

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MENGGUNAKAN RADIKAL 1,1-DIFENIL-2-PIKRILHIDRAZIL DAN PENETAPAN KANDUNGAN FENOLIK TOTAL FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL BUAH ANGGUR BALI (*Vitis vinifera* L.)

MIKHAEL GUSTANDY, C.J. SOEGIHARDJO

Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta

Abstract: *This research was conducted to determine the antioxidant activity of ethyl acetat fraction of extract of Balinese grape (*Vitis vinifera* L.) using free radical and determine the total phenolic content. Balinese grape was extracted with ethanol and then fractionated using ethyl acetate. Free radical scavenging activity was tested by measuring the DPPH radical scavenging activity. Total phenolic content was determined using the Folin-Ciocalteu method measured the concentration of phenolic content in gallic acid total equivalents using unit's mg/g. The mean IC_{50} value for DPPH radical scavenging activity of the ethyl acetat fraction of ethanolic extract of Balinese grape was found to be $36.55 \pm 0.09 \mu\text{g/mL}$. The phenolic content was ranging from $3.23 \pm 0.02 \text{ mg gallic acid equivalents per gram of ethyl acetat fraction of ethanolic extract of Balinese grape}$.*

Keywords: *antioxidants, Balinese grape (*Vitis vinifera* L.), fraction of ethyl acetat, DPPH, total phenolic content.*

1. Pendahuluan

Sinar ultraviolet, asap pabrik, asap kendaraan, asap rokok maupun efek dari pemanasan global merupakan faktor yang mempengaruhi proses metabolisme sel normal manusia maupun respon imun yang menyebabkan terbentuknya radikal bebas dalam tubuh manusia (Prakash, 2001). Radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron sehingga tercapai kestabilan atom atau molekul. Reaksi ini akan berlangsung terus menerus dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya. Oleh karena itu, tubuh memerlukan suatu substansi penting, yaitu antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas tersebut sehingga tidak dapat menginduksi suatu penyakit (Kikuzaki dkk., 2002).

Antioksidan terdapat di dalam tubuh, selain itu juga dapat diperoleh dari luar tubuh, yaitu antioksidan sintesis dan antioksidan alami yang banyak berasal dari tumbuhan. Usaha untuk mencari senyawa antioksidan baru yang aman dan efektif berkembang selama beberapa tahun terakhir. Banyak penelitian yang menunjukkan bahwa senyawa antioksidan dalam tumbuhan dapat dihubungkan dengan pencegahan stres oksidatif dan penyakit karena penuaan (Zou, Lu, dan Wei, 2004). Buah anggur dengan berbagai jenis yang beredar di pasaran diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan banyak penelitian tentang khasiat buah anggur yang telah dilakukan. Masyarakat sering mengkonsumsinya karena rasa yang manis pada buah tersebut. Di tanah Bali terdapat buah anggur lokal dengan rasa manis selain itu terdapat rasa yang sangat masam, tetapi peneliti menduga kandungan

antioksidan yang terdapat pada anggur Bali yang tidak kalah berkhasiat dibanding anggur-anggur import maupun buah-buah lainnya. *Grape* atau buah anggur mengandung serat dan resveratrol yang merupakan salah satu sumber antioksidan, yaitu flavonoid. Flavonoid terdiri dari kuersetin, prosiadin, katekin, dan antosianin. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa resveratrol sangat bermanfaat bagi kesehatan karena bisa mencegah resiko kanker dan membuat awet muda (Anonim 2010). Pada penelitian ini digunakan semua bagian dari buah anggur karena pola konsumsi masyarakat luas yang mengkonsumsi buah anggur secara langsung maupun dalam sediaan lain, seperti *wine*, kismis, selai, dan lain-lain.

Salah satu uji untuk menentukan aktivitas antioksidan adalah metode DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil). Pada metode ini penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna. Nilai aktivitas antioksidan diketahui melalui nilai IC_{50} yang merupakan konsentrasi yang menyebabkan penurunan 50% dari konsentrasi DPPH awal (Sunarni, 2005). Salah satu keuntungan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah dapat dikerjakan dengan cepat dan sederhana dibanding metode lain. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan buah anggur Bali dengan metode DPPH yang didapat dari fraksi etil asetat ekstrak etanol buah anggur Bali. Digunakan etanol untuk ekstraksi

karena merupakan pelarut universal dan digunakan pelarut etil asetat untuk fraksinasi karena akan diambil senyawa golongan aglikon yang bersifat non-polar. Dalam penelitian ini juga dilakukan penetapan kandungan fenolik total dengan metode Folin-Ciocalteu. Metode ini umum digunakan sebagai standar penentuan kandungan fenolik total setara massa ekuivalen asam galat pada uji aktivitas antioksidan sumber tumbuhan (Aqil *et al.*, 2006).

Permasalahan yang dapat dirumuskan berdasarkan latar belakang tersebut adalah berapakah nilai aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak etanol buah anggur Bali dengan menggunakan radikal bebas DPPH yang dinyatakan dengan IC_{50} dan berapakah kandungan fenolik total fraksi etil asetat ekstrak etanol buah anggur Bali yang dinyatakan dengan massa ekuivalen asam galat?

2. Metode Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: buah anggur Bali (*Vitis vinifera* L.) yang berasal dari daerah Buleleng Bali, akuades (Laboratorium Kimia Analisis Instrumental Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma); bahan kualitas *p.a.* E. Merck, yaitu: metanol, bahan kualitas *p.a.* Sigma Chem. Co., USA, yaitu: DPPH, reagen Folin-Ciocalteu, asam galat, dan kuersetin kualitas Sigma Chem. Co., USA; bahan kualitas teknis Brataco Chemica, yaitu: etil asetat; bahan kualitas teknis CV. General Labora, yaitu: metanol; dan

aluminium foil.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: neraca analitik (Scaltec SBC 22, BP 160P), *vacuum rotary evaporator* (Junke & Kunkel), *waterbath* (labo-tech, Heraeus), *vortex* (Janke & Kunkel), spektrofotometer UV-Vis (Perkin Elmer Lamda 20), blender, corong *Buchner*, *oven*, mikropipet 10-1000 μ L; 1-10 mL (Acura 825, Socorex), tabung reaksi bertutup, dan alat-alat gelas yang lazim digunakan di laboratorium analisis (Pyrex-Germany dan Iwaki).

2.1. Determinasi tanaman

Determinasi buah anggur Bali (*Vitis vinifera* L.) dilakukan di Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia, Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma menurut pustaka Backer & Bahhuizen van den Brink (1965).

2.2. Pengumpulan bahan

Buah anggur diperoleh dari daerah Kecamatan Buleleng Bali, dikumpulkan pada musim kemarau bulan Agustus 2012. Buah yang diambil adalah buah yang sudah matang dan diambil saat pagi hari. Buah anggur yang akan diteliti di laboratorium farmasi USD Yogyakarta di simpan didalam lemari pendingin, lalu pada hari ketiga dilakukan preparasi.

2.3. Preparasi sampel

Buah anggur Bali dipilih yang matang, seragam warna hitam keunguan kemudian dicuci dengan akuades. Buah lalu dibersihkan dan dipisahkan dari ranting-rantingnya, kemudian dipotong-potong,

ditiriskan, ditimbang sebanyak 150 g. Selanjutnya buah dihaluskan dengan menggunakan *blender*. Setelah dihaluskan, simplisia tersebut dimasukan ke dalam erlenmeyer 500 ml dan ditambahkan larutan 300 ml etanol 96% sampai seluruh sampel terendam. Pelarut dilebihkan setinggi kurang lebih 2 cm di atas permukaan simplisia, ditutup dan dibiarkan selama 3 kali 24 jam dan dilakukan proses maserasi.

Maserat disaring dengan menggunakan kertas saring. Filtrat diperoleh melalui penyaringan dengan corong *Buchner*, kemudian ampas dimaserasi kembali dengan etanol selama 3 kali 24 jam, sehingga filtrat hampir tidak berwarna. Semua filtrat disatukan dan dipekatkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* sampai tidak ada lagi cairan yang menetes sehingga diperoleh ekstrak etanol buah anggur. Ekstrak kental buah anggur ditambahkan 100 ml air hangat dan diekstraksi cair-cair menggunakan etil asetat dengan perbandingan larutan fraksi air - etil asetat (1:3 v/v) sehingga didapatkan fraksi air dan etil asetat. Setelah dipisahkan, pelarut dari fraksi etil asetat diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator*. Hasil fraksi tersebut kemudian ditutup dengan plastik serta *aluminium foil* lalu disimpan di dalam desikator. Hasil fraksi yang didapatkan digunakan untuk dianalisis lebih lanjut.

2. 4. Pembuatan larutan perbandingan dan larutan uji

2.4.1. Pembuatan larutan DPPH. 15,8 mg DPPH (BM: 394,33) dilarutkan ke dalam 100

mL metanol *p.a* sehingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 0,4 mM. Larutan tersebut ditutup dengan alumunium foil dan harus selalu dibuat baru.

2.4.2. *Pembuatan larutan stok kuersetin.* Sebanyak 2,5 mg kuersetin dilarutkan dengan metanol *p.a* sampai 10,0 mL.

2.4.3. *Pembuatan larutan pembanding.* Diambil sebanyak 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6 mL larutan stok kuersetin, kemudian ditambahkan metanol *p.a* sampai 10,0 mL, sehingga diperoleh konsentrasi larutan standar kuersetin sebesar 5; 7,5; 10; 12,5; dan 15 µg/mL.

2.4.4. *Pembuatan larutan uji.*

Larutan uji untuk aktivitas antioksidan dibuat dari 12,5 mg hasil fraksi etil asetat ditimbang, lalu di tambahkan metanol *p.a* sampai 25,0 mL. Diambil sebanyak 1; 2; 3; 4; 5 mL larutan tersebut, kemudian ditambahkan metanol *p.a* sampai 10,0 mL, sehingga diperoleh konsentrasi larutan uji sebesar 10; 20; 30; 40; 50 µg/mL.

Lautan uji untuk penentuan kandungan fenolik total dibuat dari 3 mg hasil fraksi etil asetat ditimbang, lalu ditambahkan 10 mL metanol *p.a* dan diperoleh konsentrasi larutan uji sebesar 300,0 µg/mL.

2.4.5. *Pembuatan larutan asam galat.* Dibuat larutan asam galat dengan konsetrasi 500 µg/mL dalam akuades : methanol *p.a* (1:1). Diambil sebanyak 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; dan 3,0 mL larutan tersebut, kemudian ditambahkan akuades : metanol *p.a* (1:1) sampai 10,0 mL, sehingga diperoleh konsentrasi larutan baku asam galat sebesar 50; 75; 100; 125; dan 150 µg/mL.

2.5. *Uji aktivitas antioksidan*

2.5.1. *Pengukuran absorbansi larutan DPPH (kontrol).* Pada labu ukur 10 mL dimasukan sebanyak 2 mL larutan DPPH, lalu ditambahkan larutan tersebut dengan metanol *p.a* hingga tanda batas. Larutan tersebut kemudian dibaca absorbansinya pada saat *OT* dan panjang gelombang maksimum. Pengerjaan dilakukan sebanyak 3 kali. Larutan ini digunakan sebagai kontrol untuk menguji larutan pembanding dan uji.

2.5.2. *Pengukuran absorbansi larutan pembanding dan uji.* Sebanyak 1 mL larutan DPPH dimasukkan ke dalam tabung reaksi bertutup kemudian ditambah dengan 1 mL larutan pembanding dan uji pada berbagai seri konsentrasi yang telah dibuat, selanjutnya ditambah dengan metanol *p.a* hingga tanda batas. Larutan tersebut kemudian divortex selama 30 detik dan diamankan selama *OT*. Larutan dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang maksimum hasil optimasi. Pengujian dilakukan dengan 3 kali replikasi.

2.5.3. *Validasi metode uji aktivitas antioksidan.* Hasil divalidasi presisi (% *CV*) spesifisitas (spektra kontrol), dan linearitas (nilai *r*).

$$\% CV = \frac{\text{Standar Deviasi (SD) konsentrasi terukur}}{\text{rata-rata konsentrasi terukur}} \times 100\%$$

2.6. *Penetapan kandungan fenolik total*

Pembuatan kurva baku asam galat dilakukan dengan menambahkan sebanyak 0,5 mL larutan asam galat 50; 75; 100; 125; dan 150 µg/mL dengan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu yang telah diencerkan dengan air

(1:1 v/v). Larutan selanjutnya ditambah dengan 4,0 mL natrium karbonat 1M. Setelah *OT*, absorbansinya dibaca pada λ maksimum terhadap blanko yang terdiri atas akuades : metanol *p.a* (1:1), reagen Folin-Ciocalteu dan larutan natrium karbonat 1 M. Pengerjaan dilakukan tiga kali. Hasil divalidasi presisi (% *CV*), spesifisitas (spektra kontrol), dan linearitas (nilai *r*).

$$\% CV = \frac{\text{Standar Deviasi (SD) konsentrasi terukur}}{\text{rata-rata konsentrasi terukur}} \times 100\%$$

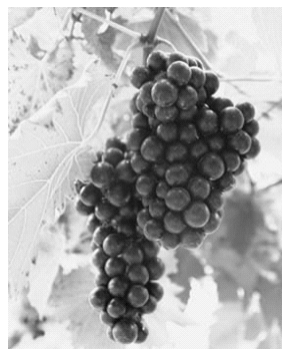
Pengujian kandungan fenolik total larutan uji dilakukan dengan mengambil 0,5 mL larutan uji 300 $\mu\text{g/mL}$, lalu masing-masing dimasukkan ke dalam labu takar 10,0 mL dan dilanjutkan sebagaimana perlakuan pada pembuatan kurva baku asam galat. Kandungan fenolik total dinyatakan sebagai gram ekivalen asam galat (mg ekivalen asam galat per g fraksi etil asetat). Lakukan 3 kali replikasi.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Hasil Determinasi Tanaman

Determinasi merupakan syarat pertama dan langkah awal yang dilakukan dalam suatu penelitian dengan menggunakan tanaman. Determinasi tanaman ini bertujuan untuk mengetahui dan memastikan kebenaran identitas tanaman yang akan digunakan dalam penelitian serta untuk menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan sampel untuk analisis fitokimia. Berdasarkan hasil determinasi tanaman anggur yang dilakukan di Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia, Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma

telah dibuktikan bahwa tanaman yang digunakan untuk penelitian adalah *Vitis vinifera* L. Menurut balai penelitian tanaman jeruk dan buah subtropika dan SK Menteri Pertanian 361/Kpts/LB.240/6/2004 tanaman anggur yang digunakan ini dikenal dengan nama “anggur Bali” (Gambar 1).



Gambar 1. Buah Anggur Bali

3.2. Hasil Pengumpulan Bahan

Buah anggur diperoleh dari daerah Buleleng, Bali pada bulan Agustus 2012. Pengambilan bahan berasal dari satu tempat, hal ini untuk menghindari variasi kandungan senyawa aktif tanaman. Buah anggur yang digunakan adalah buah yang matang berwarna ungu kehitaman bergerombol dalam satu tangkai. Buah yang diperoleh memiliki diameter antara 1,5-2 cm. Buah anggur dipetik pada pagi hari agar senyawa fenolik yang terdapat pada tanaman belum termetabolisme menjadi bentuk metabolit sekunder lain.

3.3. Hasil Preparasi Sampel

Preparasi sampel ini dilakukan untuk mendapatkan fraksi etil asetat ekstrak etanol buah anggur yang diduga dalam fraksi tersebut mengandung senyawa antioksidan.

Sampel yang digunakan merupakan buah anggur segar bertujuan untuk menjaga stabilitas senyawa fenolik pada tanaman. Menurut Handayani (2011) proses pengeringan dapat memicu terjadinya peristiwa *browning* dan *blackening*. Peristiwa tersebut terjadi karena reaksi oksidasi akibat adanya pemanasan yang dikatalis oleh enzim fenol oksidase atau polifenol oksidase sehingga menyebabkan senyawa fenolik berubah menjadi quinon dan kemudian dipolimerasi menjadi pigmen melaniadin. Senyawa fenolik dalam bentuk polimer tersebut tidak memiliki aktivitas antioksidan.

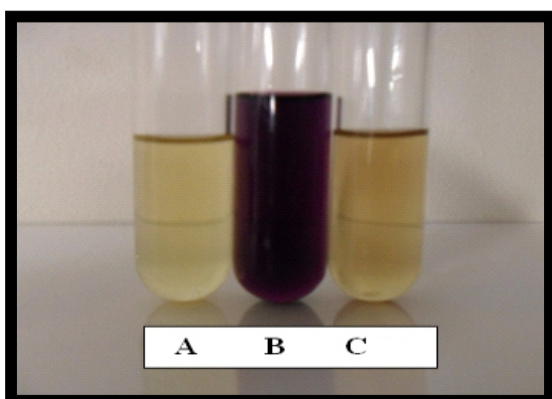
Seluruh bagian dari buah anggur dihaluskan terlebih dahulu untuk memperkecil ukuran permukaan agar penyari dapat kontak lebih luas dengan simplisia. Lalu dilakukan proses maserasi 150 g buah anggur dengan etanol 96% maserasi ini dilakukan dengan tiga replikasi. Dipilih metode ekstraksi dengan maserasi karena ekstraksi ini tidak melibatkan pemanasan sehingga perubahan-perubahan senyawa dapat dihindari. Selain itu, proses maserasi sangat menguntungkan untuk isolasi senyawa bahan alam karena selain dengan perendaman ekstrak tumbuhan digunakan juga *shaker* sebagai alat untuk membantu penggojogan yang dapat meningkatkan kontak antara cairan penyari yang digunakan dengan sampel, sehingga terjadi pemecahan dinding sel dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel yang mengakibatkan metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan terlarut

dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna.

Maserasi dilakukan selama tiga kali 24 jam dalam tabung erlenmeyer 500 mL. Penyaringan hasil maserasi dilakukan dengan bantuan pompa vakum karena jumlah bahan banyak, sehingga membutuhkan waktu yang lama jika disaring secara biasa. Remaserasi dilakukan bertujuan untuk memaksimalkan proses penyarian agar diperoleh lebih banyak senyawa fenolik. Filtrat yang diperoleh dari hasil penyaringan tersebut diuapkan pelarutnya menggunakan *vacuum rotary evaporator (rotavapor)* pada suhu 65°C. Hasil penguapan ini selanjutnya disebut ekstrak etanol buah anggur. Hasil ekstrak etanol buah anggur yang diperoleh dari proses maserasi adalah sebesar 45,10 g sehingga diperoleh rendemen ekstrak etanol sebesar 10,022%.

Etanol merupakan salah satu pelarut universal yang dapat menyari banyak senyawa kimia seperti klorofil, minyak, vitamin dan mineral. Oleh sebab itu, dalam penelitian ini dilakukan fraksinasi yang bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa didalam ekstrak sehingga yang didapat adalah senyawa-senyawa yang dituju yaitu senyawa fenolik. Bentuk glikosida senyawa fenolik bersifat polar, sedangkan bentuk aglikonnya bersifat cenderung non polar, sehingga tidak menutup kemungkinan adanya senyawa tersebut larut dalam air maupun etil asetat (Bruneton, 1999). Fraksinasi dilakukan secara berulang sebanyak tiga kali karena menurut Gandjar dan Rohman (2007) ekstraksi berulang

dengan volume yang sama akan lebih efektif dibanding melakukan ekstraksi tunggal dengan volume yang besar. Fraksi kemudian diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* untuk meminimalkan pemaparan pemanasan supaya stabilitas senyawa fenolik tetap terjaga. Bobot fraksi etil asetat yang didapat sebesar 0,7299 g dan rendemen fraksi etil asetat yang didapat adalah 0,162

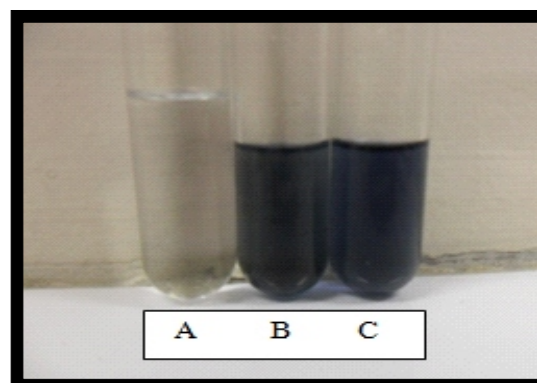


Gambar 2. Pengujian menggunakan DPPH.
Keterangan: A = kuersetin, B = blanko DPPH, C = larutan uji + DPPH

Pengujian juga dilakukan secara kualitatif kandungan senyawa fenolik dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol buah anggur. Prinsip uji ini adalah reaksi oksidasi reduksi dari ion fenolik senyawa uji dengan pereaksi fenol Folin-Ciocalteu. Dengan adanya natrium karbonat yang bersifat basa akan mengubah senyawa fenolik dari senyawa uji menjadi ion fenolik. Ion fenolik dapat mereduksi reagen fenol Folin-Ciocalteu sehingga menyebabkan terbentuknya senyawa berwarna biru (Abdul-Fadl, 1949).

Pengujian menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya warna biru pada larutan uji (Gambar 3). Hal ini menunjukkan bahwa

fraksi etil asetat ekstrak etanol buah anggur mengandung senyawa fenolik.



Gambar 3. Pengujian senyawa fenolik menggunakan reaksi fenol Folin-Ciocalteu.
Keterangan: A = blanko reagen fenol Folin-Ciocalteu, B = larutan uji + reagen fenol Folin-Ciocalteu, C = asam galat + reagen fenol Folin-Ciocalteu

Penentuan panjang gelombang serapan maksimum ini dilakukan untuk menentukan panjang gelombang dimana senyawa yang ingin diukur memberikan absorbansi yang paling optimum. Hasil scanning tiga konsentrasi diperoleh λ maksimum DPPH, yaitu 515,5 nm. Lalu untuk pengukuran kandungan fenolik total, didapatkan hasil panjang gelombang maksimum rata-rata adalah 750 nm hasil dari *scanning* tiga konsentrasi asam galat yang sudah direaksikan dengan pereaksi Folin-Ciocalteu.

Pengukuran *operating time* (OT) bertujuan untuk mengetahui waktu yang tepat untuk pengukuran suatu senyawa, dimana reaksi terjadi secara optimal. Pada rentang waktu tersebut senyawa berada dalam keadaan reaksi sempurna. Dari penentuan OT pada larutan perbandingan dan larutan uji pada tiga tingkat konsentrasi,

absorbansi stabil pada menit ke-30 hingga menit ke-60. Penentuan OT asam galat menunjukkan dari menit ke-10 sampai ke-30 absorbansi senyawa *molybdenum blue* yang merupakan senyawa hasil reaksi asam galat dengan pereaksi Folin-Ciocalteu terbentuk secara stabil. Dapat disimpulkan secara praktis OT penetapan kadar adalah 10 menit, pengukuran absorbansi pada penetapan kadar kandungan fenolat total agar mendapatkan hasil yang reliabel dan valid dilakukan pada menit ke-10 sampai ke-30.

Hasil penelitian menunjukkan rerata nilai IC_{50} kuersetin sebesar $11,3998 \pm 0,1625$ $\mu\text{g/mL}$, nilai ini menunjukkan bahwa dibutuhkan kuersetin dengan konsentrasi $11,3998 \pm 0,1625$ $\mu\text{g/mL}$ untuk menghasilkan penurunan 50% dari aktivitas DPPH. sedangkan fraksi etil asetat sebesar $36,55 \pm 0,09$ $\mu\text{g/mL}$. Nilai tersebut menunjukkan bahwa dibutuhkan fraksi etil asetat ekstrak etanol buah anggur Bali dengan konsentrasi $36,55 \pm 0,09$ $\mu\text{g/mL}$ untuk menghasilkan penurunan 50% dari aktivitas DPPH.

Dari hasil nilai IC_{50} tersebut diketahui bahwa kuersetin memiliki aktivitas antioksidan lebih besar dibandingkan dengan fraksi etil asetat ekstrak etanol buah anggur. Tetapi bila didasarkan pada tingkat kekuatan

aktivitas antioksidan menurut Aryanto (2006 cit. Winarsi, 2007), kuersetin berada satu tingkat dengan fraksi etil asetat ekstrak etanol buah anggur, yaitu antioksidan sangat kuat (< 50 $\mu\text{g/mL}$).

Kandungan fenolik total diekspresikan sebagai ekuivalen asam galat. Hubungan antara asam galat dan absorbansinya setelah direaksikan dengan pereaksi Folin-Ciocalteu digunakan dari replikasi yang ke-2 dengan persamaan $y = 0,004x - 0,129$; dengan nilai koefisien korelasi, $r = 0,9999$.

Dari hasil perhitungan didapatkan hasil kandungan fenolik total rata-rata pada sampel sebesar $17,23 \pm 0,10$ mg ekuivalen asam galat per gram fraksi etil asetat ekstrak etanol buah anggur.

4. Kesimpulan dan Saran

4.1. Kesimpulan

Nilai aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak etanol buah anggur dengan menggunakan radikal bebas DPPH yang dinyatakan sebagai IC_{50} sebesar $(36,55 \pm 0,09)$ $\mu\text{g/mL}$. Kandungan fenolik total pada fraksi etil asetat ekstrak etanol buah anggur yang dinyatakan dengan massa ekuivalen asam galat sebesar $(17,23 \pm 0,10)$ mg ekuivalen asam galat per gram fraksi etil asetat ekstrak etanol buah anggur.

Tabel I. Hasil perhitungan IC_{50} kuersetin dan fraksi etil asetat ekstrak etanol buah anggur Bali

Bahan Uji	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)			Rata-rata ($\mu\text{g/mL}$)	SD	% CV
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3			
Kuersetin	11,5929	11,2783	11,4429	11,3998	0,1625	1,4222
Fraksi etil asetat	36,46	36,63	36,56	36,55	0,085	0,234

Tabel II. Hasil penentuan jumlah fenolik total fraksi etil asetat ekstrak etanol buah anggur Bali

Sampel	Kandungan fenolik total	rata-rata	SD	CV
Replikasi 1	17,13	17,23	0,087	0,507
Replikasi 2	17,25			
Replikasi 3	17,3			

4.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode yang lain maupun fraksi air. Perlu dilakukan isolasi lebih lanjut untuk mengetahui senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan dalam buah anggur. Perlu dilakukan uji antioksidan dari perasan buah anggur segar dan perasan buah anggur yang difermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul-Fadl, M.A.M., 1949, *Colorimetric Determination of Potassium by Folin-Ciocalteu Phenol Reagen*, Postgraduate Medical School, London, pp. 44, 282.
- Anonim, 2010, Kandungan dan Manfaat anggur <http://www.nectarajuce.com/kandungan-dan-manfaat-grape-skin-kulit-anggur/>, diakses tanggal 15 maret 2013.
- Aqil, F., Ahmad, I., dan Mehmood, Z., 2006, *Antioxidant and Free Radical Scavenging Properties of Twelve Traditionally Used Indian Medical Plants*, *Turk J Biol*, 30, pp. 177-183.
- Backer CA, dan Bakhuizen van den Brink RC, 1965. *Flora of Java*, Vol. 2. Noordhoff, Groningen, The Netherland, pp. 626-628.
- Balijestro, 2008, Balai Penelitian Jeruk dan Tanaman Subtropika, <http://balitjestro.litbang.deptan.go.id/id/bs6-bali.html>, diakses tanggal 3 Juni 2013.
- Bruneton, J., 1999, *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Medicales*, diterjemahkan oleh Hatton, C.K., Lavosie Publising, Paris, pp. 2998-2999.
- Dahlan, M.S., 2012, *Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan*, Salemba Medika, Jakarta, pp. 37, 42-49.
- Gandjar, I. G., dan Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, pp: 46-48, 465-472.
- Handayani, 2011, Proses Pencoklatan pada Buah Apel, <http://teknologi.kompasiana.com/terapan/2011/05/13/proses-pencoklatan-pada-buah-apel/>, diakses pada tanggal 5 Januari 2013.
- Kikuzaki, H., Hisamoto, M., dkk. 2002, Antioxidants Properties of Ferulic Acid and Its Related Compound, *J. Agric. Food Chem*, pp. 50:2161-2168.
- Prakash, A., 2001, *Antioxidant Activity*, Editor oleh DeVries, J. A publication of Medalion Laboratories, Analytical Progress, pp. 1-4.
- Prior, R.L., Wu, X., and Schaich, L., 2005, Standarized for the determination of antioxidant capacity and phenolics in food and dietary supplements, *J. Agric. Food Chem.*, pp 55: 2698 A-J.
- Sunarni, T., 2005, Aktivitas Antioksidan Penangkal Radikal Bebas Beberapa Kecambah dari Biji Tanaman Familia papilionacear, *JFI* 2(2), Jakarta, pp. 53-61.
- Winarsi, H., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal*, Kanisius, Yogyakarta, p. 22.
- Zou, Y., Lu, Y., dan Wei, D., 2004, Antioxidant Activity of Flavonoid-Rich Extract of *Hypericum perforatum* L in vitro, *J. Agric Food Chem.*, pp. 52: 5032-5039.