

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan bersifat eksperimental. Dikatakan eksperimental karena penelitian ini dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap objek penelitian serta adanya kontrol (Nazir, 1999 : 74). Pada penelitian ini yang menjadi objek penelitian adalah jamur *Colletotrichum gloeosporioides* yang diukur diameter pertumbuhan miselia jamur. Jamur ini ditumbuhkan pada medium *Potato Dextrosa Agar* (PDA) yang sebelumnya telah dimasukan bakteri *Pseudomonas* spp. dari buah dan rizosfer tanaman cabai, serta isolat murni *Pseudomonas* spp. dari BALITSA dengan konsentrasi 10^{11} cfu/ml. Kontrol penelitiannya berupa jamur *C. gloeosporioides* yang ditumbuhkan di medium PDA tanpa bakteri uji.

B. Desain Penelitian

Penelitian yang dilakukan di laboratorium dengan kondisi relatif homogen, desain penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Untuk jumlah perlakuan yang dilakukan adalah tiga dan satu kontrol yaitu isolat *Pseudomonas* spp. yang berasal dari buah tanaman cabai, isolat *Pseudomonas* spp. yang diambil dari rizosfer tanaman cabai, isolat *Pseudomonas* spp. yang diambil dari buah cabai (biakan murni BALITSA), dan kontrol sehingga didapatkan jumlah pengulangan berdasarkan rumus : $T (r - 1) \geq 20$

(Gomez, 1995) dimana T adalah perlakuan dan r adalah banyaknya pengulangan (replikasi).

$$\text{Maka : } T(r-1) \geq 20$$

$$4(r-1) \geq 20$$

$$4r \geq 24$$

$$r \geq 6$$

Berdasarkan perhitungan diatas maka pengulangan yang harus dilakukan minimal enam kali, dan untuk penelitian ini akan dilakukan pengulangan sebanyak sembilan kali supaya data dapat lebih akurat.

Jumlah kelompok percobaan atau plot dalam percobaan ini adalah = pengulangan x jumlah perlakuan = $9 \times 4 = 36$. Data yang didapatkan dari hasil percobaan ini adalah diameter rata-rata miselia pertumbuhan miselia jamur *C. gloeosporioides*.

C. Populasi dan Sampel

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian di laboratorium, sehingga populasi dan sampelnya berupa objek penelitian, yaitu :

Populasi : Populasi yang digunakan ialah biakan murni jamur *C. gloeosporioides*

Sampel : Jamur *C. gloeosporioides* yang berasal dari isolat murni BALITSA.

D. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Pendidikan Biologi Universitas Pendidikan Indonesia. Penelitian dimulai pada bulan Nopember 2007 sampai dengan bulan Juli 2008.

E. Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini terdapat di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Pendidikan Indonesia. Alat-alat yang digunakan selama penelitian ini terdapat pada tabel 3.1, sedangkan daftar bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini terdapat pada tabel 3.2 dibawah ini :

Tabel 3.1. Daftar alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian

No	Nama Alat	Jumlah	Spesifikasi
1.	Transfer box	1 buah	PT 25.221.03.019BM
2.	Penggaris	1 buah	Milimeter (Mm)
3.	Timbangan analitis	1 buah	Merk And seri 12848143
4.	Mikroskop binokuler	1 buah	PT25.221.03.045 BM
5.	<i>Hot plate</i> dan <i>Magnetic stirrer</i>	1 buah	PT25.221.03.023 BM
6.	Cawan Petri	30 buah	Pyrex; $\Theta = 9$ cm
7.	Spektrofotometer	1 buah	PT25.221.03.021. BF
8.	Tabung reaksi	50 buah	Pyrex
9.	Rak tabung	3 buah	
10.	Gelas ukur 10 mL	1 buah	Pyrex
11.	Gelas ukur 50 mL	1 buah	Pyrex
12.	Gelas kimia 500 mL	1 buah	Pyrex
13.	Makropipet 1 ml	30 buah	Merk SIBATA
14.	Botol spirtus	1 buah	
15.	Autoklaf	1 buah	PT 25.221.03.004BF (2/2)
16.	Lemari pendingin	1 buah	PT25.221.03.021.BM
17.	Batang pengaduk	2 buah	P = 29,5 cm
18.	Spatula	2 buah	Logam
19.	Corong	2 buah	Pyrex, $\Theta = 5$ mm
20.	Pelubang gabus	1 buah	$\Theta = 6$ mm
21.	Botol sampel	4 buah	Volume 100 ml
22.	Vortex	1 buah	PT25.221.03.044 BM

Tabel 3.2 Daftar bahan-bahan penelitian

No.	Nama Bahan	Jumlah
1.	Alkohol 70 %	1 liter
2.	Akuades	5 liter
3.	Medium King's B	10 gram
4.	Kristal violet	3 ml
5.	Lugol	3 ml
6.	Safranin O	3 ml
7.	Gelatin	5 gram
8.	Pati	5 gram
9.	H ₂ O ₂	1 ml
10.	Nutrien Agar (NA)	10 gram
11.	Isolat jamur <i>C. Gloeosporioides</i>	1 cawan Petri
12.	Medium PDA	39 gram
13.	<i>Tetramethyl-para-phenylenediamine</i>	0.5 gram

F. Cara Kerja

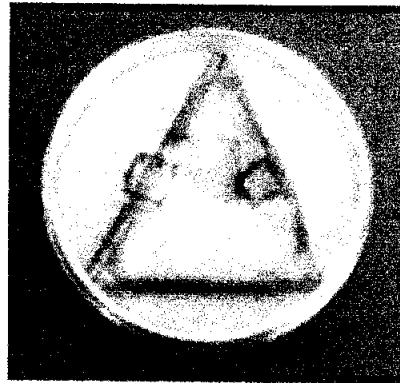
Pada penelitian ini prosedur kerja dikelompokkan menjadi tiga tahap, yaitu tahap pendahuluan, tahap pelaksanaan, dan tahap analisis data.

1. Tahap Pendahuluan

a. Identifikasi Jamur *Colletotrichum gloeosporioides*

Identifikasi jamur *Colletotrichum* dilakukan dengan menggunakan metode *slide culture* secara aseptik. Cawan Petri untuk *slide culture* steril berisi kertas saring, sumpit kayu yang dibentuk segitiga, satu buah kaca objek dan dua buah kaca penutup (gambar 3.1). Kemudian medium PDA steril sebanyak 5 ml dicairkan dan dipindahkan ke dalam cawan Petri steril. Setelah medium PDA 5 ml membeku, dibuat kotak agar dengan ukuran 3 x 3 cm kemudian di simpan di atas kaca objek. Setelah itu, jamur *C. gloeosporioides* ditanamkan di atas kotak agar menggunakan lup inokulasi dan ditutup dengan kaca penutup. Jamur ditumbuhkan dan

diamati setiap hari selama tujuh hari dengan kondisi cawan Petri yang tetap lembab. Pengamatan bentuk jamur dilihat di bawah mikroskop dan dianalisis berdasarkan kunci determinasi jamur menurut J.A.Von Arx (1974).



Gambar 3.1 *Slide culture* jamur *C.gloeosporioides* (sumber : Koleksi Pribadi, 2008)

b. Pembuatan kurva tumbuh jamur *C. gloeosporioides*

Pembuatan kurva tumbuh diawali dengan membiakan jamur *C. gloeosporioides* selama lima hari dalam medium PDA miring. Setelah umur jamur lima hari, 10 ml larutan garam fisiologis (NaCl) dituangkan ke dalam biakan. Selanjutnya untuk melepaskan spora, permukaan jamur digores menggunakan ose secara aseptik dan di vorteks selama satu menit. Suspensi spora yang terbentuk dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer steril dan di vorteks kembali selama satu menit supaya homogen. Kemudian sebanyak satu ml suspensi spora diambil dengan makro pipet untuk dihitung jumlah sporanya menggunakan hemositometer untuk mendapatkan jumlah spora 10^6 - 10^8 spora/ml. Selanjutnya sebanyak 10 ml suspensi spora diambil dan dimasukkan ke erlenmeyer yang berisi 100 ml

Potato Dextrosa Broth (PDB). Kemudian diagitasi pada kecepatan 125 rpm dan inkubasi pada suhu ruang. Pencuplikan jamur *C. gloeosporioides* dilakukan setiap hari (hari ke-0 sampai hari ke-10). Setiap pencuplikan dilakukan proses penyaringan dengan corong Buchner melalui kertas saring. Pelet miselium yang tersaring dibilas dengan aquades dan dikeringkan dalam oven dengan suhu 60-70 °C, kemudian kertas saring ditimbang sampai mencapai berat yang konstan (Hamdiyati, 1999 : 23-24)

c. Pencuplikan Sampel

Pada proses pencuplikan sampel untuk diisolasi baik dari buah ataupun rizosfer tanaman cabai dilakukan secara aseptik untuk mencegah terbawanya mikroorganisme atau bakteri selain dari habitat yang diinginkan, salah satunya dengan cara menggunakan sarung tangan steril.

1) Isolat dari Buah Cabai

Pada isolasi sampel dari buah cabai dilakukan dengan menguliti permukaan buah cabai, kemudian ditimbang sebanyak lima gram dan dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer berisi 99 ml aquades steril. Selanjutnya divorteks selama satu menit untuk melepaskan bakteri permukaan buah sehingga membentuk suspensi bakteri (Nuranisa *et al.*, 2000). Sampel suspensi bakteri diambil sebanyak 1 ml dan lakukan teknik pengenceran sampai tujuh kali, kemudian dimasukkan ke cawan Petri masing-masing sebanyak satu ml dari pengenceran 10^{-6}

dan 10^{-7} (Hartman dan Hayward, 1993). Lalu ditambahkan medium King's B dan diputar sampai homogen.

2) Isolat dari Rizosfer Tanaman Cabai

Sampel tanah yang didapat ditimbang sebanyak 1 gram di atas kertas steril secara aseptik dengan menggunakan spatula yang sebelumnya telah disterilkan beberapa kali di atas nyala api spirtus, kemudian masukkan ke dalam botol pengencer berisi 99 ml aquades atau larutan penyangga fosfat dan kocok baik-baik supaya bakteri tersuspensi merata (Muchtadi, 1980). Selanjutnya dilakukan teknik pengenceran sampai tujuh kali (Hartman dan Hayward, 1993). Selanjutnya sebanyak 1 ml masing-masing dari pengenceran 10^6 dan 10^7 dimasukkan ke cawan Petri lalu untuk ditumbuhkan.

d. Identifikasi Isolat dibawah UV dan Pewarnaan Gram

1) Penyinaran UV

Cawan Petri hasil isolasi disimpan di bawah sinar UV untuk dilihat pendarannya. Isolat yang mengeluarkan cahaya *fluorescent* (hijau-kuning) diinokulasikan ke cawan Petri baru yang berisi medium King's B. Bakteri kembali diinkubasi pada suhu $25-30^{\circ}\text{C}$. Selanjutnya isolat bakteri dimurnikan dengan metode gores (Cappucino dan Sherman, 1983).

2) Pengamatan di Bawah Mikroskop

Untuk melihat morfologi dan sifat dari bakteri *Pseudomonas* spp. dilakukan pewarnaan Gram, kemudian di lihat di bawah mikroskop. *Pseudomonas* spp mempunyai ciri-ciri bentuk batang dan Gram negatif (Cappucino dan Sherman, 1983).

e. Uji Penapisan

Uji penapisan dilakukan untuk menyeleksi isolat yang memiliki potensi sebagai biokontrol. Penapisan ini diawali dengan membiakan jamur *C. gloeosporioides* selama lima hari dalam medium PDA pada cawan Petri. Setelah jamur berumur lima hari, kemudian jamur dilubangi dengan pelubang gabus dan tempatkan potongan jamur tersebut pada tengah-tengah cawan Petri yang berisi medium PDA. Selanjutnya jamur diinkubasi pada suhu kamar selama empat hari. Setelah empat hari, selanjutnya pada empat sisi koloni jamur digoreskan koloni bakteri uji dengan jarak 2 cm dari tepi koloni (Maria & Widodo, 2004). Perkembangan jamur diamati dengan melihat terdapat tidaknya daerah bening, dilihat perbandingan diameter antar isolat dengan kontrol dan dilakukan pengukuran diameter jamur sampai medium kontrol memenuhi cawan Petri. Diameter pertumbuhan miselia jamur yang paling kecil merupakan yang terbaik diantara isolat yang lainnya.

f. Identifikasi Isolat melalui Uji Biokimia

Untuk uji biokimia yang akan dilakukan adalah uji hidrolisis pati, hidrolisis gelatin, hidrolisis lipid, fermentasi karbohidrat, katalase dan reaksi oksidase (Cappucino dan Sherman, 1983).

1) Uji Hidrolisis Pati

Langkah awal pada uji hidrolisis pati dilakukan dengan menginokulasikan bakteri uji ke dalam medium NA steril pada cawan Petri. Selanjutnya bakteri uji diinkubasi pada suhu optimum (28°C) selama 24 jam untuk menumbuhkan koloni bakteri. Setelah koloni bakteri terlihat tumbuh, kemudian larutan iodium diteteskan pada koloni bakteri yang tumbuh, lalu diamati terdapat tidaknya daerah terang pada sekitar tempat pertumbuhan bakteri. Jika terdapat daerah terang maka bakteri tersebut positif dapat menghidrolisis pati.

2) Uji Hidrolisis Gelatin

Pada uji hidrolisis gelatin, bakteri uji diinokulasikan pada agar diri nutrien gelatin, kemudian diinkubasikan pada suhu optimum (28°C) selama 24 jam. Selanjutnya bakteri uji disimpan pada suhu 4°C selama beberapa menit, kemudian amati cair atau tidaknya medium nutrien gelatin. Jika medium berwujud cair maka bakteri uji dapat menghidrolisis gelatin.

3) Uji Lipid

Uji lipid diawali dengan menginokulasikan bakteri uji pada medium lipid agar steril di cawan Petri. Selanjutnya bakteri uji

diinkubasikan pada suhu optimum (28°C) selama 24 jam. Kemudian cawan Petri diamati terdapat tidaknya daerah merah muda atau terang pada tempat sekitar tumbuhnya bakteri. Terdapatnya daerah terang menunjukkan kemampuan dari bakteri tersebut dalam menghidrolisis lipid.

4) Uji Fermentasi Karbohidrat

Uji fermentasi karbohidrat diawali dengan menyiapkan tabung berisi medium *phenol red* laktosa, *phenol red* dextrosa, dan *phenol red* sukrosa yang masing-masing telah diisi oleh tabung Durham dan dilabel. Selanjutnya bakteri uji diinokulasikan secara aseptik pada masing-masing tabung menggunakan lup inokulasi. Kemudian bakteri uji diinkubasikan pada suhu optimum (28°C) selama 24 jam. Setelah 24 jam maka tabung dapat diamati dengan parameter terdapat tidaknya perubahan warna dan gas yang terbentuk pada tabung Durham.

5) Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan menginokulasikan bakteri uji pada medium NA miring, kemudian diinkubasi pada suhu optimum (28°C) selama 24 jam. Setelah diinkubasi, koloni bakteriuji ditetesi H_2O_2 sebanyak tiga sampai empat tetes. Lalu diamati terdapat tidaknya gelembung udara yang terbentuk, jika terdapat gelembung udara maka bakteri tersebut dapat melakukan aktivitas katalase.

6) Uji Oksidase

Uji oksidase dilakukan dengan menginokulasikan bakteri uji pada medium NA miring. Selanjutnya bakteri uji diinkubasi pada suhu optimum (28°C) selama 24 jam untuk menumbuhkan koloni bakteri. Kemudian pada koloni bakteri ditetesi larutan oksidase sebanyak tiga sampai empat tetes. Selanjutnya bakteri uji diamati perubahan warnanya, jika pada saat ditetesi terjadi perubahan warna larutan oksidasi dari pink menjadi kehitam-hitaman maka bakteri tersebut positif dapat melakukan oksidasi.

g. Pembuatan Kurva Tumbuh dan Kurva Baku Bakteri *Pseudomonas* spp. Isolat G1, Isolat B3, dan Isolat T2.

Metode yang digunakan untuk membuat kurva tumbuh adalah metode Turbidimetri (Cappucino dan Sherman, 1983), dengan cara melihat absorbansi / kekeruhan bakteri (*Optical Density / OD*), dengan menggunakan alat *spectrofotometer*.

Sebelum melakukan pengukuran terhadap absorbansi bakteri, diperlukan pengaktifasian kultur terlebih dahulu. Aktivasi dilakukan secara bertahap dengan menggunakan medium *Potato Dextrose Broth* (PDB). Masing-masing isolat bakteri diinokulasikan sebanyak satu ose kedalam sepuluh ml medium PDB dan dikocok pada kecepatan 120 rpm selama 24 jam pada suhu 28°C dengan menggunakan *Waterbath shaker*.

Kultur cair pada masing-masing isolat bakteri yang digunakan untuk membuat kurva tumbuh adalah kultur hasil aktivasi pada 10 ml medium

PDB yang telah dikocok selama 24 jam, kemudian dimasukkan kedalam 90 ml medium PDB, dikocok pada kecepatan 120 rpm pada suhu 28 °C. Setiap interval waktu 2 jam diambil sampel kultur sebanyak 5 ml untuk mengetahui absorbansi masing-masing isolat bakteri yang terlarut dalam medium biakan, kemudian dimasukkan kedalam kuvet. Absorbansi bakteri pada kuvet diukur dengan menggunakan *Spectrofotometer* pada panjang gelombang 620 nm. Kurva tumbuh dapat dibuat berdasarkan hasil korelasi antara OD (sumbu Y) terhadap selang waktu tertentu (sumbu X).

Kurva baku dibuat berdasarkan waktu logaritmik bakteri yang dapat diketahui dari kurva tumbuh. Masing-masing isolat bakteri diaktivasi terlebih dahulu dengan cara menginokulasikan satu ose biakan bakteri kedalam sepuluh ml medium PDB dan dikocok pada kecepatan 120 rpm selama 24 jam pada suhu 28 °C dengan menggunakan *Waterbath shaker*.

Setelah 24 jam, sampel kultur sepuluh ml dimasukkan kedalam 90 ml medium PDB, dikocok kembali pada kecepatan 120 rpm selama waktu yang diperlukan bakteri untuk mencapai fase log, kemudian ditentukan batas waktu yang akan ditentukan absorbansinya. Berdasarkan kurva tumbuh masing-masing isolat bakteri, batas waktu yang ditentukan absorbansinya adalah sebagai berikut :

- a. Untuk bakteri isolat G1, waktu yang digunakan untuk menentukan absorbansinya yaitu pada jam ke-14.
- b. bakteri isolat B3, waktu yang digunakan untuk menentukan absorbansinya yaitu pada jam ke-16.

- c. Untuk isolat bakteri T2, waktu yang digunakan untuk menentukan absorbansinya yaitu pada jam ke-18.

Pada jam-jam tersebut di atas, diambil sebanyak 5 ml kultur ke dalam kuvet untuk diukur absorbansinya dengan menggunakan alat *Spectrofotometer*. Pada waktu yang sama, kultur diambil juga sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi sembilan ml akuades steril untuk pengenceran 10^{-1} , begitu seterusnya sampai pengenceran 10^{-10} , dilakukan secara berurutan. Pada pengenceran 10^{-8} , 10^{-9} dan 10^{-10} , diambil satu ml untuk ditumbuhkan pada medium PDA dengan menggunakan metode cawan tuang. Biakan diinkubasi selama 24 jam pada suhu kamar, kemudian koloni bakteri yang tumbuh dihitung dengan menggunakan alat *Colony counter*. Dengan diketahui jumlah bakteri dan harga absorbansinya maka dapat dibuat kurva baku.

Kurva baku merupakan hasil regresi linier yang menghubungkan antara kerapatan optik (*optical density*) atau nilai absorbansi suspensi bakteri sebagai sumbu X dengan hasil perhitungan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada medium PDA sebagai sumbu Y.

h. Membuat Suspensi Bakteri *Pseudomonas* spp. Isolat G1, Isolat B3 dan Isolat T2 sebagai Sumber Inokulum

Konsentrasi suspensi bakteri sebagai sumber inokulum yang akan digunakan untuk perlakuan adalah 10^{11} cfu/ml. Masing-masing isolat bakteri diinokulasi berdasarkan kurva tumbuh, yaitu pada fase stasioner. Pengambilan pada fase ini dikarenakan pengeluaran antibiotik sebagai metabolit sekunder bakteri biasanya disekresikan pada fase stasioner. Suspensi bakteri dibuat dengan cara menginokulasikan satu ose koloni bakteri pada 10 ml medium PDB, dan dikocok pada kecepatan 120 rpm selama 24 jam pada suhu 28°C dengan menggunakan *Waterbath shaker*.

Setelah 24 jam, sampel kultur 10 ml dimasukkan kedalam 90 ml medium PDB, dikocok kembali pada kecepatan 120 rpm selama waktu yang diperlukan bakteri untuk mencapai fase stasioner, penentuan waktu ini didasarkan pada kurva baku dari kedua bakteri tersebut.

2. Tahap Pelaksanaan

Tahap pelaksanaan atau uji pokok pada penelitian ini adalah dengan dilakukannya uji hayati antara isolat yang telah dibuat kurva tumbuhnya untuk digunakan terhadap jamur *C. gloeosporioides*.

Uji hayati terhadap jamur *C. gloeosporioides* diawali dengan membuat biakan jamur tersebut dalam beberapa cawan petri. Kultur murni tersebut dibiakkan selama 5 hari dalam cawan petri dengan medium PDA, dimana diperkirakan biakan jamur telah homogen pertumbuhannya (Noveriza dan Tombe, 2003; BALITSA, 2004 dalam Trihandayani, 2008). Setelah

pertumbuhan jamur merata (5 hari), dibuat bulatan-bulatan pada jamur menggunakan pelubang gabus dengan diameter lubang 6 mm. Jamur yang dipergunakan adalah jamur yang berada di pinggir cawan petri, diharapkan ketebalan jamur sama.

Suspensi bakteri *Pseudomonas* spp. sebanyak 1 ml dengan konsentrasi 10^{11} cfu/ml dimasukkan ke dalam cawan Petri kecuali untuk cawan Petri kontrol tidak ditambahkan suspensi bakteri, selanjutnya medium PDA cair sebanyak sembilan ml ($\pm 40^{\circ}\text{C}$), kemudian dihomogenkan dengan cara diputar membentuk angka delapan sebanyak tiga kali agar larutan dan medium tercampur merata. Setelah medium membeku, bulatan-bulatan jamur yang telah disiapkan sebelumnya ditanamkan pada medium sebanyak satu buah dalam satu Petri, metode ini disebut sebagai metode biakan ganda (Yusriadi, 2004). Penentuan umur bakteri *Pseudomonas* spp. yang digunakan berdasarkan hasil kurva tumbuh

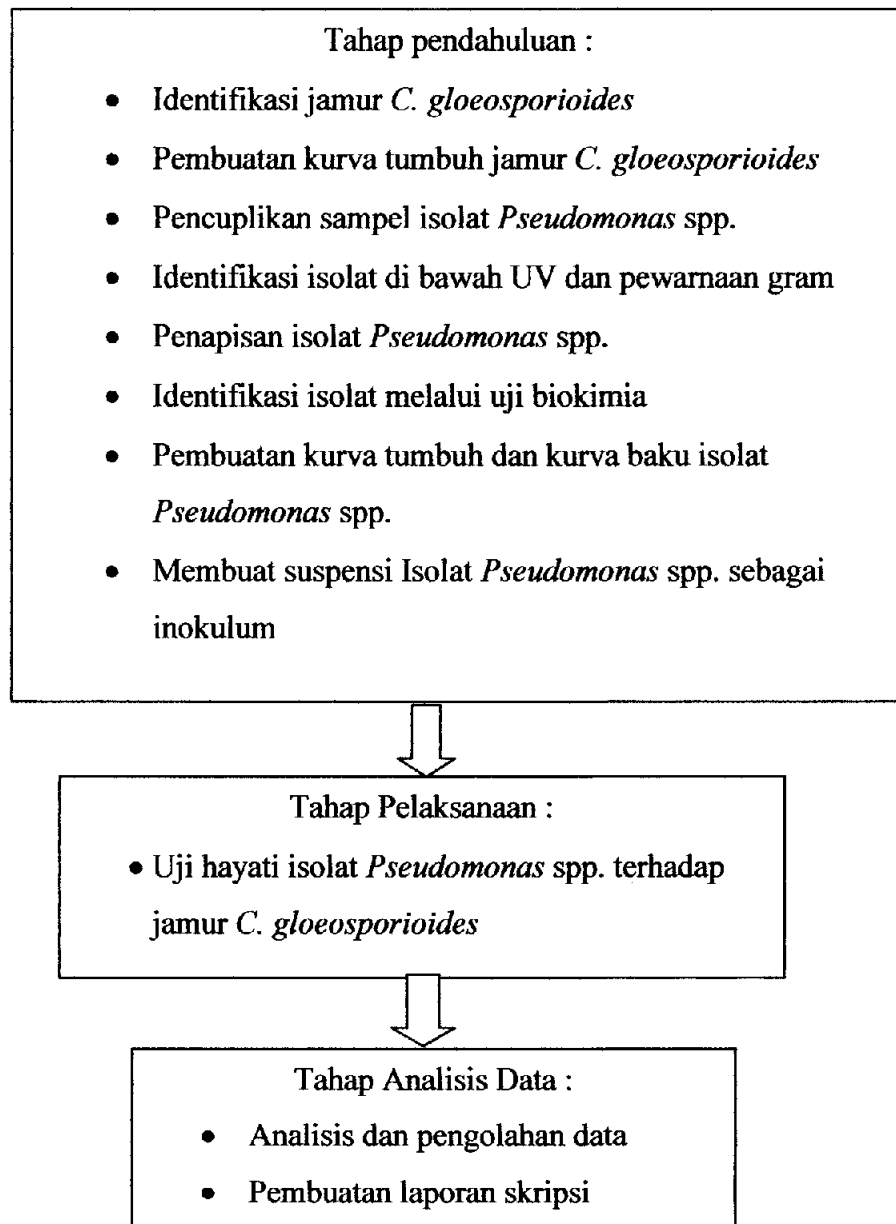
Jamur yang telah diberi perlakuan disimpan pada suhu kamar (27°C) kemudian diamati pertumbuhannya. Pengamatan dilakukan terhadap diameter pertumbuhan miselia jamur yang tumbuh pada hari ke lima. Sariah (1989) menyatakan bahwa, setelah jamur *Colletotrichum* diinkubasi selama 5 hari pada suhu kamar, aktivitas resistensi jamur terhadap larutan antijamur dapat diamati. Pengukuran dilakukan dengan cara menghitung diameter miselia yang terpanjang dan terpendek, kemudian dirata-ratakan (Noveriza dan Tombe, 2003 dalam Trihandayani, 2008). Untuk setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak sembilan kali.

4. Tahap Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini yaitu berupa diameter rata-rata pertumbuhan miselia jamur *C. gloeosporioides* di medium berisi isolat *Pseudomonas* spp. yang berasal dari buah dan rizosfer tanaman cabai serta isolat murni dari BALITSA. Data hasil uji daya hambat ini dianalisis menggunakan program SPSS yang sebelumnya diuji normalitas (*Kolmogorov-Smirnov Test*). Jika terbukti berdistribusi normal maka dilakukan uji homogenitas. Hasil analisis Uji homogenitas menjelaskan bahwa data memiliki nilai signifikansi ≥ 0.05 . Kemudian untuk pengujian hipotesis digunakan uji *One-Way ANOVA* sehingga diketahui apakah hipotesis diterima atau ditolak. Jika hipotesis (H_0) ditolak, maka dilakukan uji Tukey untuk membandingkan perbedaan yang signifikan antara kelompok data satu (isolat) dengan kelompok data (isolat) yang lainnya.

G. Alur penelitian

Alur tahap-tahap penelitian yang dilakukan, yaitu :



Gambar 3.2. Gambar Bagan Alur Penelitian

