

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah rimpang tanaman *Zingiber aromaticum* Vahl. yang dibudidayakan di Desa Sambilawang Desa Plaosan Kabupaten Magetan. Rimpang ini dibersihkan dahulu dengan air mengalir sampai terbebas dari lumpur dan kotoran- kotoran lainnya.

Untuk pembuatan simplisia kering, rimpang yang telah bersih dan bebas dari sisa air cucian kemudian diiris melintang dengan ketebalan antara 2mm hingga 4 mm. Rimpang yang sudah diiris kemudian dikeringkan di sinar matahari langsung dengan alas yang berlubang. Penyimpanan dilakukan setelah kering (Sirait, 1985). Simplisia kering tersebut lantas digiling menjadi bentuk serbuk yang akan digunakan untuk analisis fisikokimia, pengamatan mikroskopi, dan dimaserasi menggunakan etanol 96%. Minyak atsiri lempuyang wangi didapatkan dari rimpang segar dengan metode destilasi air-uap air.

4.2. Alat Penelitian

1. Mikroskop trinokuler Olympus VG-110
2. Labu alas bulat dan pendingin balik
3. Furnace Thermolyne 48000
4. Oven MMM Medcenter Venticell
5. Neraca Analitik Adventurer OHAUS
6. Alat-alat gelas

7. Lempeng silika GF254
8. Bejana kromatografi CAMAG
9. Lampu UV
10. Alat destilasi uap air
11. Alat uji aktivitas antimikroba

4.3. Bahan Kimia Yang Digunakan

Aquadest, Kloralhidrat, Etanol 96%, n-heksan, HCl, NaCl, NH₄OH, CHCl₃, NaSO₄, Asam asetat anhidrat, H₂SO₄, FeCl₃, Magnesium, Butanol, Gelatin, Asam asetat glasial, Asam asetat, Etil asetat, Toluena, Pereaksi Wagner, Pereaksi Meyer, Pereaksi Bouchardat, Pereaksi Dragendorf, Anisaldehyda-asam sulfat, Larutan KOH 10% methanol, Ammonia.

4.4. Cara Kerja

4.4.1. Uji Makroskopik

Dilakukan pengamatan terhadap rimpang segar dan simplisia yang dilakukan dengan menggunakan kaca pembesar atau tanpa menggunakan alat. Cara ini digunakan untuk mencari kekhususan morfologi, ukuran, dan warna baik dari rimpang segar maupun simplisia yang diuji (Midian dkk, 1978). Selain itu, juga dilakukan pemeriksaan organoleptis terhadap rimpang segar dari lempuyang wangi yang meliputi warna, bau, dan rasa.

4.4.2. Uji Mikroskopik

Dilakukan dengan membuat irisan tipis pada rimpang *Zingiber Aromaticum* Vahl. yang langsung diamati

dalam media air di bawah mikroskop. Disini digunakan mikroskop yang derajat pembesarannya sudah disesuaikan dengan keperluan untuk mempelajari anatomi dan histologi rimpang *Zingiber aromaticum* Vahl. Untuk mempermudah pengamatan dapat dilakukan pewarnaan

Untuk pengamatan serbuk *Zingiber aromaticum* Vahl. dilakukan dengan cara yang sama seperti diatas hanya irisan melintang rimpang *Zingiber aromaticum* Vahl. diganti dengan serbuk rimpang *Zingiber aromaticum* Vahl.

Pengamatan terhadap fragmen dan tertentu dapat dilakukan dengan cara menambahkan pereaksi warna tertentu, antara lain digunakan kloralhidrat dan lantas dipanaskan. Hal ini dilakukan untuk melarutkan sitoplasma sel sehingga jaringan tumbuhan yang akan diamati dapat terlihat lebih jelas.

4.4.3. Pembuatan Minyak Atsiri

Penyulingan minyak atsiri dilakukan dengan menggunakan air dan uap. Rimpang segar yang diinginkan minyak atsirinya dibersihkan, dikupas, lalu diiris tipis. Alat yang digunakan dalam penyulingan ini adalah alat semacam dandang. Rimpang diletakkan di bagian atas yang berlubang sedangkan air diletakkan di bagian bawah yang dipanaskan sehingga uap akan naik. Uap yang mengandung minyak atsiri lantas dialirkan melalui pendingin dan hasil sulingan ditampung (Sirait, 1985).

Minyak yang didapatkan lalu ditambahkan pelarut n-heksan dengan perbandingan 1:3 untuk dianalisa menggunakan kromatografi gas-spektrofotometri massa. Sedangkan untuk uji antimikroba digunakan minyak atsiri tanpa pelarut apapun.

4.4.4. Analisis Fisikokimia

4.4.4.1. Penetapan Kadar Abu

Lebih kurang 2g – 3g zat yang telah digerus ditimbang dengan seksama dimasukkan dalam krus platina atau krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara, ratakan. Pijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, dinginkan, dan timbang. Jika dengan cara ini arang tidak dapat dihilangkan, tambahkan air panas, saring melalui kertas saring bebas abu. Pijarkan sisa dan kertas saring dalam krus yang sama. Masukkan filtrat ke dalam krus, uapkan, pijarkan hingga bobot tetap, timbang. Hitung kadar abu terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Depkes RI, 1989).

4.4.4.2. Penetapan Kadar Abu Yang Tidak Larut Dalam Asam

Abu yang diperoleh pada Penetapan Kadar Abu, dididihkan dengan 25 ml asam klorida encer P selama 5 menit, kumpulkan bagian yang tidak larut dalam asam, saring melalui krus kaca masir atau kertas saring bebas abu, cuci dengan air panas, pijarkan hingga bobot tetap, timbang.

Hitung kadar air yang tidak larut dalam asam terhadap bahan yang dikeringkan di udara (Depkes RI, 1989).

4.4.4.3. Penetapan Kadar Abu Yang Larut Air

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu, dididihkan dengan 25 ml air selama 5 menit, kumpulkan bagian yang tidak larut, saring melalui krus kaca masir atau kertas saring bebas abu, cuci dengan air panas dan pijarkan selama 15 menit pada suhu tidak lebih dari 450 °C, hingga bobot tetap, timbang. Perbedaan bobot sesuai dengan jumlah abu yang terlarut dalam air. Hitung kadar abu yang larut dalam air terhadap bahan yang dikeringkan di udara (DepkesRI, 1989).

4.4.4.4. Penetapan Kadar Sari Yang Larut Dalam Air

Keringkan serbuk di udara, maserasi selama 24 jam 5,0 g serbuk dengan 100 ml air kloroform P, menggunakan labu bersumbat sambil berkali – kali dikocok selama 6 jam pertama kemudian dibiarkan selama 18 jam. Saring, uapkan 20 ml filtrat hingga kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara, panaskan sisa pada suhu 105 °C hingga bobot tetap. Hitung kadar dalam persen sari yang larut dalam air, dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Depkes RI, 1989).

4.4.4.5. Penetapan Kadar Sari Yang Larut Dalam Etanol

Keringkan serbuk di udara, maserasi selama 24 jam 5,0 g serbuk dengan 100 ml etanol (95%), menggunakan labu bersumbat sambil berkali – kali dikocok selama 6 jam pertama kemudian dibiarkan selama 18 jam. Saring, cepat dengan menghindarkan penguapan etanol (95%), uapkan 20 ml filtrat hingga kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara, panaskan sisa pada suhu 105 °C hingga bobot tetap. Hitung kadar dalam persen sari yang larut dalam etanol (95%), dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Depkes RI, 1989).

4.4.4.6. Penetapan Susut Pengeringan

Susut pengeringan adalah kadar bagian yang menguap suatu zat. Kecuali dinyatakan lain, suhu penetapan adalah 105 °C dan susut pengeringan ditetapkan sebagai berikut : Timbang seksama 1 g sampai 2 g zat dalam bobot timbang dangkal tertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu penetapan selama 30 menit dan telah ditara. Jika zat berupa hablur besar, sebelum ditimbang digerus dengan cepat hingga ukuran butiran lebih kurang 2 mm. Ratakan zat dalam botol timbang dengan menggoyangkan botol, hingga merupakan lapisan setebal lebih kurang 5 mm sampai 10 mm, masukkan ke dalam ruang pengering, buka tutupnya, keringkan pada suhu penetapan hingga bobot tetap. Sebelum setiap pengeringan, biarkan botol dalam keadaan tertutup

mendingin dalam aksikator hingga suhu kamar. Jika suhu lebur zat lebih rendah dari suhu penetapan, pengeringan dilakukan pada suhu antara 5° dan 10° dibawah suhu leburnya selama 1 jam sampai 2 jam, kemudian pada suhu penetapan selama waktu yang ditentukan atau hingga bobot tetap (Depkes RI, 1989).

4.4.5. Skrining Fitokimia

Bahan yang berupa simplisia kering dilakukan pengecilan ukuran partikel hingga diperoleh serbuk simplisia yang halus. Serbuk simplisia rimpang lempuyang ditimbang sebanyak 100 gram lalu diekstraksi dengan maserasi menggunakan pelarut etanol sebanyak tiga kali, masing-masing selama satu jam.

4.4.5.1. Pemeriksaan Alkaloid

Ekstrak setara dengan 20 gram bahan dipanaskan di atas penangas air. Setelah konsistensinya menjadi seperti sirup, didinginkan dan ditambahkan 10 ml HCl 2N lalu dipanaskan kembali di atas penangas air selama 3-5 menit. Setelah dingin ditambahkan 0,5 gram NaCl, lalu disaring. Penambahan NaCl dilakukan untuk mengendapkan protein yang dapat memberikan reaksi positif palsu. Filtrat yang terkumpul digunakan untuk uji pengendapan dan kromatografi lapis tipis.

Filtrat digunakan untuk petunjuk alkaloid dengan penambahan pereaksi. Pereaksi yang digunakan antara lain

Wagner, Meyer, dan Bouchardat. Ekstrak dinyatakan mengandung alkaloid bila timbul endapan.

Selain itu, filtrat yang terbentuk ditambahkan NH_4OH hingga alkalis, diekstraksi dengan 10ml CHCl_3 . Fase kloroform ditambah dengan NaSO_4 , disaring, kemudian diuapkan sampai kering. Ekstrak kloroform dilarutkan dalam metanol untuk uji KLT.

Fase gerak : aseton : air : ammonia (40 : 7 : 3)

Penampak noda : pereaksi Dragendorff

Dinyatakan positif jika terjadi noda merah jingga. (Fong, Tin-Wa and Fransworth, 1990) (Harborne, 1973)

4.4.5.2. Pemeriksaan Glikosida Saponin

Tes Buih Saponin

Ekstrak yang setara dengan 2 gram bahan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dikocok kuat dengan air suling sebanyak 10 ml. Hasil dinyatakan positif apabila terjadi buih setinggi 3 cm di atas permukaan cairan yang stabil selama 30 menit. (Fong, Tin-Wa and Fransworth, 1990)

Reaksi Warna

Ekstrak yang setara dengan 10 gram bahan diuapkan di atas penangas air hingga kering. Setelah dingin, kocok dengan 10 ml n-heksan, filtrat yang ada dibuang. Pengocokan diulang hingga n-heksan tidak berwarna. Residu yang terbentuk ditambah dengan 10 ml CHCl_3 , kemudan

digojok selama 5 menit, didekantir dalam tabung reaksi yang berisi 100mg NaSO₄ anhidrat, saring. Filtrat dibagi menjadi 3 (A, B, C)

Tes Liebermann-Buchard

Filtrat A digunakan sebagai blanko, filtrat B ditambah 3 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat, kemudian dikocok pelan. Dinyatakan positif apabila terbentuk warna hijau-biru untuk saponin steroid, merah-violet untuk saponin triterpenoid, dan kuning muda untuk saponin tak jenuh.

Tes Salkowski

Filtrat A digunakan sebagai blanko, filtrat C ditambah 1-2 ml H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung reaksi. Dinyatakan positif mengandung sterol tak jenuh apabila terbentuk cincin berwarna merah.

Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak yang setara dengan dengan 10 gram bahan ditambah dengan 2 ml HCl 1N, direfluks di atas penangas air selama 2 hingga 6 jam. Hal ini dilakukan untuk menghidrolisis saponin. Setelah dingin, dilakukan penetralan menggunakan ammonia lalu diuapkan di atas penangas air hingga kental. Ditambahkan 3 ml n-heksan, kemudian diekstraksi sebanyak 3 kali. Fase n-heksan dikumpulkan lalu diuapkan dan ditambah 5 tetes kloroform.

Fase gerak : n-heksan : etil asetat (3:2)

Fase diam : Silika Gel GF254

Penampak noda : Anisaldehyd-asam sulfat

Ekstrak dianggap positif mengandung glikosida saponin apabila terjadi noda berwarna merah ungu setelah lempeng KLT dipanaskan di atas *hot plate* (Fong, Tin-Wa and Fransworth, 1990).

4.4.5.3. Pemeriksaan Glikosida Jantung

Ekstrak setara dengan 10 gram bahan diuapkan di atas penangas air hingga kering. Ekstraksi berulang menggunakan n-heksan hingga n-heksan tidak berwarna. Residu diuapkan untuk menghilangkan n-heksan, lalu ditambahkan FeCl_3 , aduk dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. H_2SO_4 ditambahkan melalui dinding tabung. Reaksi positif adanya gula 2 deoksi ditunjukkan oleh adanya cincin ungu (Fong, Tin-Wa and Fransworth 1990).

4.4.5.4. Pemeriksaan Glikosida Antrakuinon

Reaksi Warna

Tes Borntrager

Ekstrak setara dengan 1 gram bahan diuapkan hingga kering. Setelah dingin, ditambahkan 10 ml air suling dan disaring. Filtrat diekstraksi menggunakan toluena 5 ml menggunakan corong pisah sebanyak 2 kali. Fase toluena

diambil dan dipisahkan menjadi 2 (A dan B). Fase A digunakan sebagai blanko. Fase B ditambah 5 ml ammonia dan dikocok. Reaksi positif apabila terjadi warna merah pada lapisan alkali (Fong, Tin-Wa and Fransworth, 1990).

Modifikasi Borntrager Test

Ekstrak setara dengan 1 gram bahan diuapkan hingga kering. Setelah dingin ditambahkan 10 ml KOH 5N dan 1 ml H₂O₂ encer, dipanaskan di atas penangas air selama 10 menit kemudian disaring. Filtrat ditambah dengan asam asetat glasial hingga asam lalu diekstraksi dengan 5 ml toluena sebanyak 2 kali. Fase toluena diambil dan dipisahkan menjadi 2 (A dan B). Fase A digunakan sebagai blanko. Fase B ditambah 2-5 ml larutan ammonia. Reaksi positif apabila terjadi warna merah pada lapisan alkali (Fong, Tin-Wa and Fransworth, 1990).

Kromatografi Lapis Tipis

Fase diam : silika gel GF254

Fase gerak : Kloroform : etil asetat : asam asetat (75:24:1)

Penampak noda : Larutan KOH 10% metanol

Ekstrak ditotolkan pada fase diam kemudian dievaluasi menggunakan fase gerak. Dinyatakan positif apabila terbentuk noda kuning, kuning-coklat, merah, violet, atau hijau (Fong, Tin-Wa and Fransworth, 1990).

4.4.5.5. Pemeriksaan Flavonoid

Reaksi Warna

Ekstrak yang setara dengan 10 gram bahan dipanaskan di atas penangas air hingga kering, ekstraksi berulang menggunakan n-heksan hingga cairan tidak berwarna. Residu ditambah dengan 20 ml etanol 80% lalu disaring. Filtrat dibagi menjadi 4 bagian (A, B, C, D).

Tes Bate Smith & Metcalf

Filtrat A digunakan sebagai blanko. Filtrat B ditambah dengan 0,5 ml HCl pekat lalu dipanaskan selama 15 menit di atas penangas air. Reaksi dianggap positif bila terjadi warna merah terang atau ungu (menunjukkan adanya leukoantosianin).

Tes Wilstater

Filtrat A digunakan sebagai blanko. Filtrat C ditambah dengan 0,5 ml HCl pekat dan 4 potong magnesium. Amati warna yang terjadi lalu encerkan menggunakan air suling, kemudian ditambahkan 1 ml butanol. Perubahan warna menjadi merah jingga, merah pucat, dan merah tua secara berturut-turut menunjukkan adanya flavon, flavonol, dan flavanon.

Kromatografi Lapis Tipis

Fase diam : silika gel GF 254

Fase gerak : butanol : asam asetat glasial : air (4 : 1 : 5)

Penampak noda: sitrat borat atau CeSO_4 atau uap ammonia

Ekstrak etanol ditotolkan pada fase diam kemudia dieluasi menggunakan fase gerak. Setelah eluasi selesai dan plat kering, diamati dengan pereaksi sitrat borat dan dilihat dibawah sinar UV. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan adanya noda kuning terang, coklat lemah, kuning hijau, dan merah jingga. Apabila disemprot dengan CeSO_4 akan muncul warna oranye kecoklatan. Apabila dialiri dengan uap ammonia maka akan timbul warna kuning yang tidak permanen. (Fong, Tin-Wa and Fransworth 1990)

4.4.5.6. Pemeriksaan Tanin dan Senyawa Polifenol

Ekstrak setara dengan 10 gram bahan diuapkan di atas penangas air hingga kering. Ditambahkan 20 ml air suling panas ketika sudah dingin, dikocok hingga homogen kemudian ditambahkan 5 tetes NaCl 10% dan disaring. Penambahan NaCl dimaksudkan untuk mengendapkan hal-hal lain. Filtrat dibagi menjadi empat bagian (A, B, C, D)

Tes Gelatin

Filtrat A digunakan sebagai blanko. Filtrat B ditambah larutan gelatin 1%, diamati endapan yang terjadi.

Tes Gelatin – NaCl

Filtrat A digunakan sebagai blanko. Filtrat C ditambah larutan gelatin 1%, lalu ditambah dengan larutan NaCl 10%. Diamati endapan yang terjadi.

Tes Ferri Klorida

Filtrat A digunakan sebagai blanko. Filtrat D ditambah pereaksi Ferri Klorida. Diamati terjadinya perubahan warna.

Hasil reaksi yang terjadi dapat dilihat pada :

Tabel 4. 1 Reaksi Warna untuk Tanin dan Senyawa Polifenol

No.	Reagen			Keterangan	
	Gelatin	Gelatin- NaCl	FeCl ₃	Tanin	Polifenol
1	-	-	-	-	-
2	-	-	Hijau-biru Hijau-hitam	Katekol	-
3	+	+	Biru hitam	Poligoliol	-
4	-	-	Hijau-biru- hitam	-	+

4.4.6. Uji Aktivitas Antimikroba

4.4.6.1. Penyiapan Media

Pembuatan media agar Mueller Hinton

Dilakukan menurut E Merck dengan cara menimbang 36,5 gram media agar Mueller Hinton kemudian dilarutkan dalam 1000 mL air suling. Didihkan campuran tersebut, atur pH 7,2 – 7,4 dan volume agar tidak berubah. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam tabung bertutup ulir masing-masing sebanyak 4,5 mL. Disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

Pembuatan media Saburoud Dextrose Agar

Dilakukan menurut FI IV dengan cara menimbang 65 gram media Saburoud Dextrose Agar instan kemudian dilarutkan ke dalam 1000 ml air suling. Didihkan campuran tersebut, atur pH 7,2 – 7,4 dan volume agar tidak berubah. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam tabung bertutup ulir masing-masing sebanyak 4,5 ml. Disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

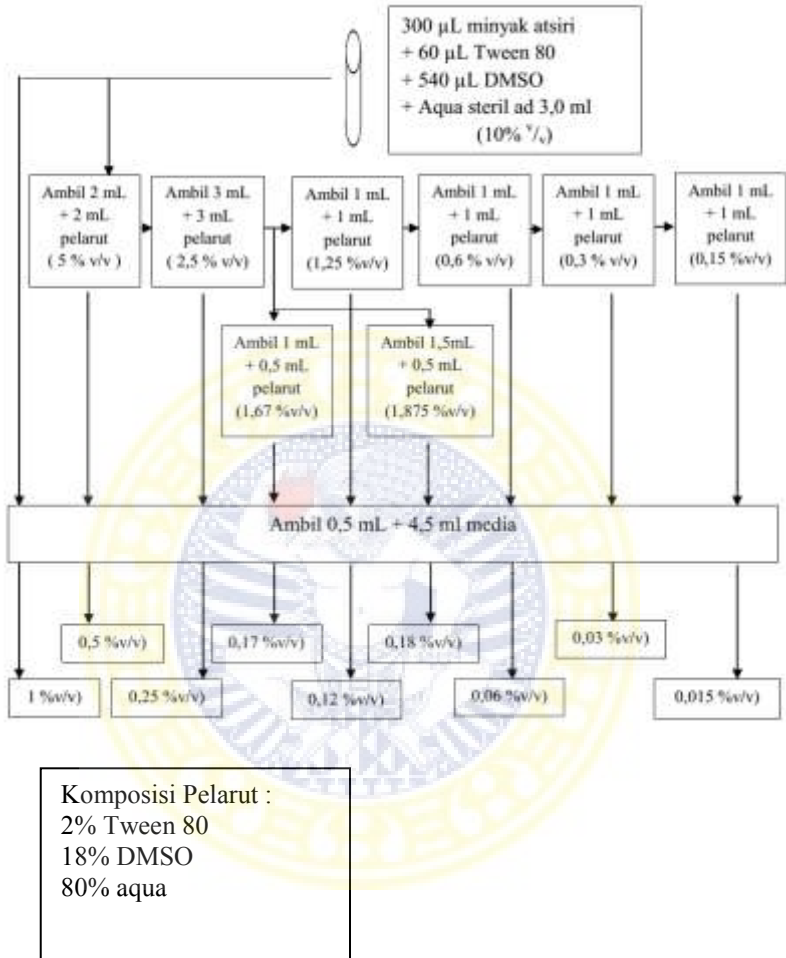
4.4.6.2. Pembuatan Inokulum

Sejumlah tertentu koloni bakteri dan jamur diambil dengan sengkeli dari biakan sediaan lalu disuspensikan dalam agar miring dan diinkubasi pada suhu 35-37 °C selama 24-48 jam. Koloni yang sudah diinkubasi diambil dari agar miring menggunakan sengkeli, ditambah dengan salin steril 10 ml dan dikocok hingga homogen. Kekeruhan suspense

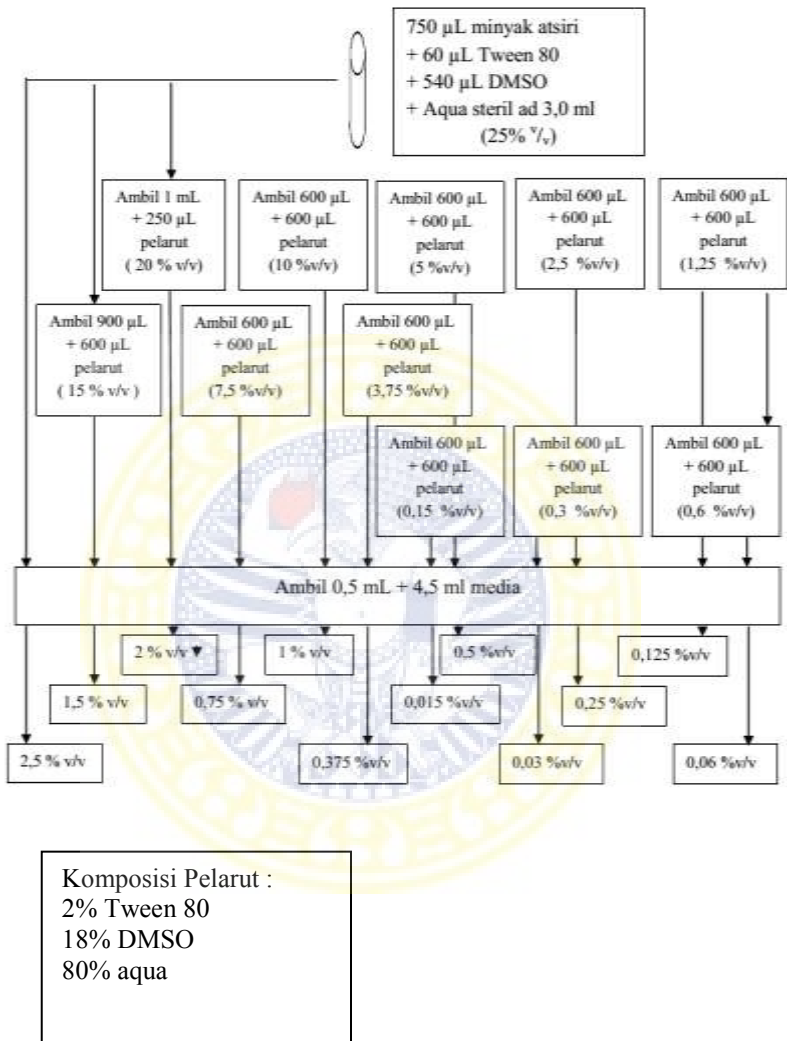
bakteri diukur dengan Spektrofotometer pada panjang gelombang 580 nm hingga diperoleh transmittan 25%. Larutan salin digunakan sebagai blanko.

4.4.6.3. Pembuatan Larutan Uji

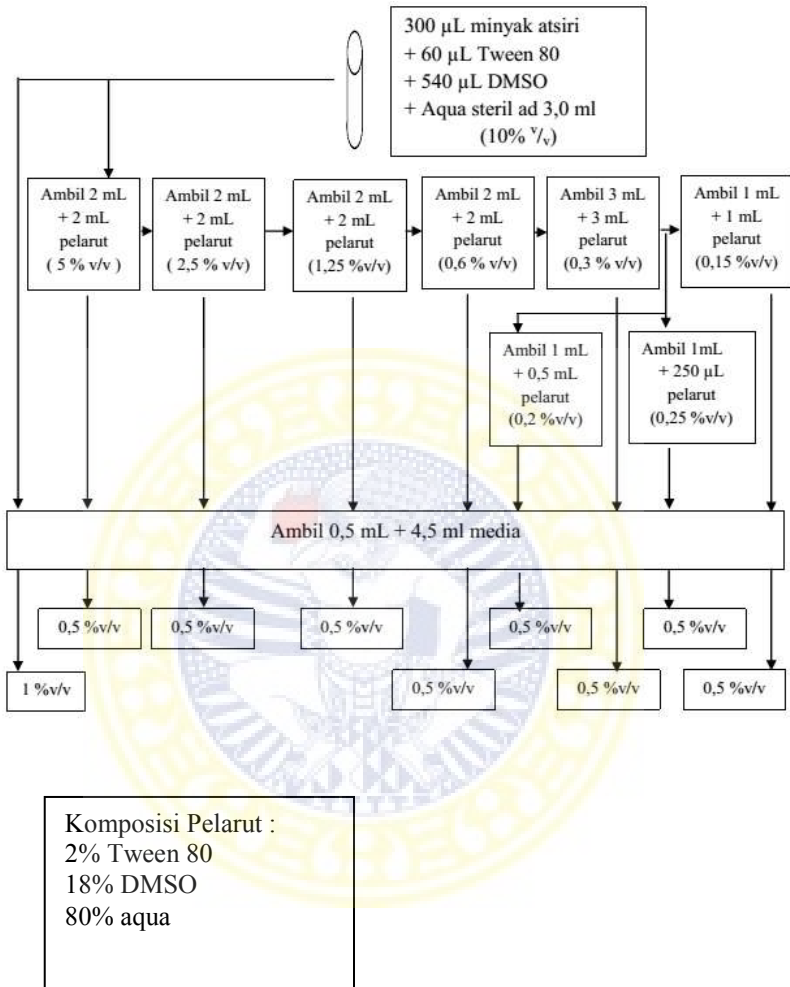
Minyak atsiri sebanyak 200 μL dilarutkan dalam 40 μL Tween 80 dan 360 μL DMSO, lalu ditambah dengan air steril hingga 2 ml, kocok hingga homogen. Larutan ini mempunyai konsentrasi 10 % v/v. Larutan ini lalu diencerkan menggunakan larutan 2% Tween 80, 18 % DMSO, dan 80% aquadest hingga memiliki konsentrasi 5% v/v; 2,5% v/v; 1,25% v/v; 0,625% v/v; 0,3125% v/v; dan 0,156% v/v. Larutan tersebut masing-masing dipipet sebanyak 500 μL lalu diencerkan kembali hingga sampai 5 ml sehingga didapat konsentrasi akhir 1% v/v; 0,5% v/v; 0,25% v/v; 0,125% v/v; 0,06% v/v; 0,03% v/v; dan 0,015% v/v. Setelah diketahui KHM sementara dari minyak atsiri tersebut, konsentrasi yang bersangkutan dipersempit jaraknya agar bisa didapatkan KHM yang pasti.



Gambar 4.1 Skema Pembuatan Larutan Uji Aktivitas Antijamur terhadap *Candida albicans*



Gambar 4.2 Skema Pembuatan Larutan Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *Escherichia coli*



Gambar 4.3 Skema Pembuatan Larutan Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*

4.4.6.4. **Pembuatan Larutan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif**

Kontrol positif untuk bakteri digunakan Streptomycin. Streptomycin 50 mg dilarutkan dengan larutan pengencer hingga 5 ml dan didapat konsentrasi 10.000 ppm. Larutan itu kemudian diambil sebanyak 0,5 ml dan dimasukkan ke dalam tabung yang telah berisi 4,5 ml media dan 5 μ L inokulum bakteri. Campuran ini lalu dihomogenkan dan dituang ke cawan petri. Konsentrasi akhir streptomycin yang didapat adalah 1000 ppm.

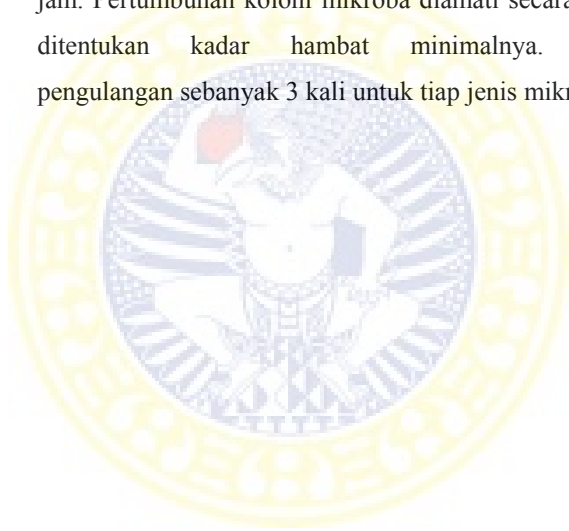
Kontrol positif untuk jamur digunakan Ketokonazole. Ketokonazole 50 mg dilarutkan dengan larutan pengencer hingga 5 ml dan didapat konsentrasi 10.000 ppm. Larutan itu kemudian diambil sebanyak 0,5 ml dan dimasukkan ke dalam tabung yang telah berisi 4,5 ml media dan 5 μ L inokulum jamur. Campuran ini lalu dihomogenkan dan dituang ke cawan petri. Konsentrasi akhir Ketokonazole yang didapat adalah 1000 ppm.

Kontrol aktivitas pelarut digunakan 0,5 ml pelarut yang dimasukkan ke dalam tabung yang telah berisi 4,5 ml media dan 5 μ L inokulum mikroba. Campuran ini lalu dihomogenkan dan dituang ke cawan petri. Kontrol ini digunakan untuk memastikan bahwa penghambatan pertumbuhan mikroba tidak disebabkan oleh pelarut yang digunakan.

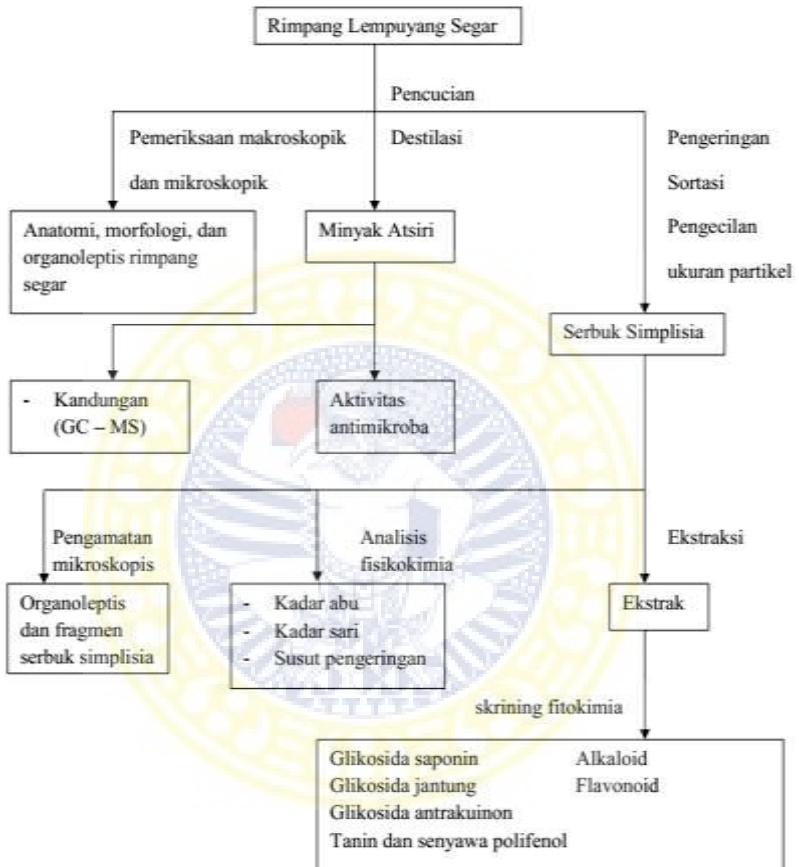
Kontrol negatif digunakan 4,5 mL media dan 5 μ L inokulum mikroba. Campuran ini lalu dihomogenkan dan dituang ke cawan petri.

4.4.6.5. Penentuan Kadar Hambat Minimal

Campuran agar dituang ke cawan petri lalu cawan petri tersebut diputar hingga lapisan agar yang terbentuk merata. Inkubasi dilakukan pada suhu 35-37 °C selama 24 jam. Pertumbuhan koloni mikroba diamati secara visual dan ditentukan kadar hambat minimalnya. Dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali untuk tiap jenis mikroba.



4.5. Skema Kerangka Kerja



Gambar 4.4. Skema Kerangka Kerja