

## AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIDIABETES DARI EKSTRAK ETANOL SERTA FRAKSI BUAH ANGGUR

<sup>1</sup>Rima Febriyani\*, <sup>2</sup>Tatiana Siska Wardani, <sup>3</sup>Danang Raharjo

<sup>1</sup>Universitas Duta Bangsa, [rimaafbr@gmail.com](mailto:rimaafbr@gmail.com)

<sup>2</sup>Jurusan Farmasi, Universitas Duta Bangsa

<sup>3</sup>Jurusan Farmasi, Universitas Duta Bangsa

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dan antidiabetes dari ekstrak etanol serta fraksi buah anggur (*Vitis vinifera* L.). Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan pengujian aktivitas antidiabetes melalui penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase secara in vitro, serta pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan pengukuran nilai  $IC_{50}$ . Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi buah anggur, yaitu fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan, mampu menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dengan nilai  $IC_{50}$  berturut-turut sebesar 54,213  $\mu$ g/mL, 42,496  $\mu$ g/mL, 32,393  $\mu$ g/mL, dan 157,533  $\mu$ g/mL. Fraksi etil asetat memiliki aktivitas penghambatan paling kuat dibandingkan fraksi lainnya. Pada pengujian aktivitas antioksidan, fraksi etil asetat menunjukkan kemampuan tertinggi dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 14,763  $\mu$ g/mL. Simpulan penelitian ini menyatakan bahwa ekstrak etanol dan fraksi buah anggur memiliki potensi sebagai agen antidiabetes dan antioksidan alami. Fraksi etil asetat merupakan kandidat utama yang menjanjikan untuk pengembangan lebih lanjut sebagai bahan antidiabetes dan antioksidan alami yang efektif.

**Kata Kunci :** Ekstrak etanol, buah anggur, penghambatan  $\alpha$ -amilase, DPPH, fraksi etil asetat.

### ABSTRACT

*This study aimed to evaluate the antioxidant and antidiabetic activities of ethanol extract and fractions of grape fruit (*Vitis vinifera* L.). The experimental methods included in vitro testing of antidiabetic activity through inhibition of  $\alpha$ -amylase enzyme and antioxidant activity assessment using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method with  $IC_{50}$  value measurement. The results showed that ethanol extract and grape fruit fractions—water fraction, ethyl acetate fraction, and n-hexane fraction—were able to inhibit  $\alpha$ -amylase activity with  $IC_{50}$  values of 54.213  $\mu$ g/mL, 42.496  $\mu$ g/mL, 32.393  $\mu$ g/mL, and 157.533  $\mu$ g/mL, respectively. Among these, the ethyl acetate fraction exhibited the strongest inhibitory activity. In antioxidant testing, the ethyl acetate fraction demonstrated the highest activity with an  $IC_{50}$  value of 14.763  $\mu$ g/mL. The study concluded that ethanol extract and grape fruit fractions have potential as natural antidiabetic and antioxidant agents. Specifically, the ethyl acetate fraction of *Vitis vinifera* L. are promising candidates for further development as effective natural antidiabetic and antioxidant substances.*

**Keywords:** Ethanol extract, grape fruit,  $\alpha$ -amylase inhibition, DPPH, ethyl acetate fraction.

### PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan masalah kesehatan global dengan prevalensi yang terus meningkat (WHO, 2023). Diabetes melitus ditandai oleh hiperglikemia kronis akibat gangguan sekresi atau fungsi insulin, dengan tipe 2 sebagai bentuk yang paling umum dan terkait gaya hidup (WHO, 2019; Nugraha & Hasanah, 2018). Pengendalian kadar glukosa darah dan stres oksidatif sangat penting dalam manajemen diabetes. Oleh karena itu, pengembangan strategi terapeutik yang efektif sangat diperlukan. Pendekatan komplementer dan alternatif dengan memanfaatkan senyawa bioaktif alami, terutama antioksidan, menunjukkan potensi yang menjanjikan dalam pencegahan dan pengobatan diabetes melitus. Senyawa antioksidan mampu menetralkan radikal bebas, mengurangi stres oksidatif, serta meningkatkan sensitivitas insulin (Karamalakova *et al.*, 2016).

Senyawa antioksidan alami, terutama flavonoid dan antosianin, berpotensi sebagai agen antidiabetes melalui mekanisme peningkatan sensitivitas insulin dan penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase yang berperan dalam pencernaan karbohidrat (Karamalakova *et al.*, 2016; Proença *et al.*,

2020). Buah anggur (*Vitis vinifera* L.) kaya akan senyawa polifenol seperti flavonoid, antosianin, dan resveratrol yang memiliki aktivitas antioksidan dan antidiabetes (Aqillah *et al.*, 2022; Pervaiz *et al.*, 2017).

Penelitian sebelumnya menunjukkan potensi buah anggur lokal sebagai sumber antioksidan dan agen antidiabetes (Rachmawati *et al.*, 2019), namun karakterisasi komposisi senyawa bioaktif dan aktivitas antidiabetes dari fraksi-fraksinya masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan mengkaji aktivitas antioksidan dan antidiabetes buah anggur, khususnya penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase, untuk mendukung pengembangan terapi alami bagi penderita DM tipe 2.

## METODE

### Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi neraca analitik (Scaltec SBC 22, BP 160P), *vacuum rotary evaporator* (Junke & Kunkel), waterbath (labo-tech, Heraeus), vortex (Janke & Kunkel), spektrofotometer UV-Vis (Perkin Elmer Lambda 20), Plat KLT (gel G 60 F<sub>254</sub>), pipa kapiler, corong Buchner, oven, mikropipet dengan kapasitas 10- 1000 $\mu$ L; 1-10 mL (Acura 825, Socorex), incubator serta hot plate.

### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi daging buah anggur (*Vitis vinifera* L.), DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*), Etanol 96%, Etanol 70%, HCl 2N, pereaksi Mayer, HCl pekat, NaCl 10%, serbuk Mg, FeCl<sub>3</sub>, Liberman Bouchardat, asam asetat, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, *n*-Heksan, etil-asetat, amilum 1%, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, sodium fosfat monobasic monohidrat, NaOH, acarbose, kalium iodida, iodium, dan enzim  $\alpha$ -amilase.

## PROSEDUR PENELITIAN

### Ekstraksi

Serbuk buah anggur (*Vitis vinifera* L.) ditimbang kemudian dimasukkan dalam wadah maserasi, lalu ditambahkan etanol 96% hingga simplisia terendam. Wadah maserasi ditutup dan disimpan selama 3 x 24 jam ditempat yang terlindung sinar matahari langsung sesekali diaduk. Selanjutnya disaring, dipisahkan antara ampas dan filtratnya. Ekstrak etanol diuapkan menggunakan *rotary evaporator* diperoleh ekstrak pekat etanol.

### Fraksinasi

Sebanyak 10 gram ekstrak kental buah anggur dilarutkan ke dalam 150 ml aquadest, kemudian dimasukkan dalam corong pisah dengan metode ekstraksi cair-cair. Selanjutnya, ditambahkan *n*-Heksan sebanyak 150 ml, tunggu sampai memisah dan membentuk dua fase. Fase aquadest dibagian bawah dan fase *n*-Heksan di bagian atas. Diambil fase *n*-Heksan tersebut, lalu dilarutkan dengan 150 ml etil asetat dan dikocok kuat. Campuran ini kemudian didiamkan sampai terbentuk dua lapisan, dengan aquadest di fase bawah dan etil asetat di fase atas. Proses pemisahan ini diulang sebanyak tiga kali hingga fase *n*-Heksan terlihat jernih. Semua fase atau bagian yang telah terpisah kemudian dikonsentrasikan dengan *rotary evaporator*, sehingga didapat fraksi *n*-Heksan, etil asetat, dan air (Vifta Advistasari, 2018).

### Uji Fitokimia

#### Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak, kemudian ditambah dengan 1 ml HCl 2N dan 9 ml air suling. Campuran ini dipanaskan di penangas air selama 2 menit, kemudian dilakukan pendinginan dan penyaringan. Dari filtrat yang dihasilkan, diambil sekitar 3 tetes dan 2 tetes pereaksi Mayer,

Wagner dan Dragedendroff. Jika uji ini menunjukkan adanya endapan putih, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak tersebut positif alkaloid (Marjoni, 2016).

#### *Uji Flavonoid*

Ekstrak buah anggur dilarutkan dalam etanol 96% dan ditambahkan dua tetes HCl pekat. Selanjutnya, perubahan warna diamati dengan cermat. Larutan dipanaskan di penangas air selama 15 menit, diperhatikan kembali pergantian warnanya. Jika muncul merah kuat, kuning, jingga, atau violet, hal ini menandakan adanya senyawa flavonoid (Marjoni, 2016).

#### *Uji Fenolik*

Beberapa mg sampel ditambahkan FeCl<sub>3</sub>. Keberadaan senyawa fenol ditunjukkan dengan perubahan spektrum warna menjadi hitam pekat, biru, ungu, merah, atau hijau (Gultom *et al.*, 2021)

#### *Uji Saponin*

Sebanyak 2 ml ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan akuades dan kocok campuran tersebut dan biarkan sejenak. Jika muncul buih yang stabil dalam waktu 30 menit, berarti ekstrak tanaman tersebut positif mengandung saponin (Gultom *et al.*, 2021)

#### *Uji Terpenoid*

Beberapa mg sampel ditambahkan kloroform dan Lieberman Bouchardat serta beberapa tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Terbentuknya cincin berwarna jingga/ungu violet menunjukkan ekstrak tanaman tersebut positif mengandung terpenoid (Gultom *et al.*, 2021)

### **Kromatografi Lapis Tipis**

Dijenuhkan chamber menggunakan kombinasi fase gerak *n*-heksana dibanding etil asetat dalam konsentrasi 5:5 selama 30 menit. Ekstrak kental dari buah anggur yang sebelumnya telah dilarutkan dengan etanol ditotolkan pada lempengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) berukuran 1x5 cm bertanda garis batas elusi. Lempengan KLT kemudian dielusikan dalam chamber yang telah dijenuhkan hingga tanda batas. Selanjutnya, lempengan KLT tersebut dikeringkan dan disemprot dengan pereaksi sitroborat. Flavonoid dapat berfluoresensi dengan memberikan warna kuning, biru, atau kehijauan (Latif *et al.* 2018). Noda yang terdapat pada lempeng KLT akan dilihat di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

### **Pengujian Antioksidan Dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)**

#### *Pembuatan Larutan DPPH*

Sebanyak 5 mg 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl dan dilarutkan dalam 100 ml metanol p. a. menggunakan labu ukur (Rustiah, 2018).

#### *Pembuatan larutan stok kuersetin.*

Sebanyak 100 mg kuersetin dimasukkan dalam labu ukur 100 ml lalu ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas dan dibuat seri konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm (Aiyuba, Rakhmatullah and Restapaty, 2023).

#### *Pembuatan larutan Stok Ekstrak dan Fraksi Etanol Buah Anggur (Vitis vinifera L).*

Masing-masing 10 mg ekstrak dan fraksi dilarutkan dengan metanol p.a dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 10 ml. Kemudian di buat seri konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm dengan cara memipet sejumlah tertentu larutan induk kemudian ditambahkan dengan metanol p.a hingga diperoleh beberapa konsentrasi larutan uji akhir untuk masing-masing larutan uji (Larasati, 2023).

#### *Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH*

Pengujian dilakukan dengan memipet 0,5 ml DPPH. Divortex dan diinkubasi pada suhu ruang pada ruangan gelap. Ukur serapan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 450-600 nm (Rusmiyati *et al.*, 2023).

#### *Penentuan Operating Time*

Sebanyak 0,75 ml quersetin pada setiap konsentrasi ditambah dengan 2 ml DPPH. Nilai absorbansi diamati pada panjang gelombang maksimum dari menit ke-0 hingga menit ke-30 dengan selang waktu 5 menit (Rusmiyati *et al.*, 2023).

#### *Pengujian aktivitas antioksidan larutan pembanding quersetin*

Sebanyak 4 ml dari masing-masing konsentrasi ditambahkan 1 ml larutan DPPH dan divortex selama 15 detik dalam ruang gelap dan diinkubasi pada suhu ruang dan ruang gelap selama 30 menit. Langkah terakhir dilakukan uji larutan kontrol quersetin menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum yang telah didapatkan sebelumnya (Aiyuba, Rakhmatullah and Restapaty, 2023).

#### *Pengukuran aktivitas pengikatan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ekstrak dan fraksi*

Sebanyak 500  $\mu$ L, 1000  $\mu$ L, 1500  $\mu$ L, 2000  $\mu$ L, dan 2500  $\mu$ L dari larutan stok ekstrak dan fraksi buah anggur dipipet dan dicukupkan hingga volume 10 ml dalam labu ukur dengan metanol p.a sehingga diperoleh konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm. Dari larutan tersebut kemudian diambil 1 ml ditambah dengan 2 ml larutan stok DPPH diinkubasi dan diukur serapan sampel dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Rusmiyati *et al.*, 2023).

### **Uji Aktivitas Antidiabetes**

#### *Pembuatan larutan amilum 1%*

Sebanyak 1 gram pati amilum dilarutkan dalam 100 ml air suling dan dipanaskan hingga larut (Rika Widianita, 2023).

#### *Pembuatan Larutan dapar fosfat pH 6,8 M*

Sebanyak 2,861 g natrium fosfat heptahidrat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) dan 1,287 g natrium fosfat monobasic monohidrat dalam labu ukur 1000 ml dilarutkan dalam 800 ml air suling. Tambahkan larutan dengan pH akhir yang diinginkan menggunakan HCl atau NaOH.

#### *Pembuatan larutan enzim $\alpha$ -amilase*

Sebanyak 2,5  $\mu$ L enzim  $\alpha$ -amilase dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml dan tambahkan larutan penyangga fosfat hingga tanda batas.

#### *Pembuatan larutan HCL 2N*

Sebanyak 50 ml HCl 2N dimasukkan kedalam labu takar 50 ml dan diencerkan menggunakan air suling. Gojog sebentar kemudian masukkan kedalam botol kaca.

#### *Pembuatan larutan iodine 1%*

Sebanyak 1,5 gram Kalium Iodida dan 1 gram Iodium dimasukkan kedalam gelas beker dan dilarutkan dalam 50 ml aquadest sampai larut. Masukkan dalam labu ukur 100 ml dan ditambah aquadest sampai tanda batas.

*Pembuatan larutan induk acarbose 500 ppm*

Tablet acarbose 50 mg digerus dan diambil sebanyak 5 mg kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml untuk membuat larutan induk dengan konsentrasi 500 ppm, kemudian ditambahkan dapar fosfat 6,8 sampai tanda batas.

*Pembuatan larutan seri acarbose*

Dari larutan stok, dibuat rangkaian 6,25 ppm, 1,25 ppm, 2,5 ppm, 5 ppm, dan 10 ppm dengan cara dipipet masing-masing 62,5  $\mu$ L, 125  $\mu$ L, 250  $\mu$ L, 500  $\mu$ L, dan 1000  $\mu$ L, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml dan volumenya ditambah dengan buffer fosfat pada pH 6,8 hingga tanda batas.

*Pembuatan larutan induk ekstrak dan fraksi buah anggur (Vitis vinifera L.)*

Masing-masing ekstrak etanol dan fraksi buah anggur diambil 10 mg dan ditambah dengan buffer fosfat pH 6,8 sampai tanda batas. Kemudian dimasukkan dalam botol kaca yang sudah diberi label.

*Pembuatan larutan seri ekstrak dan fraksi buah anggur (Vitis vinifera L.)*

Dari larutan baku 1000 ppm dibuat seri konsentrasi 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm dengan cara mengambil masing-masing 0,125 ml (125 $\mu$ L), 0,25 ml (250 $\mu$ L), 0,50 ml (500 $\mu$ L), 1 ml (1000 $\mu$ L), dan 2 ml (2000 $\mu$ L) menggunakan pipet mikro dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml. Ditambahkan buffer fosfat pH 6,8 sampai tanda batas.

*Penentuan panjang gelombang maksimum*

Sebanyak 500  $\mu$ L buffer fosfat pH 6,8 ditambahkan 500  $\mu$ L larutan enzim  $\alpha$ -amilase diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Setelah itu ditambahkan 500  $\mu$ L larutan amilum 1% dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit, ditambahkan 100  $\mu$ L larutan iodium 1% dan dibaca pada gelombang 500-650 nm dan dicatat nilai absorbansinya.

*Penentuan Operating Time*

Sebanyak 500  $\mu$ L buffer fosfat pH 6,8 ditambah dengan 500  $\mu$ L larutan enzim  $\alpha$ -amilase diinkubasi pada suhu 37°C selama 0 menit sampai 20 menit dengan selang waktu 2 menit. Kemudian ditambahkan 100  $\mu$ L larutan iodium 1% dibaca pada gelombang maksimum.

*Pengujian absorbansi blanko*

Sebanyak 500  $\mu$ L buffer fosfat 0,02 M pH 6,8 ditambah 500  $\mu$ L larutan enzim  $\alpha$ -amilase dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Kemudian tambahkan 500  $\mu$ L larutan amilum 1% dan diinkubasi sesuai hasil penetapan OT (*Operating Time*). Setelah, inkubasi tambahkan 100  $\mu$ L larutan iodium 1% dan 20  $\mu$ L HCl 2N untuk menghentikan reaksi enzimatik. Ukur absorbansi pada gelombang maksimum.

*Pengujian kontrol blanko*

Sebanyak 1000  $\mu$ L buffer fosfat 0,02 M pH 6,8 ditambahkan dengan 500  $\mu$ L larutan amilum 1% dan diinkubasi sesuai hasil penetapan OT (*Operating Time*). Setelah diinkubasi tambahkan 100  $\mu$ L larutan iodium 1% dan 20  $\mu$ L dan HCl 1 N untuk menghentikan reaksi enzimatik. Ukur absorbansi pada gelombang maksimum dan catat nilai absorbansinya.

*Pengujian ekstrak, fraksi dan acarbose*

Sebanyak 500  $\mu$ L sampel ditambah 500  $\mu$ L larutan enzim  $\alpha$ -amilase dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Kemudian tambahkan 500  $\mu$ L larutan amilum 1% inkubasi pada suhu

37°C sesuai hasil OT. Setelah inkubasi tambahkan 100 µL larutan iodium 1% dan 20 µL HCl 2N untuk menghentikan reaksi enzimatik. Ukur absorbansi pada gelombang maksimum.

#### *Pengujian kontrol sampel ekstrak, fraksi dan acarbose*

Sebanyak 500 µL sampel ditambah 500 µL buffer fosfat 0,02 M pH 6,8 dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Kemudian tambahkan 500 µL larutan amilum 1% inkubasi pada suhu 37°C sesuai hasil OT. Setelah inkubasi tambahkan 100 µL larutan iodium 1% dan 20 µL HCl 2N untuk menghentikan reaksi enzimatik. Ukur absorbansi pada gelombang maksimum.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### *Hasil Determinasi Tanaman*

Determinasi merupakan tahap awal dan syarat penting dalam penelitian yang melibatkan tanaman. Tujuan dari proses determinasi ini adalah untuk memastikan dan mengonfirmasi identitas tanaman yang akan digunakan agar tidak terjadi kesalahan saat pengambilan sampel untuk analisis fitokimia. Berdasarkan hasil determinasi yang dilakukan di Laboratorium Pengujian Unit Pelaksana Fungsional Pelayanan Kesehatan Tradisional Tawangmangu, dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah anggur (*Vitis vinifera* L.) varietas Jupiter dari famili Vitaceae.

### *Hasil Pengumpulan Bahan*

Sampel berupa daging buah anggur (*Vitis vinifera* L.) yang berwarna merah keunguan diperoleh dari Desa Janti, kecamatan Polanharjo, Kabupaten Klaten, Jawa Tengah. Pengambilan sampel dilakukan dari satu lokasi saja untuk menghindari variasi dalam kandungan senyawa aktif tanaman. Pemetikan buah dilakukan pada pagi hari agar senyawa fenolik dalam tanaman masih dalam bentuk aslinya dan belum mengalami metabolisme menjadi senyawa metabolit sekunder lainnya.

### *Hasil Preparasi Sampel*

Preparasi sampel dilakukan untuk memperoleh ekstrak etanol, fraksi etil asetat, n-heksan, dan air dari buah anggur yang diduga mengandung senyawa antioksidan. Sampel diambil dari satu lokasi untuk menghindari variasi kandungan senyawa aktif. Buah segar dicuci, dipisahkan dari ranting dan kulit, lalu dirajang dengan ukuran seragam untuk mempercepat pengeringan. Pengeringan simplisia dilakukan dengan oven pada suhu 40°C dan juga dengan pengeringan angin selama 7 hari untuk meminimalkan degradasi senyawa bioaktif. Simplisia kering kemudian dihaluskan dan diayak mesh 40 agar serbuk homogen, sehingga ekstraksi dengan pelarut menjadi lebih optimal dan cepat.

Maserasi dilakukan dengan menimbang 300 gram simplisia buah anggur dengan pelarut etanol 96% sebanyak 3 liter. Proses penyarian diawali dengan proses pembasahan menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 1 liter selama 3 hari sambil sesekali diaduk. Hal ini dimaksudkan agar cairan penyari masuk ke pori-pori simplisia sehingga mempermudah proses penyarian selanjutnya. Maserat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan dikentalkan dengan *water bath*. Hasil ekstrak etanol buah anggur yang diperoleh dari proses maserasi adalah sebesar 58 g sehingga diperoleh rendemen ekstrak etanol sebesar 19,33 %.

Etanol merupakan pelarut universal yang mampu melarutkan berbagai senyawa kimia seperti klorofil, minyak, vitamin, dan mineral. Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan proses fraksinasi untuk memisahkan senyawa-senyawa dalam ekstrak, sehingga diperoleh senyawa target, yaitu senyawa fenolik. Fraksinasi dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair dan diperoleh bobot ekstrak buah anggur (*Vitis vinifera* L.) 10 gram dengan fraksi n-heksan didapatkan hasil bobot fraksi 0,08 gram dan rendemen 0,8%. Untuk fraksi etil asetat didapatkan hasil bobot fraksi 0,68 gram dan rendemen 6,8%. Sedangkan fraksi air didapatkan hasil bobot fraksi 0,79 gram dan rendemen 7,9%.

*Hasil Skrinning Fitokimia***Tabel 1.** Hasil Skrinning Fitokimia

No	Metabolit Sekunder	Hasil	Pustaka
1	Alkaloid	Terdapat endapan (+)	(Ghosh & Kalpana, 2025)
2	Flavonoid	Menghasilkan warna oranye (+)	(Dwisari <i>et al.</i> , 2016)
3	Fenolik	Menghasilkan warna hitam pekat (+)	(Gultom <i>et al.</i> , 2021)
4	Saponin	Buih muncul sekitar 10 menit (+)	(Anggraeni Putri <i>et al.</i> , 2023)
5	Terpenoid	Terdapat cincin berwarna jingga (+)	(Dwisari <i>et al.</i> , 2016)

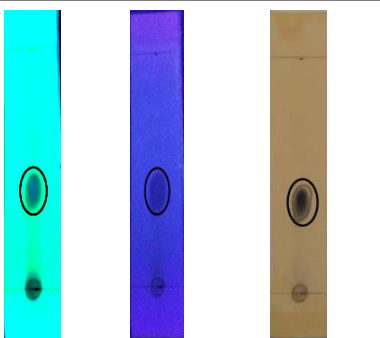
\*Keterangan :

(+) = terdeteksi

(-) = tidak terdeteksi

*Kromatografi Lapis Tipis (KLT)***Tabel 2.** Hasil Kromatografi Lapis Tipis

Senyawa Kimia	Hasil	Rf	Referensi
Flavonoid	254 366 Tampak	0,45	0,2-0,75 (Anasthasia Pujiastuti <i>et al.</i> , 2022)



Hasil pemisahan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) pada ekstrak buah anggur (*Vitis vinifera* L.) menunjukkan nilai Rf sebesar 0,45, yang mengindikasikan keberadaan senyawa

flavonoid karena nilai tersebut berada dalam rentang standar Rf flavonoid yaitu 0,2 hingga 0,75 (Anasthasia Pujiastuti *et al.*, 2022).

*Hasil Pengujian Antioksidan Dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)*

Penentuan panjang gelombang serapan maksimum dilakukan untuk menentukan panjang gelombang dimana senyawa yang ingin diukur memberikan absorbansi yang paling optimum. Hasil *scanning* diperoleh  $\lambda$  maksimum DPPH yaitu pada panjang gelombang 516 nm dengan absorbansi 0,782.

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. Waktu operasi yang ditetapkan adalah pada menit ke-17 dengan nilai absorbansi sebesar 0,157. Hal ini menandakan bahwa selama 17 menit tersebut, quersetin berada dalam kondisi yang stabil, sehingga pengukuran absorbansi pada rentang waktu ini memiliki tingkat reproduksibilitas yang tinggi.

**Tabel 3.** Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Pembanding Kuersetin

Larutan Uji	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	%Inhibisi	Nilai IC <sub>50</sub> (µg/mL)	Kategori
	10	0,349	48,601		
	20	0,288	57,585		
<b>Kuersetin</b>	30	0,256	62,297	11,463	Sangat Kuat
	40	0,197	70,987		
	50	0,145	78,645		

**Tabel 4.** Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Buah Anggur (*Vitis vinifera* L.)

Larutan Uji	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi	IC <sub>50</sub>	Kategori
<b>Ekstrak Etanol</b>	10	9,426	52,155	Kuat
	20	19,440		
	30	29,602		
	40	39,323		
	50	46,981		
<b>Fraksi Air</b>	10	44,477	21,966	Sangat Kuat
	20	44,477		
	30	54,345		
	40	64,654		
	50	73,343		
<b>Fraksi Etil Asetat</b>	10	49,043	14,763	Sangat Kuat
	20	52,135		
	30	58,468		
	40	64,654		
	50	75,405		
<b>Fraksi N-Heksana</b>	10	1,325	282,213	Sangat Lemah
	20	2,798		
	30	4,418		
	40	6,333		
	50	8,542		

Ekstrak dan fraksi buah anggur (*Vitis vinifera* L.) menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap antioksidan. Nilai IC<sub>50</sub> untuk ekstrak etanol, fraksi air, fraksi etil-asetat, dan fraksi n-heksan dari buah anggur (*Vitis vinifera* L.) masing-masing adalah 52,155 µg/mL, 21,966 µg/mL, 14,763 µg/mL, dan 282,213 µg/mL. Nilai IC<sub>50</sub> menunjukkan konsentrasi senyawa uji yang

diperlukan untuk meredam 50% radikal bebas. Oleh karena itu, nilai IC<sub>50</sub> yang lebih kecil mengindikasikan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi pada sampel. Aktivitas antioksidan berbanding terbalik dengan nilai IC<sub>50</sub>, yang berarti aktivitas antioksidan yang lebih tinggi berhubungan dengan nilai IC<sub>50</sub> yang lebih rendah.

Fraksi etil asetat buah anggur (*Vitis vinifera* L.) menunjukkan aktivitas antioksidan terbaik dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 14,763 µg/mL, lebih unggul dibandingkan fraksi air, n-heksan, dan ekstrak etanol. Hal ini karena fraksi etil asetat mengandung kandungan fenolik total dan flavonoid yang lebih tinggi dan lebih polar dibandingkan fraksi lain, sehingga senyawa-senyawa antioksidan aktif lebih terkonsentrasi di fraksi ini yang mana fenolik dan flavonoid merupakan senyawa yang efektif menangkap radikal bebas, sehingga meningkatkan aktivitas antioksidan ekstrak etanol. Penelitian ini sejalan dengan temuan (Gustandy & Soegihardjo, 2014) yang juga melaporkan bahwa kuersetin berada satu tingkat dengan fraksi etil asetat ekstrak etanol buah anggur, yaitu memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat (< 50 µg/mL).

*Uji Aktivitas Antidiabetes*

Uji aktivitas penghambatan enzim *α-amilase* secara in vitro bertujuan mengukur kemampuan ekstrak dalam menghambat enzim tersebut dengan mengamati penurunan warna biru ke ungu pada larutan iodin-pati. Warna ini menurun karena berkurangnya pati yang dihidrolisis menjadi glukosa, yang tidak bereaksi dengan iodin. Pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 582 nm. Semakin tinggi penghambatan, semakin rendah absorbansi warna biru keunguan. Sampel yang diuji meliputi ekstrak etanol, fraksi n-heksan, etil asetat, fraksi air, dan tablet acarbose sebagai kontrol positif. Amilum digunakan sebagai substrat, larutan HCl untuk menghentikan reaksi enzimatik, buffer fosfat pH 6,8 untuk menjaga kestabilan pH, dan iodin sebagai indikator warna. Pengujian kontrol memastikan absorbansi disebabkan oleh aktivitas enzim *α-amilase* (Nurjanah *et al.*, 2020; Pujiyanto *et al.*, 2019).

Operating time ditentukan dengan panjang gelombang maksimum yang telah dilakukan sebelumnya yaitu 582 nm, dalam waktu 20 menit dengan sebuah interval 2 menit. Hasil pengukuran *operating time* didapatkan pada menit ke 16 dengan absorbansi sebesar 0,145.

**Tabel 5.** Hasil Uji Aktivitas Penghambatan Enzim *α-Amilase*

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Penghambatan (%)	IC <sub>50</sub> µg/mL
Acarbose	0,625	45,504	1,738
	1,25	49,319	
	2,5	54,233	
	5	57,493	
	10	74,114	
Ekstrak Etanol	12,5	22,888	54,213
	25	35,150	
	50	58,583	
	100	79,564	
	200	98,365	
Fraksi Air	12,5	27,248	42,496
	25	48,774	
	50	62,125	
	100	70,572	
	200	99,728	
Fraksi Etil Asetat	12,5	36,240	32,393
	25	47,411	
	50	64,850	
	100	70,300	

	200	94,278	
<b>Fraksi n-heksan</b>	12,5	13,351	
	25	18,801	
	50	22,616	157,533
	100	41,417	
	200	58,038	

Hasil pengujian *in vitro* menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi buah anggur (*Vitis vinifera* L.) dapat menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dengan nilai  $IC_{50}$  berturut-turut 54,213 mg/mL untuk ekstrak etanol, 42,496 mg/mL untuk fraksi air, 32,393  $\mu$ g/mL untuk fraksi etil asetat, dan 157,533  $\mu$ g/mL untuk fraksi n-heksan, dibandingkan dengan acarbose sebagai kontrol positif dengan  $IC_{50}$  sebesar 1,738  $\mu$ g/mL. Penelitian ini sejalan dengan temuan Lavallee *et al.* (2024) yang melaporkan bahwa ekstrak buah anggur dengan pelarut etil asetat memiliki nilai  $IC_{50}$  sekitar 36,55  $\mu$ g/mL untuk aktivitas antioksidan, yang berkaitan dengan kandungan flavonoid dan polifenol yang juga berpotensi sebagai antidiabetes.

## SIMPULAN

Ekstrak etanol dari buah anggur (*Vitis vinifera* L.) mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, dan terpenoid yang berkontribusi pada aktivitas antioksidan dan antidiabetes. Pengujian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dari ekstrak etanol buah anggur memiliki aktivitas antioksidan paling kuat dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 14,763  $\mu$ g/mL, diikuti oleh fraksi air (21,966  $\mu$ g/mL), ekstrak etanol (52,155  $\mu$ g/mL), dan fraksi n-heksan (282,213  $\mu$ g/mL). Untuk aktivitas antidiabetes, fraksi etil asetat menunjukkan kemampuan penghambatan  $\alpha$ -amilase paling efektif dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 32,393  $\mu$ g/mL, lebih kuat dibandingkan fraksi air (42,496  $\mu$ g/mL), ekstrak etanol (54,213  $\mu$ g/mL), dan fraksi n-heksan (157,533  $\mu$ g/mL). Dengan demikian, fraksi etil asetat unggul dalam aktivitas antioksidan dan efektif sebagai agen antidiabetes.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adri, T. A., Setiawan, P., & Irma, I. (2023). Formulasi Dan Uji Aktivitas Antioksidan Sediaan Krim Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa Sp*) Dengan Metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazil*). *Jurnal Ilmiah JOPHUS: Journal Of Pharmacy UMUS*, 4(02), 38–48. <https://doi.org/10.46772/jophus.v4i02.972>
- Aqillah, Z., Yuniarsih, N., Ridwanullah, D., Farmasi, F., & Buana, U. (2022). Formulasi Dan Evaluasi Stabilitas Fisik Serum Wajah Ekstrak Minyak Biji Anggur (*Vitis vinifera* L) Minyak biji anggur diperoleh dari ekstrak biji anggur adalah salah satu sumber yang memiliki asam linoleat yang berlimpah, kadar asam linoeat dari minyak. *Jurnal Buana Farma*, 2, 33–37.
- Anasthasia Pujiastuti, Agitya Resti Erwiyani, & Istianatus Sunnah. (2022). Perbandingan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Labu Kuning dengan Variasi Pelarut. *Journal of Holistics and Health Science*, 4(2), 324–339. <https://doi.org/10.35473/jhhs.v4i2.215>
- Gultom, D. K., Saraswati, I., & Sasikiran, W. (2021). Penetapan Kandungan Fenolik Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanolik Kubis Ungu (*Brassica oleracea* var. *capitata*. L.). *Generics: Journal of Research in Pharmacy*, 1(2), 79–87.
- Gustandy, M., & Soegihardjo. (2014). 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*. 10(2), 109–117.
- Karamalakova, J., Simova, S., Dimitrova, D., Balabanova, V., & Bankova, V. (2016). *Polyphenol composition, antioxidant and antidiabetic properties of different grape seed extracts. Food Chemistry*, 197, 1143-1150.
- Mauliddiyah, N. L. (2021). Uji Toksisitas dan Karakterisasi Isolat Dari Fraksi Etil Asetat Biji

*Anggur Bali (Vitis vinifera L. Var. Alphonso Lavallee) Dengan LC-MS/MS.*

Meilawati, F. T., Wardana, A. S., & TP, S. (2021). *Critical Review: Pengaruh Antosianin Terhadap Kadar Glukosa Darah Pada Hewan Coba Tikus Diabetes Melitus Tipe II. Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhamadiyah Surakarta*, 94.

Parihar, S., & Sharma, D. (2021). *A Breif Overview on Vitis vinifera. Scholars Academic Journal of Pharmacy*, 10(12), 231–239. <https://doi.org/10.36347/sajp.2021.v10i12.005>

Ummah, M. S. (2019). Agribisnis Tanaman Anggur. *Sustainability (Switzerland)*, 11(1), 1–14. [http://scioteca.caf.com/bitstream/handle/123456789/1091/RED2017-Eng-8ene.pdf?sequence=12&isAllowed=y%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.regsciurbeco.2008.06.005%0Ahttps://www.researchgate.net/publication/305320484\\_SISTEM\\_PEMBETUNGAN\\_TERPUSAT\\_STRATEGI\\_MELESTARI](http://scioteca.caf.com/bitstream/handle/123456789/1091/RED2017-Eng-8ene.pdf?sequence=12&isAllowed=y%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.regsciurbeco.2008.06.005%0Ahttps://www.researchgate.net/publication/305320484_SISTEM_PEMBETUNGAN_TERPUSAT_STRATEGI_MELESTARI)

Zabrina, P. T. (2024). *Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Buah Anggur Bali ( Vitis Vinifera L . Var. Alphonso Lavallee ) Dan Histopatologi Sel Beta Pankreas Mus Musculus L. Yang Diinduksi Aloksan.*