

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu & Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan dari bulan februari sampai Juli 2025 di Laboratorium Bahan Alam Farmasi. Waktu yang digunakan peneliti untuk penelitian ini dilaksanakan sejak tanggal dikeluarkan ijin penelitian dalam kurun waktu kurang lebih 5 bulan.

3.2 Alat & Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrotometer UV-Vis, kuvet, mirtar dan stamper (*OneMed*), blender (*Cosmos*), toples kaca, wadah *lotion* 75 mL, pipet tetes, cawan petri, gelas objek, tabung reaksi (*Pyrex*), rak tabung reaksi, timbangan digital, gelas ukur (*Pyrex*), labu ukur (*Pyrex*), gelas beaker (*Pyrex*), batang pengaduk (*hwaki*), sendok tanduk, aluminium foil, kertas wrap, perkamen, desikator, piknometer, sendok tanduk, *moisture analyzer*, *macerator magnetic stirrer*, *sentrifuge*, oven (*Getra*), *waterbath* (*DFS*), *skin analyzer*, Spektrofotometer, dan inkubator.

3.2.2 Bahan

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah daun teh hijau, daun kelor, etanol 96% (*CV. Nurul Jaya Medical Labsains*), pH meter (*Hanna Instrumen*), kertas saring (*Bratacam*), kain kassa, asam stearate (*Kimia Jaya Labora*), setil alkohol (*Kimia Jaya Labora*), gliserin (*Kimia Jaya Labora*), trietanolamine (*Kimia Jaya Labora*), paraffin cair (*Kimia*

Jaya Labora), metil paraben (*Kimia Jaya Labora*), propil paraben (*Kimia Jaya Labora*), oleum rosae (*Kimia Jaya Labora*), aquadest (*Bratacam*), asam askrobat (*Kimia Jaya Labora*), asam oksalat (*Kimia Jaya Laboran*), MgSO_4 (*Mustikal Lab*), HCl pekat (*Kimia Jaya Laboran*), HCl 2N (*Kimia Jaya Laboran*), FeCl_3 (*Kimia Jaya Labora*), NaOH (*Kimia Jaya Labora*), KH_2PO_4 (*Mustikal Lab*), aquadest bebas CO_2 , kalium ferrisianida (*Kimia Jaya Labora*), TCA (*Mustikal Lab*), pereaksi mayer, pereaksi dragendorff, pereaksi bouchardart, dapar fosfat (0,2 mL pH 6,6), dan *metilen blue*.

3.3 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini digunakan adalah ekperimental, untuk mengetahui aktivitas antioksidan *handbody lotion* kombinasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) dan daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) dengan metode FRAP.

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang disengaja diubah untuk mempelajari pengaruh terhadap variabel yang terikat, variabel bebas yang digunakan pada penelitian adalah konsentrasi kombinasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) dan daun kelor (*Moringa oleifera* Lam).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel dapat menjadi akibat karena adanya variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini yaitu hasil dari uji sifat fisik sediaan *handbody lotion* dan uji aktivitas antioksidan

handbody lotion kombinasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) dan daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) dengan metode FRAP.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol adalah variabel yang dikendalikan, sehingga tidak akan mempengaruhi variabel yang akan diteliti. Pada penelitian ini, variabel yang digunakan adalah pengambilan sampel, penimbangan bahan, metode ekstraksi, pembuatan sediaan *handbody lotion* dan uji aktivitas antioksidan metode FRAP.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pengumpulan Sampel

Dalam Penelitian ini sampel daun teh hijau sebanyak 2,5 kg diperoleh dari Desa Karang Anyar Kabupaten Tegal. Sedangkan daun kelor sebanyak 5 kg diperoleh dari Desa Penusupan Kabupaten Tegal.

3.4.2 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman daun teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) dan daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Program Studi Farmasi S-1 Universitas Bhamada Slawi.

3.4.3 Pembuatan Simplisia

Daun teh hijau dan daun kelor yang diperoleh dicuci dengan air yang mengalir, kemudian letakan daun diatas nampan, keringkan menggunakan oven. Jika sudah kering dipilih dan dihaluskan dengan menggunakan blender, kemudian di ayak dan dilanjutkan dengan melakukan proses ekstraksi menggunakan metode maserasi (Senja et al., 2023).

3.4.4 Pembuatan Ekstrak

3.4.4.1 Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze)

Pembuatan ekstrak daun teh hijau dilakukan dengan menggunakan maserasi dengan perbandingan 1 (serbuk) : 10 (pelarut etanol 96%). Diambil 500 g serbuk dimasukkan ke dalam wadah maserasi (toples kaca), kemudian ditambahkan dengan etanol 96% sebanyak 5 L. Serbuk direndam selama 6 jam pertama dan diaduk sesekali, lalu direndam dengan lama waktu 5 hari. Hasil maserat kemudian dipisahkan dengan melakukan penyaringan menggunakan kain flanel 1x dan kertas saring 2x. Selanjutnya hasil filtrat dikumpulkan, lalu diuapkan dengan menggunakan *waterbath* hingga di peroleh ekstrak kental (Marcelina et al., 2023).

3.4.4.2 Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam)

Pembuatan ekstrak daun kelor dilakukan dengan metode maserasi. Sebanyak 500 g serbuk daun kelor dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 5 L selama 5 hari. Selama proses maserasi, dilakukan pengadukan sebanyak sekali dalam sehari. Hasil maserat kemudian disaring menggunakan kain flanel 1x dan kertas saring 2x, lalu hasil filtrat diuapkan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 50°C. Penguapan dilanjutkan dengan menggunakan *waterbath*, hingga didapatkan ekstrak kental (Manurung et al., 2023). Hasil ekstrak kental kemudian dihitung rendemen menggunakan rumus (Rosa et al., 2023).

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat simplisia (g)}}{\text{Berat ekstrak (g)}} \times 100\%$$

3.4.5 Uji Parameter *Spesifik*

3.4.5.1 Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan dengan cara ekstrak daun teh hijau dan daun kelor diamati dari mulai bentuk, warna, bau, dan rasa (Najib et al., 2018).

3.4.5.2 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia yang dilakukan pada ekstrak daun teh hijau dan daun kelor antara lain: alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin.

a. Alkaloid

Sebanyak 3 g tiap ekstrak dipekatkan di atas *waterbath*, kemudian ditambahkan 1 mL asam klorida 2N. Filtrat dibagi menjadi 3 tabung reaksi. Tabung pertama ditambahkan pereaksi dragendorff sebanyak 3 tetes. Tabung kedua ditambahkan 3 tetes pereaksi mayer. Tabung ketiga ditambahkan 3 tetes pereaksi bouchardart. Terbentuknya endapan jingga pada tabung pertama, endapan putih-kuning pada tabung kedua, dan endapan coklat sampai hitam pada tabung ketiga, menunjukkan positif alkaloid (Pelarut & Berbeda, 2024).

b. Flavonoid

Sebanyak 1 g ekstrak ditambahkan 10 mL air panas dan dididihkan selama 15 menit dan saring. Ambil filtrate 5 mL tambah dengan 0,2 g MgSO_4 dan 3 tetes HCL. Uji dikatakan berhasil jika larutan berubah warna menjadi merah-jingga (Marcelina et al., 2023).

c. Tanin

Sebanyak 1 g ekstrak ditambahkan 10 mL air panas dan dididihkan selama 15 menit dan saring. Ambil filtrate 5 mL kemudian ditambahkan dengan FeCl_3 1%. Uji dikatakan berhasil jika larutan terbentuk warna biru-hijau kehitaman (Marcelina et al., 2023).

d. Saponin

Sebanyak 0,5 g simplisia dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 mL air panas, didinginkan kemudian kocok kuat selama 10 detik, timbul busa yang mantap tidak kurang dari 10 menit setinggi 1 sampai 10 cm, pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N buih tidak hilang (Hairiyah et al., 2022).

3.4.6 Parameter *Non-Spesifik*

3.4.6.1 Uji Kadar air

Pengujian kadar air dilakukan dengan menggunakan alat *moisture analyzer*. Langkah pertama yang dilakukan yaitu dengan menimbang ekstrak sebanyak 0,5 g, kemudian masukan ekstrak ke dalam cawan aluminium yang terdapat pada alat. Nyalakan alat *moisture analyzer* pada suhu 105°C , tunggu sampai alat berbunyi yang berarti menandakan analisis sudah selesai. Syarat dari kadar air yaitu $<10\%$ (Pelarut & Berbeda, 2024).

3.4.6.2 Penetapan Susut Pengeringan

Penetapan susut pengeringan dilakukan dengan cara menimbang ekstrak sebanyak 1 g dalam botol timbang dangkal tertutup. Ekstrak diratakan dalam botol timbang, dengan menggoyangkan

botol hingga menjadi lapisan setebal kurang 5 mm sampai 10 mm. Sebelum ditambah ekstrak, botol timbang dilakukan penimbangan serta telah dipanaskan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 30 menit dan didinginkan menggunakan desikator selama 15 menit. Kemudian botol timbang yang berisi ekstrak dipanaskan menggunakan oven dengan suhu 105°C selama 30 menit dengan kondisi dibuka botolnya. Setelah itu dilakukan pendinginan menggunakan desikator selama 15 menit dan dilakukan penimbangan (Andrian et al., 2018). Lalu hitung presentase susut pengeringan dengan rumus :

$$\% \text{ Susut pengeringan} = \frac{A-B}{A} \times 100 \%$$

Keterangan :

A = Berat sampel sebelum dipanaskan (g)

B = Berat sampel setelah dipanaskan (g)

3.4.6.3 Penetapan Kadar Abu Total

Pengujian ini dilakukasn dengan menyiapkan 1 g ekstrak, lalu dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dengan suhu 600 °C. Pijarkan perlahan-lahan hingga menghasilkan arang, dinginkan, timbang. Jika cara ini arang tidak dapat dihilangkan, tambahkan air panas, saring melalui kertas saring bebas abu. Pijarkan sisa kertas 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 (Andrian et al., 2018).

$$\% \text{ Kadar abu} = \frac{w_0-w_2}{w_1} \times 100 \%$$

Keterangan : W_0 = Krus kosong

W_1 = Krus + sampel sebelum dipijarkan

W_2 = Krus + ampel setelah dipijarkan

3.4.7 Pembuatan *Handbody Lotion*

3.4.7.1 Formulasi *Handbody Lotion*

Tabel 3.1 Formulasi *Handbody Lotion*

Bahan	Formulasi (%)				Standar	Fungsi
	F0	F1	F2	F3		
Ekstrak daun teh hijau	-	1	3	5	-	Zat aktif
Ekstrak daun kelor	-	14	12	10	-	Zat aktif
Asam stearate	2,5	2,5	2,5	2,5	1-20% (Rowe, et.al, 2009)	Emulgator
Trietanolamin	2	2	2	2	2-4% (Rowe, et.al, 2009)	Emulgator
Paraffin Cair	8	8	8	8	5-10% (Rowe, et.al, 2009)	Pelembab
Setil alkohol	2	2	2	2	2-5% (Rowe, et.al, 2009)	Emulgator
Gliserin	8	8	8	8	$\leq 30\%$ (Rowe, et.al, 2009)	Humektan
Metil Paraben	0,1	0,1	0,1	0,1	0,02-0,3% (Rowe, et.al, 2009)	Pengawet
Propil Paraben	0,1	0,1	0,1	0,1	0,01-0,6% (Rowe, et.al, 2009)	Pengawet
Oleum Rosae	q.s	q.s	q.s	q.s	-	Pewangi
Aquadest add	100	100	100	100	-	Pelarut

3.4.7.2 Cara Pembuatan *Handbody Lotion*

Pembuatan *handbody lotion* diawali dengan menimbang bahan-bahan yang akan digunakan. Bahan-bahan dari pembuatan sediaan *handbody lotion* dibagi menjadi dua fase yaitu fase minyak antara lain asam stearat, setil alkohol, propil paraben, dan paraffin cair. Fase air antara lain metil paraben, gliserin, TEA dan aquadest, serta bahan yang lainnya ada *oleum rosae*. Sediaan *handbody lotion* dibuat menjadi empat formulasi yaitu

formula 0 (tanpa ekstrak) formula 1 (1% ekstrak daun teh hijau dan 14% ekstrak daun kelor), formula 2 (3% ekstrak daun teh hijau dan 12% ekstrak daun kelor), dan formula 3 (5% ekstrak daun teh hijau dan 10% ekstrak daun kelor).

Bahan yang telah ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam *beaker glass* dan panaskan di atas kompor listrik pada hingga melebur, bahan yang dipanaskan ini terdiri dari dua fase yaitu fase minyak (asam stearat, setil alkohol, parafin cair dan propil paraben) serta fase air (trietanolamin, gliserin, metil paraben, aquadest 1/3 bagian). Setelah dipanaskan, fase minyak dimasukkan ke dalam mortir sambil diaduk-aduk dengan teknik pengadukan yang cepat dan konstan hingga homogen. Memasukan fase air ke dalam fase minyak sedikit demi sedikit serta tetap dilakukan pengadukan yang cepat hingga homogen.

Kemudian memasukan ekstrak kental daun teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) dan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) sesuai dengan varian konsentrasi yang akan dibuat ke dalam campuran fase air dan fase minyak yang telah homogen dengan sambil secara terus menerus diaduk. Selanjutnya tambahkan sisa aquadest (2/3 bagian) sedikit demi sedikit sambil terus diaduk secara konstan hingga diperoleh hasil homogen. Setelah itu ditambahkan pewangi sedikit demi sedikit sambil terus diaduk hingga homogen. Sediaan *handbody lotion* yang telah homogen kemudian dimasukkan ke dalam wadah dengan ukuran wadah 7,5 mL (Ayuningsih et al., 2024).

3.4.8 Uji Evaluasi Sediaan *Handbody Lotion*

3.4.8.1 Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan dengan cara sediaan *handbody lotion* diamati secara visual terhadap bentuk fisik, yang meliputi warna, bentuk dan bau sediaan (Ayuningsih et al., 2024).

3.4.8.2 Uji pH

Uji pH dilakukan dengan cara melarutkan sediaan sebanyak 1 g dan 10 mL aquadest ke dalam *beaker glass*, lalu celupkan kertas pH kedalamnya, kemudian tunggu beberapa detik sampai angka pada kertas pH stabil dan dicatat nilai pH yang muncul (Ayuningsih et al., 2024). Syarat pH kulit yang baik untuk sediaan *handbody lotion* menurut SNI 16-4399-1996 yaitu 4,5-8 (Marcelina et al., 2023)

3.4.8.3 Uji Homogenitas

Uji homogenitas bertujuan untuk memperhatikan ada tidaknya partikel-partikel kasar pada sediaan. Uji ini dilakukan dengan mengamati secara visual dengan menggunakan dua buah kaca objek. Ditimbang sediaan *handbody lotion* sebanyak 0,5 g diletakkan pada kaca objek kemudian dioleskan secara merata dan tipis pada kaca. Sediaan *handbody lotion* harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran halus. Uji homogenitas ini merupakan salah satu uji karakterisasi sediaan (Ayuningsih et al., 2024).

3.4.8.3 Uji Daya Sebar

Uji ini dilakukan dengan cara menimbang 0,5 g sampel lalu diletakan di tengah kaca objek. Diletakkan kaca objek yang lain diatas sediaan *handbody lotion*. Kemudian tambah beban sebesar 150 g dan dibiarkan selama 1 menit. Setelah itu diukur diameter sediaan yang menyebar secara vertikal dan herizontal. Menurut standar SNI 16-3499-1996 daya sebar yang baik yaitu berkisar 5-7 cm (Hidayati et al., 2021).

3.4.8.4 Uji Daya Lekat

Uji ini dilakukan dengan cara menimbang 0,25 g sediaan. Kemudian sediaan diletakkan di tengah atas kaca objek yang telah ditentukan luasnya, kemudian gelas objek dipasang di atasnya. Lalu kaca objek dipasang dengan beban seberat 1 kg selama 5 menit. Setelah itu dilepaskan beban seberat 1 kg yang sudah terpasang pada alat uji. Catat waktu yang diperlukan hingga kedua kaca objek tersebut terlepas. Lama waktu kedua kaca objek terlepas dari alat uji dicatat sebagai waktu lekat sediaan (Ayuningsih et al., 2024).

3.4.8.5 Uji Viskositas

Uji ini dilakukan dengan menggunakan digital viskometer, dengan cara menyelupkan spindel nomer 4 pada digital viskometer dalam 7,5 mL sediaan yang telah dimasukkan dalam *beaker glass* dan dengan kecepatan 60 ppm. Tujuan dilakukan uji viskositas yaitu untuk mengetahui kekentalan dari sediaan (Ayuningsih et al., 2024). Menurut standar SNI nilai viskositas yang baik yaitu 2000,0-50000,0 cP (Hudairiah et al., 2021).

3.4.5.6 Uji Tipe Emulsi

Uji tipe emulsi dilakukan untuk menentukan tipe emulsi pada sediaan *handbody lotion*. Langkah yang dilakukan yaitu dengan mengambil sedikit sediaan *handbody lotion* dan diletakkan diatas objek gelas, kemudian teteskan *metilen blue* sebanyak 1 tetes lalu dicampurkan hingga homogen dan amati hasil dari pengujian. Tipe minyak dalam air (M/A) ditandai dengan warna biru dari *metilen blue* tersebar secara merata dengan sediaan *handbody lotion* (Fauzia Ningrum Syaputri et al., 2023).

3.4.8.7 Uji Kelembapan

Pengujian dilakukan dengan memilih panelis sebanyak 15 orang panelis perempuan dan 15 orang panelis laki-laki yang berusia 17-40 tahun yang memiliki kelembapan kulit yang kering serta tidak menggunakan produk lain pada daerah uji. Uji kelembapan dilakukan selama 3 minggu. Alat yang digunakan pada uji kelembapan yaitu *skin analyzer*. Sediaan uji dioleskan pada permukaan kulit lengan bagian bawah dengan luas permukaan 2 x 5 cm sebelum dioleskan *lotion*, terlebih dahulu kulit diukur kelembapannya menggunakan alat *skin analyzer*. Penentuan persentase kelembapan kulit dilakukan setiap satu minggu sekali setelah pemakaian. Hasil persentase kelembapan yang diperoleh kemudian diolah berdasarkan skala sebagai berikut : kulit kering (0%-45%), kulit normal atau lembab (46%-55%), kulit sangat lembab (56%-100%) (Iskandar et al., 2019).

3.4.8.8 Uji Hedonik

Pengujian dilakukan dengan memilih panelis sebanyak 15 orang panelis perempuan dan 15 orang panelis laki-laki untuk mengisi data angket yang sudah di sediakan. Setiap orang mendapatkan kesempatan yang sama untuk merasakan sampel. Uji hedonik bertujuan untuk mengevaluasi daya terima atau tingkat kesukaan panelis terhadap produk yang dihasilkan. Skala hedonik yang digunakan berkisar antara 1-4 dengan kriteria (1) tidak suka; (2) kurang suka (3) suka; (4) sangat suka (Ningsih et al., 2021).

3.4.9 Uji Aktivitas Antioksidan Metode FRAP

3.4.9.1 Penyiapan Larutan

a. Larutan Dapar Fosfat 0,2 M pH 6,6

Larutan disiapkan dengan menimbang 2 g NaOH dan dilarutkan dengan aquadest bebas CO₂ hingga tepat 250 mL dalam labu takar. Kemudian sebanyak 6,8 g KH₂PO₄ yang dilarutkan dengan aquadest bebas CO₂ 250 mL dalam labu takar. Kemudian dipipet sebanyak 16,4 mL NaOH dimasukkan dalam labu takar dan dicampurkan 50 mL KH₂PO₄, selanjutnya diukur sampai pH 6,6 dan dicukupkan dengan aquadest bebas CO₂ hingga 200 mL (Ayuningsih et al., 2024).

b. Larutan Oksalat 1%

Larutan disiapkan dengan melarutkan serbuk asam oksalat sebanyak 1 g dalam air bebas CO₂ dan diencerkan dalam labu takar 100 mL (Ayuningsih et al., 2024).

c. Larutan Kalium Ferrisianida 1%

Larutan disiapkan dengan melarutkan serbuk kalium ferrisianida sebanyak 1 g dalam aquadest dan diencerkan dalam labu takar 100 mL (Ayuningsih et al., 2024).

d. Larutan FeCl_3 0,1%

Larutan disiapkan dengan melarutkan serbuk FeCl_3 sebanyak 0,1 g dalam aquadest dan diencerkan dalam labu takar 100 mL (Ayuningsih et al., 2024).

e. Larutan Asam Trikloroasetat (TCA) 10%

Larutan disiapkan dengan melarutkan 10 g TCA dalam aquadest dan diencerkan dalam labu takar 100 mL (Ayuningsih et al., 2024).

3.4.9.2 Penyiapan Larutan Kuva Baku Vitamin C (Asam Askorbat)

Larutan stok 1000 ppm dibuat dengan melarutkan 25 mg asam askorbat yang dilarutkan dengan asam oksalat 1% hingga batas labu ukur 25 mL. Selanjutnya dari larutan stok 1000 ppm diambil masing-masing 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; dan 1,0 mL dan ditempatkan dalam labu ukur 10 mL yang berbeda dan diencerkan dengan asam oksalat 1% hingga 10 mL dan dihomogenkan. Konsentrasi larutan standar 1000 ppm asam askorbat yakni 60, 70, 80, 90, 100 ppm (Ayuningsih et al., 2024).

3.4.9.3 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum diperoleh melalui pengukuran absorbansi dari larutan standar asam askorbat pada konsentrasi 60 ppm. Dari larutan tersebut diambil sebanyak 1 mL kemudian dicampurkan dengan

larutan dapar fosfat 0,2 M (pH 6,6) sebanyak 1 mL dan larutan kalium ferrisianida 1 % sebanyak 1 mL. Lalu larutan di inkubasi pada suhu 50°C selama 20 menit. Setelah selesai di inkubasi ditambahkan dengan larutan asam trikloroasetat 10% sebanyak 1 mL ,selanjutnya larutan di *sentrifuge* pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Setelah itu diambil lapisan atas dari larutan tersebut sebanyak 1 mL dan ditambahkan dengan aquadest sebanyak 1 mL dan larutan FeCl₃ 0,1% sebanyak 0,5 mL. Lalu larutan diukur panjang gelombang maksimum dalam kisaran 400-800 nm dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis (Ayuningsih et al., 2024).

3.4.9.4 Penentuan *Operating Time*

Absorbansi larutan baku vitamin 60 ppm ditambah dari larutan tersebut diambil sebanyak 1 mL kemudian dicampurkan dengan larutan dapar fosfat 0,2 M (pH 6,6) sebanyak 1 mL dan larutan kalium ferrisianida 1 % sebanyak 1 mL, campuran lalu di inkubasi pada suhu 50°C selama 20 menit. Setelah selesai di inkubasi ditambahkan dengan larutan larutan asam trikloroasetat 10% sebanyak 1 mL, selanjutnya larutan di *sentrifuge* pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Diambil lapisan atas dari larutan tersebut sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan dengan aquadest sebanyak 1 mL dan larutan FeCl₃ 0,1% sebanyak 0,5 mL. Kemudian larutan tersebut diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh dengan interval waktu 1 menit hingga diperoleh absorbansi yang stabil. *Operating time* tercapai pada waktu dihasilkan absorbansi yang stabil (Ayuningsih et al., 2024).

3.4.9.5 Aktivitas Antioksidan dengan Metode FRAP

Larutan sampel yang akan digunakan yaitu formula sediaan *handbody lotion* yang memiliki hasil evaluasi sediaan yang terbaik. Langkah awal dengan menyiapkan sebanyak 1 g sediaan dilarutkan dalam 5 mL perbandingan etanol : akuades (80:20), lalu larutan dipipet sebanyak 1 mL dan ditambahkan dengan larutan dapar fosfat 0,2 M (pH 6,6) sebanyak 1 mL dan larutan kalium ferrisianida 1 % sebanyak 1 mL, campuran lalu di inkubasi pada suhu 50°C selama 20 menit. Setelah selesai di inkubasi ditambahkan dengan larutan asam trikloroasetat 10% sebanyak 1 mL, selanjutnya larutan di *sentrifuge* pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Diambil lapisan atas dari larutan tersebut sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan dengan aquadest sebanyak 1 mL dan larutan FeCl₃ 0,1% sebanyak 0,5 mL. Lalu larutan tersebut didiamkan selama 10 menit dan diukur absorbansinya pada 715,5 nm. Sebagai blanko digunakan campuran larutan formulasi 1 yang terdiri dari 0% ekstrak. (Ayuningsih et al., 2024).

3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian formulasi dan uji aktivitas antioksidan *handbody lotion* kombinasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) dan daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) dengan metode FRAP dianalisis dengan uji sediaan secara deskriptif kuantitatif, kemudian dianalisis menggunakan program SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*).