, aktivitas enzim selulase ditentukan. Setelah inkubasi, reaksi dihentikan dengan menambahkan 1,5 mL larutan DNS, yang kemudian dipanaskan dalam penangas air selama 10 menit. Spektrofotometer digunakan untuk mengukur absorbansi pada panjang gelombang 540 nm setelah sampel didinginkan. Satu unit aktivitas selulosa didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dihasilkan oleh 1 mol glukosa per menit. Aktivitas enzim selulase dihitung dengan menggunakan rumus di bawah ini.

$$\text{Aktivitas selulase (U/mL)} = \frac{\text{konsentrasi gula pereduksi} \times \text{Fp} \times 10}{t \times \text{BM Glukosa}}$$

Keterangan:

FP = Faktor pengenceran

t = Waktu inkubasi (30 menit)

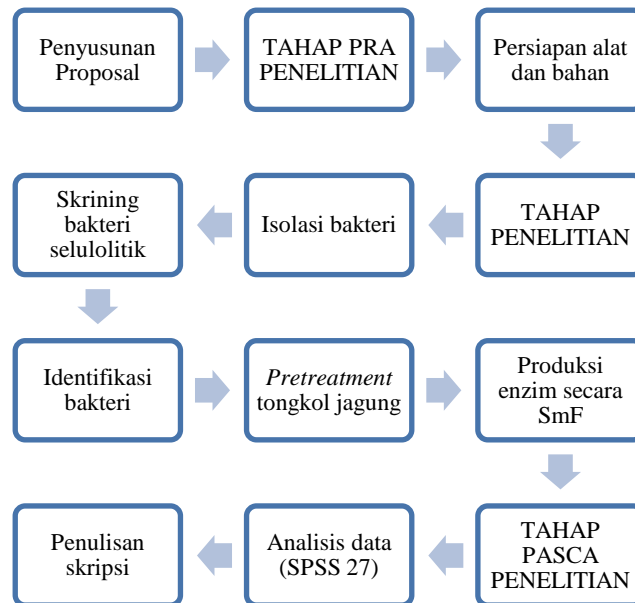
BM = Berat molekul glukosa (180)

### 3.6. Analisis Data

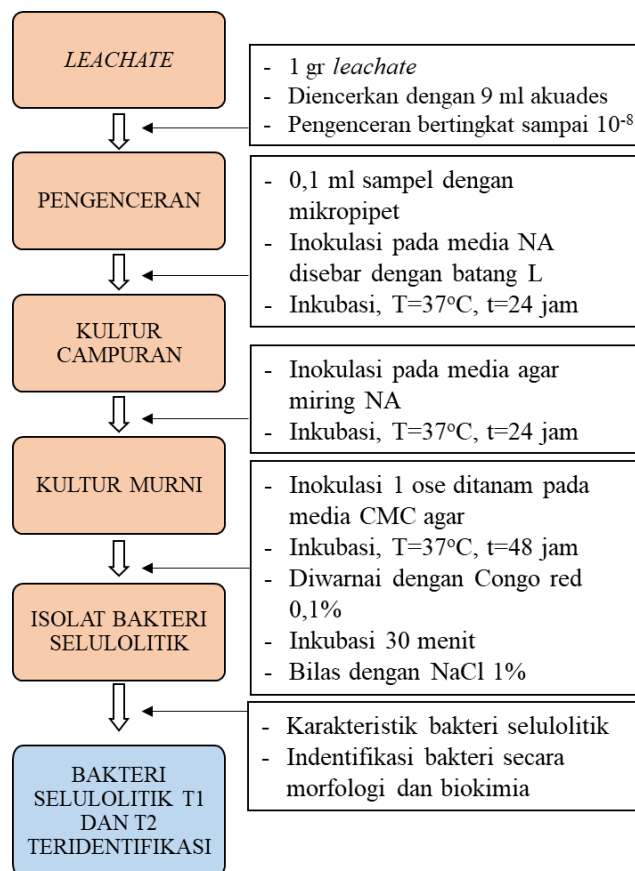
Analisis data digunakan program SPSS 27 for Windows: Pertama dilakukan tahap uji normalitas kemudian dilakukan uji homogenitas. Jika data yang diperoleh normal dan homogen dilakukan uji One Way ANOVA (*Analysis of Variance*) lalu dilanjutkan dengan Uji Post Hoc, dan jika data tidak normal dilakukan uji *non parametric* yaitu uji Mann-Whitney.

### 3.7. Alur Penelitian

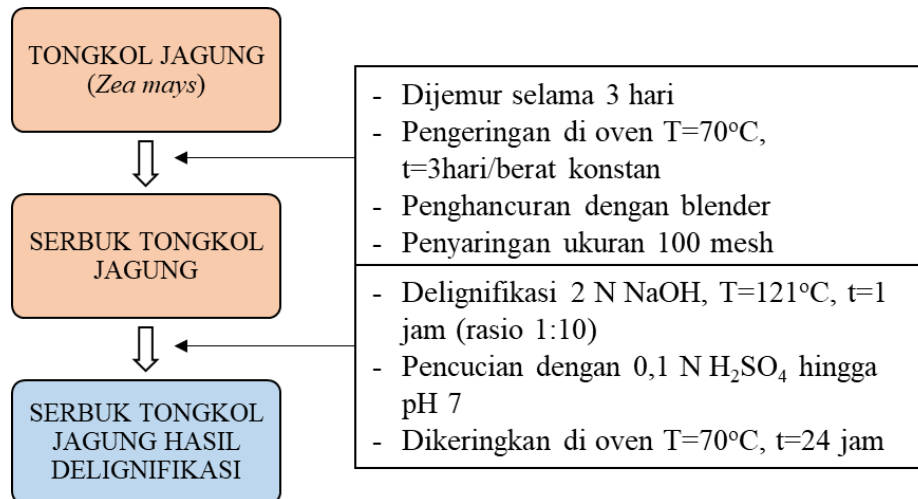
Alur penelitian dan alur kerja yang akan dilakukan adalah sebagai berikut



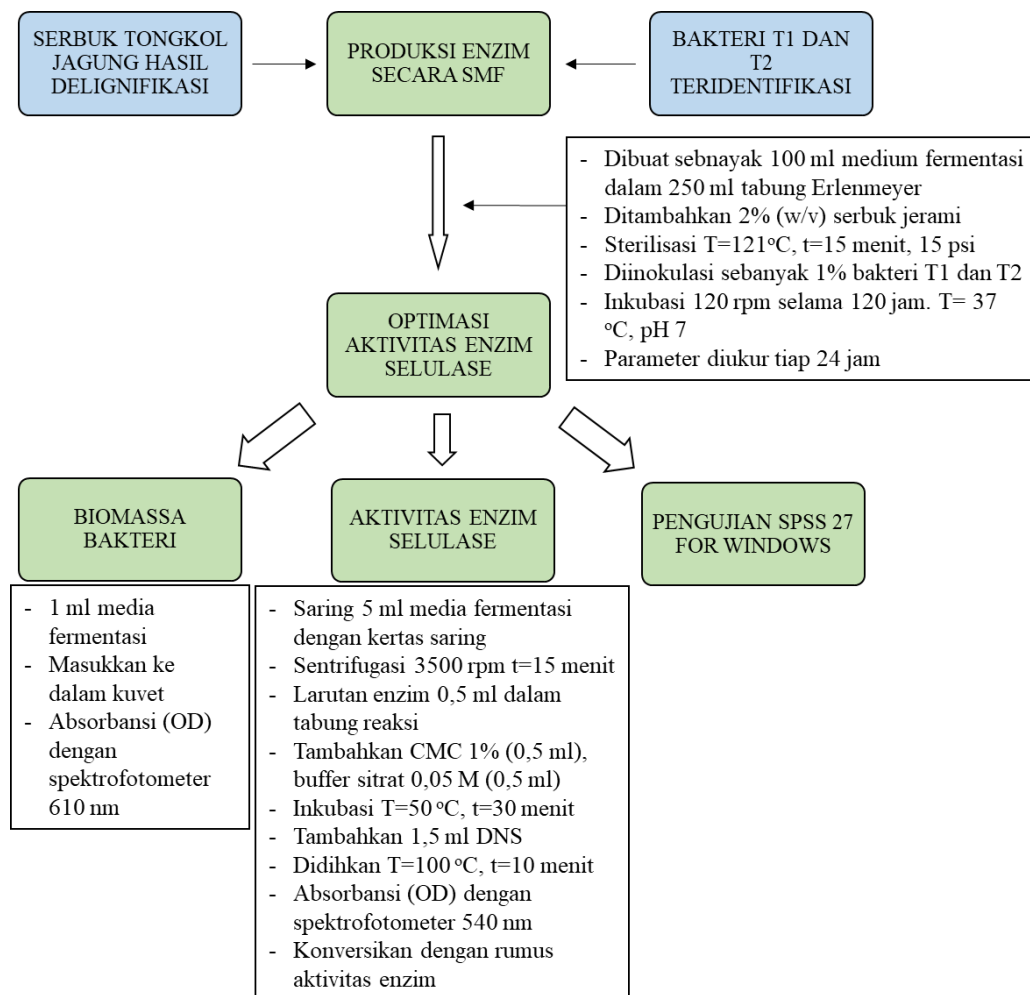
Gambar 3.1 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur Kerja Isolasi dan Identifikasi Bakteri



Gambar 3.3 Alur Kerja *Pre-Treatment* Tongkol Jagung



Gambar 3.4 Alur Kerja Optimasi Enzim Selulase