

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *true eksperimental-post test control group design* yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh perubahan kadar flavonoid pada penyimpanan ekstrak etanol serai wangi (*Cymbopogon nardus*) terhadap potensinya sebagai insektisida terhadap kecoa (*Periplaneta sp.*) dengan metode semprot.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian adalah kecoa (*Periplaneta sp.*). Sampel adalah bagian dari populasi yang akan diteliti. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kecoa (*Periplaneta sp.*) yang memenuhi kriteria inklusi.

- Kriteria inklusi penelitian ini adalah kecoa (*Periplaneta sp.*) yang aktif bergerak.
- Kriteria eksklusi penelitian ini adalah kecoa (*Periplaneta sp.*) yang mati dan tidak aktif bergerak sebelum percobaan dilakukan.

Sampel penelitian ini adalah kecoa (*Periplaneta sp.*) baik jantan maupun betina dewasa. Jumlah sampel kecoa yang digunakan adalah 10 ekor untuk setiap jenis perlakuan. Jumlah sampel dalam penelitian ini disesuaikan dengan jumlah sampel dari penelitian terhadap kecoa (*Periplaneta sp.*) yang dilakukan oleh Atierah (2013).

Konsentrasi efektif hasil penelitian pendahuluan akan digunakan dalam penelitian utama. Perlakuan yang diberikan pada sampel adalah dengan

repository.ub.ac.id

membagi menjadi 5 kelompok perlakuan dan 2 kelompok kontrol, yang terdiri dari:

1. Kontrol negatif dengan menggunakan *aquadest*
2. Kontrol positif dengan menggunakan *malathion* 0,28%
3. Perlakuan A, yaitu pemberian flavonoid pada ekstrak serai wangi dengan konsentrasi a% segera setelah proses pembuatan ekstrak selesai (hari ke-1)
4. Perlakuan B, yaitu pemberian flavonoid pada ekstrak serai wangi dengan konsentrasi a% pada hari ke-2 dari pembuatan ekstrak
5. Perlakuan C, yaitu pemberian flavonoid pada ekstrak serai wangi dengan konsentrasi a% pada hari ke-3 dari pembuatan ekstrak
6. Perlakuan D, yaitu pemberian flavonoid pada ekstrak serai wangi dengan konsentrasi a% pada hari ke-4 dari pembuatan ekstrak
7. Perlakuan E, yaitu pemberian flavonoid pada ekstrak serai wangi dengan konsentrasi a% pada hari ke-5 dari pembuatan ekstrak

Jumlah pengulangan eksperimen yang dilakukan berdasarkan penghitungan rumus (Tjokronegoro, 2004):

$$P(n-1) \geq 15$$

Keterangan :

P : Banyak kelompok perlakuan

n : Jumlah replikasi (pengulangan)

Berdasarkan rumus diatas perhitungan untuk pengulangan perlakuan adalah:

$$P(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan di atas, pengulangan yang diperlukan dalam penelitian ini minimal adalah 4 kali untuk setiap kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Penelitian ini menggunakan 6 tabung kaca yang masing-masing berisi 10 ekor kecoa. Sehingga jumlah total kecoa yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah:

$$10 \text{ ekor kecoa} \times [(5 \text{ kelompok perlakuan} \times 4 \text{ kali pengulangan}) + (2 \text{ kelompok kontrol} \times 5 \text{ kelompok perlakuan})] = 300 \text{ ekor kecoa.}$$

Setiap pengulangan membutuhkan 60 ekor kecoa. Setelah kecoa diberi perlakuan, dilakukan pencatatan pengaruh kandungan flavonoid pada ekstrak sebelum dan setelah disimpan mulai hari ke-1 sampai dengan hari ke-5 terhadap kematian kecoa.

4.3 Variabel Penelitian

Ada beberapa variabel dalam penelitian ini, yaitu :

1. Variabel Independen (variabel bebas)
 - Lama penyimpanan ekstrak etanol serai wangi (satuan hari).
 - Kadar kandungan flavonoid ekstrak etanol serai wangi (satuan hari).
2. Variabel Dependen (variabel tergantung)
 - Jumlah kecoa (*Periplaneta sp.*) yang mati.

4.4 Tempat dan Waktu Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Kimia Polinema Malang. Penelitian dimulai pada bulan Juli 2016 hingga selesainya penelitian.

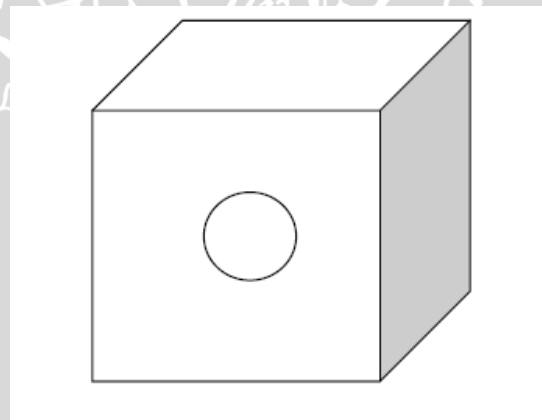
4.5 Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian ini adalah:

- Serai Wangi (*Cymbopogon nardus*) yang digunakan dalam penelitian ini adalah serai wangi yang diperoleh dari daerah Malang, Jawa Timur. Ekstrak etanol serai wangi adalah serai wangi yang sudah dikeringkan yang kemudian diekstraksi dengan pelarut etanol dan dianggap memiliki kandungan ekstrak 100%.
- Kontrol negatif pada penelitian ini menggunakan *aquadest*.
- Kontrol positif pada penelitian ini menggunakan *malathion* 0,28%.
- Kelompok perlakuan pada penelitian ini adalah kecoa (*Periplaneta sp.*) yang telah memenuhi kriteria inklusi.
- Penyimpanan flavonoid pada ekstrak serai wangi (*Cymbopogon nardus*) dilakukan pada suhu ruang di dalam ruangan yang berada di Laboratorium Parasitologi.
- Kadar flavonoid dipresentasikan dari kadar kuersetin yang diukur dengan pembuatan kurva kalibrasi kuersetin.
- Kecoa (*Periplaneta sp.*) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari hasil penangkapan di lingkungan kampus Universitas Brawijaya dan diidentifikasi sebagai berikut: tubuh berwarna coklat atau hitam mengkilat dan mempunyai sepasang

antenna yang panjang, bentuk mulut untuk menggigit (chewing type) dan mempunyai dua pasang sayap. Kecoa yang dipilih adalah kecoa dengan ukuran sedang yaitu antara panjang badan 28-44 mm dan lebar 8-10mm agar tidak terjadi bias karena kemungkinan perbedaan usia. Kecoa diberi makan dan dibiarkan selama empat jam setelah penangkapan. Kecoa yang tetap hidup dan bergerak aktif akan digunakan sebagai sampel.

- Kotak sangkar kaca adalah kotak berukuran 25 cm x 25 cm x 25 cm yang dibuat dengan memodifikasi sangkar dan menempelkan kaca pada semua sisi. Pada satu sisi dibuat lubang untuk tempat tangan masuk untuk menghindari kecoa keluar dari kotak tersebut (Atierah,1964).



Gambar 4.1 Kandang tempat kecoa berukuran 25x25x25 cm

- Efektivitas insektisida diukur dengan melihat adakah penurunan jumlah kecoa yang mati setelah disemprot menggunakan ekstrak etanol serai wangi.
- Kriteria kecoa mati: bila dilakukan sentuhan atau gangguan pada bagian abdomen maupun bagian tubuh yang lain pada kecoa dan tidak didapatkan pergerakan kecoa tersebut.

- Metode semprot adalah metode pemberian insektisida menggunakan *sprayer* yang nantinya ekstrak di dalam *sprayer* tersebut akan disemprotkan ke dalam kandang untuk membasmi insekta yang ada.

4.6 Instrumen Penelitian

4.6.1 Alat-alat Penelitian

Penelitian ini menggunakan tiga kelompok alat, yakni:

- Kelompok pertama adalah alat-alat yang digunakan untuk pembuatan ekstrak flavonoid pada serai wangi (*Cymbopogon nardus*).
- Kelompok kedua adalah alat-alat yang digunakan untuk memperoleh kecoa (*Periplaneta sp.*).
- Kelompok ketiga adalah alat-alat yang digunakan untuk uji potensi kadar flavonoid pada ekstrak serai wangi (*Cymbopogon nardus*) terhadap kecoa (*Periplaneta sp.*) dilihat dari lama penyimpanannya.

4.6.1.1 Alat-alat Ekstraksi Flavonoid Pada Serai Wangi (*Cymbopogon nardus*)

No.	Bahan Penelitian	Fungsi	Keterangan
1	Blender	Menghaluskan serai wangi	
2	<i>Beker glass / Erlenmeyer flask</i>	Merendam bubuk ekstrak serai wangi	1 Liter

3	Timbangan	Untuk menimbang	Satuan gram
4	Kertas Saring	Memisahkan bubuk ekstrak dan pelarut	Saringan Whatman no 40
5	1 set alat evaporasi	Menghilangkan sisa pelarut	
6	Oven	Menghilangkan sisa pelarut	40°C – 50°C
7	Lemari pendingin	Untuk menyimpan ekstrak serai wangi	4°C
8	Plat tetes	Untuk pemeriksaan keberadaan senyawa fenolat	
9	Tabung reaksi	Untuk mencampurkan bahan	
10	Spektrofotometer UV-Vis	Untuk pembuatan kurva kalibrasi kuersetin dan penentuan flavonoid total	Panjang gelombang 510nm
11	Sangkar Kaca	Tempat melakukan penelitian	25cm x 25cm x 25cm
12	<i>Sprayer</i>	Menyemprotkan ekstrak ke kandang	Semprotan parfum ukuran 10ml
13	<i>Timer</i>	Menghitung waktu penelitian	Jam Tangan/HP
14	Gelas Ukur	Wadah ekstrak	25 ml

15	<i>Spuit</i>	Mengambil bahan	
----	--------------	-----------------	--

4.6.1.2 Alat-alat Untuk Persiapan Kecoa (*Periplaneta sp.*)

No.	Bahan Penelitian	Fungsi	Keterangan
1	Sangkar Kaca	Tempat melakukan penelitian	25cm x 25cm x 25cm
2	Jaring Serangga	Menangkap serangga	

4.6.2 Bahan-bahan Penelitian

Penelitian ini menggunakan tiga kelompok bahan, yakni:

- Kelompok pertama merupakan bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan ekstrak flavonoid pada serai wangi (*Cymbopogon nardus*).
- Kelompok kedua adalah bahan-bahan yang digunakan untuk memperoleh kecoa (*Periplaneta sp.*).
- Kelompok ketiga adalah bahan-bahan yang digunakan untuk menguji potensi ekstrak flavonoid pada serai wangi (*Cymbopogon nardus*) sebagai insektisida terhadap kecoa (*Periplaneta sp.*) dilihat dari lama penyimpanannya.

4.6.2.1 Bahan-bahan Ekstraksi Flavonoid Pada Serai Wangi

- Serai wangi yang diperoleh dari tanaman serai wangi di Malang
- Etanol 70% sebagai pelarut ekstrak
- Kloroform/akuades (1/1)
- Pereaksi $AlCl_3$
- Bubuk logam Mg

- Asam klorida (HCl) pekat
- NaNO_2
- NaOH

4.6.2.2 Bahan-bahan Untuk Persiapan Kecoa (*Periplaneta sp.*)

- Larutan glukosa 10%
- Minyak kedelai

4.6.2.3 Bahan-bahan Untuk Uji Ekstrak Flavonoid Pada Serai Wangi Terhadap Kecoa (*Periplaneta sp.*) Dilihat Dari Lama Penyimpanannya

- Ekstrak flavonoid pada serai wangi (*Cymbopogon nardus*)
- Kecoa (*Periplaneta sp.*)
- *Aquadest*

4.7 Cara Kerja Penelitian

4.7.1 Persiapan Penelitian

4.7.1.1 Ekstraksi Zat Aktif Flavonoid Pada Serai Wangi

A. Proses Pembuatan Ekstrak Etanol Serai Wangi

Proses ekstraksi serai wangi (*Cymbopogon nardus*) dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dikarenakan pelarut etanol larut dalam air. Metode ini merupakan salah satu cara untuk memisahkan campuran padat-cair. Prinsip yang dilakukan adalah pemanasan (penguapan), kondensasi, dan proses pengekstrakan. Adapun prosesnya sebagai berikut:

1. Serai wangi yang digunakan dicuci dengan air bersih yang mengalir.

2. Serai wangi yang sudah dicuci kemudian diiris tipis dan dikeringkan di bawah sinar matahari lalu dimasukkan ke dalam oven agar serai wangi tersebut menjadi kering sempurna dengan suhu oven 70°C.
3. Serai wangi dihaluskan menggunakan blender sehingga didapatkan serbuk dan ditimbang hasilnya 100gram.
4. Serbuk serai wangi dimasukkan ke dalam *Erlenmeyer flask* 1L untuk direndam dengan etanol selama satu minggu.
5. Hasil ini selanjutnya akan dievaporasi untuk memisahkan serai wangi dengan pelarut etanol (Mahfud, 2013).

Proses evaporasi bertujuan memisahkan hasil ekstrak yang telah didapat dengan pelarut etanolnya. Prosesnya adalah sebagai berikut:

1. Ambil lapisan atas campuran etanol 70% dengan zat aktif yang sudah terambil.
2. Masukkan ke dalam labu evaporator 1 liter dan isi *water bath* dengan air sampai penuh.
3. Alat evaporasi seperti alat pemanas air, labu penampung hasil evaporasi, *rotary evaporator*, dan tabung pendingin dirangkai sehingga membentuk sudut 30°-40° dari bawah ke atas. Tabung pendingin dihubungkan dengan alat pompa sirkulasi air dingin yang terhubung dengan bak air dingin melalui pipa plastik dan pompa vakum serta labu hasil penguapan.
4. Setelah terhubung, lalu semua alat dinyalakan. Atur *water bath* sampai 90° C agar larutan etanol menguap.
5. Biarkan larutan etanol memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu.

6. Hasil penguapan etanol akan dikondensasikan menuju labu penampung etanol sehingga tidak tercampur dengan hasil evaporasi, sedangkan uap yang lain disedot dengan alat pompa vakum.
7. Tunggu sampai aliran etanol berhenti menetes pada labu penampung (\pm 1,5 sampai 2 jam untuk satu labu).
8. Hasil evaporasi kemudian ditampung dalam cawan penguap kemudian di oven pada suhu 50-60° C selama 1-2 jam, untuk menguapkan pelarut yang tersisa sehingga didapatkan hasil ekstrak serai wangi 100%.
9. Hasil yang diperoleh kira-kira 1/3 dari bahan alam kering (Martono, 2002).

B. Analisis Kualitatif Senyawa Fenolat dan Flavonoid

1. Masing-masing ekstrak (1g) ditambahkan pelarut campuran kloroform/akuades (1/1).
2. Campuran dikocok dalam tabung reaksi dan dibiarkan sejenak hingga terbentuk dua lapisan.
3. Lapisan air yang berada dia atas digunakan untuk pemeriksaan flavonoid dan fenolat (Rohman dkk., 2003).

C. Pemeriksaan Keberadaan Senyawa Flavonoid

1. Lapisan air diambil sedikit kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi.
2. Kemudian ditambahkan sedikit bubuk logam Mg serta beberapa tetes asam klorida (HCl) pekat ke dalam tabung reaksi.
3. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna kuning-orange.

D. Pembuatan Kurva Kalibrasi Kuersetin

Kurva standar kuersetin dibuat berdasarkan metode Rohman dkk. (2006).

1. Larutan kuersetin (dalam methanol) dibuat dalam konsentrasi 700, 800, 900, 1000 dan 1100 mg/L.
2. Sebanyak 0,5mL larutan dari berbagai konsentrasi direaksikan dengan 2mL akuades dan 0,15mL NaNO_2 5% kemudian didiamkan selama 6 menit.
3. Sebanyak 0,15mL AlCl_3 10% ditambahkan ke dalam larutan, kemudian didiamkan kembali selama 6 menit.
4. Larutan direaksikan dengan 2mL NaOH 4% kemudian diencerkan hingga volume total mencapai 5mL dan didiamkan selama 15 menit.
5. Pada akhirnya, absorbansi dari larutan standar diukur pada panjang gelombang 510 nm menggunakan *spektrofotometer UV-Vis*.
6. Kurva standar diperoleh dari hubungan antara konsentrasi kuersetin (mg/L) dengan absorbansi.

E. Penentuan Kadar Flavonoid

Penentuan flavonoid yang dipresentasikan dari kadar kuersetin ditentukan berdasarkan metode Rohman dkk. (2006).

1. Sebanyak 0,5mL dari tiap larutan ekstrak direaksikan dengan 2mL akuades dan 0,15mL NaNO_2 5% kemudian didiamkan selama 6 menit.
2. Sebanyak 0,15mL AlCl_3 10% ditambahkan kedalam larutan, kemudian didiamkan kembali selama 6 menit.

3. Larutan direaksikan dengan 2mL NaOH 4% kemudian diencerkan hingga volume total mencapai 5mL dan didiamkan selama 15 menit.
4. Pada akhirnya absorbansi dari larutan ekstrak diukur pada panjang gelombang 510nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.
5. Pengukuran juga dilakukan terhadap blanko berupa akuades. Kandungan flavonoid dinyatakan sebagai jumlah g kuersetin ekuivalen tiap g ekstrak.

4.7.1.2 Persiapan Kecoa (*Periplaneta sp.*)

Kecoa (*Periplaneta sp.*) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari hasil penangkapan di lingkungan kampus Universitas Brawijaya yang dimasukkan plastik pada hari dan waktu yang sama. Kecoa (*Periplaneta sp.*) yang telah diidentifikasi sebelumnya diletakkan dalam sangkar kaca yang telah disediakan untuk kemudian digunakan sebagai sampel penelitian.

4.7.2 Pelaksanaan Penelitian

4.7.2.1 Pembuatan Konsentrasi Larutan

Ekstrak etanol serai wangi yang tersimpan di lemari pendingin disesuaikan suhunya dengan suhu ruangan dengan cara membiarkan di suhu ruangan selama 15 menit dan dianggap memiliki konsentrasi 100%. Larutan stok ekstrak serai wangi kemudian diencerkan dengan larutan *aquades* sehingga didapatkan dosis yang diinginkan dengan menggunakan rumus pengenceran:

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

Keterangan:

M1 : Konsentrasi larutan stok yang besarnya 100%

M2 : Konsentrasi larutan yang diinginkan

V1 : Volume larutan stok yang harus dilarutkan

V2 : Volume larutan perlakuan

Cara pembuatan dosis larutan pada perlakuan yang diinginkan adalah sebagai berikut :

Untuk membuat Larutan 40% sebanyak 5ml, dibutuhkan larutan stok sebanyak :

$$100\% \times V1 = 40\% \times 5\text{ml}$$

$$V1 = 2,0\text{ml}$$

Larutan stock 2,0ml kemudian dilarutkan dengan 3,0ml pelarut sehingga didapatkan jumlah volume total sebanyak 5ml.

4.7.2.2 Penelitian Pendahuluan

Sebelum dilakukan penelitian utama dilakukan penelitian pendahuluan yang bertujuan untuk mengkonfirmasi pengaruh lama penyimpanan efektivitas konsentrasi ekstrak serai wangi (*Cymbopogon nardus*) berdasarkan penelitian sebelumnya (Atierah, 2012), dimana konsentrasi terendah yang efektif sebagai insektisida untuk Kecoa (*Periplaneta sp.*) adalah 40%. Penelitian pendahuluan ini akan menggunakan tiga konsentrasi yaitu 37,5%, 40%, dan 42,5% dan dilakukan dengan pengulangan sebanyak 4 kali. Hasil dari penelitian pendahuluan tentang konsentrasi terendah untuk serai wangi yang efektif sebagai insektisida digunakan sebagai konsentrasi pada penelitian utama.

4.7.2.3 Prosedur Penelitian

1. Siapkan empat sangkar kaca untuk uji insektisida.
2. Masukkan kecoa (*Periplaneta sp.*) sebanyak 10 ekor ke dalam masing-masing sangkar kaca yang akan diteliti.
3. Siapkan alat-alat yang akan digunakan untuk membuat larutan pengujian antara lain: gelas ukur dan *sprayer*.
4. Siapkan stok larutan uji disiapkan dalam konsentrasi a% serta kontrol negatif dan kontrol positif,
5. Larutan uji yang telah disiapkan dimasukkan ke dalam gelas ukur 5 ml.
6. Dengan menggunakan *sprayer*, larutan dengan konsentrasi tersebut serta kontrol negatif kemudian disemprotkan ke dalam sangkar kecoa sebanyak 5 ml.
7. Pengamatan terhadap perlakuan dilakukan 24 jam setelah waktu penyemprotan selesai dan diamati pada hari ke-1, 2, 3, 4, dan 5 serta dihitung jumlah kecoa yang mati.
8. Pengulangan dilakukan sebanyak 4 kali pada masing-masing perlakuan.

4.8 Pengumpulan Data

Data hasil yang telah diperoleh dari penelitian dimasukkan kedalam tabel dan diklasifikasikan menurut jumlah kecoa yang mati, pengulangan, dan waktu lama penyimpanan. Hasil tersebut akan diuji dengan uji statistik.



4.9 Tabulasi Data

Persentasi kemampuan ekstrak serai wangi sebagai insektisida dihitung menggunakan formula Abbot dengan rumus (Boesri dkk, 2000):

$$A_1 = \frac{A-B}{100-B} \times 100\%$$

Keterangan:

- A1: Persentase kematian kecoa setelah koreksi.
 A: Persentase kematian kecoa uji.
 B: Persentase kematian kecoa kontrol positif.

4.10 Analisis Data

Data-data yang telah dikelompokkan dan ditabulasi kemudian dilakukan analisis statistic dengan menggunakan fasilitas SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) 16.0 for *Windows* dengan tingkat signifikansi atau nilai probabilitas 0,05 ($p = 0,05$) dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

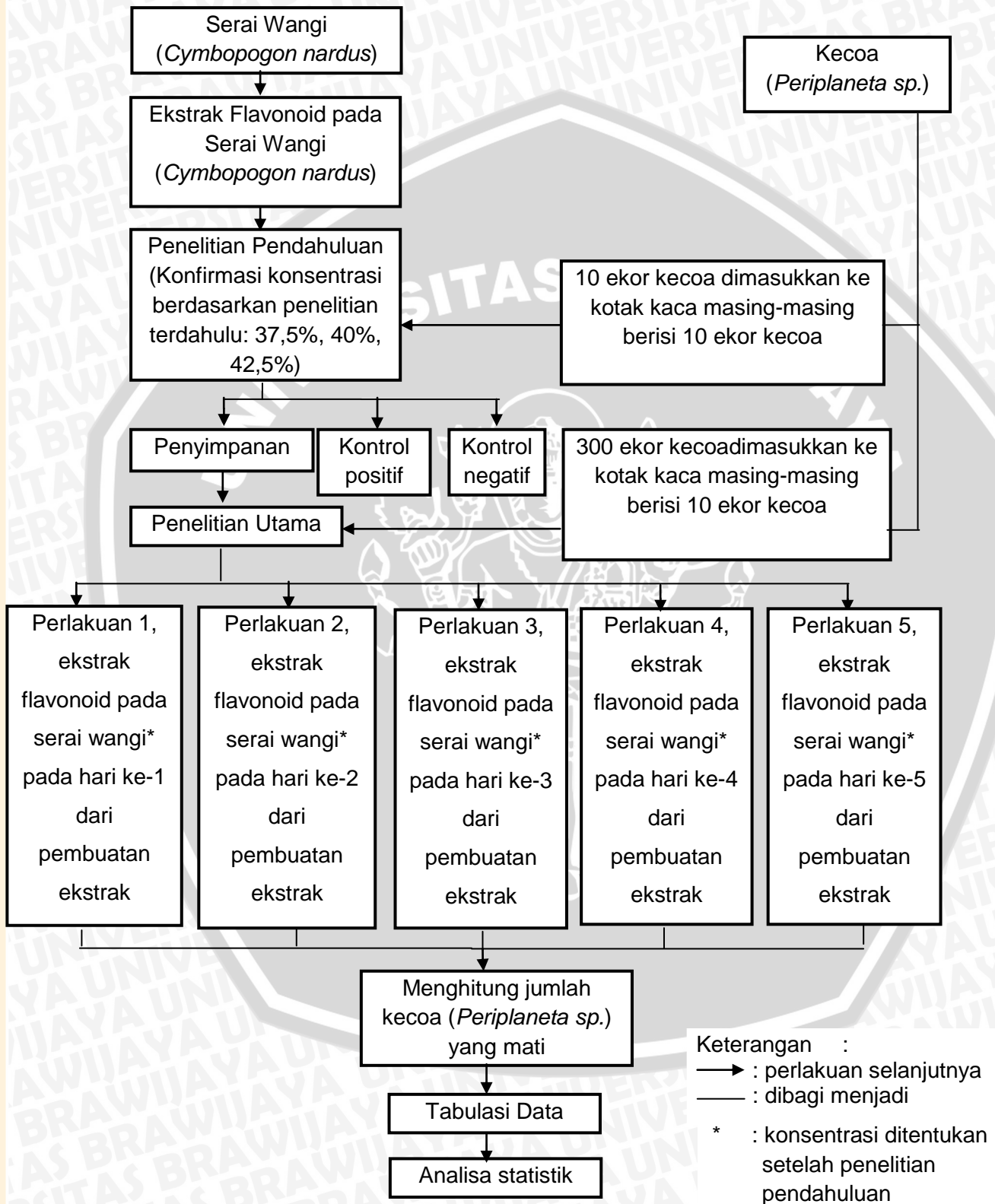
Untuk mengetahui apakah terdapat keragaman antar perlakuan dilakukan uji hipotesis komparatif. Metode yang dapat digunakan yaitu uji *One-way ANOVA* dengan alternatifnya yaitu uji *Kruskal-Wallis*. Metode *One-way ANOVA (Analysis of Variance)* dapat digunakan jika data memenuhi syarat-syarat sebagai berikut (Dahlan, 2004),

1. Terdapat lebih dari dua kelompok yang tidak berpasangan.
2. Distribusi data normal, yang dapat diketahui dari uji normalitas (*Kolmogorov-Smirnov*). Jika distribusi data tidak normal, maka diupayakan untuk melakukan transformasi data supaya distribusi data menjadi normal.

3. Varian data sama atau homogen, yang dapat diketahui dari uji homogenitas. Jika varian data tidak sama atau homogen, maka diupayakan untuk melakukan transformasi data supaya varian data menjadi sama atau homogen.
4. Jika data hasil transformasi tidak berdistribusi normal atau varian tetap tidak sama, maka alternatifnya dipilih uji *Kruskal-Wallis*.

Jika pada uji *One-way ANOVA* atau *Kruskal-Wallis* juga didapatkan nilai $p < 0,05$, maka dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh perbedaan hari penyimpanan terhadap potensi insektisida. Kemudian untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda dilakukan *post-hoc test* dengan uji *Tukey HSD* untuk data yang menggunakan uji *One-way ANOVA* dan uji *Mann-Whitney* untuk data yang menggunakan uji *Kruskal-Wallis* (Dahlan, 2004). Kemudian untuk mengetahui apakah terdapat korelasi antara perbedaan lama waktu penyimpanan dengan besarnya potensi flavonoid sebagai insektisida pada ekstrak etanol serai wangi dilakukan uji korelasi *Pearson* atau *Spearman* (Dahlan, 2004). Untuk menguji besarnya pengaruh faktor lama waktu penyimpanan dengan penurunan kadar flavonoid dan masing-masing faktor terhadap jumlah kematian kecoa dilakukan dengan uji regresi.

4.11 Diagram Alur Kerja Penelitian



Gambar 4.2 Diagram Alur Kerja Penelitian.