

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Mikroorganisme

Mikroorganisme terdapat di berbagai habitat. Mereka terdapat pada tubuh kita, di dalam tubuh kita, dan di sekeliling kita. Mikroorganisme juga dapat diperoleh dari lingkungan air, tanah, udara, substrat yang berupa bahan pangan, tanaman dan hewan (Ferdiaz, 1992). Mereka merupakan komponen penting dalam ekosistem. Pada habitat alaminya, mereka hidup dalam suatu komunitas yang terdiri dari berbagai jenis mikroorganisme, bersama spesies-spesies biologi lainnya. Pada komunitas ini, satu spesies mikroba dapat mempengaruhi spesies lain, beberapa spesies dapat bersifat menguntungkan dan beberapa spesies dapat bersifat merugikan (Pelczar *et al.*, 1988).

Populasi dari mikroba yang ada di lingkungan ini sangatlah beranekaragam. Jenis mikroorganisme dapat berupa bakteri, jamur, kapang, dan sebagainya. Sehingga untuk mengisolasi mikroba diperlukan beberapa tahap penanaman sehingga berhasil diperoleh koloni mikroba yang tunggal. Koloni tunggal yang diperoleh dapat diperbanyak untuk suatu tujuan penelitian misalnya untuk mengisolasi DNA mikroba yang dapat menghasilkan enzim tertentu atau untuk mengetahui mikroba yang digunakan untuk bioremediasi (Ferdiaz, 1992).

Mikroorganisme adalah sumber yang potensial sebagai bahan baku untuk produksi enzim. Hal ini disebabkan karena beberapa faktor yaitu: ekonomis, karena dapat dihasilkan dalam waktu yang cukup pendek dan media yang cukup murah, kondisi reaksi seperti pH dan temperatur mudah diatur, dan peningkatan produksi enzimnya dapat dikondisikan dengan cara penambahan inducer tertentu (Wang *et al.*, 1979).

B. Bakteri

Bakteri adalah organisme bersel satu yang terlalu kecil untuk dapat dilihat kecuali dengan bantuan mikroskop, dengan struktur sel yang relatif sederhana tanpa nukleus/inti sel, sitoskeleton, dan organel lain seperti mitokondria dan kloroplas. Mereka berukuran *micron* (1/1000 mm). Seperti juga makhluk hidup lain, bakteri membutuhkan makanan, air dan suhu yang sesuai untuk hidup dan berkembang biak. Untuk mendapatkan bakteri yang potensial dilakukan dengan penapisan mikroorganisme dari lingkungan (Dwijoseputro, 1986).

Umumnya isolat bakteri diperoleh sesuai dengan lingkungan tempat hidupnya. Hal ini dikarenakan kondisi lingkungan tersebut biasanya digunakan bakteri sebagai substrat utamanya. Misalnya, bakteri amilolitik dapat diisolasi dari sampel yang berasal dari limbah pengolahan singkong, limbah sayur (Chakrabarty and Sen, 1984), rumen (Freer, 1993), serta hasil fermentasi ikan dan bahan makanan dari beras (Olympia *et al.*, 1995).

1. Dinding Sel Bakteri

Bakteri dibedakan atas dua kelompok berdasarkan komposisi dinding sel serta sifat pewarnaannya, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif dinding selnya mengandung sebagian besar peptidoglikan, dan juga asam terikoat dan asam terikuronat, oleh sebab itu dinding sel bakteri positif sebagian adalah polisakarida. Pada beberapa bakteri asam terikoat merupakan antigen permukaan (antigen dinding sel) dan ada yang merupakan selaput pada selnya. Asam terikoat ini pada umumnya terdiri dari gula netral seperti galaktosa, manosa, ramnosa, arabinosa dan glukosamin. Lapisan yang demikian itu akan menyelimuti seluruh sel bakteri sehingga menyerupai selubung yang kuat dan dinamakan murein/ peptidoglikan. Sedangkan pada bakteri gram negatif terdapat peptidoglikan yang sedikit sekali dan berada diantara selaput luar dan selaput dalam dinding sel. Dinding sel bakteri gram negatif sebelah luar merupakan komponen yang terdiri dari fosfolipid dan beberapa protein yang sering disebut sebagai *auto layer* (Klein *et al.*, 1999).

Dinding sel bakteri sangat tipis namun dinding inilah yang memberikan bentuk tertentu pada bakteri. Dinding ini dapat terlihat dengan teknik pewarnaan tertentu, atau dengan mengusahakan terjadinya plasmolisis pada sel bakteri. Dengan mikroskop elektron, dinding sel tersebut dapat terlihat dengan jelas sekali.

Dinding sel dapat terdiri dari bermacam-macam bahan organik, seperti selulosa, hemiselulosa, kitin (KH yang mengandung unsur N) tergantung pada spesies dari masing-masing mikroorganisme. Dinding sel merupakan lapisan penyokong terluar yang melindungi struktur dalam. Tebalnya kira-kira 10 – 25 μm dan

merupakan 20% - 30% berat kering sel bakteri. Antigen dinding sel bakteri gram negatif bekerja sebagai endotoksin. Sintesis dinding sel dapat dihambat atau diganggu oleh berbagai faktor. Enzim lisozim pada berbagai macam cairan jaringan dapat menyebabkan lisis bakteri. Enzim lisozim bekerja dengan memecah ikatan mukopetida dinding sel, jika lisozim bekerja terhadap bakteri gram positif dalam lingkungan larutan hipertonik terjadilah bentuk protoplas yang terdiri dari membran sitoplasma dan isinya. Jika terjadi pada bakteri gram negatif hasilnya adalah sferoplas (Dwijoseputro, 1986).

2. Nutrien untuk Pertumbuhan Bakteri

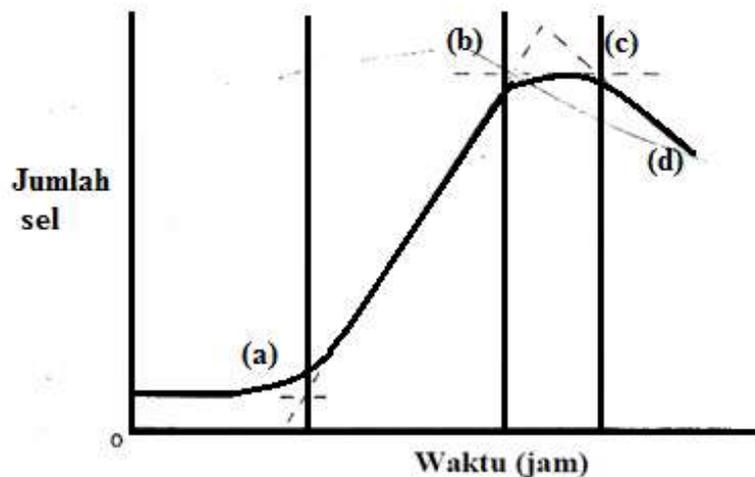
Mikroorganisme tumbuh pada medium yang mengandung nutrisi. Nutrien untuk pertumbuhan bakteri mengandung substansi kimia organik atau anorganik. Substansi kimia organik dan anorganik diperoleh dari lingkungan dalam berbagai macam bentuk. Nutrien diambil dari lingkungan kemudian ditransformasikan melalui membran plasma menuju sel. Di sel beberapa nutrisi diolah menghasilkan energi yang digunakan dalam proses seluler. Mikroba yang tumbuh, misalnya pada makanan umumnya bersifat heterotrof, yakni menggunakan karbohidrat sebagai sumber energi dan karbon, walaupun komponen organik lainnya yang mengandung karbon mungkin juga dapat digunakan. Kebanyakan organisme heterotrof menggunakan komponen organik yang mengandung protein sebagai sumber N, tetapi beberapa mikroba dapat pula menggunakan sumber nitrogen anorganik. Oleh karena itu, beberapa organisme heterotrof yang tidak dapat atau kehilangan kemampuan untuk mensintesis berbagai komponen organik, membutuhkan komponen tersebut di dalam substrat pertumbuhannya (Lim, 1998).

Ada dua macam mikronutrien yakni mikronutrien organik dan mikronutrien anorganik. Zat-zat yang bertindak sebagai mikronutrien organik yaitu beberapa asam amino (triptofan) dan pada beberapa komponen DNA dan RNA (purin dan pirimidin). Beberapa unsur logam yang termasuk dalam mikronutrien anorganik adalah Co, Mo, Cu, Zn. Unsur logam ini sangat diperlukan untuk kehidupan sel meskipun jumlahnya sangat sedikit. Ada tujuh komponen utama yang dibutuhkan semua makhluk hidup, yaitu karbon, oksigen, nitrogen, hidrogen, fosfor, sulfur, dan kalium. Untuk kebutuhan akan sumber karbon dipenuhi oleh adanya gula, pati, serta karbohidrat lainnya (Irianto, 2006).

3. Fase Pertumbuhan Bakteri

Fase pertumbuhan bakteri dapat dibagi menjadi 4 fase, yaitu fase lag, fase logaritma (eksponensial), fase stasioner, dan fase kematian. Fase lag merupakan fase penyesuaian bakteri dengan lingkungan yang baru. Lama fase lag pada bakteri sangat bervariasi, tergantung pada komposisi media, pH, suhu, aerasi, jumlah sel pada inokulum awal dan sifat fisiologis mikroorganisme pada media sebelumnya. Fase eksponensial ditandai dengan terjadinya periode pertumbuhan yang cepat. Variasi derajat pertumbuhan bakteri pada fase eksponensial ini sangat dipengaruhi oleh sifat genetik yang diturunkannya. Selain itu, derajat pertumbuhan juga dipengaruhi oleh kadar nutrisi dalam media, suhu inkubasi, kondisi pH dan aerasi. Ketika derajat pertumbuhan bakteri telah menghasilkan populasi yang maksimum, maka akan terjadi keseimbangan antara jumlah sel yang mati dan jumlah sel yang hidup.

Fase stasioner merupakan saat laju pertumbuhan bakteri sama dengan laju kematiannya, sehingga jumlah bakteri keseluruhan akan tetap. Keseimbangan jumlah keseluruhan bakteri ini terjadi karena adanya pengurangan derajat pembelahan sel. Hal ini disebabkan oleh kadar nutrisi yang berkurang dan terjadi akumulasi produk toksik sehingga mengganggu pembelahan sel. Fase stasioner ini dilanjutkan dengan fase kematian yang ditandai dengan peningkatan laju kematian yang melampaui laju pertumbuhan (Volk and Wheeler, 1993). Gambaran fase- fase pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada Gambar 1.

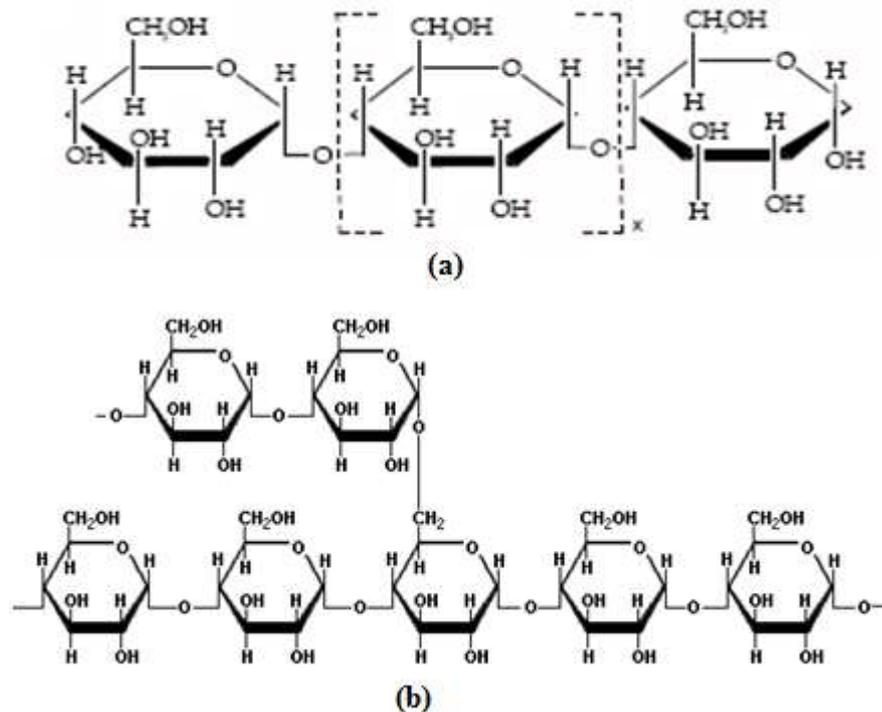


Gambar 1. Kurva pertumbuhan bakteri, (a) fase lag, (b) fase log, (c) fase stasioner, (d) fase kematian (Crueger,1984).

C. Pati

Pati ($C_6H_{10}O_5$)_n adalah homopolimer glukosa dengan ikatan α -glikosidik yang merupakan rantai gula yang panjang. Sifat berbagai macam pati tidak sama, tergantung dari panjang rantai C dan cabang rantai molekul. Pati terdiri dari dua fraksi yang dapat dipisahkan dengan air panas. Fraksi terlarut disebut amilosa dan

fraksi tidak larut disebut amilopektin (Winarno, 1986). Pada umumnya pati terdapat sebagai butiran yang dapat berwujud bola, lensa atau telur dan mempunyai struktur berlapis yang jelas (Schlegel and Schmidt, 1994). Berbagai macam pati ditemukan di alam karena dapat disintesis oleh berbagai macam tumbuhan. Setiap macam pati memiliki bentuk partikel atau granula yang berbeda, dan secara mikroskopis dipakai untuk membedakan berbagai pati alami. Pati terbagi menjadi dua golongan yaitu pertama adalah amilosa (15-20%) yang merupakan rantai panjang tidak bercabang yang terdiri dari molekul-molekul α -D-glukopiranososa yang bersambungan dengan ikatan α -1,4. Amilosa terdiri atas 250-300 unit D-glukosa yang terikat dengan ikatan α -1,4-glikosidik, jadi molekulnya merupakan rantai terbuka. Kedua adalah amilopektin (80-85%) yang merupakan rantai bercabang sebanyak 20-30 molekul α -D-glukopiranososa yang bersambungan dengan ikatan α -1,4 dan α -1,6. Adanya ikatan α -1,6-glikosidik ini menyebabkan terjadinya cabang, sehingga molekul amilopektin berbentuk rantai terbuka dan bercabang (Poedjiadi, 1994). Struktur amilosa dan amilopektin dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur (a) amilosa dan (b) amilopektin

Pati telah lama digunakan sebagai bahan makanan maupun *non-food* seperti perekat dalam industri tekstil, polimer, atau sebagai bahan tambahan dalam sediaan farmasi. Penggunaan pati dalam bidang farmasi sebagai formula sediaan tablet, baik sebagai bahan pengisi, penghancur maupun sebagai bahan pengikat. Pati hasil isolasi yang sudah murni berupa padatan putih, amorf, relatif tidak mempunyai rasa dan bau serta tidak larut dalam air panas (Winarno, 1986).

D. Enzim

Enzim merupakan katalisator yang mempercepat reaksi kimia dalam makhluk hidup atau dalam sistem biologik. Sebagai protein, enzim memiliki sifat-sifat umum protein, seperti enzim terdenaturasi pada suhu tinggi atau kondisi ekstrim lainnya. Beberapa oksidator, keadaan polaritas larutan, tekanan osmotik yang abnormal juga dapat menghambat kerja enzim (Suhartono, 1989).

Menurut Page (1997), sebagai katalis, enzim lebih baik dibanding dengan katalis anorganik atau organik sederhana. Sifat-sifat katalitik dari enzim yaitu termasuk hal-hal berikut:

1. Enzim meningkatkan laju reaksi pada kondisi biasa (fisiologik) dari tekanan, suhu, dan pH. Hal ini merupakan keadaan yang jarang dengan katalis-katalis lain.
2. Enzim berfungsi dengan selektivitas dan spesifisitas bertingkat luar biasa tinggi terhadap reaktan yang dikerjakan dan jenis reaksi yang dikatalisasikan.
3. Enzim memberikan peningkatan laju reaksi yang luar biasa dibanding dengan katalis biasa.

Peranan enzim sebagai biokatalisator dalam industri semakin meningkat seiring dengan pesatnya perkembangan industri, khususnya industri makanan, minuman, industri tekstil, industri kulit dan industri kertas. Hal ini disebabkan karena enzim bersifat sangat spesifik dibandingkan dengan katalis anorganik. Selain itu, enzim bekerja sangat efisien, bekerja pada pH yang relatif netral, dan suhu yang relatif rendah, aman, mudah dikontrol, dapat menggantikan bahan kimia yang berbahaya, dan dapat didegradasi secara biologis (Page, 1997).

Klasifikasi enzim secara internasional berdasarkan atas reaksi yang dikatalisisnya yaitu :

1. Oksidoreduktase, mengkatalisis berbagai macam reaksi oksidasi reduksi serta sering menggunakan koenzim seperti NAD, NADP, FAD, atau lipoleat sebagai akseptor hidrogen.

2. Transferase, mengkatalisis berbagai jenis transfer kelompok seperti amino transferase, karnitin asil transferase, dan transkarboksilase.
3. Hidrolase, mengkatalisis pemecahan ikatan antara karbon dan beberapa atom lain dengan adanya penambahan air.
4. Liase, mengkatalisis pemecahan ikatan karbon-karbon, karbon sulfur dan karbon nitrogen tertentu.
5. Isomerase, mengkatalisis isomer optik dan geometrik dan oksidasi reduksi intramolekuler tertentu.
6. Ligase, mengkatalisis pembentukan ikatan antara karbon dan oksigen (Lehninger, 1997).

Semua enzim adalah protein dan aktivitas katalitiknya bergantung kepada integritas strukturnya sebagai protein. Enzim seperti protein lain, mempunyai berat molekul berkisar dari kira-kira 12.000 sampai 1 juta. Oleh karena itu, enzim berukuran sangat besar dibandingkan dengan substrat atau gugus fungsional targetnya. Penataan tertentu pada rantai samping asam amino suatu enzim di sisi aktifnya menentukan tipe molekul yang dapat terikat dan bereaksi. Biasanya ada sekitar lima rantai samping tersebut dalam enzim apapun. Selain itu, sebagian besar enzim memiliki molekul-molekul nonprotein kecil yang terhubung dengan sisi aktif atau didekatnya. Molekul-molekul enzim ini disebut kofaktor atau koenzim (Ngili, 2009).

E. Enzim CGT-ase

Enzim CGT-ase yaitu enzim ekstraseluler yang dapat mengubah pati menjadi siklodekstrin (Tonkova, 1998). CGT-ase merupakan keluarga dari enzim α -

amilase (Leemhuis *et al.*, 2003). CGT-ase memiliki berat molekul yang bervariasi dari 60-110 kDa dan terdiri dari 700 asam amino. Sebagian memerlukan kalsium sebagai agen pelindung terhadap denaturasi panas (Bovetto *et al.*, 1992) dan CGT-ase alkalofilik optimum pada pH 9-10 (Tao, 1991). Suhu maksimal untuk bakteri yang menghasilkan enzim CGT-ase antara 40°C sampai 80°C. Sebagian besar CGT-ase diinhibisi kuat oleh Zn^{2+} , Cu^{2+} , dan Fe^{2+} (Tonkova, 1998).

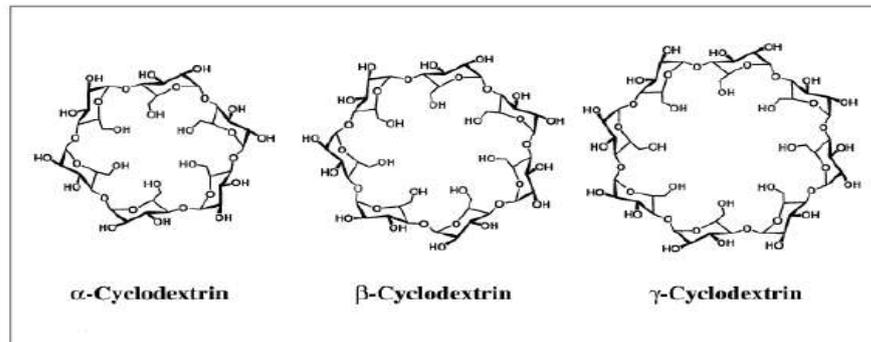
Enzim CGT-ase dapat mengkatalisis reaksi intramolekul (siklisasi) dan antarmolekul (kopling, disproporsionasi), serta reaksi hidrolisis (Penninga, 1996).

Reaksi siklisasi yaitu transfer residu gula akhir ke residu gula yang lain pada rantai oligosakarida yang sama untuk membentuk suatu senyawa siklik. Reaksi ini merupakan reaksi intramolekul dimana pati dihubungkan dengan ikatan α -1,4-glukan yang dikonversi kedalam siklodekstrin. Reaksi ini bersifat *reversible* dan cincin dapat dibuka oleh CGT-ase untuk reaksi lebih lanjut (Hedges, 1992).

Siklisasi adalah reaksi utama dari CGT-ase untuk menghasilkan siklodekstrin (Salva *et al.*, 1997).

F. Siklodekstrin

Siklodekstrin (CD) adalah oligosakarida siklik yang terdiri dari 6, 7, atau 8 unit glukosa yang disebut α -CD, β -CD dan γ -CD yang dihubungkan oleh ikatan α -1,4-glikosidik. CD dihasilkan dari perubahan pati melalui reaksi enzimatik. CD sangat stabil dalam larutan alkali dan dapat mengalami hidrolisis dalam medium asam. CD stabil pada suhu kurang dari 200°C. Adapun struktur α -CD, β -CD dan γ -CD dapat dilihat pada Gambar 3 dan sifat-sifat siklodekstrin dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 3. Struktur α -, β - dan γ -siklodekstrin (Van der Veen *et al.*, 2000).

Tabel 1. Sifat- sifat Siklodekstrin (Van der Veen *et al.*, 2000)

| Karakteristik | Tipe Siklodekstrin | | |
|------------------------------------|--------------------|---------|---------|
| | Alfa | Beta | Gamma |
| Berat molekul (g/mol) | 972 | 1135 | 1297 |
| Monomer glukosa | 6 | 7 | 8 |
| Diameter rongga internal (Å) | 5 | 6 | 8 |
| Kelarutan dalam air (g/100mL:25°C) | 14,2 | 1,85 | 23,2 |
| Tegangan permukaan (mN/m) | 71 | 71 | 71 |
| Rentang lebur (°C) | 255-260 | 255-265 | 240-245 |
| Air kristalisasi | 10,2 | 13-15 | 8-18 |
| Molekul air dalam rongga | 6 | 11 | 17 |

γ -CD memiliki kelarutan yang tinggi di dalam air sedangkan β -CD memiliki kelarutan yang rendah. Namun kompleksasi akan mengakibatkan perubahan dalam kelarutan CD. β -CD lebih banyak digunakan untuk berbagai aplikasi dibandingkan dengan CD yang lain, karena memiliki kelarutan yang rendah di dalam air dan mudah dipisahkan dari campuran dengan menggunakan pelarut organik (Biwer *et al.*, 2002). Cincin luar struktur siklodekstrin bersifat tidak polar (hidrofobik) sedangkan bagian dalam rongga bersifat lebih polar (hidrofilik) (Szetjli, 1982).

Produksi α -siklodekstrin, β -siklodekstrin dan γ -siklodekstrin oleh enzim CGT-ase tergantung pada beberapa faktor seperti pemilihan substrat pati untuk degradasi enzim, karakteristik enzim, komposisi medium dan kondisi yang digunakan pada proses reaksi katalisis pati oleh enzim CGT-ase (Salva *et al.*, 1997).

α -CD dan β -CD lebih sering dihasilkan dibandingkan γ -CD oleh enzim CGT-ase (Tonkova, 1998). Namun, untuk menghasilkan CD tergantung metode dan kondisi inkubasi yang digunakan, sedangkan untuk menghasilkan α -CD, β -CD dan γ -CD sangat tergantung pada asal enzim yang digunakan (Schmidt *et al.*, 1998). Hasil dan selektivitas tergantung pada jenis CGT-ase dan jenis substrat yang digunakan (Biwer *et al.*, 2002). Jenis siklodekstrin utama yang dihasilkan berdasarkan asal enzim CGT-ase yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Jenis siklodekstrin utama yang dihasilkan berdasarkan asal enzim CGT-ase yang digunakan (Biwer *et al.*, 2002).

| Organisme | Jenis Siklodekstrin |
|---|---------------------|
| <i>Bacillus macerans</i> strain IAM1234 | α |
| <i>Bacillus macerans</i> strain IFO 3490 | α |
| <i>Thermococcus</i> sp. Strain B1001 | α |
| <i>Thermococcus kodakaraensis</i> KOD1 | β |
| <i>Bacillus</i> sp. E1 | β |
| <i>Bacillus circulans</i> 251 | β |
| <i>Bacillus circulans</i> 8 | β |
| <i>Bacillus firmus</i> var. <i>alkalophilus</i> | β |
| <i>Bacillus licheniformis</i> strain CGT-A | α/β |
| <i>Thermoanaerobacter</i> sp. | α/β |
| <i>Thermoanaerobacter</i> sp. ATCC 53627 | α/β |
| <i>Bacillus stearothermophilus</i> NO2 | α/β |
| <i>T. thermosulfurigenes</i> strain EM1 | α/β |
| Alkalophilic <i>Bacillus</i> sp. 28-2 | β |
| Alkalophilic <i>Bacillus</i> sp. 1011 | β |
| <i>Bacillus</i> sp strain B1018 | β |
| <i>Bacillus</i> sp strain KC201 | β |
| <i>Bacillus</i> sp. A2-5a | β |
| <i>Bacillus agaradhaerens</i> strain LS-3C | β |
| <i>Bacillus ohbensis</i> | β/γ |
| Alkalophilic <i>Bacillus clarkii</i> 7364 | γ |
| <i>Brevibacillus brevis</i> CD162 | γ |
| <i>Bacillus firmus/lentus</i> strain 290-3 | γ |
| <i>Nostoc</i> sp. PCC 9229 | Not specified |

Produk siklik (siklodekstrin) dapat terbentuk secara kompleks inklusi dengan senyawa anorganik maupun organik. Sifat ini menyebabkan siklodekstrin banyak digunakan dalam berbagai industri seperti pangan, kosmetika, farmasi, agrokimia

serta untuk penanganan polusi (Bender, 1977; Kaneto and Fumithasi, 1996; Szetjli, 1982).

Pada bidang farmasi siklodekstrin berfungsi untuk mempermudah pembuatan obat-obatan dalam bentuk tablet dengan menghambat zat volatil, selain itu siklodekstrin juga meningkatkan stabilitas obat agar lebih tahan terhadap hidrolisis, oksidasi, panas, cahaya dan garam logam (Tonkova, 1998). Pada bidang pangan siklodekstrin berfungsi untuk menghaluskan tekstur kue dan daging, menstabilkan rasa bila makanan disimpan untuk waktu lama dan pembuatan susu yang rendah kolesterol (Szetjli, 1982).

G. ANOVA (*Analysis of Variance*)

Analysis of variance atau ANOVA merupakan salah satu uji parametrik yang berfungsi untuk membedakan nilai rata-rata lebih dari dua kelompok data dengan cara membandingkan variansinya (Ghozali, 2009). Prinsip uji ANOVA adalah melakukan analisis variabilitas data menjadi dua sumber variasi yaitu variasi di dalam kelompok (*within*) dan variasi antar kelompok (*between*). Bila variasi *within* dan *between* sama (nilai perbandingan kedua varian mendekati angka satu), berarti nilai mean yang dibandingkan tidak ada perbedaan. Sebaliknya bila variasi antar kelompok lebih besar dari variasi didalam kelompok, nilai mean yang dibandingkan menunjukkan adanya perbedaan. Uji ANOVA dapat dibagi menjadi 2 jenis berdasarkan jumlah variabel yang diamati, yaitu *One Way ANOVA* dan *Two Way ANOVA*. *One Way ANOVA* digunakan bila ada satu faktor yang ingin diamati, sedangkan *Two Way ANOVA* digunakan apabila terdapat dua faktor yang ingin diamati (Abdurakhman, 2007).

Uji ANOVA dapat digunakan untuk menyelidiki apakah ada pengaruh faktor terhadap respon penelitian. Uji-uji yang dapat digunakan antara lain uji masing-masing faktor dan uji interaksi antar faktor.

1. Uji Masing-masing Faktor

Uji masing-masing faktor dilakukan untuk mengetahui apakah ada pengaruh pada masing-masing faktor secara terpisah terhadap respon.

Hipotesis:

H_0 : Faktor tidak memberi pengaruh pada respon

H_1 : Faktor memberi pengaruh pada respon

Pengambilan keputusan:

Jika nilai $p > \alpha$, maka H_0 diterima

Jika nilai $p < \alpha$, maka H_0 ditolak

2. Uji Interaksi antar Faktor

Uji interaksi antar faktor dilakukan untuk mengetahui apakah ada pengaruh yang ditimbulkan oleh kombinasi faktor terhadap respon. Uji ini terdiri atas *2-way interactions* dan *3-way interactions*.

a. 2-Way Interactions

Hipotesis:

H_0 : Faktor *2-way interactions* tidak memberi pengaruh pada respon

H_1 : Faktor *2-Way Interactions* memberi pengaruh pada respon

Pengambilan keputusan:

Jika nilai $p > \alpha$, maka H_0 diterima

Jika nilai $p < \alpha$, maka H_0 ditolak

b. *3-Way Interactions*

Hipotesis:

H_0 : Faktor *3-Way Interactions* tidak memberi pengaruh pada respon

H_1 : Faktor *3-Way Interactions* memberi pengaruh pada respon

Pengambilan keputusan:

Jika nilai $p > \alpha$, maka H_0 diterima

Jika nilai $p < \alpha$, maka H_0 ditolak

(Abdurakhman, 2007).