Jurnal Sains dan Kesehatan (J. Sains Kes.)

Journal homepage: https://jsk.farmasi.unmul.ac.id

Perbandingan Aktivitas Antioksidan Infusa Simplisia Segar dan Simplisia Kering Daun Buni (*Antidesma bunius* L. Spreng) dengan Metode DPPH

Comparison of Antioxidant Activity of Infused from Fresh Simplicia and Dried Simplicia of Buni Leaves (*Antidesma bunius* L. Spreng) with DPPH Method

Indah Permata Sari*, Agriana Rosmalina Hidayati, Handa Muliasari

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia
*Email Korespondensi: indahpermatasari2401@gmail.com

Abstrak

Daun buni atau *Antidesma bunius* L. Spreng merupakan salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi kandungan senyawa flavonoid daun buni dan mengetahui perbandingan aktivitas antioksidan sediaan infusa simplisia kering dan simplisia segar daun buni. Prosedur penelitian ini meliputi pengumpulan bahan, determinasi tanaman, pembuatan simplisia, pembuatan infusa, identifikasi senyawa flavonoid, serta uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif dengan metode radikal bebas DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Data yang didapatkan berupa nilai IC_{50} yang diperoleh dari persamaan regresi linier antara % inhibisi terhadap konsentrasi larutan uji. Nilai IC_{50} dianalisis dengan uji statistik *non parametric* dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil identifikasi senyawa flavonoid menunjukkan infusa daun buni positif mengandung senyawa flavonoid. Nilai IC_{50} infusa simplisia segar dan infusa simplisia kering daun buni berturut-turut 303,646±3,731 ppm dan 197,344±0,819 ppm. Infusa simplisia segar memiliki aktivitas antioksidan sangat lemah, sedangkan infusa simplisia kering memiliki aktivitas antioksidan lemah. Infusa simplisia segar dan infusa simplisia kering daun buni memiliki aktivitas antioksidan yang berbeda signifikan ($p \leq 0,05$). Berdasarkan data yang diperoleh simplisia kering daun buni lebih direkomendasikan dalam pembuatan infusa sebagai antioksidan dibandingkan simplisia segar.

Kata Kunci: Daun buni, antioksidan, infusa

Abstract

Antidesma bunius L. Spreng is one of the plants that can use for antioxidants. The antioxidant activity of buni leaves caused by the presence of flavonoid compounds that potentially scavenge free radicals. This study aimed to identify the flavonoid compounds in buni leaves and compare the antioxidant

activity between infusions of dried and fresh simplicia of buni leaves. This research procedure includes the collection of materials, determination of plants, made simplicia and infusions, identification of flavonoid compounds, and quantitative antioxidant activity test using the DPPH free radical method (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). The result obtained in the IC50 values from the linear regression equation between % inhibition and the concentration of the test solution. The IC50 values have been analyzed by a non-parametric statistical test with a 95% confidence level. The result of flavonoid identification showed the infusion contains flavonoid. The IC50 values of infusion from dried and fresh simplicia of buni leaves were 197,344±0,819 ppm and 303,646±3,731 ppm. Dried simplicia on antioxidant classification have weak antioxidant activity, while fresh simplicia have very weak antioxidant activity. The infusion from fresh and dried simplicia of buni leaves has significantly different antioxidant activity (p≤0,05). Dried simplicia is more recommended for making infusions for an antioxidant.

Keywords: Antidesma bunius, antioxidants, infusion

Received: 03 April 2023 **Accepted**: 28 October 2023

DOI: https://doi.org/10.25026/jsk.v5i5.1792

Copyright (c) 2023, Jurnal Sains dan Kesehatan (J. Sains Kes.). Published by Faculty of Pharmacy, University of Mulawarman, Samarinda, Indonesia. This is an Open Access article under the CC-BY-NC License.

How to Cite:

Sari, I. P., Hidayati, A. R., Muliasari, H., 2023. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Infusa Simplisia Segar dan Simplisia Kering Daun Buni (*Antidesma bunius* L. Spreng) dengan Metode DPPH. *J. Sains Kes.*, **5**(5). 605-614. **DOI**: https://doi.org/10.25026/jsk.v5i5.1792

1 Pendahuluan

Indonesia merupakan salah satu negara yang banyak memanfaatkan tanaman sebagai sumber obat [1]. Salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai pengobatan terutama sebagai sumber antioksidan yaitu tanaman *Antidesma bunius* L. Spreng yang berasal dari genus *antidesma* [2]. Senyawa antioksidan dapat menghambat serta menunda proses inisiasi atau propagasi reaksi oksidasi berantai molekul radikal bebas [3]. Aktivitas antioksidan tanaman disebabkan oleh senyawa-senyawa golongan fenol dan polifenol seperti flavonoid yang berpotensi sebagai penangkal radikal bebas [4].

Daun buni di Desa Pangandaran Kabupaten Pangandaran biasanya dikonsumsi dengan merebus daun yang masih segar, kemudian air rebusannya diminum [5]. Prinsip penyarian metabolit dari tanaman yang hampir sama dengan rebusan salah satunya yaitu infusa [6]. Infusa merupakan sediaan cair yang mengandung 10% simplisia yang telah disari menggunakan pelarut air selama 15 menit pada suhu 90°C [7], [8]. Infusa dapat dibuat dengan menggunakan simplisia segar maupun simplisia kering. Simplisia segar dan simplisia kering memiliki kelebihan serta kelemahan tersendiri. Kandungan flavonoid total yang terdapat pada simplisia segar lebih besar dibandingkan dengan simplisia kering [9]. Hal ini dikarenakan peningkatan suhu pada saat pengeringan dapat

mengakibatkan penurunan kadar flavonoid sampel [10]. Penurunan kadar flavonoid pada simplisia dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan sampel. Akan tetapi simplisia segar diketahui mudah mengalami kerusakan dan penurunan kualitas yang lebih cepat dibandingkan dengan simplisia kering [11]. Simplisia kering merupakan alternatif untuk masyarakat yang ingin memanfaatkan daun buni sebagai antioksidan apabila di daerahnya tidak terdapat tanaman buni. Selain itu penggunaan simplisia kering lebih praktis dibandingkan dengan simplisia segar.

Uji aktivitas antioksidan infusa daun buni pada penelitian ini menggunakan metode DPPH. DPPH atau *1,1-difenil-2-pikrihidrazil* merupakan senyawa radikal yang banyak digunakan dalam penentuan aktivitas antioksidan senyawa bahan alam. Seyawa DPPH akan mengalami peluruhan warna akibat mekanisme reaksi donasi atom hidrogen dari senyawa antioksidan. Senyawa DPPH akan mengalami peluruhan warna dari ungu menjadi biru hingga warna jingga/kuning [12]. Metode pengujian antioksidan terhadap peredaman radikal bebas DPPH tergolong mudah, sederhana, serta efisien [13].

2 Metode Penelitian

2.1 Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan yaitu asam asetat glasial *(Merck)*, asam askorbat *(Merck)*, aquades, daun buni, etil asetat *(Merck)*, metanol p.a *(Merck)*, serbuk DPPH *(Merck)*, serbuk Mg *(Merck)*, HCl pekat *(Merck)*, kloroform p.a *(Merck)*, plat KLT silika gel F_{254} *(Merck)*, kuersetin, reagen $AlCl_3$10% *(Merck)*.

Alat-alat yang digunakan yaitu alat-alat gelas laboratorium *(Iwaki)*, baskom, bunsen, chamber (CAMAG®), desikator, gunting, kain flanel, kuvet, lampu UV (254 dan 366 nm *(CAMAG®),* mikropipet *(BioPette)* dan tip, nampan, *oven*, pisau, pinset, pipa kapiler, spektrofotometri UV-Vis *(Specord200)*, tabung reaksi dan rak tabung reaksi, *stopwatch*, timbangan analitik *(Ohaus), vortex (Labnet)*, dan *waterbath (Labnet)*.

2.2 Pembuatan Simplisia

Daun buni yang telah dikumpulkan disortasi dengan tujuan menghilangkan bagian tanaman yang tidak diperlukan. Daun buni ditimbang, kemudian dilakukan pencucian pada air mengalir untuk membersihkan zat pengotor yang masih tertinggal. Daun buni selanjutnya dipotong dengan ukuran ±1x1 cm untuk menambah luas permukaan simplisia. Daun yang telah dirajang kemudian dapat digunakan dalam pembuatan infusa. Pada pembuatan simplisia kering daun yang telah dirajang kemudian dikeringkan dengan kering angin. Simplisia yang sudah kering disortasi kembali dan ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam wadah, dan dihitung rendemen simplisia kering dengan menggunakan rumus Persamaan 1 [14].

$$\text{Rendemen Simplisia} = \frac{\text{berat sampel kering (gram)}}{\text{berat sampel basah (gram)}} \times 100\% \quad \text{(Persamaan 1)}$$

Selanjutnya dilakukan penetapan kadar air simplisia kering daun buni dengan metode gravimetri. Sebanyak 5 gram sampel dalam krus porselen dioven selama 30 menit dengan temperatur 105℃. Sampel yang telah dioven didiamkan 15 menit di dalam desikator. Setelah 15 menit, selanjutnya dilakukan penimbangan bobot sampel. Perlakuan diulang sampai bobot yang diperoleh tetap. Kemudian dilakukan perhitungan kadar air simplisia menggunakan rumus persamaan 2 [15]:

$$\text{Kadar Air} = \frac{(\text{sampel+cawan sebelum dioven (g)}) - (\text{cawan+sampel setelah dioven (g)})}{(\text{cawan+sampel setelah dioven (g)}) - (\text{cawan kosong (g)})} \times 100\% \quad \text{(Persamaan 2)}$$

2.3 Pembuatan Infusa

Simplisia sejumlah 10 gram dipanaskan selama 15 menit menggunakan air sebanyak 100 mL pada temperatur 90℃. Perbandingan penggunaan sampel dan pelarut dalam pembuatan simplisia yaitu dengan perbandingan 1 gram simplisia:10 mL air [8]. Selanjutnya dilakukan penyaringan infusa

dengan kain flanel selagi infusa masih panas, dan dilakukan penambahan pelarut panas hingga volume yang diinginkan terpenuhi.

2.4 Identifikasi Flavonoid

Flavonoid pada infusa daun buni diidentifikasi menggunakan metode uji tabung dan kromatografi lapis tipis. Uji tabung dilakukan dengan memanaskan 5 mL infusa dalam tabung reaksi, dan dicampurkan dengan serbuk magnesium sebanyak 0,1 gram dan HCl pekat sebanyak 1 mL lalu dikocok. Adanya senyawa flavonoid ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning hingga merah [16].

Selanjutnya identifikasi dengan kromatografi lapis tipis dilakukan dengan menggunakan eluen kloroform:etil asetat:air:metanol (7:2:0,5:0,5) [17]. Lempeng yang telah dielusidasi dikeringkan dan disemprot menggunakan pereaksi $AlCl_3$. Hasil positif apabila terdapat peredaman berwarna biru tua pada panjang gelombang 254 nm serta adanya spot atau bercak yang berfluoresensi kuning kehijauan pada panjang gelombang UV 366 nm [18].

2.5 Pengujian Aktivitas Antioksidan

2.5.1 Pembuatan Larutan Stok DPPH 0,1 mM

Serbuk DPPH sejumlah 3,493 mg ditimbang kemudian dilarutkan dengan metanol p.a hingga volume mencapai 100 mL dan di*vortex* agar homogen.

2.5.2 Pembuatan Larutan Baku Asam Askorbat

Asam askorbat sebanyak 50 mg dilarutkan dalam metanol p.a sebanyak 50 mL. sehingga diperoleh larutan induk asam askorbat dengan konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya, larutan induk diencerkan menjadi 6 seri konsentrasi yaitu 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5 dan 6 ppm

2.5.3 Pembuatan Larutan Uji

Larutan induk infusa 10% dianggap memiliki konsentrasi 100.000 ppm [19]. Infusa selanjutnya diencerkan dengan seri konsentrasi 50; 100; 150; 200; 250; 300 ppm.

2.5.4 Penentuan Operating Time (OT)

Sebanyak 2 mL asam askorbat konsentrasi 4 ppm dicampur dengan 2 mL DPPH 0,1 mM. Campuran larutan asam askorbat dan DPPH kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang teoritis yaitu 517 nm tiap 1 menit selama 60 menit. OT diperoleh dengan menentukan selang waktu ke berapa terjadinya peredaman radikal bebas DPPH paling tinggi dan stabil [20], [21].

2.5.5 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH 0,1mM sebanyak 2 mL dicampur dengan 2 mL metanol p.a. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 400-800 nm [22].

2.5.6 Penentuan Aktivitas Antioksidan

a. Pengukuran Absorbansi Kontrol DPPH

Larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 2 mL dicampurkan dengan 2 mL metanol p.a, dalam tabung reaksi. Larutan tersebut kemudian di*vortex* selama 30 detik. Absorbansi larutan dibaca pada gelombang maksimum.

b. Pengukuran Absorbansi Sampel Asam Askorbat dan Infusa Daun Buni

Larutan asam askorbat dan infusa daun buni dengan seri konsentrasi yang sebelumnya sudah dibuat masing-masing dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0,1 mM. Larutan selanjutnya di*vortex* selama 30 detik, dan didiamkan selama operating time. Pengerjaan direplikasi sebanyak 3 kali [23].

2.6 Analisis Data

2.6.1 Penetapan Nilai IC_{50}

Nilai IC_{50} diperoleh dari persamaan regresi linier antara % inhibisi terhadap masing-masing konsentrasi sampel. Persentase inhibisi diperoleh dari persamaan 3 [23].

$$\%\ \text{Inhibisi} = \frac{\text{absorbansi larutan kontrol DPPH} - \text{absorbansi larutan sampel}}{\text{absorbansi larutan kontrol DPPH}} \times 100\% \quad \text{(Persamaan 3)}$$

2.6.2 Analisis Statistik

Analisis statistik diuji dengan uji *non parametric Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui adanya perbedaan terhadap masing-masing sampel.

3 Hasil dan Pembahasan

3.1 Pembuatan Simplisia

Pengeringan pada daun buni bertujuan untuk menghentikan reaksi enzimatik pada simplisia dengan mengurangi/menghilangkan kandungan air pada simplisia sehingga diperoleh simplisia yang sukar rusak serta dapat disimpan untuk jangka panjang [24]. Ciri-ciri simplisia kering yaitu mudah remuk atau hancur apabila digenggam. Rendemen simplisia yang diperoleh pada simplisia kering yaitu sebesar 28,62% dengan berat awal sampel sebelum dikeringkan yaitu 510 gram dan setelah dikeringkan menjadi 146 gram. Perhitungan rendemen simplisia bertujuan untuk mengetahui persentase hasil simplisia yang didapatkan sehingga bahan baku yang dibutuhkan untuk membuat sejumlah simplisia tertentu dapat diprediksi [25].

Kadar air simplisia kering yang diperoleh yaitu sebesar 4,7%, sedangkan kadar air pada simplisia segar daun buni dianggap 100% karena belum mengalami pengeringan. Syarat kadar air simplisia yang secara umum yaitu kurang dari 10% [26]. Kadar air simplisia kering daun buni memenuhi persyaratan yaitu di bawah 10%, sehingga memungkinkan simplisia disimpan untuk jangka waktu yang lama. Pada simplisia segar tingginya kadar air menyebabkan simplisia segar mudah mengalami kerusakan dan penurunan kualitas, sehingga simplisia segar tidak dapat disimpan terlalu lama. Kadar air mempengaruhi kualitas simplisia, karena kadar air yang terlalu tinggi menyebabkan kontaminasi mikroba pada simplisia meningkat sehingga menyebabkan simplisia menjadi rusak [27].

3.2 Pembuatan Infusa

Infusa daun buni dibuat pada suhu 90°C karena pada suhu ini diharapkan difusivitas pelarut air meningkat dengan memperlebar jarak antar molekul dalam padatan simplisia. Peningkatan difusivitas pelarut menyebabkan zat aktif yang terkandung dalam simplisia dapat terekstrak secara maksimal. Penggunaan suhu 90°C juga diharapkan tidak merusak zat aktif pada sampel [28]. Zat aktif dapat mengalami kerusakan apabila dipanaskan sampai suhu 100°C atau lebih [29]. Bahan-bahan yang memilik sifat lunak seperti bunga serta daun dapat diserkai selama 15 menit pada suhu 90°C, sedangkan bahan keras seperti kulit batang dan akar diserkai selama 30 menit [8].

Metode infusa tergolong lebih efisien dan ekonomis dibandingkan dengan metode ekstraksi lain karena tidak memerlukan pelarut khusus. Selain itu, penerapan metode ini lebih aplikatif pada masyarakat awam karena tidak memerlukan keterampilan khusus serta alat khusus [30].

Pada penelitian ini diperoleh sediaan infusa dengan karakteristik memiliki rasa dan aroma yang sama baik pada infusa simplisia segar dan kering yaitu sedikit pahit dan beraroma aromatis, hanya terdapat perbedaan warna infusa yaitu infusa simplisia segar memiliki warna yang lebih pucat.

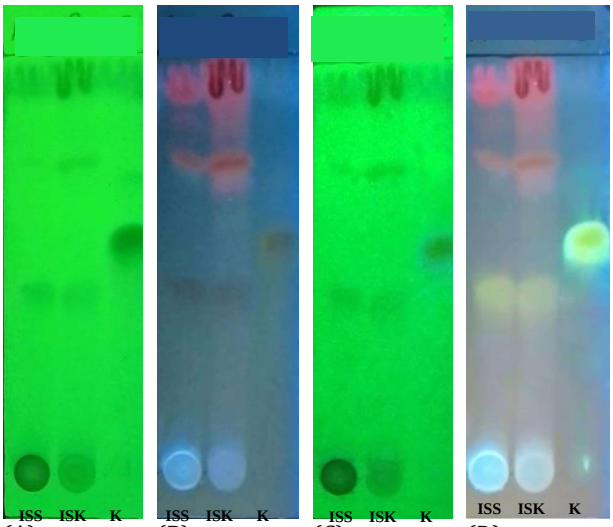
3.3 Identifikasi Flavonoid

Infusa daun buni positif mengandung senyawa flavonoid. Perubahan warna baik pada infusa simplisia segar maupun simplisia kering dari kuning pucat menjadi jingga menunjukkan bahwa infusa daun buni positif mengandung senyawa flavonoid.

Perubahan warna ini disebabkan oleh penambahan HCl pekat dan Magnesium, (Mg). Penambahan HCl pekat dan Mg dapat mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid dari kuersetin dan sampel infusa. Reduksi inti benzopiron pada struktur flavonoid menghasilkan garam benzopirillium atau garam flavilium dan membentuk kompleks berwarna jingga atau merah pada infusa [31].

Hasil identifikasi flavonoid dipertegas dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dan digunakan kuersetin sebagai pembanding. Penggunaan kuersetin sebagai pembanding karena diduga pada infusa daun buni terkandung flavonoid jenis kuersetin. Kuersetin merupakan salah satu flavonoid yang persebarannya paling luas dan banyak ditemukan pada tanaman [32]. Hasil menunjukkan adanya bercak berwarna gelap pada sampel infusa serta standar kuersetin di bawah sinar UV 254 nm dan di bawah sinar UV 366 nm (B). Bercak yang timbul kemudian diperjelas dengan pereaksi $AlCl_3$ 10% menghasilkan pola kromatogram berwarna kuning di bawah sinar UV 366 nm. $AlCl_3$ membentuk kompleks asam yang stabil dengan

gugus ortohidroksil dari cincin A atau B senyawa-senyawa flavonoid [33].



(A) (B) (C) (D)

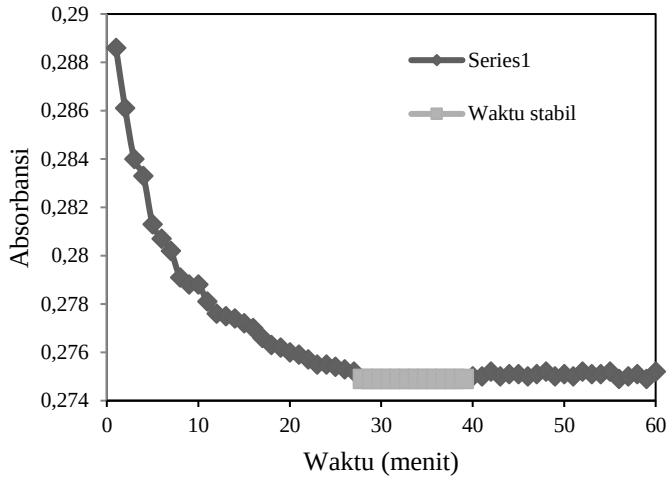
Gambar 3. Hasil identifikasi senyawa flavonoid menggunakan KLT infusa simplisia segar (ISS), infusa simplisia kering (ISK), dan larutan standar kuersetin (K), pada sinar UV 254 nm (A), 366 nm (B), sinar UV 254 nm yang telah disemprot $AlCl_3$ (C), dan 366 nm yang telah disemprot $AlCl_3$ (D)

Nilai Rf standar kuersetin, infusa daun buni dari simplisia segar, dan simplisia kering berturut-turut yaitu 5,5; 4,5; 4,5. Nilai Rf merupakan jarak tempuh senyawa dari tempat penotolan dibagi jarak tempuh pelarut dari penotolan [34]. Perbedaan nilai Rf antara kuersetin dengan infusa simplisia segar dan simplisia kering daun buni dapat disebabkan karena infusa daun buni berasal dari golongan flavonoid yang berbeda dengan kuersetin yang berasal dari golongan flavonol. Senyawa flavonoid yang terkandung pada daun buni memiliki struktur dan sifat polar yang berbeda dibandingkan standar kuersetin. Berdasarkan nilai Rf yang diperoleh, senyawa flavonoid dalam infusa daun buni mempunyai kepolaran yang lebih tinggi dibandingkan standar kuersetin [35].

3.4 Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan

3.4.1 Penetapan operating time (OT)

Penetapan OT dilakukan untuk menentukan waktu pengukuran absorbansi paling stabil, ditandai dengan absorbansi yang konstan [36]. OT yang diperoleh kemudian dijadikan sebagai waktu optimum inkubasi sampel dengan DPPH.



Gambar 4. Grafik penentuan operating time (OT) DPPH

OT diperoleh pada penelitian ini yaitu menit ke-28 karena absorbansi terlihat mulai stabil pada menit tersebut. Hasil operating time yang diperoleh tidak berbeda jauh dari operating time yang direkomendasikan dari metode aslinya yaitu 30 menit [22].

3.4.2 Penetapan panjang gelombang maksimum

Penetapan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan mengamati absorbansi larutan kontrol yaitu DPPH dengan penambahan pelarut metanol, tanpa penambahan sampel ataupun larutan pembanding asam askorbat. Pada penelitian ini diperoleh panjang gelombang maksimum 516 nm, hasil ini sesuai dengan panjang gelombang maksimum DPPH secara teoritis yaitu 517±2 nm [22].

3.4.3 Penentuan aktivitas antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan sampel dilakukan dengan mengukur absorbansi sampel yang telah direaksikan dengan senyawa DPPH pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh sebelumnya yaitu 516 nm. Sebelum dilakukan pengukuran absorbansi. larutan diinkubasi terlebih dahulu selama *operating*

time yang telah diperoleh yakni 28 menit. Pada percobaan digunakan asam askorbat sebagai larutan pembanding. Hasil uji aktivitas antioksidan asam askorbat, infusa simplisia segar dan infusa simplisia kering disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antioksidan

Sampel	Konsentrasi larutan (ppm)	Absorbansi rata-rata±SD	%Inhibisi rata-rata±SD	IC_{50} rata-rata (Aktivitas antioksidan) ±SD
Asam askorbat	3,5	0,289±0,003	39,113±0,902	4,942 ±0,20[a] (aktivitas antioksidan tergolong sangat kuat)
	4,0	0,254±0,002	45,709±0,331	
	4,5	0,240±0,004	48,747±0,902	
	5,0	0,235±0,004	49,868±0,880	
	5,5	0,222±0,001	52,522±0,223	
	6,0	0,202±0,001	56,354±0,993	
Infusa simplisia segar	50	0,352±0,004	24,287±0,957	303,646±3,731[b] (aktivitas antioksidan tergolong sangat lemah).
	100	0,308±0,008	33,683±1,895	
	150	0,291±0,003	37,239±0,823	
	200	0,282±0,001	39,268±0,360	
	250	0,268±0,006	42,433±1,517	
	300	0,226±0,002	51,397±0,593	
Infusa simplisia kering	50	0,323±0,001	31,978±0,409	197,344±0,819[c] (aktivitas antioksidan tergolong lemah)
	100	0,283±0,003	40,387±0,692	
	150	0,249±0,005	47,490±1,105	
	200	0,220±0,004	53,505±0,874	
	250	0,212±0,001	55,344±0,349	
	300	0,201±0,000	57,597±0,178	

Keterangan: Huruf yang berbeda (a, b, c) pada nilai IC_{50} menunjukkan nilai IC_{50} berbeda signifikan (P≤0,05)

Hasil pengujian aktivitas antioksidan larutan pembanding asam askorbat diperoleh nilai IC_{50} sebesar 4,942±0,02 ppm. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa asam askorbat tergolong sebagai antioksidan yang sangat kuat. Aktivitas antioksidan asam askorbat yang diperoleh sejalan dengan hasil penelitian Robiyun *et al* (2022) yang melaporkan nilai IC_{50} asam askorbat sebesar 4,75 ppm [37]. Nilai IC_{50} infusa simplisia segar tergolong sangat lemah dengan nilai IC_{50} 303,646±3,731 ppm, senyawa dengan nilai IC_{50}>200 tergolong sebagai antioksidan sangat lemah [38]. Infusa daun buni dari simplisia kering memiliki nilai IC_{50} 197,344±0,819 ppm dan termasuk ke dalam antioksidan lemah karena nilai IC_{50} berada dalam rentang 150-200 ppm [22]. Berdasarkan beberapa penelitian mengenai aktivtas antioksidan infusa, diketahui bahwa aktivitas antioksidan dari infusa tergolong sedang, lemah, dan sangat lemah. Aktivitas antioksidan daun buni tergolong lebih kuat dari infusa daun kelor yang diteliti oleh Yuliani & Dienina (2015), namun lebih lemah dari infusa daun kersen yang diteliti oleh Dewi et al (2020) [39], [19].

Nilai signifikansi yang diperoleh dari uji *Kruskal-Wallis* yaitu 0,027<0,05, hal ini menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara nilai IC_{50} pada masing-masing sampel simplisia yang digunakan. Selanjutnya untuk melihat adanya perbedaan bermakna pada satu sampel dengan sampel yang lain dilakukan analisis dengan uji *Mann-Whitney*. Nilai IC_{50} berbeda bermakna bila diperoleh signifikansi≤0,05. Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan nilai IC_{50} asam askorbat berbeda bermakna dengan kedua infusa daun buni, perbedaan bermakna juga didapatkan pada infusa simplisia segar dan infusa simplisia kering daun buni.

Perbedaan aktivitas antioksidan antara asam askorbat dengan infusa daun buni disebabkan karena asam askorbat adalah suatu senyawa yang berbentuk murni dan dipastikan memiliki struktur ikatan rangkap yang berperan sebagai pendonor proton kepada radikal bebas. Struktur ikatan rangkap yang dapat mendonorkan proton menyebabkan aktivitas antioksidan pada asam askorbat menjadi sangat kuat. Pada sediaan infusa senyawa metabolit sekunder yang diperoleh merupakan senyawa yang belum murni dan belum diketahui strukturnya, sehingga aktivitas antioksidannya lebih lemah dibandingkan dengan asam askorbat [40].

Perbedaan aktivitas antioksidan infusa daun buni dari simplisia segar dan simplisia kering salah satunya dapat disebabkan oleh perbedaan kadar air simplisia. Tingginya kadar air simplisia segar dapat menyebabkan hilang atau rusaknya senyawa antioksidan seperti flavonoid akibat degradasi enzim yang tinggi pada simplisia segar [41]. Tingginya kadar air pada simplisia segar juga dapat menyebabkan efek dilusi total kandungan senyawa flavonoid sebagai senyawa sumber antioksidan [42]. Selain itu, pada simplisia segar daun buni kemungkinan dinding sel masih dalam keadaan utuh karena tidak dilakukan pengeringan menyebabkan metabolit sekunder yang terdapat pada simplisia segar lebih sulit tersari karena harus melewati dinding sel tersebut [40].

4 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

a. Hasil uji tabung dan pemisahan dengan kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa infusa simplisia segar dan infusa simplisia kering daun buni positif mengandung senyawa flavonoid.

b. Infusa simplisia segar daun buni tergolong sebagai antioksidan sangat lemah dengan nilai IC_{50} 303,646±3,731 ppm, sedangkan infusa simplisia kering tergolong sebagai antioksidan lemah dengan nilai IC_{50} 197,344±0,819 ppm.

Terdapat perbedaan signifikan aktivitas antioksidan infusa simplisia segar dan infusa

5 Ucapan Terima Kasih

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada Laboratorium Farmasi Universitas Mataram yang telah memfasilitasi selama penelitian ini dilaksanakan.

6 Pernyataan

6.1 Kontribusi Penulis

Semua penulis berkontribusi dalam penulisan artikel ini.

6.2 Penyandang Dana

Penelitian ini tidak mendapatkan pendanaan dari sumber manapun.

6.3 Konflik Kepentingan

Semua penulis menyatakan tidak memiliki konflik kepentingan terhadap naskah ini.

7 Daftar Pustaka

[1] Fitri, R., Oktiami, D., & Arso, D. D. (2018). Eksplorasi Pengetahuan Obat Tradisional dalam Prespektif Hukum Kekayaan Intelektual di Bengkulu. *Mimbar Hukum*. 30(2). 304-315.

[2] Ulung, G. (2014). *Sehat Alami dengan Herbal*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

[3] Maesaroh, K., Kurnia, D., dan Anshori, J. A. (2018). Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin. *Chimical et Natura Acta*. 6 (2), 93-100.

[4] Nurmalasati, F., Ersam, T., dan Fatmawati, S. (2016). Isolasi senyawa Antioksidan dari Kulit Batang *Sonneratia ovata* Backer. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. 5 (2), 2337-3520.

[5] Mutaqin, A. Z., Muharini, A. Z., & Husodo, T. (2016). *Studi etnobotani Pemanfaatan Tumbuhan Rempah-Rempah Obat oleh Masyarakat Desa Pangandaran Kecamatan Pangandaran Kabupaten Pangandaran*. Seminar Nasional Biologi V UNNES. ISBN: 978-602-103-3444-6.

[6] Widaningrum, (2008). *Uji Potensi Antifungi Infusa Daun Sirih Merah (Piper crocatum* Ruiz & Pav) *Terhadap Candida albicans ATCC 10231 Secara In Vitro.* Skripsi. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.

[7] Wikantyasning, E. R., Nurwaini, S., Sukmawati, A. (2021). *Farmasetika Dasar*. Surakarta: Muhammadiyah University Press.

[8] Depkes RI. (1995). *Farmakope Indonesia, Edisi III.* Jakarta: Kementrian Republik Indonesia.

[9] Susilowati & Sari, I. N. (2020). Perbandingan Kadar Flavonoid Total Seduhan Daun Benalu Cengkeh (*Dendrophthoe petandra* L.) Pada Bahan Segar dan Kering. *Jurnal Farmasi*. 9(2), 33-40.

[10] Damar, A. C., Runtwene, M. R. J., & Wewengkang, D. S. (2014). Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Kayu Kapur (*Melanolepsis multiglandulosa* Reinch f). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 3 (4).

[11] Julianto, T. S. (2019). *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.

[12] Kurniawan, J. C., Suryanto, E., & Yudistira, A. (2013). Analisis Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Dari Getah Kulit Buah Pisang Goroho (*Musa acuminate* (L.)). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2(3), 34-39.

[13] Setiawan, F., Yunita, O., & Kurniawan, A. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *Jurnal Farmasi Udayana*. 7 (2).

[14] Safrina, D., & Priyambodo, W. J. (2018). Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh dan Pengeringan Terhadap Flavonoid Total Sambang Colok (*Iresine herbstii*). *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian*. 15(3), 147-154.

[15] Huda, C., Putri, A. E., & Sari, D. W. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi dari Maserat *Zibethinus folium* terhadap *Escherchia coli*. *Jurnal Sains Health*. 3(1), 7-14.

[16] Reubun, Y. T. A., Kumala, S., Setyahadi, S., & Simanjuntak, P. (2020). Pengeringan Beku Ekstrak Herba Pegagan (*Centella asiatica*). *Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 13 (02), 113-117.

[17] Sunarwidhi, A. L., Sudarsono, S., Nugroho, A. E. (2014). Hypoglycemic Effect of combination of *Azadirachta indica* A. Juss. And *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. Ethanolic Extracts Standardizied by Rutin and Quercetin in Alloxan-induced Hyperglycemic Rats. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 4(2), 613-618.

[18] Suhaenah, A., & Nuryanti, S. (2017). Skrining Fitokimia Ekstrak Jamur Kancing (*Agaricus bisporus*). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 4(1), 199-204.

[19] Dewi, I. P., Sakoikoi, H. G., & Verawaty. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Dengan Menggunakan Metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). *Jurnal Akademi Farmasi Prayoga*. 5(1), 49-57.

[20] Mulangsari, D. A., Budiarti, A., dan Saputri, E. N. (2017). Aktivitas Antioksidan Fraksi Dietileter Buah Mangga Arumanis (*Mangifera indica* L.) dengan Metode DPPH. *Jurnal Pharmascience*. 4(1), 85-93.

[21] Widyasanti, A., Rohdiana, D., dan Ekatama, N. (2016). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teh Putih (*Camellia sinensis*) Using DPPH (2,2- diphenyl-1-picryhydrazyl) Method. *Fortech*. 1(1), 59-66.

[22] Molyneux, P. (2004). The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science Technology*. 26 (2), 211-216.

[23] Kumaradewi, D. A. P., Subaidah, W. A., Andayani, Y., & Mokaram, A. A. (2021). Phytochemical Screening and Activity Test of Antioxidant Ethanol Extract of Buni Leaves *(Antidesma bunius* L. Spreng) Using DPPH Method. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*. 7 (20), 275-280.

[24] Depkes RI. (1985). *Cara Pembuatan Simplisia.* Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.

[25] Samudra, A. (2014). *Karakteristik Ekstrak Etanol Daun Salam (Syzygium polyanthum Wight) Dari Tiga Tempat Tumbuh Di Indonesia.* Skripsi. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.

[26] Depkes RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia, Edisi II*. Jakarta: Ditjen POM RI.

[27] Handayani, A., Wirasutisna, K., & Insanu, M. (2017). Penapisan Fitokimia dan Karakterisasi Simplisia Daun Jambu Mawar (*Syzygium jambos* aiston*). Jf Fik Uniman.* 5 (3), 174-183.

[28] Putri, O. K. (2018). Kadar Fenolik Total Seduhan Daun Tin (*Ficus carica*) Segar dan Kering dengan Air Mendidih. *Jurnal Cis-Trans (JC-T)*. 2(2), 7-12.

[29] Donna, B. P., Wijaya, L. S., Syahid, M. A., Karina, S. W., & Handini, Y. S. (2018). Ekstrak Daun Seledri (Ex-Sel) dalam Kemasan Ekonomis Siap Minum Untuk Terapi Hipertensi. *Jurnal Abdi Insani Unram*. 5(2), 1-6.

[30] Ditjen POM. (2014). *Farmakope Indonesia*. Edisi V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

[31] Ni'ma, A., & Lindawati, N. Y. (2022). Analisis Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Adas (*Foeniculum vulgare*) Secara Spektrofotometri Visibel. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*, 8 (1), 1-12.

[32] Ferdinan, A., dan Rizki, F. (2021). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Pandan Hutan Jenis Baru Freycinetia Sessiliflora Rizki. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia.* 4(1), 1-6.

[33] Haeria., Hermawati., Pine, A. T. U. D. (2016). Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) *Journal of Pharmaceutical adan Medicinal Sciences*. 1(2), 57-61.

[34] Erlyn, P. (2016). Efektivitas Antibakteri Fraksi Aktif Serai (*Cymbopogon citratus)* Terhadap Bakteri Staphylococcus mutans. *Syifa 'Medika*. 6(2), 111-125.

[35] Rabbani, Y., Airin, C. M., & Riyanto, S. (2020). The Effect of Methanolic Extract and Ethyl Acetate Fraction of Kepel Fruit (*Stelechocarpus burahol*) to a-Glutathione S-Transferase Enzyme Concentration of Rat Liverand Blood Induced by CCl_4. *Journal of Food and Pharmaceutical Science*. 8(2), 252-265.

[36] Gandjar, G., dan Rohman, A. (2018). *Spektroskopi Molekuler Untuk Analisa Farmasi*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
[37] Robiyun, Yasir, A. S., Angin, M. P. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan Gel Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Lidah Buaya (*Aloevera*) dan Daun Kemangi (*Ocimum basillicum* L). Berbasis Sodium Alginat dengan Metode DPPH. *Journal of Pharmacy and Tropical Issues*. 2(1), 1-10.
[38] Andriani, Y. N. M., Ramli, D. F. Syamsumir, M. N. I., Kassim, J., Jaffar, N. A., Aziz, L., Marlina, N. S., Musa, H., & Mohamad. (2019). Phytochemical Analysis, Antioxidant, Antibacterial and Cytotoxicity Properties of Keys and Cores Parts of *Pandanaus tectorius* Fruits. *Arabian Journal of Chemistry.* 12(8), 3555-3564.
[39] Yuliani, N. Y., & Dienina, D. P. (2015) Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Kelor (*Moringa oliefera*, Lamk) dengan Metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). *Jurnal Info Kesehatan* 13(2), 1060-1082.
[40] Putri, R. D. W., & Hargyastuti, N. (2021). Potensi Senyawa Antioksidan yang Dihasilkan Bakteri Endofit Pada Daun Jambu Biji. *UNESA Journal of Chemistry.* 10(1), 55-63.
[41] Luliana, S. Purwanti, A. U., & Manihuruk, K. N. (2016). Pengaruh Cara Pengeringan Simplisia Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L). Terhadap Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (2,2-difenil-pikrihidrazil). *Pharm Sci Res*. 3(3), 120-129.
[42] Hossain, M. B., Barry, R., Martin., Diana, A. B., Brunton, N. P. (2010). Effect of Drying Method on The Antioxidant Capacity of Six *Lamiaceae herbs*. *Food Chemistry*. 1(1), 85-91.