

#### 4. PEMBAHASAN

Pada pembuatan minuman teh daun salam ini dilakukan pengoptimalan proses pengeringan daun salam dengan melakukan *pre-treatment* yaitu perendaman pada  $\text{CaCl}_2$  0,5% dan *blanching* yang sesuai dengan penelitian (Putrihan, 2015) yang menyatakan bahwa perlakuan *pre-treatment* tersebut dapat mempertahankan kandungan antioksidan pada bahan yang akan dikeringkan. Pengoptimalan proses ekstraksi daun salam kering dengan penghalusan dan diayak, dimana semakin kecil ukuran bahan yang digunakan maka akan memperluas kontak sampel dengan pelarut air pada proses ekstraksi sehingga senyawa antioksidan dapat terekstrak secara maksimal (Antari *et al.*, 2015). Preparasi pembuatan minuman teh daun salam dilakukan dengan metode penyeduhan pada suhu  $90^\circ\text{C}$  dan perebusan dengan suhu  $100^\circ\text{C}$  dengan penggunaan variasi waktu selama 10 menit, 15 menit, dan 20 menit.

##### 4.1. Karakteristik Fisik Minuman Herbal Daun Salam

Analisa karakteristik fisik minuman teh daun salam pada penelitian ini dilakukan analisa intensitas warna menggunakan *Chromameter*. Parameter yang diamati dalam analisa intensitas warna yakni *Lightness* (L),  $a^*$ , dan  $b^*$ . Nilai *Lightness* (L) menunjukkan kepekatan warna suatu bahan. Nilai *Lightness* (L) memiliki nilai 0 sampai dengan 100. Parameter nilai a adalah warna kromatik campuran merah dan hijau. Warna merah memiliki kisaran nilai 0 sampai +100 sedangkan warna hijau memiliki kisaran nilai 0 sampai -80. Parameter nilai b adalah warna kromatik campuran biru dan kuning. Warna kuning memiliki kisaran nilai 0 sampai +70 sedangkan warna biru memiliki kisaran nilai 0 sampai -70 (Arumsari *et al.*, 2019). Pengukuran intensitas warna dilakukan menggunakan alat *chromameter*. Sampel berupa seduhan dan rebusan serbuk daun salam dituang ke dalam *beaker glass*. *Chromameter* terlebih dahulu dikalibrasi dengan standar warna putih yang terdapat pada alat tersebut. Pengukuran dilakukan dengan menempelkan *chromameter* pada dinding *beaker glass* berisi sampel. Hasil analisis yang dihasilkan berupa nilai L (*Lightness*),  $a^*$ , dan  $b^*$  kemudian dicatat.

#### 4.1.1. Intensitas Warna *Lightness* (L) Minuman Herbal Daun Salam

Nilai *Lightness* (L) menunjukkan intensitas kepekatan warna dari rebusan dan seduhan minuman herbal dengan nilai indikator 0 – 100. Hasil analisis ragam terhadap nilai *lightness* minuman herbal daun salam bahwa perlakuan perebusan selama 10 menit berbeda nyata dengan perebusan selama 15 menit dan 20 menit. Namun, pada perlakuan perebusan selama 15 menit menunjukkan tidak ada perbedaan nyata pada tingkat kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ) dengan perlakuan perebusan selama 20 menit. Dapat dilihat pula, pada setiap perlakuan penyeduhan selama 10 menit, 15 menit, dan 20 menit terdapat perbedaan yang nyata terhadap satu sama lain pada tingkat kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ). Berdasarkan Tabel 1., intensitas nilai *Lightness* (L) terbesar yaitu 97,46 terdapat pada perlakuan perebusan selama 20 menit, intensitas warna *Lightness* (L) terkecil terdapat pada perlakuan penyeduhan selama 20 menit. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi larutan minuman herbal perlakuan penyeduhan selama 20 menit memiliki konsentrasi larutan yang pekat. Ma dan Yen-Con (2020) melaporkan bahwa semakin tinggi nilai *Lightness* (L) maka konsentrasi suatu larutan akan semakin tidak pekat.

#### 4.1.2. Intensitas Warna $a^*$ (*Redness*) Minuman Herbal Daun Salam

Nilai  $a^*$  (*redness*) menunjukkan intensitas warna kemerahan dari rebusan dan seduhan minuman herbal. Berdasarkan Tabel 2., dapat dilihat bahwa intensitas warna  $a^*$  minuman teh daun salam menunjukkan nilai negatif (-) yang menunjukkan bahwa minuman herbal daun salam cenderung berwarna hijau, dengan nilai  $a^*$  paling tinggi terdapat pada perlakuan penyeduhan selama 10 menit sebesar -0,10, sedangkan untuk nilai  $a^*$  yang paling rendah terdapat pada perlakuan penyeduhan selama 20 menit sebesar -0,47. Pada Gambar 6., dapat dilihat bahwa semakin lama waktu penyeduhan maka intensitas warna  $a^*$  akan semakin mengalami penurunan. Sedangkan, pada perlakuan perebusan nilai intensitas warna  $a^*$  mengalami kenaikan dan penurunan. Hal ini didukung oleh penelitian dari Septiwi *et al.* (2019) bahwa minuman herbal celup dari daun salam

dengan penambahan rimpang jahe merah menghasilkan warna teh yang cenderung berwarna kehijauan.

#### **4.1.2. Intensitas Warna $b^*$ (*Yellowness*) Minuman Herbal Daun Salam**

Nilai  $b^*$  (*yellowness*) menunjukkan intensitas warna kekuningan dari rebusan dan seduhan minuman teh. Hasil analisis ragam terhadap nilai  $b^*$  (*yellowness*) minuman teh daun salam bahwa perlakuan perebusan selama 10 menit, 15 menit, dan 20 menit terdapat perbedaan yang nyata terhadap satu sama lain pada tingkat kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ). Begitu juga pada setiap perlakuan penyeduhan selama 10 menit, 15 menit, dan 20 menit terdapat perbedaan yang nyata terhadap satu sama lain pada tingkat kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ). Berdasarkan Tabel 3., dapat dilihat bahwa intensitas warna  $b^*$  (*yellowness*) tertinggi terdapat pada perlakuan penyeduhan selama 20 menit yaitu sebesar 2,26. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Rusli dan Liasambu (2018) bahwa minuman teh herbal celup dari daun salam kombinasi daun sirsak berwarna kekuningan.

#### **4.2. Karakteristik Kimia Minuman Herbal Daun Salam**

Analisa karakteristik kimia minuman teh daun salam menggunakan uji aktivitas antioksidan. Pengukuran aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa metode seperti metode DPPH, ORAC, ABTS (TEAC), CUPRAC dan FRAP. Pengukuran aktivitas antioksidan pada penelitian ini adalah metode DPPH, metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP), dan metode *Total Antioxidant Activity* (TAA).

##### **4.2.1. Aktivitas Antioksidan Metode DPPH *Scavenging Activity***

Penelitian ini menggunakan metode pemerangkapan radikal bebas DPPH. Metode DPPH merupakan metode yang paling mudah digunakan, cepat, akurat, menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dan relatif murah (Hanani *et al*, 2006). Metode DPPH umum digunakan untuk mengukur kemampuan senyawa yang berperan sebagai peredam radikal bebas atau pendonor hidrogen dan mengevaluasi aktivitas antioksidan dari suatu bahan makanan. Metode DPPH juga

dapat digunakan untuk sampel yang berwujud padat maupun cair serta tidak spesifik terhadap komponen antioksidan tertentu (Prakash *et al.*, 2007).

Prinsip metode DPPH yaitu senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui donasi proton. Antioksidan akan mendonasikan atom hidrogennya kepada radikal bebas DPPH sehingga senyawa radikal dapat teredam (Alridho, 2013). Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH berdasarkan pada pengukuran serapan senyawa hasil reaksi antara DPPH dengan senyawa antioksidan. Analisa metode pada penelitian ini dilakukan dengan cara sampel diambil sebanyak 0,2 mL dan ditambahkan dengan 3,8 mL DPPH. Kemudian larutan didiamkan pada ruang gelap selama 30 menit. Tabung reaksi yang terbungkus *aluminium foil* dan didiamkan dalam ruang gelap bertujuan agar larutan DPPH terhindar dari paparan cahaya. Hal ini sesuai dengan pernyataan dari Alam *et al.* (2013) bahwa DPPH sangat sensitif terhadap cahaya dan dapat mengurangi keakuratan dalam pengujian. Setelah 30 menit, larutan akan menunjukkan perubahan warna dari senyawa yang berwarna ungu menjadi senyawa yang berwarna kuning yang diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum DPPH. Chanda & Dave (2009) menyatakan bahwa perubahan kompleks warna ungu menjadi kuning pada pengujian aktivitas antioksidan metode DPPH menunjukkan adanya senyawa antioksidan pada suatu sampel.

Berdasarkan Tabel 4., dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan nyata ( $p < 0,05$ ) antar perlakuan lama waktu dan metode preparasi minuman teh daun salam. Perbedaan ini disebabkan karena perbedaan suhu dan waktu yang digunakan dalam proses preparasi pada minuman teh daun salam. Hal ini sesuai dengan pernyataan dari Puspitasari dan Desrita (2019) bahwa perbedaan suhu dan waktu pada proses preparasi minuman teh dapat mempengaruhi kandungan senyawa antioksidan. Nilai aktivitas antioksidan tertinggi yaitu terdapat pada perlakuan perebusan selama 10 menit yaitu sebesar 89,02%. Berdasarkan pada penelitian sebelumnya oleh Wicaksono & Zubaidah (2015) menyatakan bahwa perebusan

suhu tinggi dengan lama waktu perebusan 10 menit menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi, hal ini linier dengan hasil aktivitas antioksidan minuman teh daun salam. Proses perebusan mampu mengekstrak senyawa antioksidan yang lebih banyak (Wicaksono & Zubaidah, 2015). Sedangkan, kadar aktivitas antioksidan terendah terdapat pada perlakuan penyeduhan selama 10 menit yaitu 74,29%. Hal ini disebabkan karena sedikitnya waktu penyeduhan yang digunakan pada saat proses penyeduhan, sehingga senyawa-senyawa yang terdapat pada sampel teh belum larut (Tambun *et al.*, 2016) serta didukung oleh penelitian dari Nindyasari (2012) yang menyatakan bahwa penyeduhan teh dengan waktu penyeduhan yang terlalu singkat menjadi kurang efisien karena kelarutan senyawa pada teh belum mencapai titik yang optimal. Pada penelitian yang dilakukan oleh Balci & Ozdemir (2016) juga menyatakan bahwa aktivitas antioksidan pada teh hijau tertinggi diperoleh pada penyeduhan suhu 95°C dengan lama waktu penyeduhan 20 menit. Sehingga dapat disimpulkan penyeduhan suhu 90°C selama 10 menit kurang efektif untuk mendapatkan aktivitas antioksidan (%) yang tinggi.

Pada Gambar 8., dapat dilihat bahwa aktivitas antioksidan pada perlakuan penyeduhan mengalami peningkatan seiring bertambahnya lama waktu penyeduhan. Hal ini sesuai dengan pernyataan dari Rohdiana *et al.* (2008) bahwa semakin lama penyeduhan menyebabkan kesempatan kontak antara air dengan teh semakin lama sehingga proses ekstraksi menjadi lebih sempurna. Namun, aktivitas antioksidan pada perlakuan perebusan mengalami penurunan seiring bertambahnya lama waktu perebusan. Semakin lama perebusan aktivitas antioksidan semakin menurun dikarenakan senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun salam mengalami kerusakan oleh pemanasan dengan waktu yang lama. Pokorny *et al.* (2001) melaporkan bahwa pemanasan menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan karena senyawa metabolit sekunder yaitu senyawa flavonoid yang bertindak sebagai antioksidan rusak sehingga kurang mampu mereduksi radikal bebas dengan baik, serta diperkuat dengan penelitian dari Ardiansyah *et al.* (2019) bahwa perebusan selama 15 menit akan

menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan dan total fenolik dalam daun kenikir.

Badarinath *et al.* (2010) menyatakan bahwa metode DPPH dan metode FRAP merupakan salah satu metode untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang digolongkan dalam *Electron transfers* karena memiliki kesamaan mekanisme kerja yaitu dengan mengobservasi daya reduksi dari suatu senyawa antioksidan terhadap radikal bebas. Hal ini sesuai dengan uji korelasi aktivitas antioksidan metode DPPH dan aktivitas antioksidan metode FRAP yang dapat dilihat pada Tabel 8. yang menunjukkan hubungan korelasi yang cukup kuat. Selain itu, dapat dilihat juga hubungan aktivitas antioksidan metode DPPH dan fenol yang menunjukkan hubungan korelasi yang kuat. Aktivitas antioksidan pada minuman teh daun salam dipengaruhi oleh kadar total fenol dan flavonoid pada daun salam. Hal ini sesuai dengan teori Ibrahim *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa tingginya total fenol dan flavonoid pada minuman herbal menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi.

#### **4.2.2. Aktivitas Antioksidan Metode Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)**

Pada penelitian ini analisa aktivitas antioksidan dengan metode *Electrons Transfers* (ET) dapat dilakukan dengan uji FRAP. Prinsip pengujian metode ini yaitu menentukan kandungan antioksidan total dari suatu bahan berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan untuk mereduksi ion  $Fe^{3+}$  menjadi  $Fe^{2+}$  sehingga kekuatan antioksidan suatu senyawa dapat dianalogikan dengan kemampuan mereduksi dari senyawa antioksidan tersebut (Halvorsen *et al.*, 2002). Kelebihan dari metode FRAP adalah prosedurnya yang sederhana, metodenya murah, cepat, dan reagen yang digunakan cukup sederhana serta tidak menggunakan alat khusus untuk menghitung total antioksidan. Namun, beberapa kerugian ditemukan dalam metode ini yang tidak bereaksi cepat dengan beberapa antioksidan seperti glutathion (Maryam *et al.*, 2015).

Analisa metode FRAP pada penelitian ini dilakukan dengan cara larutan sampel diambil sebanyak 2,5 mL dan dicampurkan dengan reagen FRAP (*buffer phosphate* (0,2M/pH6,6) sebanyak 2,5 mL *pottasssium ferricyanide* ( $K_4Fe(CN)_6$ ) 1% sebanyak 2,5 mL). Kemudian campuran diinkubasi pada suhu 50°C selama 20 menit. Selanjutnya, ditambahkan *trichloroacetic acid* (TCA) 10% sebanyak 2,5 mL. Penambahan *trichloroacetic acid* (TCA) bertujuan untuk mengendapkan kompleks kalium ferrosianida (Maryam *et al.*, 2015). Larutan kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Lapisan bagian atas diambil sebanyak 2,5 mL dicampur dengan 2,5 mL aquades dan 0,5 mL  $FeCl_3$  0,1%. Penambahan  $FeCl_3$  juga bertujuan membentuk kompleks berwarna hijau sampai biru (biru berlin) (Maryam *et al.*, 2015). Kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan *spektrofotometer* dengan panjang gelombang 700 nm. Pengukuran aktivitas antioksidan dalam metode FRAP menggunakan larutan asam askorbat sebagai standar. Asam askorbat digunakan sebagai standar karena berfungsi sebagai antioksidan sekunder yang berfungsi untuk menangkap radikal bebas (Maryam *et al.*, 2015). Nilai absorbansi yang diperoleh kemudian dimasukkan dalam persamaan linear kurva standar  $y = 0,0053x + 0,0981$  dengan nilai  $R^2 = 0,8681$ .

Berdasarkan Tabel 5., dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan nyata ( $p < 0,05$ ) antar perlakuan lama waktu dan metode preparasi minuman teh daun salam. Nilai total antioksidan ekuivalen asam askorbat tertinggi terdapat pada perlakuan perebusan selama 10 menit dengan nilai 74,02  $\mu g$  AAE/mL. Wicaksono dan Zubaidah (2015) menyatakan bahwa proses perebusan mampu mengekstrak senyawa antioksidan yang lebih banyak, hal ini linier dengan hasil aktivitas antioksidan teh herbal daun salam. Sedangkan, nilai total antioksidan ekuivalen asam askorbat terendah terdapat pada perlakuan perebusan selama 20 menit dengan nilai 49,45  $\mu g$  AAE/mL. Hal ini disebabkan perebusan dengan suhu tinggi dengan waktu yang semakin lama akan menyebabkan degradasi senyawa antioksidan sehingga aktivitas antioksidan menjadi menurun (Wicaksono dan Zubaidah, 2015). Pada Gambar 8., dapat dilihat bahwa aktivitas antioksidan

metode FRAP pada perlakuan penyeduhan selama 15 menit dan 20 menit berturut-turut mengalami peningkatan. Hal ini sesuai dengan Castiglioni *et al.* (2015) bahwa aktivitas antioksidan FRAP teh putih dan teh hijau yang diseduh pada suhu 90°C lebih tinggi dibandingkan dengan aktivitas antioksidan FRAP teh putih dan teh hijau yang diseduh pada suhu 70°C. Kenaikan nilai antioksidan yang didapatkan terjadi pada menit ke-15 dan laju reaksi meningkat seiring lamanya waktu preparasi teh. Sedangkan, aktivitas antioksidan metode FRAP pada perlakuan perebusan mengalami penurunan disebabkan karena penggunaan suhu tinggi dengan waktu yang lama. Hal ini sesuai dengan teori Putri *et al.* (2014) bahwa penggunaan suhu tinggi dengan waktu yang lama dapat merusak senyawa bioaktif yang terkandung di dalam bahan sehingga nilai aktivitas antioksidan mengalami penurunan.

Badarinath *et al.* (2010) menyatakan bahwa metode FRAP dan metode DPPH merupakan salah satu metode untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang digolongkan dalam *Electron transfers* karena memiliki kesamaan mekanisme kerja yaitu dengan mengamati daya reduksi dari suatu senyawa antioksidan terhadap radikal bebas. Hal ini sesuai dengan uji korelasi aktivitas antioksidan metode FRAP dan aktivitas antioksidan metode DPPH yang dapat dilihat pada Tabel 8. yang menunjukkan hubungan korelasi yang cukup kuat. Selain itu, dapat dilihat juga hubungan aktivitas antioksidan metode FRAP dan fenol yang menunjukkan hubungan korelasi yang kuat. Hal ini sesuai dengan teori Ibrahim *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa tingginya total fenol dan flavonoid pada minuman herbal menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi.

Zhang & Yi-Ming (2008) menyatakan bahwa pengujian aktivitas antioksidan metode FRAP menunjukkan potensi adanya senyawa tanin yang terkandung di dalam bahan pangan sehingga pengujian aktivitas antioksidan metode FRAP efektif digunakan untuk bahan pangan yang banyak mengandung senyawa tanin. Pada penelitian ini aktivitas antioksidan metode FRAP memiliki nilai aktivitas antioksidan yang cukup tinggi sehingga dapat diartikan bahwa minuman herbal



daun salam juga mengandung cukup banyak senyawa tanin di dalamnya. Hal ini juga diperkuat pernyataan dari Sumono dan Wulan (2009) bahwa tanin dan flavonoid merupakan bahan aktif utama yang terkandung di dalam daun salam yang dapat berfungsi sebagai antioksidan alami.

#### **4.2.3. Aktivitas Antioksidan Metode *Total Antioxidant Activity* (TAA)**

Penentuan aktivitas antioksidan dengan metode *Total Antioxidant Activity* (TAA) adalah didasarkan pada reaksi reduksi-oksidasi dimana fosfomolibdat berperan sebagai oksidator yang terdiri dari ammonium molibdat dan natrium fosfat dan membentuk ammonium fosfomolibdat. Reaksi yang terjadi pada metode ini yaitu reaksi reduksi Mo(VI) menjadi Mo(V) terhadap senyawa antioksidan (fenolik) dan terbentuknya kompleks warna hijau-kebiruan fosfat-Mo(V) pada pH asam (Momuat & Suryanto, 2016). Selama reaksi berlangsung, gugus hidroksil senyawa fenolik bereaksi dengan fosfomolibdat dan membentuk kompleks Mo(V) yang menimbulkan warna hijau-kebiruan dan serapannya dapat dibaca dengan spektrofotometer. Semakin pekat warna hijau-kebiruan yang dihasilkan maka semakin banyak kompleks molibdenum (V) yang terbentuk. Hal ini terjadi karena semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolat yang akan mereduksi molybdenum (VI) menjadi kompleks molybdenum (V) (Salamah & Farahana, 2014).

Pengujian aktivitas antioksidan metode TAA digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa flavonoid yang merupakan golongan dari senyawa fenolik (Salamah & Farahana, 2014). Pada penelitian ini aktivitas antioksidan metode TAA memiliki nilai aktivitas antioksidan yang cukup tinggi sehingga dapat diartikan bahwa minuman herbal daun salam juga mengandung cukup banyak senyawa flavonoid di dalamnya. Hal ini juga diperkuat pernyataan dari Sumono dan Wulan (2009) bahwa tanin dan flavonoid merupakan bahan aktif utama yang terkandung di dalam daun salam yang dapat berfungsi sebagai antioksidan alami. Pengujian pada penelitian ini dilakukan dengan larutan sampel diambil sebanyak 4,8 mL dan ditambahkan reagen molibdat (asam sulfat 0,6 M, natrium fosfat 28

mM dan amonium molibdat 4 mM) sebanyak 4,8 mL dalam tabung reaksi. Selanjutnya, larutan diinkubasi pada suhu 90°C selama 90 menit di dalam *waterbath* dan absorbansinya dibaca dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm. Kemudian nilai absorbansi dimasukkan dalam persamaan regresi linier standar asam askorbat (Momuat dan Suryanto, 2016) yaitu  $y = 0,008x - 0,0019$  dengan nilai  $R^2 = 0,9946$ .

Berdasarkan Tabel 6., dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan nyata ( $p < 0,05$ ) antar perlakuan lama waktu dan metode preparasi minuman teh daun salam. Nilai aktivitas antioksidan ekuivalen asam askorbat minuman teh daun salam tertinggi diperoleh dari perlakuan perebusan selama 10 menit yaitu 84,19  $\mu\text{g AAE/mL}$ , sedangkan nilai aktivitas antioksidan ekuivalen asam askorbat terendah diperoleh perlakuan perebusan selama 20 menit dengan nilai 64,33  $\mu\text{g AAE/mL}$ . Berdasarkan pada penelitian sebelumnya oleh Wicaksono dan Zubaidah (2015) menyatakan bahwa perebusan suhu tinggi dengan lama waktu perebusan 10 menit menghasilkan aktivitas antioksidan yang paling tinggi, hal ini linier dengan hasil aktivitas antioksidan ekuivalen asam askorbat minuman teh daun salam. Namun, perebusan suhu tinggi dengan waktu yang semakin lama juga akan menyebabkan degradasi senyawa antioksidan sehingga aktivitas antioksidan menjadi menurun (Wicaksono dan Zubaidah, 2015).

Pada Gambar 8., dapat dilihat bahwa perlakuan perebusan selama 15 menit dan 20 menit berturut-turut mengalami penurunan, sedangkan perlakuan penyeduhan menunjukkan peningkatan seiring bertambahnya lama waktu proses penyeduhan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Putri *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa lamanya proses pemanasan pada suhu yang tinggi akan merusak senyawa antioksidan yang terdapat dalam bahan. Berdasarkan penelitian dari Ardiansyah *et al.* (2019) juga didapatkan hasil perebusan daun kenikir selama 15 menit dapat menurunkan aktivitas antioksidan dan total fenolik pada daun kenikir. Oleh karena itu, dapat diketahui bahwa perlakuan perebusan efektif untuk mengekstrak

senyawa fenol pada waktu yang singkat, sedangkan perlakuan penyeduhan lebih dapat mengekstrak senyawa fenol dengan perlahan.

Berdasarkan Tabel 8., dapat dilihat bahwa hubungan korelasi uji aktivitas antioksidan TAA terhadap uji fenol memiliki hubungan yang sangat kuat. Hal ini sesuai dengan pernyataan dari Salamah & Farahana (2014) bahwa pengukuran aktivitas antioksidan metode TAA didasarkan pada pembentukan warna kebiruan yang dihasilkan ion Mo(V) yang setara dengan ion fenolat yang terbentuk. Selain itu, hubungan korelasi aktivitas antioksidan metode TAA menunjukkan hubungan yang kuat dengan uji aktivitas antioksidan lain seperti metode FRAP dan metode DPPH.

#### **4.2.4. Kadar Fenolik**

Pengukuran total fenol merupakan dasar dilakukannya pengujian aktivitas antioksidan karena telah diketahui bahwa senyawa fenolik berperan dalam mencegah terjadinya proses oksidasi. Hal ini karena fenol mampu menyumbang elektron atau atom hidrogen pada radikal bebas sehingga dapat bertindak sebagai pereduksi, pengkelat logam dan peredam radikal bebas (Javanmardi *et al.*, 2003). Pengukuran total fenol minuman teh daun salam menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu yang terdiri dari asam fosfomolibdat dan asam heteropolifosfotungstat. Prinsip pengujian metode ini yaitu oksidasi gugus fenolik hidroksil. Pereaksi Folin-Ciocalteu mengoksidasi fenolat, mereduksi heteropolifosfotungstat menjadi kompleks molibdenum-tungsten (Mo-W) yang berwarna biru dan dapat dideteksi dengan alat spektrofotometer. Konsentrasi ion fenolat yang terbentuk ditunjukkan dengan warna biru yang semakin pekat artinya semakin besar senyawa fenolik dan semakin banyak ion fenolat yang mereduksi asam heteropolifosfotungstat (Khadijah *et al.*, 2017). Senyawa fenolik yang terkandung akan berkontribusi pada aktivitas antioksidan (Septianingrum *et al.*, 2016).

Pengujian pada penelitian ini dilakukan dengan larutan sampel diambil sebanyak 0,4 mL dan dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL yang sudah ditutup dengan

aluminium foil kemudian ditambahkan 3,6 mL folin dan 3,6 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> kemudian divortex selama 30 detik. Selanjutnya, dimasukkan kedalam kuvet dan dibaca serapannya pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 760 nm dan dilanjutkan dengan pembuatan kurva standar. Kurva standar yang digunakan dalam pengujian kandungan fenolik menggunakan standar asam galat. Asam galat digunakan sebagai standar karena asam galat merupakan senyawa fenolik yang memiliki 3 gugus hidroksil yang semakin reaktif digunakan sebagai antioksidan dan dapat digunakan sebagai pembanding analisa antioksidan (Sam *et al.*, 2016). Nilai absorbansi yang didapatkan kemudian dimasukkan dalam persamaan regresi asam galat  $y = a + bx$ , di mana telah diperoleh nilai a dan bx dari kurva baku larutan standar asam galat yaitu  $y = 0,0036x + 0,0137$  dengan nilai  $R^2 = 0,9945$ .

Berdasarkan Tabel 7., dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan nyata ( $p < 0,05$ ) antar perlakuan lama waktu dan metode preparasi minuman teh daun salam. Nilai total fenol minuman teh daun salam tertinggi diperoleh dari perlakuan perebusan selama 10 menit yaitu 264,60 µg GAE/mL. Sedangkan nilai total fenol terendah terdapat pada perlakuan lama waktu perebusan 20 menit yaitu sebesar 179,06 µg GAE/mL. Hal ini sesuai dengan teori Wazir *et al.* (2011) menyatakan bahwa perebusan akan menyebabkan kandungan total fenol tinggi dikarenakan suhu tinggi dapat meningkatkan pelepasan senyawa fenol pada dinding sel. Namun, komponen fenolik pada suatu bahan pangan alami juga sangat rentan terhadap panas. Sehingga pada suhu tinggi dengan waktu yang berlebih membuat kandungan senyawa fenolik dalam bahan pangan mengalami kerusakan. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Ardiansyah *et al.* (2019) bahwa perebusan daun kenikir selama 15 menit dapat menurunkan total fenolik pada daun kenikir serta didukung pula penelitian dari Putri *et al.* (2014) yang menyatakan senyawa flavonoid memiliki rentang ketahanan optimal terhadap panas berkisar antara 0°C – 100°C. Hal ini sejalan dengan penurunan total fenol pada proses perebusan selama 15 menit dan 20 menit yang dapat dilihat pada Gambar 9. Pada Gambar 9., dapat dilihat juga bahwa perlakuan penyeduhan selama 15 menit dan 20 menit berturut-turut mengalami peningkatan. Hal ini

disebabkan karena pada perlakuan penyeduhan sampel tidak kontak lama dengan suhu lebih dari 90°C sehingga proses ekstraksi metode penyeduhan (infusi) berjalan perlahan (Ibrahim *et al.*, 2015).

Berdasarkan Tabel 8., dapat dilihat bahwa uji korelasi total fenol dengan ketiga uji aktivitas antioksidan yang menunjukkan hubungan korelasi yang sangat kuat. Ibrahim *et al.* (2015) menyatakan bahwa tingginya total fenol pada ekstrak teh menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi. Tingginya kadar fenol akan meningkatkan aktivitas antioksidan di dalam teh (Septianingrum *et al.*, 2016).

#### **4.2.5. Rekomendasi Konsumsi dan Fungsi Daun Salam Untuk Kesehatan**

Berdasarkan analisa aktivitas antioksidan dan kandungan fenol terhadap minuman teh herbal daun salam yang telah dilakukan dapat didapatkan hasil metode konsumsi yang paling baik adalah pada penggunaan metode perebusan. Hal ini sesuai dengan Wazir *et al.* (2011), perlakuan perebusan akan menyebabkan kandungan total fenol tinggi dikarenakan suhu tinggi dapat meningkatkan pelepasan senyawa fenol pada dinding sel. Namun, penggunaan suhu tinggi dengan rentang waktu yang lama juga akan merusak senyawa antioksidan yaitu fenol yang tidak tahan suhu tinggi. Berdasarkan penelitian dari Rodriguez *et al.* (2016) melaporkan bahwa preparasi dari sampel teh *Limonium algarvense* dan teh *Camellia sinensis* menunjukkan total fenolik yang tinggi pada proses perebusan dengan waktu 5 menit. Hal ini didukung pula dengan pernyataan dari Ibrahim *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa kandungan fenolik dan flavonoid yang tinggi pada ekstrak teh juga akan menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi.

Daun salam memiliki aktivitas antioksidan dan total fenolik yang tinggi. Adanya kandungan antioksidan yang tinggi membuat daun salam memiliki banyak khasiat untuk kesehatan dan dapat mengurangi resiko terkena beberapa penyakit seperti menurunkan kadar kolesterol, menurunkan kadar asam urat, menurunkan kadar trigliserida, mencegah timbulnya penyakit kardiovaskuler (Pidrayanti, 2008; Muhtadi *et al.*, 2012; Hardhani, 2008). Berdasarkan penelitian yang dilakukan

oleh Sinaga *et al.* (2014) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun salam dapat menurunkan kadar asam urat dalam darah yang didukung dengan adanya senyawa flavonoid yang terkandung di dalamnya yang bersifat antiinflamasi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ningtiyas dan Ramadhian (2016) menunjukkan bahwa dekokta daun salam pada dosis 1,25 g/kg BB, infusa daun salam pada dosis 5,0 g/kg BB, dan ekstrak etanol daun salam pada dosis 420 mg/kgBB mampu menurunkan kadar asam urat dalam serum darah yang hasilnya setara dengan allopurinol dosis 10 mg/kg BB. Selain itu, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hardhani (2008) menunjukkan bahwa ekstrak daun salam dapat menurunkan kadar trigliserida pada tikus putih jantan galur Wistar hiperlipidemia dengan diberikan dosis yang diperoleh dari daun salam segar sebesar 0,18 gram, 0,36 gram, dan 0,72 gram setiap hari selama 15 hari. Berdasarkan penelitian dari Ambari (2018) menunjukkan bahwa daun salam memiliki aktivitas antidiare yang paling baik pada mencit putih jantan yang telah diinduksi minyak jarak dan suspensi ekstrak etanol daun salam dengan dosis 800 mg/kgBB.

