

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan sampel minyak biji bunga wortel (*Carrot Seed Oil*). Tahapan pertama dilakukan formulasi sediaan krim tabir surya dari minyak biji bunga wortel (*Carrot Seed Oil*), dilanjutkan dengan uji karakteristik fisik. Tahapan kedua dilakukan formulasi nanokrim, dilanjutkan dengan uji karakteristik fisik. Tahapan ketiga dilakukan penentuan nilai SPF pada sediaan krim dan nanokrim.

#### **B. Lokasi Penelitian**

1. Skrining fitokimia dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Program studi Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Ngudi Waluyo.
2. Formulasi dan uji sifat fisik krim dan nanokrim minyak biji bunga wortel dilakukan di Laboratorium Teknologi Program Studi Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Ngudi Waluyo.
3. Uji aktivitas tabir surya dilakukan di Laboratorium Teknologi Program Studi Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Ngudi Waluyo.

#### **C. Subjek Penelitian**

Subjek dalam penelitian ini yaitu menggunakan minyak biji bunga wortel (*Carrot Seed Oil*) yang didapatkan dari PT. Happy Green.

## D. Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 3.1.

**Tabel 3. 1 Definisi Operasional**

No	Variabel	Definisi	Cara ukur	Alat Ukur	Skala ukur	Hasil ukur
1.	Krim minyak biji bunga wortel	Sediaan krim yang mengandung minyak biji bunga wortel dengan konsentrasi 4%, 5%, dan 6% sebagai zat aktif.	-	-	-	-
2.	Nanoemulsi minyak biji bunga wortel	Formulasi minyak biji bunga wortel yang dibuat dalam bentuk nanoemulsi menggunakan fase minyak berupa minyak biji bunga wortel dan fase air terdiri dari tween 80, PEG 400, dan aquadest.	-	-	-	-
3.	Nanokrim minyak biji bunga wortel	Sediaan krim nanoemulsi yang mengandung minyak biji bunga wortel dengan konsentrasi 4%, 5%, dan 6% sebagai zat aktif	-	-	-	-
4.	Sifat fisik krim dan nanokrim	Sifat fisik krim dan nanokrim adalah karakteristik yang dapat diamati dan diukur pada sediaan krim dan nanokrim yang meliputi bau, warna, bentuk, pH, homogenitas, viskositas, stabilitas, daya sebar, daya lekat, sentrifugasi dan tipe emulsi.	Pengukuran organoleptis, pH sediaan, homogenitas, viskositas, stabilitas ( <i>cycling test</i> ), daya sebar, daya lekat, sentrifugasi, tipe emulsi.	Indra penglihatan dan penciuman, pH meter, kamera, viskometer, Thermal Cycle Test equipment, alat daya sebar, alat daya lekat, sentrifugator, mikroskop	Nominal, interval dan rasio	Deskripsi warna, bau, dan bentuk, Nilai pH, Homogen/tidak homogen, Nilai viskositas (cP), Stabil/ tidak stabil, cm (diameter), detik, terpisah/ tidak terpisah, M/A atau A/M
5.	Sifat fisik nanoemulsi	Sifat fisik nanoemulsi adalah karakteristik fisik yang dapat diamati dan diukur pada emulsi berukuran nano (1-100 nm), yang meliputi % transmitan, ukuran partikel dan Indeks polidispersitas (PDI).	% transmitan Ukuran, partikel, Indeks polidispersitas (PDI)	Spektrofotometer UV-Vis, <i>Particle size analyzer</i>	Rasio	% transmitansi, nilai ukuran partikel (nanometer) dan rata-ratanya.
6.	SPF ( <i>Sun Protection Factor</i> )	Kemampuan tabir surya untuk melindungi kulit dari paparan sinar UV A.	Perhitungan	Spektrofotometer Uv-Vis	Rasio	Nilai SPF

## **E. Variabel Penelitian**

### 1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah formulasi sediaan krim dan nanokrim dengan variasi konsentrasi nanoemulsi minyak biji bunga wortel sebagai zat aktif, yaitu 0,4%, 0,5% dan 0,6 % (Arianto *et al.*, 2022).

### 2. Variabel Tergantung

Variabel terikat pada penelitian ini adalah karakteristik fisik dari sediaan krim dan nanokrim yang mencakup uji organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, daya sebar, daya lekat, sentrifugasi dan tipe emulsi serta uji stabilitas *cycling test* dan nilai SPF dari sediaan krim dan nanokrim.

### 3. Variabel Terkontrol

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah prosedur pembuatan krim dan nanokrim, termasuk suhu dalam pembuatan krim, lama dan kecepatan dalam pengadukan. Suhu selama proses berpengaruh pada tegangan antarmuka, yang dapat mempengaruhi sifat fisik krim yang dihasilkan. Lama pengadukan dan kecepatan pengadukan dapat membantu memeperkecil partikel, sehingga meningkatkan luas bidang kontak dan kecepatan pengadukan yang optimal akan meningkatkan homogenitas campuran.

## **F. Alat Dan Bahan**

### 1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi T25 digital ultraturak, objek glass onelab spesifikasi kaca bening, alat uji daya sebar

spesifikasi material plat kaca, anak timbang 50 gram -1000 gram, alat uji daya lekat material plat besi, bandul penggerak 50 gram, pH universal, viscometer brookfield LV-801, sentrifugator, PSA (*partikel size analyzer*), Spektrofotometer UV- Vis (Shimadzu UV-1800), neraca analitik (ohaus), seperangkat alat gelas (iwaki), penangas air, mikroskop, batang pengaduk, *ultra turrax*, cawan penguap (omron), tabung reaksi (Iwaki) dan termometer (tlab) dan pipet tetes.

## 2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak biji bunga wortel (*Carrot Seed Oil*) yang diperoleh dari PT. Happy Green (Jakarta), Tween 80 (*emulsifie food grade*), PEG 400 (*USP grade*), Span 80 (*emulsifie food grade*), aquadest, nanoemulsi minyak biji bunga wortel, asam stearate (*food grade*), setil alkohol (*kosmetik grade*), gliserin (*food grade*), TEA (*kosmetik grade*), metil paraben (*food grade*), phenoxyetanol (*kosmetik grade*).

## G. Prosedur Kerja

### 1. Skrining Fitokimia secara Kualitatif

#### a. Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan minyak biji bunga wortel sebanyak 3-7 tetes ditambahkan dengan beberapa tetes larutan asam sulfat pekat ( $H_2SO_4$ ), dan digojog. Perubahan warna yang terjadi diamati, apabila larutan berubah warna menjadi merah tua atau kuning menunjukkan adanya senyawa flavonoid kemudian ditambahkan

serbuk magnesium sebanyak 2 mg dan ditambahkan HCL sebanyak 3 tetes (Ropiqa et al., 2023).

b. Uji Alkaloid

Uji ini dilakukan dengan minyak diambil sebanyak 2-3 tetes dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 tetes  $\text{NH}_3$  pekat.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2N ditambahkan dan dikocok hingga terbentuk dua lapisan. Larutan tersebut dibagi menjadi 2 bagian yaitu ketabung pertama ditambahkan pereaksi Mayer dan tabung kedua ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendorff. Alkaloid dikatakan ada apabila muncul endapan (Yasser et al., 2022).

c. Uji Steroid dan Terpenoid

Uji ini dilakukan dengan sebanyak 3-7 tetes sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1-2 tetes larutan asam asetat pekat dan 1-2 tetes larutan asam sulfat pekat. Kocok perlahan dan didiamkan dalam beberapa menit. Hasil uji dianggap positif steroid apabila berwarna biru atau ungu, hasil uji dianggap positif terpenoid jika berwarna merah atau jingga (Ropiqa et al., 2023).

d. Uji Tanin

Uji tanin dilakukan dengan menimbang sebanyak 0,5 gram minyak biji bunga wortel, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan  $\text{FeCl}_3$  1 % sebanyak 1ml, jika terjadi perubahan warna hijau kecoklatan menunjukkan adanya tanin pada minyak biji bunga wortel (Debby *et al.*, 2020).

e. Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan sebanyak 3-7 tetes minyak biji bunga wortel dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 ml air (H<sub>2</sub>O) dan dikocok selama 30 detik. Larutan didiamkan selama beberapa menit, apabila busa tetap stabil dengan tinggi antara 1-10 cm, maka menandakan keberadaan saponin (Ropiqa et al., 2023).

f. Uji Senyawa Fenolik

Uji senyawa fenolik dilakukan dengan menggunakan larutan uji FeCl<sub>3</sub> 1 %, sebanyak 1ml minyak biji bunga wortel ditambahkan dengan 4 tetes larutan uji FeCl<sub>3</sub> 1 %, kemudian sampel dikocok hingga homogen. Perubahan warna menjadi merah, hijau, hitam, biru, ungu menunjukkan adanya senyawa fenolik pada sampel (Feninlambir et al., 2023).

2. Formulasi Krim Minyak Biji Bunga wortel

Formulasi Krim Minyak Biji Bunga wortel pada penelitian ini berdasarkan formula pada tabel 3.2.

**Tabel 3. 2 Formulasi Krim Minyak Biji Bunga Wortel**  
(Mailana et al., 2016)

Komponen	Jumlah (%)			Fungsi
	F1	F2	F3	
MBBW	0,4	0,5	0,6	Zat Aktif
Asam stearat	9	9	9	Emulgator fase minyak
Tween 400	5,11	5,11	5,11	Surfaktan
Span 80	0,25	0,25	0,25	Surfaktan
TEA	0,01	0,01	0,01	Emulgator fase air
Setil alkohol	3	3	3	Emulgator fase minyak
Gliserin	12	12	12	Humektan & Emolient
Metil paraben	0,2	0,2	0,2	Pengawet
Propil paraben	0,02	0,02	0,02	Pengawet
Aquadest ad	100	100	100	Pelarut

Pembuatan sediaan nanokrim minyak biji bunga wortel dilakukan dengan cara fase minyak meliputi asam stearat, setil alkohol, span 80, propil paraben dimasukan kedalam beakerglass, kemudian dilarutkan diatas penangas air pada suhu 70°C sambil diaduk hingga homogen. Fase air meliputi gliserin, TEA, tween 80 metil paraben dan aquadest dimasukkan kedalam Beakerglass, kemudian dilarutkan diatas penangas air pada suhu 70°C, aduk hingga larut sempurna. Fase minyak dituangkan kedalam fase air kemudian aduk dengan batang pengaduk hingga campuran mencapai suhu 25°C dan terbentuk krim (Mailana *et al.*, 2016). Minyak biji bunga wortel ditambahkan di dalam krim kemudian diaduk hingga homogen dan krim yang sudah jadi dimasukkan dalam pot plastik (Husnani & Rizki, 2019).

### 3. Formulasi Nanoemulsi Minyak Biji Bunga wortel

Formulasi Nanoemulsi Minyak Biji Bunga wortel pada penelitian ini berdasarkan formula pada tabel 3.3.

**Tabel 3. 3 Formula Nanoemulsi Minyak Biji Bunga Wortel**  
(Arianto *et al.*, 2022; Kuncoro *et al.*, 2023)

Komponen	Konsentrasi (%)			Fungsi
	F1	F2	F3	
MBBW	4	5	6	Zat Aktif
Tween 80	30	30	30	Surfaktan
PEG 400	15	15	15	Co-surfaktan
Phenoxyetanol	0,5	0,5	0,5	Pengawet
Aquadest	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Fase Air

Pembuatan nanoemulsi dilakukan dengan metode energi tinggi yaitu dengan cara dicampurkan minyak biji bunga wortel, Tween 80 dan PEG 400, kemudian diaduk hingga homogen, ditambahkan aquadest sedikit demi sedikit dengan menggunakan pipet tetes pada campuran bahan, diaduk sampai homogen hingga terbentuk sediaan nanoemulsi.

Bahan-bahan tersebut dihomogenkan dengan menggunakan *ultra turrak* dengan kecepatan 3000 rpm selama 60 menit. Sediaan yang telah jadi akan di uji karakteristik fisiknya (Kuncoro *et al.*, 2023).

Evaluasi karakteristik Nanoemulsi

a. Uji % Transmitan

Presentase transmitan diukur dengan menggunakan alat Spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 650 nm. Pengukuran dilakukan segera setelah sediaan dibuat, dengan melarutkan 1 ml sediaan nanoemulsi minyak biji bunga wortel kedalam 10 ml aquadest (Huda & Wahyuningsih, 2018). Sediaan nanoemulsi yang jernih dan transparan ditandai dengan presentase transmitan sebesar 90-100% (Malaka *et al.*, 2022).

b. Uji Ukuran Partikel

Pengukuran partikel dari sediaan nanoemulsi dilakukan menggunakan *particle size analyzer*. Pengujian ini dilakukan pada awal pengamatan setelah sediaan nanoemulsi dibuat, dengan cara 1 ml sampel nanoemulsi dilarutkan dengan 10 ml aquadest ke dalam kuvet dan dimasukkan ke holder, kemudian dianalisis (Munawiroh *et al.*, 2020). Ukuran partikel nano emulsi berkisar antara 10-200 nm (Andriani *et al.*, 2023)

c. Uji Indeks Polidispersitas (PDI)

Uji dilakukan menggunakan *particle size analyzer* Pengujian ini dilakukan dengan cara melarutkan 1 ml sampel nanoemulsi ke dalam 10 ml aquadest dan dimasukkan kedalam kuvet (Munawiroh *et al.*, 2020). Indeks Polidispersitas <0,5 termasuk kedalam monodispersi yang menunjukkan ukuran droplet bersifat seragam (Adi *et al.*, 2019).

#### 4. Formulasi Nanokrim Minyak Biji Bunga Wortel

Formulasi Nanokrim Minyak Biji Bunga Wortel pada penelitian ini berdasarkan formula pada tabel 3.4.

**Tabel 3. 4 Formulasi Nanokrim Minyak Biji Bunga Wortel**  
(Mailana *et al.*, 2016; Hayati and Vanira, 2021)

Komponen	Jumlah (%)			Fungsi
	F1	F2	F3	
Nanoemulsi MBBW	10	10	10	Zat Aktif
Asam stearat	9	9	9	Emulgator fase minyak
Tween 400	5,11	5,11	5,11	Surfaktan
Span 80	0,25	0,25	0,25	Surfaktan
TEA	0,01	0,01	0,01	Emulgator fase air
Setil alkohol	3	3	3	Emulgator fase minyak
Gliserin	12	12	12	Humektan & <i>Emolient</i>
Metil paraben	0,2	0,2	0,2	Pengawet
Propil paraben	0,02	0,02	0,02	Pengawet
Aquadest ad	100	100	100	Pelarut

Perhitungan pengambilan 10 gram nanoemulsi dalam 100 ml untuk pembuatan nanokrim MBBW dengan konsentrasi 0,4 %, 0,5 % dan 0,6% dapat dilihat pada tabel 3.5.

**Tabel 3. 5 Perhitungan Pengambilan Nanoemulsi untuk Pembuatan Nanokrim**

Formulasi	Konsentrasi MBBW nanoemulsi dalam 100ml	Perhitungan
F1	4%	4 gram/100 x10 = 0,4%
F2	5%	5 gram/100 x10 = 0,5%
F3	6%	6 gram/100 x10 = 0,6%

Pembuatan nanokrim untuk dibandingkan dengan sediaan krim MBBW diperlukan konsentrasi yang sama antara keduanya. Pengambilan nanoemulsi MBBW diambil 10 % dalam 100 ml agar mendapatkan nanokrim dengan konsentrasi MBBW 0,4 %, 0,5% dan 0,6%.

Pembuatan sediaan nanokrim minyak biji bunga wortel dilakukan dengan cara fase minyak meliputi asam stearat, setil alkohol, span 80,

propil paraben dimasukkan kedalam beakerglass, kemudian dilarutkan diatas penangas air pada suhu 70°C sambil diaduk hingga homogen. Fase air meliputi gliserin, TEA, tween 80 metil paraben dan aquadest dimasukkan kedalam Beakerglass, kemudian dilarutkan diatas penangas air pada suhu 70°C, aduk hingga larut sempurna. Fase minyak dituangkan kedalam fase air kemudian aduk dengan batang pengaduk hingga campuran mencapai suhu 25°C dan terbentuk krim (Mailana *et al.*, 2016). Nanoemulsi Minyak biji bunga wortel ditambahkan di dalam krim kemudian diaduk hingga homogen dan krim yang sudah jadi dimasukkan dalam pot plastik (Husnani & Rizki, 2019).

#### 4. Evaluasi karakteristik krim dan nanokrim

##### a. Uji Organoleptis

Pengamatan orgnoleptis dilakukan secara visual dengan menggunakan panca indra, dimana parameter yang diamati meliputi warna, aroma, dan bentuk (Tungadi *et al.*, 2023).

##### b. Uji pH

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter. pH meter dimasukkan kedalam wadah yang berisi sediaan krim hingga seluruh bagiannya terendam dengan sempurna. Nilai pH diperoleh dengan membaca angka yang ditunjukan pada layar pH meter. pH dari sediaan perlu disesuaikan dengan pH kulit, yaitu berada dalam rentang 4,5- 6,5 (Thomas *et al.*, 2024).

c. Uji Homogenitas

Pengujian homogenitas dilakukan dengan krim dari masing-masing formula diambil secukupnya, kemudian dioleskan pada plat kaca, kemudian diraba. Saat digosok, massa krim harus menunjukkan susunan yang homogen tanpa adanya partikel padat yang terasa dipermukaan kaca. Sediaan krim yang baik adalah krim yang semua komponennya tercampur dengan sempurna tanpa adanya partikel kasar (Leboe, 2020).

d. Uji Daya Sebar

Pengujian daya sebar dilakukan dengan cara sebanyak 0,50 gram krim diletakkan ditengah kaca bulat, kemudian di atasnya ditutup dengan kaca bulat lainnya dan kemudian dibiarkan selama 1 menit dan di ukur diameter penyebaran krim. Setelah itu, beban seberat 50, 100, 150, 200, 250 gram masih masing diletakkan secara diletakkan diatas kaca bulat dan didiamkan selama 1 menit, kemudian diameter penyebaran krim di ukur kembali dari berbagai arah. Daya sebar yang ideal untuk sediaan topikal adalah sekitar 5-7 cm (Lumentut *et al.*, 2020).

e. Uji Daya Lekat

Pengujian daya lekat dilakukan dengan cara sebanyak 0,5 gram krim dioleskan pada sebuah plat kaca, kemudian kedua plat kaca ditempelkan hingga menyatu dan ditekan dengan beban seberat 500 mg selama 5 menit. Setelah itu beban diangkat, dan hitung waktu yang

dibutuhkan hingga kedua plat tersebut terpisah dan kemudian di catat. Pengujian diulang tiga kali untuk setiap formula. Semakin lama krim menempel pada kulit maka absorpsi krim pada kulit tersebut semakin baik. Sediaan topikal yang baik harus memiliki daya lekat lebih dari 4 detik (Leboe, 2020).

f. Uji Viskositas

Pengukuran viskositas dilakukan dengan menggunakan viskometer *Brookfield* dengan *spindle* nomor 64 pada kecepatan 10 rpm. Spindle dicelupkan dalam krim yang telah disiapkan, dan nilai viskositas dapat diperoleh dari angka yang ditampilkan oleh alat (Thomas *et al.*, 2024).

g. Uji Tipe Emulsi

Sejumlah sediaan diletakkan diatas kaca objek, kemudian ditambahi 1 tetes metilen blue dan diaduk menggunakan batang pengaduk. Setelah itu kaca penutup dipasang dan diamati dengan menggunakan mikroskop. Pada tipe emulsi minyak dalam air (M/A), fase air akan tampak berwarna biru dan mengelilingi fase minyak. Sediaan dikatakan memiliki tipe emulsi minyak dalam air apabila pewarna larut dan tersebar secara merata, air berperan sebagai fase kontinu, apabila tipe emulsi minyak dalam air pewarna tidak tersebar merata dan membentuk tetesan dalam minyak. Pewarna akan larut merata dalam minyak (Murdiana *et al.*, 2022).

Sediaan krim disentrifugasi dengan menggunakan alat sentrifugator dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Setelah proses sentrifugasi, dilakukan pengamatan untuk melihat apakah terdapat pemisahan yang terjadi (Semenzato *et al.*, 2018).

#### *h. Cycling test*

Krim diuji stabilitas fisiknya menggunakan metode *cycling test* selama 6 siklus (12 hari) 1 siklus terdiri dari 2 hari. Krim F1, F2 dan F3 disimpan dalam dua kondisi suhu berbeda, yaitu pada suhu rendah  $\pm 4^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam, kemudian dipindahkan ke suhu tinggi  $\pm 40^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam untuk satu siklus. Perubahan fisik krim meliputi sifat organoleptik, homogenitas, daya lekat, daya sebar diamati sebelum dan setelah uji dilakukan (Agustiyani *et al.*, 2017).

### 5. Uji Aktivitas Tabir Surya

#### a. Pengujian Nilai SPF krim Minyak Biji Bunga Wortel

Aktivitas tabir surya ditentukan dengan menghitung nilai SPF secara *in vitro* menggunakan Spektrofotometer UV- Vis. Krim diuji dengan membuat larutan berkonsentrasi 50.000 ppm, yaitu dengan melarutkan 0,5 gram krim dalam 10 mL etanol p.a hingga homogen. Sebanyak 1 mL larutan sampel dimasukkan ke dalam kuvet dan dimasukkan ke dalam spektrofotometer Uv- Vis untuk kalibrasi. Kurva serapan uji dibuat dengan rentang panjang gelombang 290-320 nm, gunakan etanol p.a sebagai blanko. Rata-rata penyerapan ( $A_r$ ) ditentukan dengan interval 5 nm (Ilmagnun *et al.*, 2024).

b. Pengujian Nilai SPF Nanokrim Minyak Biji Bunga Wortel

Aktivitas tabir surya ditentukan dengan menghitung nilai SPF secara *in vitro* menggunakan Spektrofotometer UV- Vis. Krim diuji dengan membuat larutan berkonsentrasi 50.000 ppm, yaitu dengan melarutkan 0,5 gram nanokrim dalam 10 mL etanol p.a hingga homogen. Sebanyak 1 mL larutan sampel dimasukkan kedalam kuvet dan dimasukkan kedalam spektrofotometer Uv- Vis untuk kalibrasi. Kurva serapan uji dibuat dengan rentang panjang gelombang 290-320 nm, gunakan etanol p.a sebagai blanko. Rata- rata penyerapan (Ar) ditentukan dengan interval 5 nm (Ilmaknun *et al.*, 2024).

#### H. Analisis Data

Hasil dari analisis karakteristik fisik data krim dan nanokrim minyak biji bunga wortel meliputi organoleptis, homogenitas, sentrifugasi, dan tipe emulsi yang disajikan secara deskriptif. Analisis data yang dilakukan secara statistik meliputi uji pH, uji daya sebar, uji daya lekat, dan viskositas, stabilitas serta nilai SPF yang diolah menggunakan *software Statistical Product and Service Solutions (SPSS) versi 25*. Uji normalitas dilakukan dengan *Shapiro-Wilk* karena data  $\leq 30$ , untuk pengujian homogenitas dilakukan dengan *Levene Statistic*. Data terdistribusi normal menggunakan uji *Parametric One way ANOVA*, apabila terdapat perbedaan yang signifikan dilanjutkan dengan *Post Hoc LSD*. Data tidak terdistribusi normal menggunakan uji *non Parametric* uji *Kruskal Wallis* dan jika menunjukkan

perbedaan yang signifikan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney U test*.

Pengujian *Cycling Test* digunakan uji *Paired Sample t-test*.