

## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **A. Populasi dan Sampel**

Populasi pertama penelitian ini yaitu daun kemangi yang berasal dari Balai Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Jawa Tengah. Populasi kedua yaitu formulasi sediaan *spray gel* ekstrak daun kemangi dengan berbagai konsentrasi.

Sampel pertama, pada penelitian ini yaitu bagian daun kemangi, pengambilan daun secara acak dengan memilih daun muda, bebas hama dan penyakit serta daun masih segar. Sampel kedua, adalah formulasi sediaan *spray gel* ekstrak daun kemangi dengan variasi konsentrasi karbopol 0,1; 0,15; dan 0,2%.

### **B. Variabel Penelitian**

#### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama pertama pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L).

Variabel utama kedua adalah formulasi *spray gel* ekstrak etanol daun kemangi menggunakan konsentrasi *gelling agent* karbopol 0,1; 0,15 dan 0,2%

Variabel utama ketiga adalah pengujian mutu fisik dan stabilitas sediaan *spray gel* ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L).

Variabel utama keempat adalah aktivitas antibakteri sediaan *spray gel* diperoleh dengan menggunakan metode uji difusi sumuran dan diukur zona hambat yang terbentuk.

#### **2. Klasifikasi variabel utama**

Setelah diidentifikasi, variabel utama dikelompokkan menjadi variabel bebas, terikat, dan terkendali.

Variabel bebas merupakan variabel yang memiliki pengaruh terhadap variabel terikat. Variabel bebas penelitian ini yaitu konsentrasi *gelling agent* karbopol dalam sediaan *spray gel* dengan konsentrasi 0,1; 0,15 dan 0,2%.

Variabel tergantung merupakan variabel yang berfungsi mengetahui pengaruh dari variabel bebas, yaitu zona hambat *spray gel* ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* serta mutu fisik dan stabilitas sediaan *spray gel*.

Variabel terkendali merupakan variabel yang dapat mendukung hasil penelitian, yaitu kondisi laboratorium yang berupa kondisi alat dan bahan yang digunakan selama penelitian serta cara pembuatan sediaan *spray gel*.

### 3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun kemangi yang diperoleh dari Balai Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Jawa Tengah

Kedua, serbuk daun kemangi yang diperoleh dari hasil pengeringan, penggilingan, dan pengayakan menggunakan ayakan mesh no 40.

Ketiga, ekstrak etanol daun kemangi yang diperoleh dari hasil penyaringan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%, yang kemudian dipisahkan menggunakan alat *rotary evaporator* dengan suhu 40°C.

Keempat, sediaan *spray gel* adalah sediaan yang menggunakan karbopol 940 sebagai *gelling agent* 0,1; 0,15 dan 0,2%

Kelima, mutu fisik sediaan emulgel adalah pengujian organoleptis, homogenitas fisik, pH dengan menggunakan pH meter, daya sebar, daya lekat dan viskositas sediaan *spray gel* menggunakan viskometer dPas.

Keenam, stabilitas sediaan *spray gel* adalah stabilitas terhadap perubahan suhu dengan metode *cycling test* yang disimpan pada suhu 4°C ± 2°C selama 1 hari, dilanjutkan dengan pengujian dengan suhu 40°C ± 2°C selama 1 hari (satu siklus) dilanjutkan dengan pengujian selama 12 hari dengan total 6 siklus.

Ketujuh mengetahui diameter daya hambat setiap konsentrasi karbopol 0,1; 0,15 dan 0,2% *spray gel* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang menyebabkan jerawat dengan metode difusi sumuran. Aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* ditandai dengan terbentuknya zona hambat bakteri berwarna bening yang terbentuk di sekitar sumuran.

## C. Alat dan Bahan

### 1. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian adalah daun kemangi yang masih muda. Bakteri *Staphylococcus aureus* yang berasal dari Laboratorium Mikrobiologi di Universitas Setia Budi Surakarta. Bahan

lainnya saat pembuatan ekstrak adalah pelarut etanol 96%, larutan DMSO, antibiotik klindamisin, bor poof 6 mm, kertas saring. Basis *spray gel* terdiri dari karbopol 940, metil paraben, propil paraben, propilen glikol,, trietanolamin, gliserin, oleum rosae, dan *aquadest*.

## 2. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian adalah ayakan nomor 40, blander, wadah maserasi, alat-alat gelas, jangka sorong, cawan penguap, neraca analitik, *rotary evaporator*, *waterbath*, *incubator*, mikroskop, pH meter, viskometer rion, *bor proof*, jarum ose, kapas lidi steril, cawan petri, sendok tanduk, pipet tetes, batang pengaduk, termometer, mikropipet, tabung reaksi, oven dan lemari pendingin.

### D. Formulasi *Spray gel* Daun Kemangi

Formula *spray gel* menggunakan ekstrak daun kemangi dengan berat 100 Gram terdiri atas ekstrak etanol daun kemangi yang digunakan x %, bahan-bahan dasar *spray gel* adalah karbopol 940, metil paraben, propil paraben, propilen glikol,, trietanolamin, gliserin, oleum rosae, dan *aquadest*.. Formula dibuat dengan variasi *gelling agent* karbopol 0,1; 0,15 dan 0,2%.

**Tabel 1. Formulasi *Spray gel* Niasinamida (Kresnawati et al.,2022)**

Bahan (g)	Konsentrasi %		
	F1	F2	F3
Niasinamida	5	5	5
Karbopol	0,15	0,15	0,15
Propilen glikol	5	10	15
Trietanolamin	0,2	0,2	0,2
Metil paraben	0,18	0,18	0,18
Propil paraben	0,2	0,2	0,2
Oleum rosae	4 tetes	4 tetes	4 tetes
Aquades	<i>ad</i> 100	<i>ad</i> 100	<i>ad</i> 100

Keterangan :

Formula 1 (F1) : *Spray gel* dengan konsentrasi propilen glikol 5%

Formula 2 (F2) : *Spray gel* dengan konsentrasi propilen glikol 10%

Formula 3 (F3) : *Spray gel* dengan konsentrasi propilen glikol 15%

**Tabel 2. Rancangan Formula *Spray Gel* Ekstrak Daun Kemangi**

Bahan (g)	Konsentrasi %			
	F1	F2	F3	K-
Ekstrak daun kemangi	9%	9%	9%	-
Karbopol	0,05	0,1	0,15	0,1
Propilen glikol	5	5	5	5
Trietanolamin	0,2	0,2	0,2	0,2
Metil paraben	0,2	0,2	0,2	0,2
Propil paraben	0,18	0,18	0,18	0,18
Gliserin	10	10	10	10
Tween 80	0,2	0,2	0,2	0,2

Bahan (g)	Konsentrasi %			
	F1	F2	F3	K-
Aquades	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100
Keterangan :				
Formula 1	: <i>Spray gel</i> dengan konsentrasi karbopol 0,05%			
Formula 2	: <i>Spray gel</i> dengan konsentrasi karbopol 0,1%			
Formula 3	: <i>Spray gel</i> dengan konsentrasi karbopol 0,15%			
K-	: <i>Spray gel</i> tanpa penambahan ekstrak			

Basis *spray gel* terdiri dari bahan untuk basis gel, basis gel karbopol 940 (*gelling agent*), propilen glikol sebagai *humektan*, trietanolamin sebagai *alkalizing agent*, propil paraben dan metil paraben sebagai bahan pengawet. Sediaan dibuat dengan variasi konsentrasi 3 karbopol yakni konsentrasi 0,5; 0,1 dan 0,15% dengan konsentrasi ekstrak mengikuti hasil uji aktivitas anti bakteri ekstrak daun kemangi antara konsentrasi 3, 6, dan 9%. Basis *spray gel* dibuat sebagai kontrol negatif dan *spray gel* merek x digunakan sebagai kontrol positif.

Pembuatan sediaan *spray gel* diawali dengan pembuatan basis gel. Proses yang dilakukan terdiri dari karbopol ditambah dengan 20 mL *aquadest* sebanyak 20 ml, kemudian didispersikan dan ditambah dengan TEA diaduk hingga homogen. Dicampur propilen glikol, metil paraben, propil paraben, gliserin dan ekstrak ke dalam beaker glass hingga larut. Kemudian campuran tersebut dimasukkan ke campuran karbopol secara bertahap, aduk hingga homogen. Ditambahkan *aquadest* hingga bobot yang diinginkan tercapai lalu aduk kembali hingga homogen. *Spray gel* yang telah jadi disimpan dalam wadah botol *spray* (Marlina, 2021).

## E. Prosedur Penelitian

### 1. Determinasi tanaman kemangi

Determinasi pada pengujian ini untuk legalitas kebenaran sampel daun kemangi (*Ocimum basilicum* L). Tanaman kemangi dicocokkan dengan kunci determinasi yang ada dengan memperhatikan kecocokan morfologi serta ciri tanaman guna menghindari kesalahan penggunaan tanaman dalam penelitian. Determinasi tanaman dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Obat Tradisional Tawangmangu.

## **2. Pengumpulan bahan daun kemangi**

Daun kemangi segar diperoleh dari daerah Tawangmangu, Jawa Tengah. Bagian daun muda yang akan di ambil, pengambilan daun dilakukan pada pagi hari setelah itu dilakukan sortasi basah.

## **3. Pengeringan dan penyerbukkan daun kemangi**

Daun kemangi dicuci bersih dan diangin-anginkan hingga kering. Setelah pengeringan, daun dibuat serbuk dengan alat penyerbuk yang kemudian diayak dengan ayakan nomor 40. Serbuk diayak menggunakan ayakan nomor 40. Serbuk daun kemangi diamati secara organoleptis dan makroskopis. Hasil serbuk daun kemangi disimpan pada wadah berukuran besar. Serbuk yang telah diayak ditimbang dan melakukan perhitungan rendemen antara ekstrak yang didapat dengan serbuk yang diekstraksi.

## **4. Penetapan susut pengeringan serbuk daun kemangi**

Alat uji yang dipakai adalah *moisture balance* untuk menetapkan susut pengeringan daun kemangi. Alat ini digunakan untuk mengukur susut pengeringan air dengan prinsip gravimetri. Simplisia serbuk yang digunakan sejumlah 2 gram diratakan pada lempeng tembaga setipis mungkin supaya pengukuran susut pengeringan dapat dilakukan alat dengan baik. Penimbangan dilakukan di dalam alat *moisture balance*, sebelum alat digunakan alat di setting suhu 105°C, serbuk yang sudah mencapai bobot konstan akan terbaca susut pengeringannya. Pengukuran susut pengeringan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali, pembacaan hasil secara otomatis pada alat akan dibaca sebagai % susut pengeringan (BPOM, 2015)

## **5. Pembuatan ekstrak daun kemangi**

Ekstraksi serbuk daun kemangi dilakukan menggunakan metode maserasi untuk mendapatkan ekstrak kental. Maserasi menggunakan 10 bagian pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10. Maserasi dilakukan menggunakan botol yang gelap, serbuk sebanyak 700 g dimasukkan dalam botol dengan 7.000 mL etanol 96% kemudian ditutup. Dilakukan perendaman serbuk selama 6 jam sambil diaduk, kemudian didiamkan selama 18 jam. Dipisahkan maserat dengan dituangkan secara perlahan dari dalam botol maserat kemudian hanya meninggalkan ampas. Proses penyarian diulang menggunakan pelarut sebanyak 3.500 mL untuk mencuci ekstrak yang masih tertinggal. Hasil ekstraksi perlu dilakukan pemekatan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C hingga dihasilkan ekstrak berkonsistensi kental, berikutnya

ditimbang ekstrak kental daun kemangi kemudian dilakukan perhitungan rendemen ekstrak kental terhadap serbuk simplisia (Kemenkes RI, 2017).

#### **6. Penetapan kadar air ekstrak daun kemangi**

Penetapan kadar air pada ekstrak daun kemangi dilakukan dengan metode gravimetri. Langkah awal menimbang cawan kosong, kemudian menimbang ekstrak sebanyak 10 g, lalu memasukkan ekstrak ke dalam oven selama 5 jam awal lalu setiap 1 jam dan dimasukkan ke eksikator selama 15 menit. Selanjutnya ditimbang kembali, dilakukan hingga bobot ekstrak konstan. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali replikasi (Depkes RI, 2000).

#### **7. Uji bebas etanol ekstrak kemangi**

Sejumlah ekstrak ditambahkan dengan asam sulfat pekat diikuti  $H_2SO_4$  pekat dan asam asetat glasial. Dipanaskan beaker glass menggunakan api bunsen yang berisi air. Ekstrak bebas etanol ditandai dengan tidak terdapat bau khas ester dari etanol (Setyani *et al*, 2016).

#### **8. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun kemangi**

Sampel ekstrak daun kemangi sebanyak 1 g dilarutkan dengan etanol 96% ad 100 mL sebagai larutan stok.

**8.1 Flavonoid.** Larutan stok sebanyak 2 ml ditambahkan sedikit serbuk mg dan beberapa tetes HCl 2N ke tabung reaksi. Hasil positif flavonoid ditandai terbentuk warna merah, kuning, atau jingga. Jingga hingga merah menandakan adanya flavon, merah sampai merah tua menandakan adanya flavonol, merah tua sampai magenta (merah keunguan) menandakan adanya flavanon (Farnsworth, 1966).

**8.2 Tanin.** Diambil sebanyak 2 ml larutan stok kemudian ditambahkan dengan pelarut  $FeCl_3$  dalam tabung reaksi. Hasil positif tanin ditunjukkan oleh biru kehitaman jika tanin galat atau hijau kehitaman jika tanin katekol (Depkes RI 1987).

**8.3 Steroid.** 2 mL larutan stok ditambahkan dengan 0,5 mL asetat anhidrat, 0,5 mL kloroform,  $H_2SO_4$  pekat, dan ditambahkan reagen *Lieberman-Bouchard* dalam tabung reaksi. Terciptanya perubahan warna merah atau ungu menandakan hasil positif pada steroid (Ngajow *et al.*, 2013).

**8.4 Alkaloid.** Larutan stok sebanyak 2 mL ditambahkan HCl 2% dalam tabung reaksi yang dibagi menjadi 3 tabung (A, B, C). Tabung A sebagai pembanding,. Tabung B ditambah dengan reagen *Dragendrof*, endapan coklat atau keruh akan menghasilkan positif

alkaloid. Tabung C, ditambah dengan reagen *Mayer*, endapan putih kekuningan menghasilkan positif alkaloid (Ernawati dan Kumala, 2015).

**8.5 Saponin.** Sebanyak 2 ml larutan stok ditambahkan air panas dalam tabung reaksi kemudian dikocok kuat, lalu ditambahkan dengan HCl 2N. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya busa (Charyadie *et al.*, 2014)

#### **9. Peremajaan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Peremajaan bakteri merupakan cara untuk mendapatkan biakan bakteri yang baru dan muda. Peremajaan dilakukan dengan cara pengambilan 1 ose bakteri dengan ose steril ditanam di media agar miring NA melalui goresan, diinkubasi dengan suhu 37-38°C dalam waktu 1-2 hari (Nurcahyani *et al.*, 2011).

#### **10. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Identifikasi bakteri yang dilakukan melalui uji dengan media *Vogel Johnson Agar* (VJA), pewarnaan Gram, uji katalase, dan uji koagulase.

Pertama, uji pada media VJA dilakukan dengan cara, diambil dengan ose steril dan dikultur pada media VJA, diinkubasi dengan suhu 37°C selama 18 hingga 24 jam. Pertumbuhan koloni *S. aureus* ditandai dengan terjadinya perubahan warna media dari merah menjadi kuning (Todar, 2005).

Kedua, identifikasi pewarnaan Gram untuk mengenal morfologi dan karakteristik sel bakteri berdasarkan sifat pewarnaannya. Uji pewarnaan Gram, pewarna utama yang digunakan adalah kristal violet (Gram A). Langkah pertama sebelum penetesan Gram A adalah mengoleskan di atas *object glass* yang kemudian difiksasi di atas api bunsen setelah itu ditetesi kristal violet, didiamkan kurang lebih 60 detik, dicuci menggunakan aquadest mengalir dan ditetesi lugol iodine (Gram B), didiamkan kembali selama 60 detik, dicuci menggunakan aquadest mengalir dan dibiarkan kering. Selanjutnya dilakukan penetesan Gram C (alkohol), dibiarkan selama  $\pm$  45 detik, dibilas menggunakan *aquadest* mengalir kemudian ditetesi Gram D (safranin), dibiarkan dalam waktu  $\pm$  60 detik, setelah itu dicuci menggunakan *aquadest* mengalir dan dikeringkan di udara. Hasil positif *S. aureus* yaitu bakteri Gram positif yang mempunyai bentuk sel bulat berwarna ungu jika diamati dibawa mikroskop (Kartini, 2020).

Ketiga, identifikasi biokimia. Identifikasi dengan uji biokimia dilakukan melalui 2 macam uji yang meliputi uji katalase dan uji koagulase. Uji katalase dilakukan dengan mengambil biakan bakteri sebanyak satu ose yang diinokulasikan di atas *objek glass* kemudian ditambahkan dengan beberapa tetes H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Terdapat gelembung gas menandakan hasil positif (Todar, 2005). Uji koagulase dilakukan dengan menyiapkan plasma sebanyak 0,5 mL yang kemudian ditambahkan 1 ose kultur bakteri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 hingga 4 jam. Jika terdapat akumulasi seperti agar-agar menandakan hasil positif, dan jika tidak ada gumpalan menandakan reaksi negatif (Widya dan Retno, 2013).

#### **11. Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Pembuatan suspensi bakteri uji dengan mengambil kultur murni sebanyak 1 ose dengan menggunakan jarum ose steril ke agar miring NA, kemudian disuspensikan dalam 5 mL NaCl 0,9% dan dihomogenisasi. Pengenceran suspensi bakteri menggunakan NaCl 0,9% ditambahkan hingga mendapatkan kekeruhan suspensi dengan standar *Mc Farland 0,5* yang setara  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL. Untuk meminimalkan kepadatan bakteri, maka suspensi bakteri *S. aureus* disesuaikan dengan standar *Mc Farland 0,5* dengan tujuan jumlah bakteri dalam waktu pengujian jumlahnya sama (Misna dan Giana, 2016).

#### **12. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kemangi**

Sebelum melakukan uji aktivitas sediaan maka dilakukan pengujian aktivitas ekstrak daun kemangi untuk mengetahui konsentrasi efektifitas ekstrak daun kemangi. Uji aktivitas menggunakan metode difusi sumuran. Suspensi bakteri uji diambil dengan kapas lidi steril, kemudian dioleskan pada permukaan medium MHA tunggu sekitar 15 menit agar bakteri terdifusi pada seluruh permukaan media (Pratiwi, 2008). Pengujian aktivitas ekstrak menggunakan *bor proof* dengan diameter 6 mm. Masing-masing bahan uji yang digunakan yakni ekstrak daun kemangi 2, 3 dan 4%, kontrol negatif digunakan DMSO 10%, dan kontrol positif menggunakan antibiotik klindamisin 2 g. Kemudian dimasukkan dalam sumuran yang telah dibuat dengan volume 20 µl. Cawan petri diinkubasi dengan suhu 37°C selama 1 hari. Zona bening akan terbentuk disekitar sumuran yang dapat diamati dan diukur zona hambat dengan penggaris atau jangka sorong. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak direplikasi 3 kali.

### **13. Pembuatan *spray gel* ekstrak daun kemangi**

Pembuatan sediaan *spray gel* diawali dengan pembuatan basis gel, proses yang dilakukan yakni karbopol ditambah dengan *aquadest* sebanyak 20 ml, kemudian didispersikan ditambah dengan TEA diaduk hingga homogen. Propilen glikol, metil paraben, propil paraben, gliserin dan ekstrak dicampur dalam beaker glass hingga larut. kemudian campuran tersebut dimasukkan ke campuran karbopol tadi secara bertahap dan diaduk ad homogen. Ditambahkan *aquadest* sampai bobot yang diinginkan tercapai, kemudian diaduk ad homogen. *Spray gel* yang telah jadi disimpan dalam wadah botol spray (Marlina, 2021).

### **14. Identifikasi *spray gel***

**14.1 Uji organoleptis.** Pengamatan secara organoleptis dengan mengamati tekstur dan warna menggunakan indra penglihatan (secara visual), aroma menggunakan indra penciuman.

**14.2 Uji pH.** Pengujian pH dilakukan dengan pH meter yang mana memasukkan ke dalam sampel uji, dibiarkan hingga stabil dan dilakukan pencatatan pH yang tertera.

**14.3 Uji viskositas.** Pengukuran viskositas sediaan *spray gel* dilakukan dengan viskometer Brookfield. 100 mL sediaan *spray gel* dimasukkan dalam wadah dengan memasang spindle nomor 1. Pencatatan hasil viskositas dilakukan ketika menunjukkan angka yang stabil. Pengukuran viskositas dilakukan dengan replikasi tiga kali (Hayati *et al.*, 2019).

**14.4 Uji Pola penyemprotan.** Pengujian dilakukan dengan menyemprotkan sediaan yang berjarak 3,5 dan 10 cm pada kertas, yang kemudian parameter penyemprotan diukur dengan penggaris.

### **15. Uji stabilitas *spray gel***

Pengujian stabilitas *spray gel* dengan metode *Cycling test* metode ini untuk mengetahui stabilitas *spray gel* terhadap suhu penyimpanan. Prosedur dengan menyimpan *spray gel* di suhu  $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  selama 1 hari, dilanjutkan dengan pengujian di suhu  $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  selama 1 hari (satu siklus). Pengamatan uji stabilitas menggunakan metode ini dilakukan selama 12 hari dengan total 6 siklus. Pengamatan sediaan *spray gel* dengan melihat pH dan viskositas.

### **16. Aktivitas antibakteri sediaan *spray gel***

Uji aktivitas anti bakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran. Suspensi bakteri uji, diambil dengan menggunakan kapas lidi

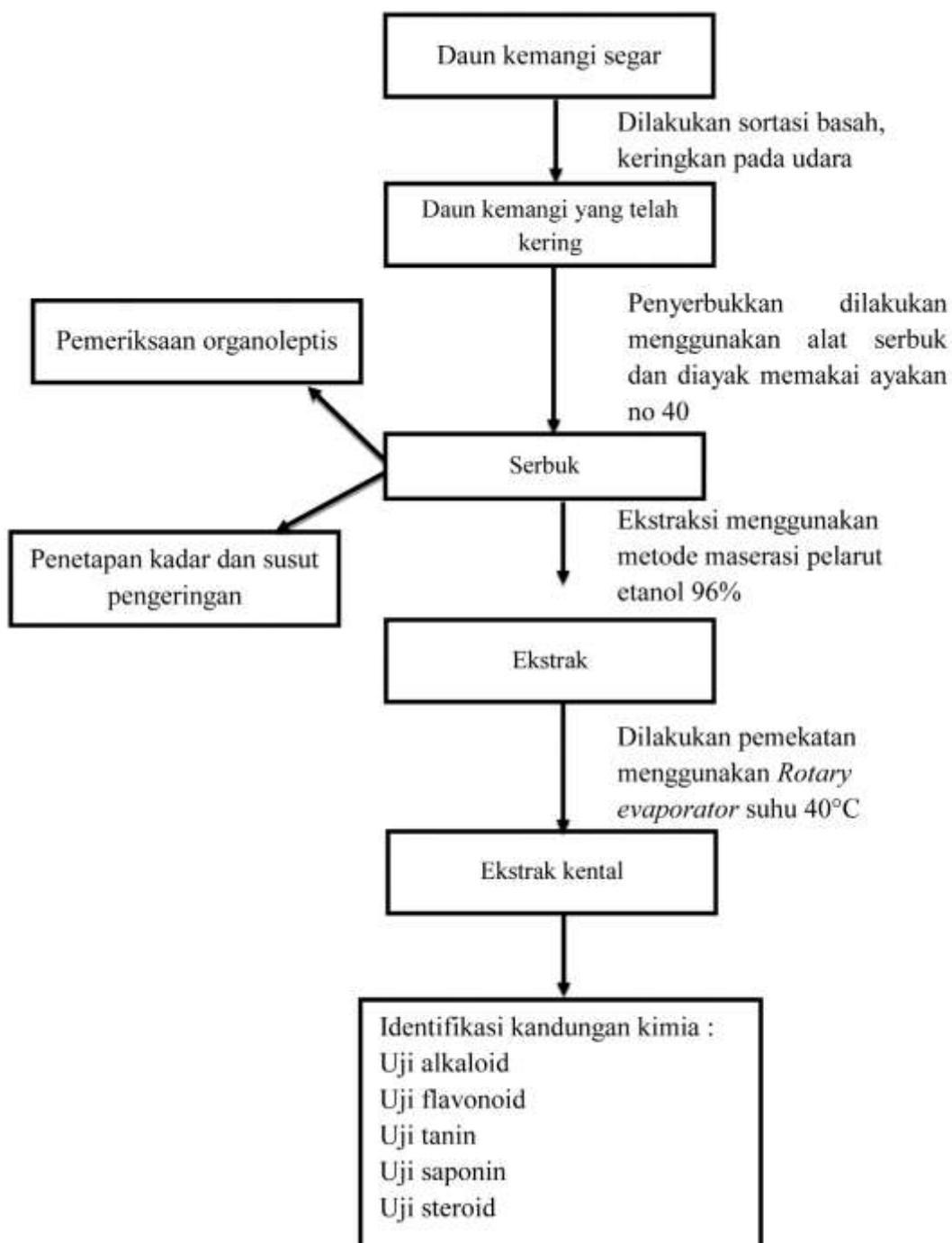
steril dan pengocokan dilakukan pada mesin vortex pada saat digunakan dan dilakukan diperiksa keseragaman kekeruhannya, kemudian dioleskan pada permukaan media MHA hingga merata pada seluruh permukaan media. Pengujian aktivitas sediaan menggunakan sumuran dengan *bor proof* 6 mm. Masing-masing bahan uji yang digunakan yakni sediaan *spray gel* ekstrak etanol daun kemangi dengan konsentrasi karbopol 0,1; 0,15 dan 0,2%, kontrol negatif sediaan tanpa adanya *gelling agent* dan kontrol positif sediaan *spray gel* merek x, kemudian dimasukkan dalam cakram yang telah dibuat dengan volume 20  $\mu$ l. Cawan petri diinkubasi dengan suhu 37°C selama 1 hari yang kemudian zona bening akan terbentuk di sekitar sumuran untuk diamati dan diukur zona hambat dengan penggaris atau jangka sorong, pengujian aktivitas antibakteri ekstrak direplikasi 3 kali.

#### F. Analisis Data

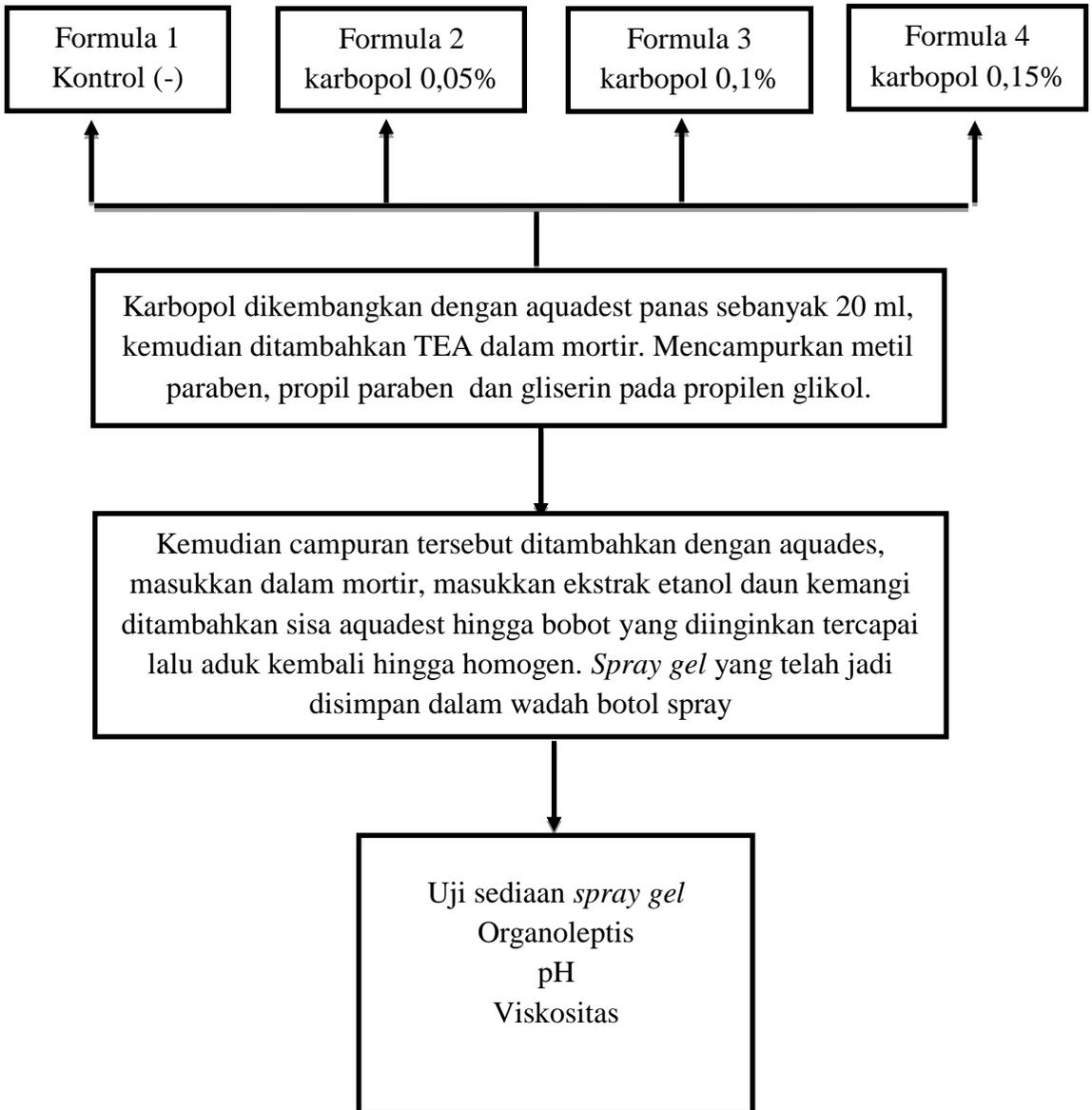
Analisis data menggunakan analisis deskriptif (organoleptis) dan analisis statistik (hasil serangkaian pengujian mutu fisik). Data uji kondisi penyemprotan, sifat ketahanan melekat, pH, viskositas dilakukan analisis menggunakan metode *one-way* ANOVA dengan tingkat kepercayaan sebesar 95%. Jika hasil analisis menunjukkan ( $p < 0,05$ ) akan dilanjutkan uji dengan metode *Post Hoc Turkey*. Sebelum dan sesudah *cycling test* dilakukan pendekatan analisis stabilitas *spray gel* dengan *paired t test*.

Data diameter hambat dianalisis secara statistik dengan metode *One-way* ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95%. Uji *Turkey* bertujuan untuk mengetahui pengaruh sama atau berbeda antara tiap konsentrasi. Bilamana didapatkan hasil yang tidak terdistribusi normal ( $p < 0,05$ ), maka pengujian dilanjutkan dengan metode *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney* guna mendapati konsentrasi yang berpengaruh setiap data uji.

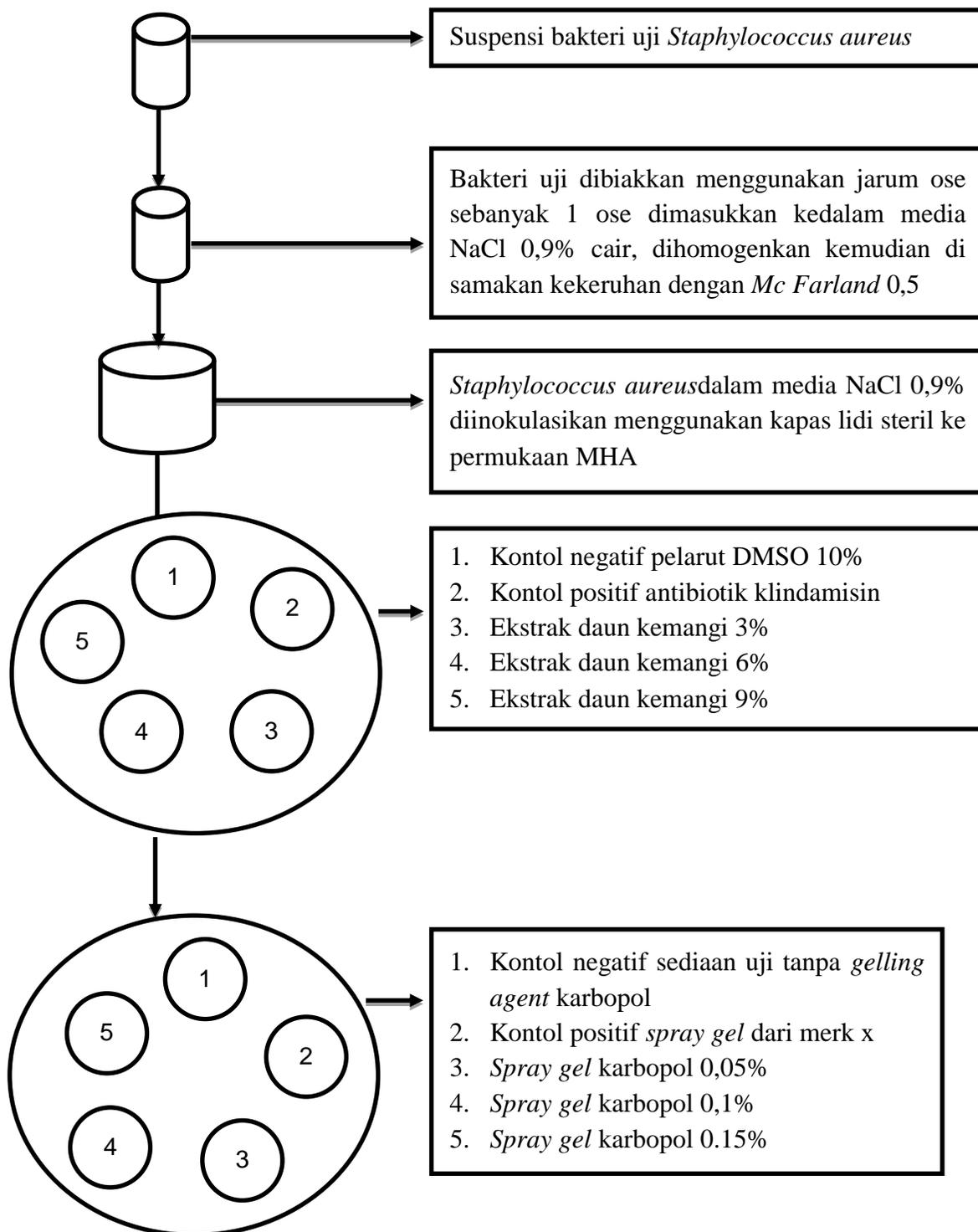
## G. Alur Pengujian



Gambar 2. Alur pembuatan ekstrak



Gambar 3. Alur pembuatan *spray gel*



Gambar 4. Alur pengujian antibakteri