

PENGEMBANGAN TEH HERBAL DAUN SALAM, DAUN MINT, DAN JERUK NIPIS SEBAGAI MINUMAN FUNGSIONAL SUMBER ANTIOKSIDAN

DEVELOPMENT OF HERBAL TEA FROM BAY LEAVES, MINT LEAVES, AND LIME AS A FUNCTIONAL DRINK AS A SOURCE OF ANTIOXIDANTS

**Amelia Putri¹, Jihan Khairani Putri¹, Rifalya Prame Putri¹, Sitti Ainie¹, Umniy
Yatunnisa¹**

¹Program Studi Gizi, Fakultas Teknik Universitas Negeri Medan
Email : putriamel010705@gmail.com

ABSTRAK

Pengembangan produk makanan fungsional berbasis bahan alami menawarkan peluang besar untuk memberikan manfaat kesehatan melalui aktivitas antioksidan yang kuat. Studi ini bertujuan untuk mengoptimalkan formulasi teh herbal yang terbuat dari daun salam (*Syzygium polyanthum*), daun mint (*Mentha piperita L.*), dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*), dengan fokus pada aktivitas antioksidannya. Studi ini menggunakan pendekatan eksperimental melalui metode desain campuran yang didukung oleh perangkat lunak *Design-Expert*. Rentang proporsi bahan yang digunakan adalah 40–60% untuk daun salam, 20–40% untuk daun mint, dan 0–20% untuk jeruk nipis, dengan komposisi total 100%. Sebanyak 14 formulasi diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH, dengan persentase penghambatan radikal bebas sebagai ukuran utama. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua formulasi menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi, dengan nilai penghambatan berkisar antara 78,95% hingga 89,31%. Daun salam memberikan kontribusi paling signifikan terhadap peningkatan aktivitas penghambatan, sementara daun mint dan jeruk nipis berperan sebagai komponen pendukung. Analisis statistik mengidentifikasi model kuadratik sebagai model terbaik, meskipun tidak mencapai signifikansi statistik yang sempurna. Optimasi numerik menghasilkan formulasi optimal dengan komposisi 60,00% daun salam, 23,89% daun mint, dan 16,11% jeruk nipis, yang diperkirakan memiliki nilai inhibisi 86,18% dengan nilai keingingan 0,698. Formulasi ini menunjukkan potensi besar untuk dikembangkan menjadi minuman teh herbal fungsional dengan aktivitas antioksidan yang superior.

Kata Kunci : teh herbal fungsional, Aktivitas antioksidan, daun salam

ABSTRACT

*The development of functional food products based on natural ingredients offers great opportunities to provide health benefits through strong antioxidant activity. This study aims to optimize the formulation of herbal tea made from bay leaves (*Syzygium polyanthum*), mint leaves (*Mentha piperita L.*), and lime (*Citrus aurantifolia*), with a focus on its antioxidant*

activity. This study uses an experimental approach through a mixture design method supported by Design-Expert software. The range of ingredient proportions used is 40–60% for bay leaves, 20–40% for mint leaves, and 0–20% for lime, with a total composition of 100%. A total of 14 formulations were tested for their antioxidant activity using the DPPH method, with the percentage of free radical inhibition as the main measure. The results showed that all formulations exhibited high antioxidant activity, with inhibition values ranging from 78.95% to 89.31%. Bay leaves contributed most significantly to the increase in inhibition activity, while mint leaves and lime played a supporting role. Statistical analysis identified the quadratic model as the best model, although it did not achieve perfect statistical significance. Numerical optimization produced an optimal formulation with a composition of 60.00% bay leaves, 23.89% mint leaves, and 16.11% lime, which is estimated to have an inhibition value of 86.18% with a desirability value of 0.698. This formulation shows great potential to be developed into a functional herbal tea drink with superior antioxidant activity.

Keywords : Functional herbal tea, Antioxidant activity, Bay leaf

PENDAHULUAN

Peningkatan kesadaran masyarakat terhadap pentingnya konsumsi pangan bergizi dan aman telah mendorong intensifikasi penelitian di bidang pangan fungsional. Pangan fungsional tidak hanya berperan sebagai sumber energi dan nutrisi esensial, tetapi juga mengandung senyawa bioaktif yang berpotensi memberikan efek fisiologis positif serta berkontribusi terhadap peningkatan fungsi tubuh dan status kesehatan individu (Amalina et al., 2024). Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa antioksidan yang memiliki potensi tinggi, khususnya yang bersumber dari bahan alami. Salah satu bahan pangan yang dikenal mengandung antioksidan adalah teh.

Teh (*Camellia sinensis*) merupakan komoditas perkebunan yang telah lama dikenal dan dimanfaatkan secara luas oleh masyarakat Indonesia.

Tanaman ini memiliki kemampuan adaptasi yang baik terhadap kondisi agroklimat Indonesia, sehingga dapat tumbuh dan berkembang secara optimal di berbagai wilayah dengan karakteristik lingkungan yang mendukung. (Amalina et al., 2024). Teh termasuk salah satu jenis minuman yang umumnya digemari masyarakat, biasanya minuman ini dapat diseduh dan diminum dalam keadaan panas maupun hangat. Teh juga dikenal sebagai minuman herbal karena mempunyai banyak manfaat bagi kesehatan.

Daun teh diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif, antara lain antioksidan, polifenol, asam amino, dan kafein. Komponen bioaktif tersebut memiliki aktivitas farmakologis yang beragam, seperti menurunkan tekanan darah dan kadar kolesterol, berfungsi sebagai agen antimikroba dan antikanker, serta berperan dalam

membantu regulasi kadar glukosa darah dalam tubuh (Azizah *et al.*, 2022).

Minuman teh herbal merupakan salah satu bentuk konsumsi yang populer di kalangan masyarakat karena sifatnya yang praktis, mudah dalam penyajian, serta memiliki cita rasa yang khas. Selain itu, teh herbal mengandung senyawa bioaktif seperti polifenol dan flavonoid yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan tinggi. (Anjarsari, 2016). Antioksidan dapat dibagi menjadi dua jenis, yaitu antioksidan alami dan sintetis (Kurniawati & Sutoyo, 2021). Antioksidan alami dapat dijumpai pada beberapa sumber nabati, seperti buah-buahan, sayuran, rempah-rempah, teh, serta senyawa biologis seperti enzim dan protein (Widiya Helmalia *et al.*, 2019). Antioksidan dari sumber bahan alami berperan penting untuk menetralkan radikal bebas dan menjaga homeostasis oksidatif dalam tubuh (Hudz *et al.*, 2023).

Teh herbal termasuk dalam kelompok minuman fungsional yang kaya akan senyawa antioksidan. Produk ini dapat diformulasi dari berbagai bagian tanaman, seperti daun, biji, bunga, maupun akar. Salah satu spesies tanaman yang umum digunakan sebagai bahan dasar teh herbal adalah *Mentha piperita* L. atau dikenal sebagai daun mint. Berdasarkan hasil

pengujian terhadap berbagai jenis ekstrak daun mint, diketahui bahwa tanaman tersebut menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi dan berpotensi memberikan efek biologis yang bermanfaat bagi kesehatan. (Tafrihi *et al.*, 2021).

Daun mint (*Mentha piperita* L.) mengandung berbagai senyawa fenolik, antara lain asam rosmarinat, luteolin-7-O- rutinosida, dan eriocitrin. Selain itu, daun ini juga kaya akan komponen bioaktif seperti asam fenolat, flavonoid, serta minyak esensial yang berfungsi sebagai antioksidan alami. Senyawa-senyawa tersebut memiliki kemampuan dalam menangkap radikal bebas dan mempertahankan stabilitas sel melalui mekanisme penetralan radikal, sehingga dapat mencegah terjadinya stres oksidatif pada jaringan biologis (Endriyatno *et.al.*,2023).

Radikal bebas merupakan molekul reaktif dan tidak stabil yang dapat terbentuk secara endogen melalui proses metabolisme normal maupun secara eksogen akibat paparan faktor lingkungan, seperti polusi udara, radiasi, dan konsumsi makanan olahan. Akumulasi radikal bebas dalam jumlah berlebih dapat memicu terjadinya stres oksidatif, yang berhubungan erat dengan proses penuaan serta munculnya berbagai penyakit degeneratif, termasuk

diabetes melitus, penyakit kardiovaskular, dan kanker. Dalam konteks ini, antioksidan berperan penting dalam menetralkan radikal bebas serta berfungsi untuk menunda, menghambat, atau memperlambat proses oksidasi yang merusak struktur seluler. (AGUSTINA, 2017).

Daun salam (*Syzygium polyanthum*) telah lama dikenal sebagai salah satu rempah sekaligus bahan obat tradisional yang banyak digunakan dalam pengobatan herbal di Indonesia. Daun ini mengandung beragam senyawa bioaktif, terutama flavonoid, tanin, dan saponin, yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidannya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun salam memiliki kemampuan penangkapan radikal bebas DPPH yang kuat, dengan nilai IC_{50} sebesar 66,38 ppm, sehingga menunjukkan efektivitasnya dalam menetralkan radikal bebas dan mencegah reaksi oksidatif. (Kanggara *et al.*, 2025). Mekanisme antioksidan daun salam terutama disebabkan oleh flavonol dan asam fenolat yang mampu mendonorkan elektron dan menstabilkan radikal bebas.

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) merupakan famili Rutaceae yang mengandung vitamin C, flavonoid, asam sitrat, dan minyak atsiri yang berperan

sebagai antioksidan alami (Rafiq *et al.*, 2018). Kandungan vitamin C yang tinggi ini berfungsi sebagai donor elektron yang bereaksi cepat dengan radikal bebas sehingga dapat mencegah stres oksidatif dalam tubuh. Penelitian Zou *et al.* (2016) mengindikasikan bahwa ekstrak etanol jeruk nipis menunjukkan aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH yang kuat, dengan nilai IC_{50} sebesar 45,2 $\mu\text{g/mL}$, sehingga dikategorikan sebagai antioksidan kuat. Oleh karena itu, jeruk nipis tidak hanya berfungsi sebagai sumber vitamin C alami, tetapi juga mengandung senyawa bioaktif yang dapat meningkatkan kapasitas antioksidan total apabila dikombinasikan dengan bahan lain seperti daun mint (*Mentha piperita*) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*). Kombinasi ketiga bahan tersebut berpotensi menghasilkan efek sinergis yang memperkuat kemampuan teh herbal dalam menetralkan radikal bebas.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental menggunakan mixture design dengan bantuan software Design-Expert untuk mengoptimalkan formulasi teh herbal berbasis daun salam (*Syzygium polyanthum*), daun

mint (*Mentha piperita* L.), dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Proporsi komponen yang digunakan adalah daun salam (A) 40-60%, daun mint (B) 20-40%, dan jeruk nipis (C) 0-20%, dengan total komposisi 100%. Software menghasilkan 14 run formulasi yang kemudian diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH. Bahan yang digunakan meliputi daun salam segar, daun mint segar, jeruk nipis segar, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), metanol absolut 96%, dan akuades. Alat yang digunakan antara lain dehydrator, timbangan analitik, spektrofotometer UV-Vis, tabung reaksi, rak tabung, mikropipet, yellow tip, blue tip, vortex, aluminium foil, dan kertas saring Whatman No. 1.

Daun salam dan daun mint yang telah dibersihkan dikeringkan menggunakan dehydrator. Setelah pengeringan, masing-masing bahan ditimbang sesuai proporsi yang telah ditetapkan oleh *Design-Expert* untuk setiap run percobaan. Jeruk nipis disiapkan dalam bentuk segar dan ditambahkan sesuai komposisi yang telah ditentukan dengan total berat sampel 1,0 gram. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode seduh (infusi) dengan menyeduh sampel menggunakan 50 mL akuades mendidih dan diaduk kontinyu selama 3-5 menit.

Ekstrak disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 1 dan disimpan pada suhu 4°C sebelum dianalisis.

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH yang telah dimodifikasi. Larutan DPPH 0,15 mM dibuat dengan melarutkan 5,9 mg DPPH dalam 100 mL metanol dan disimpan dalam botol gelap. Pengujian dilakukan dengan mencampurkan 1 mL ekstrak sampel dengan 2 mL larutan DPPH dalam tabung reaksi, kemudian di-vortex hingga homogen. Sebagai kontrol, 1 mL metanol dicampurkan dengan 2 mL larutan DPPH. Blanko sampel dibuat dengan mencampurkan 1 mL ekstrak dengan 2 mL metanol untuk mengoreksi warna dari ekstrak. Campuran diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dalam kondisi gelap. Absorbansi dibaca menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm dengan metanol sebagai blanko. Setiap pengukuran dilakukan secara duplo. Persentase aktivitas penangkapan radikal bebas (%RSA) atau inhibisi dihitung menggunakan persamaan:

$$\% \text{ RSA} = \frac{\text{Abs of control} - \text{Abs of Sample}}{\text{Abs of Control}} \times 100$$

Data hasil inhibisi dari 14 run formulasi dianalisis menggunakan *Design-Expert*. Analisis meliputi pemilihan model terbaik melalui fit

summary, uji signifikansi model dengan ANOVA, evaluasi kualitas model melalui fit statistics (R^2 , Adjusted R^2 , Predicted R^2 , dan Adequate Precision), serta optimasi numerik untuk menentukan formulasi optimal. Visualisasi data dilakukan melalui contour plot dan overlay plot. Verifikasi model dilakukan dengan membandingkan nilai prediksi terhadap interval kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, rancangan campuran (mixture design) digunakan untuk mengoptimalkan proporsi tiga bahan utama, yaitu :

A (daun salam) : 40-60%

B (daun mint) : 20-40%

C (jeruk nipis) : 0-20%

Total komposisi perlakuan adalah 100%. Respon yang diukur dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan. Setelah membuat proporsi tiga bahan utama, selanjutnya dilaksanakan pembuatan sampel tiap bahan dengan cara dikeringkan menggunakan dehydrator. Setelah pengeringan selesai, penimbangan bahan dilakukan dan selanjutnya menguji kadar antioksidan setiap formula di lab analisis.

Tabel 1. Proporsi Bahan dan Hasil Inhibisi

Run	A : Daun Salam %	B : Daun Mint %	C : jeruk nipis %	Response 1 Inhibisi %
1	5	30	20	83,86
2	6	40	0	79,82
3	4	40	20	86,15
4	6	40	0	78,95
5	5	40	10	87,13
6	6	30	10	83,42
7	53,3	33,3	13,3	85,49
8	6	30	10	82,22
9	5	40	10	83,31
10	6	20	20	85,93
11	5	30	20	79,06
12	5	30	20	84,73
13	6	30	10	89,31
14	5	40	10	81,13

Berdasarkan hasil percobaan mixture design diatas yang melibatkan tiga bahan utama, diperoleh inhibisi yang bervariasi. Perbedaan nilai inhibisi pada penelitian ini menunjukkan bahwa perbedaan proporsi masing-masing komponen dalam campuran tiap Run-nya memiliki pengaruh terhadap hasil inhibisi yang dihasilkan. Secara umum, rentang inhibisi yang didapatkan adalah antara 78,95 hingga 89,31, yang menandakan bahwa setiap formulasi memiliki aktivitas inhibisi yang relatif baik.

Tabel 1 menunjukkan 14 formulasi dengan rentang inhibisi DPPH 78,95–89,31%, menandakan aktivitas antioksidan tinggi secara keseluruhan. Variasi pada replikat identik (misalnya

Run 1, 11, 12: 83,86%; 79,06%; 84,73%) disebabkan faktor biologis bahan alami, proses ekstraksi, atau variasi eksperimental, yang umum pada studi fitokimia. Formulasi dominan daun salam (60%) tanpa jeruk nipis (Run 2, 4) menghasilkan inhibisi terendah (78,95–79,82%), sementara penambahan jeruk nipis meningkatkan nilai (misalnya Run 3: 86,15%; Run 13: 89,31%), mengonfirmasi peran sinergis flavonoid dan vitamin C dari jeruk nipis.

Pada formulasi dengan proporsi berat daun salam 50%, daun mint 30%, dan jeruk nipis 20% (Run 1, 11, dan 12), memperoleh nilai inhibisi yang bervariasi yaitu 83,86; 79,06; 84,73. Perbedaan nilai inhibisi pada tiap Run yang memiliki komposisi yang sama menunjukkan adanya variasi eksperimental ataupun faktor biologis yang mempengaruhi hasil pada tiap pengujian. Hal ini umum atau mungkin saja terjadi pada penelitian karena kandungan senyawa aktif yang ada pada bahan yang digunakan dapat dipengaruhi oleh kondisi bahan, proses ekstraksi, maupun metode pengujian yang digunakan. Selanjutnya, formulasi dengan proporsi daun salam sebesar 60%, daun mint 40%, dan tanpa penambahan jeruk nipis (Run 2 dan 4) memperoleh nilai inhibisi yang relative lebih rendah, yaitu 79,82; dan 78,95. Hal

ini menunjukkan bahwa ketidaktersediaan jeruk nipis pada campuran formulasi ini dapat menurunkan aktivitas inhibisi, meskipun proporsi besaran pada daun salam dan daun mint cukup tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan antioksidan di dalam jeruk nipis seperti flavonoid dan fenolik dapat meningkatkan efektivitas inhibisi.

Pada kombinasi daun salam sebesar 50%, daun mint 40%, dan jeruk nipis 10% (Run 5, 9, dan 14) menunjukkan nilai inhibisi yang relatif tinggi. Pada hasil ini menunjukkan bahwa keseimbangan proporsi antara tiap bahan dapat meningkatkan respon inhibisi. Formulasi dengan proporsi daun salam 40%, daun mint 40%, dan jeruk nipis 20% (Run 3) menghasilkan nilai inhibisi sebesar 86,15, nilai ini termasuk dalam nilai yang relatif tinggi dalam respon inhibisi.

Formulasi dengan komposisi daun salam 60%, daun mint 30%, dan jeruk nipis 10% (Run 6, 8, dan 13) menunjukkan nilai hasil inhibisi yang bervariasi dan cukup signifikan, yaitu 83,42; 82,22; dan 89,31. Pada hasil ini mengindikasikan bahwa dominasi daun salam pada formulasi mampu memberikan efek inhibisi yang maksimal. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Bahriul,

dkk (2014) bahwa daun salam mempunyai daya antioksidan yang sangat kuat (Diah *et al.*, 2014). selanjutnya, formulasi dengan daun salam 60%, daun mint 20%, dan jeruk nipis 20% (Run 10) menunjukkan hasil inhibisi sebesar 85,93. Hasil ini menunjukkan angka yang relatif tinggi. Sedangkan Run 7 dengan proporsi 53,33% daun salam, 33,33% daun mint, dan 13,33% jeruk nipis menghasilkan nilai inhibisi sebesar 85,49. Nilai ini menunjukkan bahwa formulasi dengan berat proporsi yang seimbang antar tiap bahannya juga dapat menghasilkan nilai inhibisi yang cukup baik, meskipun belum mencapai nilai yang maksimum. Secara keseluruhan, hasil percobaan formulasi menunjukkan hasil yang cukup baik, daun salam memiliki kontribusi utama dalam peningkatan respon inhibisi, sementara daun mint dan jeruk nipis berperan sebagai pendukung yang memperkuat efek penghambatan.

Fit Summary
Response 1: inhibisi
Mixture Component Coding is 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 548, 549, 550, 551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 694, 695, 696, 697, 698, 699, 700, 701, 702, 703, 704, 705, 706, 707, 708, 709, 710, 711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 757, 758, 759, 760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818, 819, 820, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837, 838, 839, 840, 841, 842, 843, 844, 845, 846, 847, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 854, 855, 856, 857, 858, 859, 860, 861, 862, 863, 864, 865, 866, 867, 868, 869, 870, 871, 872, 873, 874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881, 882, 883, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890, 891, 892, 893, 894, 895, 896, 897, 898, 899, 900, 901, 902, 903, 904, 905, 906, 907, 908, 909, 910, 911, 912, 913, 914, 915, 916, 917, 918, 919, 920, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 927, 928, 929, 930, 931, 932, 933, 934, 935, 936, 937, 938, 939, 940, 941, 942, 943, 944, 945, 946, 947, 948, 949, 950, 951, 952, 953, 954, 955, 956, 957, 958, 959, 960, 961, 962, 963, 964, 965, 966, 967, 968, 969, 970, 971, 972, 973, 974, 975, 976, 977, 978, 979, 980, 981, 982, 983, 984, 985, 986, 987, 988, 989, 990, 991, 992, 993, 994, 995, 996, 997, 998, 999, 1000, 1001, 1002, 1003, 1004, 1005, 1006, 1007, 1008, 1009, 1010, 1011, 1012, 1013, 1014, 1015, 1016, 1017, 1018, 1019, 1020, 1021, 1022, 1023, 1024, 1025, 1026, 1027, 1028, 1029, 1030, 1031, 1032, 1033, 1034, 1035, 1036, 1037, 1038, 1039, 1040, 1041, 1042, 1043, 1044, 1045, 1046, 1047, 1048, 1049, 1050, 1051, 1052, 1053, 1054, 1055, 1056, 1057, 1058, 1059, 1060, 1061, 1062, 1063, 1064, 1065, 1066, 1067, 1068, 1069, 1070, 1071, 1072, 1073, 1074, 1075, 1076, 1077, 1078, 1079, 1080, 1081, 1082, 1083, 1084, 1085, 1086, 1087, 1088, 1089, 1090, 1091, 1092, 1093, 1094, 1095, 1096, 1097, 1098, 1099, 1100, 1101, 1102, 1103, 1104, 1105, 1106, 1107, 1108, 1109, 1110, 1111, 1112, 1113, 1114, 1115, 1116, 1117, 1118, 1119, 1120, 1121, 1122, 1123, 1124, 1125, 1126, 1127, 1128, 1129, 1130, 1131, 1132, 1133, 1134, 1135, 1136, 1137, 1138, 1139, 1140, 1141, 1142, 1143, 1144, 1145, 1146, 1147, 1148, 1149, 1150, 1151, 1152, 1153, 1154, 1155, 1156, 1157, 1158, 1159, 1160, 1161, 1162, 1163, 1164, 1165, 1166, 1167, 1168, 1169, 1170, 1171, 1172, 1173, 1174, 1175, 1176, 1177, 1178, 1179, 1180, 1181, 1182, 1183, 1184, 1185, 1186, 1187, 1188, 1189, 1190, 1191, 1192, 1193, 1194, 1195, 1196, 1197, 1198, 1199, 1200, 1201, 1202, 1203, 1204, 1205, 1206, 1207, 1208, 1209, 1210, 1211, 1212, 1213, 1214, 1215, 1216, 1217, 1218, 1219, 1220, 1221, 1222, 1223, 1224, 1225, 1226, 1227, 1228, 1229, 1230, 1231, 1232, 1233, 1234, 1235, 1236, 1237, 1238, 1239, 1240, 1241, 1242, 1243, 1244, 1245, 1246, 1247, 1248, 1249, 1250, 1251, 1252, 1253, 1254, 1255, 1256, 1257, 1258, 1259, 1260, 1261, 1262, 1263, 1264, 1265, 1266, 1267, 1268, 1269, 1270, 1271, 1272, 1273, 1274, 1275, 1276, 1277, 1278, 1279, 1280, 1281, 1282, 1283, 1284, 1285, 1286, 1287, 1288, 1289, 1290, 1291, 1292, 1293, 1294, 1295, 1296, 1297, 1298, 1299, 1300, 1301, 1302, 1303, 1304, 1305, 1306, 1307, 1308, 1309, 1310, 1311, 1312, 1313, 1314, 1315, 1316, 1317, 1318, 1319, 1320, 1321, 1322, 1323, 1324, 1325, 1326, 1327, 1328, 1329, 1330, 1331, 1332, 1333, 1334, 1335, 1336, 1337, 1338, 1339, 1340, 1341, 1342, 1343, 1344, 1345, 1346, 1347, 1348, 1349, 1350, 1351, 1352, 1353, 1354, 1355, 1356, 1357, 1358, 1359, 1360, 1361, 1362, 1363, 1364, 1365, 1366, 1367, 1368, 1369, 1370, 1371, 1372, 1373, 1374, 1375, 1376, 1377, 1378, 1379, 1380, 1381, 1382, 1383, 1384, 1385, 1386, 1387, 1388, 1389, 1390, 1391, 1392, 1393, 1394, 1395, 1396, 1397, 1398, 1399, 1400, 1401, 1402, 1403, 1404, 1405, 1406, 1407, 1408, 1409, 1410, 1411, 1412, 1413, 1414, 1415, 1416, 1417, 1418, 1419, 1420, 1421, 1422, 1423, 1424, 1425, 1426, 1427, 1428, 1429, 1430, 1431, 1432, 1433, 1434, 1435, 1436, 1437, 1438, 1439, 1440, 1441, 1442, 1443, 1444, 1445, 1446, 1447, 1448, 1449, 1450, 1451, 1452, 1453, 1454, 1455, 1456, 1457, 1458, 1459, 1460, 1461, 1462, 1463, 1464, 1465, 1466, 1467, 1468, 1469, 1470, 1471, 1472, 1473, 1474, 1475, 1476, 1477, 1478, 1479, 1480, 1481, 1482, 1483, 1484, 1485, 1486, 1487, 1488, 1489, 1490, 1491, 1492, 1493, 1494, 1495, 1496, 1497, 1498, 1499, 1500, 1501, 1502, 1503, 1504, 1505, 1506, 1507, 1508, 1509, 1510, 1511, 1512, 1513, 1514, 1515, 1516, 1517, 1518, 1519, 1520, 1521, 1522, 1523, 1524, 1525, 1526, 1527, 1528, 1529, 1530, 1531, 1532, 1533, 1534, 1535, 1536, 1537, 1538, 1539, 1540, 1541, 1542, 1543, 1544, 1545, 1546, 1547, 1548, 1549, 1550, 1551, 1552, 1553, 1554, 1555, 1556, 1557, 1558, 1559, 1560, 1561, 1562, 1563, 1564, 1565, 1566, 1567, 1568, 1569, 1570, 1571, 1572, 1573, 1574, 1575, 1576, 1577, 1578, 1579, 1580, 1581, 1582, 1583, 1584, 1585, 1586, 1587, 1588, 1589, 1590, 1591, 1592, 1593, 1594, 1595, 1596, 1597, 1598, 1599, 1600, 1601, 1602, 1603, 1604, 1605, 1606, 1607, 1608, 1609, 1610, 1611, 1612, 1613, 1614, 1615, 1616, 1617, 1618, 1619, 1620, 1621, 1622, 1623, 1624, 1625, 1626, 1627, 1628, 1629, 1630, 1631, 1632, 1633, 1634, 1635, 1636, 1637, 1638, 1639, 1640, 1641, 1642, 1643, 1644, 1645, 1646, 1647, 1648, 1649, 1650, 1651, 1652, 1653, 1654, 1655, 1656, 1657, 1658, 1659, 1660, 1661, 1662, 1663, 1664, 1665, 1666, 1667, 1668, 1669, 1670, 1671, 1672, 1673, 1674, 1675, 1676, 1677, 1678, 1679, 1680, 1681, 1682, 1683, 1684, 1685, 1686, 1687, 1688, 1689, 1690, 1691, 1692, 1693, 1694, 1695, 1696, 1697, 1698, 1699, 1700, 1701, 1702, 1703, 1704, 1705, 1706, 1707, 1708, 1709, 1710, 1711, 1712, 1713, 1714, 1715, 1716, 1717, 1718, 1719, 1720, 1721, 1722, 1723, 1724, 1725, 1726, 1727, 1728, 1729, 1730, 1731, 1732, 1733, 1734, 1735, 1736, 1737, 1738, 1739, 1740, 1741, 1742, 1743, 1744, 1745, 1746, 1747, 1748, 1749, 1750, 1751, 1752, 1753, 1754, 1755, 1756, 1757, 1758, 1759, 1760, 1761, 1762, 1763, 1764, 1765, 1766, 1767, 1768, 1769, 1770, 1771, 1772, 1773, 1774, 1775, 1776, 1777, 1778, 1779, 1780, 1781, 1782, 1783, 1784, 1785, 1786, 1787, 1788, 1789, 1790, 1791, 1792, 1793, 1794, 1795, 1796, 1797, 1798, 1799, 1800, 1801, 1802, 1803, 1804, 1805, 1806, 1807, 1808, 1809, 1810, 1811, 1812, 1813, 1814, 1815, 1816, 1817, 1818, 1819, 1820, 1821, 1822, 1823, 1824, 1825, 1826, 1827, 1828, 1829, 1830, 1831, 1832, 1833, 1834, 1835, 1836, 1837, 1838, 1839, 1840, 1841, 1842, 1843, 1844, 1845, 1846, 1847, 1848, 1849, 1850, 1851, 1852, 1853, 1854, 1855, 1856, 1857, 1858, 1859, 1860, 1861, 1862, 1863, 1864, 1865, 1866, 1867, 1868, 1869, 1870, 1871, 1872, 1873, 1874, 1875, 1876, 1877, 1878, 1879, 1880, 1881, 1882, 1883, 1884, 1885, 1886, 1887, 1888, 1889, 1890, 1891, 1892, 1893, 1894, 1895, 1896, 1897, 1898, 1899, 1900, 1901, 1902, 1903, 1904, 1905, 1906, 1907, 1908, 1909, 1910, 1911, 1912, 1913, 1914, 1915, 1916, 1917, 1918, 1919, 1920, 1921, 1922, 1923, 1924, 1925, 1926, 1927, 1928, 1929, 1930, 1931, 1932, 1933, 1934, 1935, 1936, 1937, 1938, 1939, 1940, 1941, 1942, 1943, 1944, 1945, 1946, 1947, 1948, 1949, 1950, 1951, 1952, 1953, 1954, 1955, 1956, 1957, 1958, 1959, 1960, 1961, 1962, 1963, 1964, 1965, 1966, 1967, 1968, 1969, 1970, 1971, 1972, 1973, 1974, 1975, 1976, 1977, 1978, 1979, 1980, 1981, 1982, 1983, 1984, 1985, 1986, 1987, 1988, 1989, 1990, 1991, 1992, 1993, 1994, 1995, 1996, 1997, 1998, 1999, 2000, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021, 2022, 2023, 2024, 2025, 2026, 2027, 2028, 2029, 2030, 2031, 2032, 2033, 2034, 2035, 2036, 2037, 2038, 2039, 2040, 2041, 2042, 2043, 2044, 2045, 2046, 2047, 2048, 2049, 2050, 2051, 2052, 2053, 2054, 2055, 2056, 2057, 2058, 2059, 2060, 2061, 2062, 2063, 2064, 2065, 2066, 2067, 2068, 2069, 2070, 2071, 2072, 2073, 2074, 2075, 2076, 2077, 2078, 2079, 2080, 2081, 2082, 2083, 2084, 2085, 2086, 2087, 2088, 2089, 2090, 2091, 2092, 2093, 2094, 2095, 2096, 2097, 2098, 2099, 2100, 2101, 2102, 2103, 2104, 2105, 2106, 2107, 2108, 2109, 2110, 2111, 2112, 2113, 2114, 2115, 2116, 2117, 2118, 2119, 2120, 2121, 2122, 2123, 2124, 2125, 2126, 2127, 2128, 2129, 2130, 2131, 2132, 2133, 2134, 2135, 2136, 2137, 2138, 2139, 2140, 2141, 2142, 2143, 2144, 2145, 2146, 2147, 2148, 2149, 2150, 2151, 2152, 2153, 2154, 2155, 2156, 2157, 2158, 2159, 2160, 2161, 2162, 2163, 2164, 2165, 2166, 2167, 2168, 2169, 2170, 2171, 2172, 2

signifikan secara statistik. Komponen linear campuran (linear mixture) ataupun interaksi antar komponen memiliki p -value $>0,05$, dapat diartikan bahwa tidak ada satupun faktor yang berpengaruh signifikan secara individual terhadap responsi inhibisi. Nilai lack of fit sendiri tidak signifikan dengan p -value 0,6331 yang menunjukkan bahwa variasi data masih bisa dijelaskan oleh kesalahan murni (pure error), sehingga model masih termasuk dalam kategori layak untuk digunakan dalam eksplorasi formulasi. Hasil ini mengindikasikan bahwa perubahan pada komposisi bahan dengan rentang yang diuji belum memberikan pengaruh yang kuat secara statistik terhadap respon inhibisi. Hal ini kemungkinan terjadi karena rentang formulasinya yang sempit atau variabilitas biologis dari bahan alami.

Fit Statistics

Std. Dev.	2.93		R^2	0.4577
Mean	83.61		Adjusted R^2	0.1187
C.V. %	3.50		Predicted R^2	-3.8593
			Adeq Precision	3.4879

Gambar 3. Hasil Fit Statistic

Adjusted R^2 pada hasil fit statistic diatas menunjukkan nilai 0,1187, mengindikasikan bahwa setelah dilakukan koreksi terhadap jumlah parameter, kemampuan prediksi pada

model relatif rendah, serta nilai Predicted R^2 yang menunjukkan angka -3,8593 (negatif) mengindikasikan bahwa rata-rata respon lebih baik dalam memprediksi data dibandingkan dengan model yang terbentuk. Nilai Adeq Precision sebesar 3,4879 menunjukkan bahwa nilai berada dibawah nilai ideal (≥ 4) menunjukkan bahwa rasio sinyal terhadap noise tergolong ke dalam golongan rendah. Secara keseluruhan hasil data, menunjukkan bahwa model Quadratic termasuk belum optimal dalam keperluan prediksi, namun masih dapat digunakan untuk pendekatan awal dalam memahami kecenderungan efek campuran.

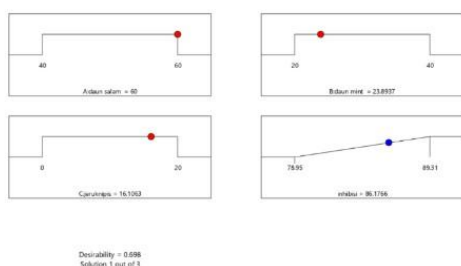
Coefficients in Terms of Coded Factors

Component	Coefficient Estimate	df	Standard Error	95% CI Low	95% CI High	VIF
A-daun salam	96.56	1	14.80	62.43	130.68	50.70
B-daun mint	87.10	1	14.80	52.98	121.23	50.70
C-jeruk nipis	63.72	1	13.65	32.24	95.19	37.70
AB	-50.09	1	41.35	-145.45	45.27	48.40
AC	22.56	1	38.21	-65.55	110.67	30.68
BC	42.34	1	38.21	-45.76	130.45	30.68

Gambar 4. Hasil Coefficients in Terms of Coded Factors

Berdasarkan data hasil table koefisien diatas, daun salam memiliki koefisien tertinggi sebesar 96,56 menunjukkan kontribusi yang dominan dalam peningkatan inhibisi. Daun mint dan jeruk nipis juga memberikan

kontribusi yang positif dengan koefisiensi masing-masing 87,10 dan 63,72. Interaksi AB (daun salam, dan daun mint) bernilai negatif (-50,09) menunjukkan adanya efek antagonis yang terjadi antara daun salam dan daun mint pada kombinasi tertentu, namun interaksi AC (daun salam, dan jeruk nipis) dan BC (daun mint, dan jeruk nipis) memiliki nilai yang positif meskipun tidak signifikan secara statistik, mengindikasikan adanya kecenderungan sinergis yang lemah. Secara biologis, hasil ini dapat dikaitkan dengan kandungan senyawa aktif pada daun salam yang mengandung flavonoid, tanin, dan juga minyak atsiri yang berpotensi sebagai anti mikroba, daun mint yang mengandung menthol dan senyawa fenolik, serta jeruk nipis yang mengandung asam sitrat dan flavonoid. Namun, interaksi antar senyawa bioaktif pada bahan tersebut tidak selalu bersifat aditif, sehingga menyebabkan efek campuran yang terjadi tidak selalu meningkat secara linear.



Gambar 5. Hasil Optimasi Produk

Berdasarkan hasil analisis Numerical Optimization diperoleh hasil optimum daun salam 60,00; daun mint 23,89; dan jeruk nipis 16,11. Pada komposisi ini diperoleh nilai inhibisi prediksi sebesar 86,18 dan desirability sebesar 0,698. Nilai desirability menunjukkan hasil yang cukup optimal meskipun belum mencapai kondisi ideal maksimum, karena semakin mendekati angka 1 maka semakin bagus hasil tersebut.

Point Prediction

Two-sided Confidence = 95% Population = 99%

Solution 1 of 3	Predicted Response	Predicted Mean	Predicted Median	Observed	Std Dev	SE Mean	95% CI low for Mean	95% CI high for Mean	95% TI low for 99% Pop	95% TI high for 99% Pop
inhibisi	86.1756	86.1756			2.92901	1.80162	82.002	90.3311	69.9174	102.436

Gambar 6. Hasil Prediksi dan Interval Kepercayaan

Hasil Point Prediction diatas menunjukkan bahwa pada formulasi, nilai inhibisi berada pada interval kepercayaan 95%, berada pada rentang 82,02 – 90,33, sedangkan interval prediksi berada pada rentang 69,91 - 102,44. Rentang interval ini relatif lebar

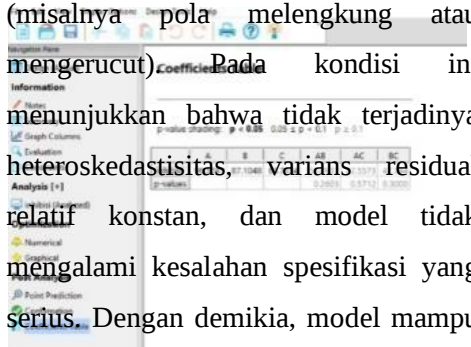
yang menunjukkan adanya variasi respon yang cukup besar, yang berkemungkinan dipengaruhi oleh perbedaan kandungan senyawa aktif pada bahan alami serta variasi kondisi eksperimental yang terjadi selama proses pengujian.

Normal plot residual menunjukkan bahwa titik-titik residual menyebar mengikuti garis lurus tanpa penyimpangan yang signifikan. Hal ini menandakan bahwa residual yang terjadi berdistribusi secara normal, dan asumsi normalitas dalam model regresi terpenuhi. Distribusi residual yang terjadi secara normal mengindikasikan bahwa model yang dibuat sudah cukup baik dalam mempresentasikan hubungan yang terjadi antara komposisi campuran dan responsi inhibisi.

Pada grafik residual terhadap nilai prediksi menunjukkan titik residual yang tersebar secara acak disekitar garis nol, dan tidak terlihat pola tertentu (misalnya pola melengkung atau mengerucut). Pada kondisi ini menunjukkan bahwa tidak terjadinya heteroskedastisitas, varians residual relatif konstan, dan model tidak mengalami kesalahan spesifikasi yang serius. Dengan demikian, model mampu memprediksi respon inhibisi secara konsisten pada berbagai kombinasi komponen. Hasil Box-cox plot pada

gambar diatas menunjukkan nilai lamda saat ini adalah 1, hal ini berarti data respon inhibisi sudah berada pada skala yang sesuai, sehingga tidak lagi diperlukan transformasi data, dan model regresi saat ini dapat digunakan langsung tanpa perlu modifikasi respon. Kondisi ini semakin memperkuat validitas model dikarenakan transformasi sering diperlukan jika terdapat ketidaknormalan atau varians yang tidak konstan. Selanjutnya adalah grafik Cook Distance yang memperlihatkan bahwa Sebagian

besar titik berada di bawah batas ambang garis merah, dan tidak terdapat titik yang sangat dominan ataupun berpengaruh berlebihan terhadap model. Hal ini menunjukkan tidak adanya data pencilon (outlier) yang secara signifikan mempengaruhi parameter model, dan semua Run eksperimen memberikan kontribusi yang wajar pada pembentukan model.



Gambar 7. Coefficients Table

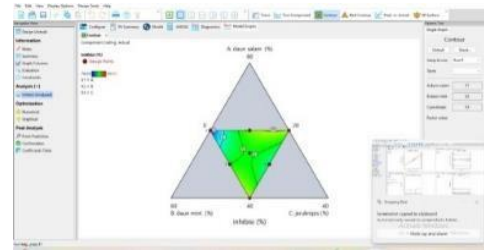
Berdasarkan informasi dari tabel koefisien pada desain campuran kuadratik, terlihat bahwa setiap komponen dalam campuran memiliki dampak yang berbeda pada respons inhibisi. Komponen dengan nilai koefisien tertinggi adalah daun salam (A) yang mencapai 96,56, menandakan bahwa daun salam adalah komponen paling utama dalam meningkatkan aktivitas inhibisi. Koefisien yang tinggi ini menunjukkan bahwa peningkatan proporsi daun salam dalam campuran cenderung diikuti oleh peningkatan respons inhibisi yang lebih signifikan dibandingkan dengan komponen lainnya. Hal ini bisa dijelaskan secara biologis karena daun salam mengandung zat bioaktif seperti flavonoid, tanin, dan minyak atsiri yang dikenal memiliki sifat antioksidan dan dapat menghambat radikal bebas dengan sangat baik.

Komponen daun mint (B) memiliki nilai koefisien 87,10, yang menunjukkan bahwa daun mint juga memberikan kontribusi positif terhadap respons inhibisi, walaupun tidak

sebesar, daun salam. Daun mint diketahui mengandung senyawa fenolik dan minyak atsiri seperti mentol yang berfungsi sebagai antioksidan, membuat keberadaannya dalam campuran mendukung aktivitas inhibisi yang terukur. Sementara itu, jeruk nipis (C) mencatatkan nilai koefisien terendah, yaitu 63,72, yang menandakan bahwa kontribusinya terhadap peningkatan respons inhibisi secara individu lebih kecil dibandingkan dengan dua komponen lainnya. Meskipun begitu, jeruk nipis tetap memainkan peran sebagai komponen pendukung karena asam organik dan flavonoid yang terdapat di dalamnya dapat membantu meningkatkan efek antioksidan dalam campuran.

Selain melihat efek utama dari masing-masing komponen, tabel koefisien juga menunjukkan adanya interaksi antara komponen. Interaksi antara daun salam dan daun mint (AB) menunjukkan nilai koefisien negatif -50,09, yang berarti ada kecenderungan efek antagonistik pada kombinasi tertentu. Ini artinya, pada proporsi tertentu, kombinasi daun salam dan daun mint tidak selalu meningkatkan respons inhibisi secara linear, kemungkinan disebabkan oleh interaksi antara senyawa aktif yang saling menghambat. Di sisi lain, interaksi antara daun salam

dan jeruk nipis (AC) serta daun mint dan jeruk nipis (BC) menunjukkan nilai koefisien positif, meskipun tidak signifikan secara statistik. Nilai positif ini mengindikasikan adanya kemungkinan sinergi yang lemah, di mana penambahan jeruk nipis dapat membantu menjaga atau sedikit meningkatkan respons inhibisi saat dikombinasikan dengan daun salam atau daun mint. Namun, karena semua nilai p-value untuk interaksi antar komponen lebih dari 0,05, interaksi tersebut tidak dianggap signifikan secara statistik. Ini menunjukkan bahwa respons inhibisi dalam penelitian ini lebih didominasi oleh efek utama masing-masing komponen daripada efek interaksi. Kondisi ini sering terjadi pada penelitian yang menggunakan bahan alami, karena respons biologis sering dipengaruhi oleh keberadaan senyawa aktif tertentu dan variasi kadar fitokimia di antara bahan-bahan. Dengan demikian, hasil dari tabel koefisien menegaskan bahwa daun salam adalah faktor utama dalam peningkatan aktivitas inhibisi, sedangkan daun mint dan jeruk nipis berfungsi sebagai komponen pendukung yang memperkuat respons secara keseluruhan tanpa menunjukkan efek interaksi yang signifikan.



Gambar 8. Contour Plot

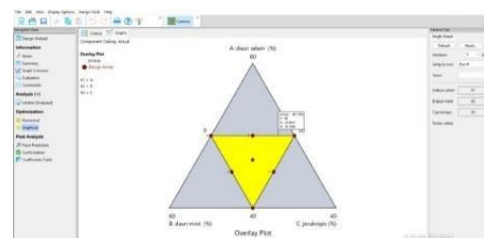
Berdasarkan analisis yang dilakukan menggunakan Design-Expert, diagram kontur digunakan untuk menggambarkan hubungan antara variasi proporsi daun salam (A), daun mint (B), dan jeruk nipis (C) terhadap respon presentase inhibisi. Grafik ini berbentuk segitiga (simplex contour plot) dan mencerminkan karakteristik desain campuran, di mana setiap titik pada bidang segitiga mewakili kombinasi proporsi ketiga bahan dengan total jumlah 100%. Perubahan warna pada diagram kontur menunjukkan perbedaan nilai respon inhibisi yang dihasilkan dari setiap gabungan formulasi.

Diagram kontur menunjukkan bahwa nilai inhibisi tercapai dalam rentang sekitar 78,95% hingga 89,31%, sesuai dengan data eksperimen di setiap percobaan. Warna yang lebih gelap (hijau tua) mencerminkan nilai inhibisi yang lebih rendah, sedangkan warna yang lebih terang (hijau kekuningan hingga kuning) menggambarkan nilai inhibisi yang lebih tinggi. Dari pola

warna yang terlihat, dapat disimpulkan bahwa nilai inhibisi tertinggi tidak terdapat pada sudut segitiga, yang menunjukkan dominasi satu komponen, tetapi lebih dekat pada area tengah hingga sisi dengan proporsi tinggi daun salam, tetap disertai daun mint dan jeruk nipis. Area dengan nilai inhibisi yang tinggi terlihat pada kombinasi dengan proporsi daun salam sekitar 50–60%, daun mint 20–35%, dan jeruk nipis 10–20%. Pola ini membuktikan bahwa peningkatan proporsi daun salam secara signifikan berkontribusi terhadap respon inhibisi, namun keberadaan daun mint dan jeruk nipis juga penting untuk mencapai nilai inhibisi yang maksimal. Sebaliknya, pada area yang mendekati sisi tanpa jeruk nipis atau dengan proporsi jeruk nipis yang sangat minim, nilai inhibisi cenderung lebih rendah, meskipun proporsi daun salam dan daun mint cukup tinggi. Ini menunjukkan bahwa jeruk nipis bertindak sebagai komponen pendukung yang membantu meningkatkan efektivitas inhibisi dalam campuran.

Selain itu, diagram kontur juga mengindikasikan bahwa perubahan respon inhibisi terjadi secara bertahap dan tidak secara drastis, yang terlihat dari garis kontur yang relatif halus dan tidak terlalu rapat. Pola ini menandakan bahwa respon inhibisi tidak terlalu

sensitif terhadap variasi kecil dalam proporsi bahan, sehingga formula yang dihasilkan memiliki kestabilan respon yang baik. Keadaan ini sejalan dengan hasil pengujian optimasi yang menunjukkan adanya area optimum yang cukup luas, bukan hanya satu titik tunggal. Secara keseluruhan, diagram kontur memberikan gambaran visual yang jelas bahwa kombinasi proporsi bahan memiliki pengaruh lebih besar terhadap respon inhibisi dibandingkan dengan penggunaan satu komponen secara terpisah. Grafik ini mendukung hasil data numerik dan analisis koefisien model yang menunjukkan bahwa daun salam adalah komponen utama, sementara daun mint dan jeruk nipis berfungsi sebagai pendukung yang memperkuat respon. Dengan demikian, diagram kontur merupakan alat penting untuk memahami pola hubungan antara komposisi campuran dan respon inhibisi serta menjadi dasar dalam menentukan formulasi yang optimal.



Gambar 9. Overlay Plot

Berdasarkan grafik overlay yang dihasilkan, terlihat bahwa daerah optimal tidak hanya terfokus pada satu titik, tetapi membentuk area yang cukup luas dalam bidang desain. Area ini mengindikasikan bahwa ada lebih dari satu kombinasi proporsi bahan yang dapat menghasilkan nilai inhibisi tinggi dan memenuhi respons yang diinginkan. Secara visual, daerah optimal terletak pada kombinasi dengan proporsi daun salam yang cukup tinggi, dikombinasikan dengan jumlah daun mint yang sedang dan jeruk nipis dalam jumlah sedikit hingga sedang. Pola ini sejalan dengan hasil grafik kontur serta analisis koefisien model yang menunjukkan bahwa daun salam adalah komponen utama, sementara daun mint dan jeruk nipis berfungsi sebagai pendukung. Adanya daerah optimal yang cukup besar menunjukkan bahwa formulasi yang dihasilkan bersifat kuat, artinya tidak berlebihan terhadap perubahan kecil pada proporsi bahan. Dengan kata lain, variasi kecil dalam komposisi campuran yang masih berada dalam area kuning di grafik overlay tidak akan menyebabkan penurunan respons inhibisi yang signifikan. Kondisi ini sangat menguntungkan dalam pengembangan produk yang berbasis bahan alami, karena memberikan keleluasaan dalam proses

pembuatan dan mengurangi kemungkinan kegagalan formulasi akibat perbedaan bahan baku.

Grafik overlay juga menunjukkan bahwa kombinasi bahan yang tidak menggunakan jeruk nipis atau dengan proporsi sangat sedikit cenderung berada di luar daerah optimal. Ini menunjukkan bahwa walaupun jeruk nipis memiliki kontribusi yang lebih kecil dibandingkan dengan daun salam dan daun mint, keberadaannya tetap penting untuk mencapai respons inhibisi yang maksimal. Jeruk nipis berperan sebagai tambahan yang membantu meningkatkan efektivitas respons melalui kandungan senyawa fenolik dan asam organik yang ada padanya. Temuan Optimasi numerik menghasilkan formulasi ideal: 60% daun salam, 23,89% daun mint, 16,11% jeruk nipis (inhibisi prediksi 86,18%; desirability 0,698). Contour dan overlay plot mengonfirmasi area optimal luas di sekitar proporsi tinggi daun salam + pendukung, stabil terhadap variasi kecil; point prediction dalam CI 95% (82,02–90,33), meski interval prediksi lebar (69,91–102,44) akibat variabilitas alami. Formulasi ini potensial untuk teh fungsional, direkomendasikan verifikasi empiris dan uji IC50 Titik solusi optimal tersebut terletak dalam daerah kuning pada grafik overlay, yang menegaskan

bahwa optimasi grafis dan numerik saling berhubungan. Dengan demikian, grafik overlay berfungsi sebagai alat visual yang memperkuat keabsahan hasil optimasi dan membantu memastikan bahwa formula yang terpilih tidak hanya optimal secara matematis, tetapi juga stabil dan dapat diterapkan secara praktis.

Secara metodologis, penggunaan grafik overlay dalam desain campuran adalah pendekatan yang umum diterapkan dalam penelitian tentang pangan dan bahan alami untuk mengintegrasikan berbagai kriteria optimasi secara bersamaan. Beberapa penelitian terbaru mencatat bahwa grafik overlay efektif dalam menentukan area formulasi optimal yang aman dan stabil, khususnya pada sistem campuran dengan respons biologis yang bervariasi tinggi. Oleh karena itu, temuan dari grafik overlay dalam studi ini memberikan landasan yang kuat untuk menetapkan formulasi terbaik berbasis kombinasi daun salam, daun mint, dan jeruk nipis.

Berdasarkan hasil uji konfirmasi, kombinasi terbaik yang ditemukan adalah 60,00% daun salam, 23,89% daun mint, dan 16,11% jeruk nipis. Pada campuran ini, model memperkirakan nilai inhibisi sebesar 86,18%. Nilai tersebut terletak dalam interval kepercayaan 95%, yaitu antara 82,02% hingga 90,33%, yang menunjukkan bahwa perkiraan model masih berada dalam batas statistik yang dapat diterima. Dengan kata lain, tidak ada perbedaan yang signifikan antara estimasi model dan nilai yang diharapkan secara teoritis untuk kombinasi tersebut. Selain interval kepercayaan, Design- Expert juga memperlihatkan interval prediksi, yang dalam penelitian ini memiliki rentang yang lebih luas. Rentang interval prediksi yang lebar menunjukkan adanya variasi respon yang signifikan, mungkin disebabkan oleh faktor biologis dari bahan alami, seperti perbedaan kadar senyawa aktif di setiap batch bahan dan variasi kondisi eksperimen selama pengujian. Meskipun begitu, karena nilai prediksi utama masih dalam interval kepercayaan, maka model tetap dianggap valid untuk eksplorasi dan optimasi awal formulasi.



Gambar 10. Confirmation Test

Hasil dari uji konfirmasi ini juga mendukung penemuan dari overlay plot dan optimasi numerik, dengan titik solusi terbaik berada dalam area yang disarankan. Ini menunjukkan bahwa metode grafis dan numerik koheren satu sama lain, serta model desain campuran berhasil menggambarkan hubungan antara komposisi campuran dan respon inhibisi dengan baik. Meskipun nilai desirability yang dihasilkan adalah 0,698 dan belum mencapai nilai maksimal yang ideal, angka tersebut sudah menunjukkan tingkat optimasi yang memadai dan realistis bagi sistem yang berbasis bahan alami dengan variabilitas tinggi.

Secara metodologis, keberhasilan uji konfirmasi menunjukkan bahwa model yang dibuat tidak mengalami overfitting dan masih dapat digunakan untuk memprediksi respon pada kombinasi formulasi yang dekat dengan area optimal. Beberapa riset terbaru menunjukkan bahwa pada studi yang berbasis ekstrak tanaman, interval prediksi yang lebar adalah kondisi umum, namun selama nilai prediksi tetap dalam interval kepercayaan dan tidak ada penyimpangan ekstrem, model tersebut masih dapat digunakan sebagai dasar untuk keputusan formulasi. Dengan demikian, hasil dari uji konfirmasi ini menunjukkan bahwa

formulasi optimal yang ditemukan patut direkomendasikan sebagai kombinasi terbaik untuk menghasilkan aktivitas inhibisi yang tinggi.

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa variasi komposisi daun salam, daun mint, dan jeruk nipis secara signifikan mempengaruhi aktivitas antioksidan teh herbal yang dihasilkan. Secara keseluruhan, semua formulasi menunjukkan kemampuan yang cukup tinggi dalam menghambat radikal bebas. Daun salam memainkan peran utama sebagai komponen utama dengan kontribusi dominan terhadap aktivitas penghambatan, sementara daun mint dan jeruk nipis bertindak sebagai bahan pendukung yang memperkuat efek antioksidan secara keseluruhan. Model kuadratik yang diperoleh melalui analisis desain campuran dapat digunakan sebagai titik awal untuk mengeksplorasi formulasi, meskipun signifikansi statistiknya masih terbatas. Formulasi optimal dicapai dengan kombinasi 60,00% daun salam, 23,89% daun mint, dan 16,11% jeruk nipis, dengan nilai penghambatan yang diprediksi sebesar 86,18%, sehingga memiliki potensi besar untuk dikembangkan menjadi produk teh herbal fungsional berbasis bahan alami.

SARAN

Penelitian lebih lanjut disarankan untuk meningkatkan jumlah replikasi dan memperluas rentang formulasi guna menghasilkan model statistik yang lebih kokoh dan signifikan. Selain itu, diperlukan pengujian tambahan, seperti menentukan nilai IC_{50} , menganalisis kandungan senyawa bioaktif, pengujian stabilitas, dan pengujian sensorik, untuk mendukung pengembangan produk yang lebih aplikatif dan komersial. Penggunaan lebih dari satu metode pengujian antioksidan juga disarankan untuk memperoleh hasil yang lebih komprehensif.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, E. (2017). Uji aktivitas senyawa antioksidan dari ekstrak daun tiin (*ficus carica linn*) dengan pelarut air,. Klorofil, 1(1), 38–47.
- Amalina, N., Muslima, M., Hidayat, D., Febriansyah, M., & Pazira, Z. (2024). Pengujian aktivitas antioksidan pada teh celup dengan metode dpvh. Journal of Food Security and Agroindustry (JFSA), 2(3),80–87.
- Andi Widya Helmalia , Putrid, dan A. D. (2019). Potensi rempah-rempah Tradisional sebagai sumber antioksidan alami untuk bahan baku pangan fungsional. Canrea Journal, 2(1).
- Anjarsari, I. R. D. (2016). Katekin teh Indonesia : prospek dan manfaatnya Indonesia tea catechin : prospect and benefits. Jurnal Kultivasi, 15(2), 99–106.
- Azizah, L. N. (2022). Pemanfaatan teh sebagai hasil pertanian untuk pencegahan penyakit kronis pada masyarakat di wilayah gunung gambir Jember. Prosiding Seminar Nasional Pengabdian Kepada Masyarakat, 2(April), 151–154.
- Endriyatno, N. C., Dimas, A., Sasongko, W., & Julian, R. A. (2023). Edukasi Pengolahan Daun Mint Sebagai Minuman Teh Antioksidan Di Kelurahan Banyurip Kota Pekalongan. Jurnal Abdimas PHB, 6(3),740–749.
- Kanggara, W., Indrianto, R., Siagian, B., & Syahputra, H. D. (2025). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* (*Wight*) Walp .) Dengan Metode DPPH. Journal Sains Farmasi Dan Kesehatan, 3(1), 48–55.
- Kurniawati, I. F., & Sutoyo, S. (2021). Review artikel : potensi bunga tanaman sukun (*artocarpus altilis* [*park.I*] *fosberg*) sebagai bahan

- antioksidan alami article review :
the potentiation of breadfruit flowers
(*artocarpus altilis* [park. I]
fosberg) as natural antioxidant.
UNESA Journal of Chemistry,
10(1), 1–11.
- Nataliia Hudz. (2023). *Mentha piperita* :
Essential Oil and Extracts ,
Their Biological Activities , and
Perspectives on the Development
of New Medicinal and Cosmetic
Products. *Molecules*.
- Rafiq, S., Kaul, R., Sofi, S. A., Bashir,
N., Nazir, F., & Ahmad, G. (2018).
Citrus peel as a source of functional
ingredient : A review. *Journal of the
Saudi Society of Agricultural
Sciences*, 17(4), 351–358.
[https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016
.07.006](https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.07.006)
- Tafrihi, M., Imran, M., Tufail, T.,
Gondal, T. A., Caruso, G.,
Sharma, S., Sharma, R.,
Atanassova, M., Atanassov, L.,
Valere, P., Fokou, T., & Pezzani, R.
(2021). The Wonderful Activities
of the Genus *Mentha* : Not Only
Antioxidant Properties. *Molecules*,
1–22.