

**OPTIMASI METODE KESTABILAN SENYAWA PROANTOSIANIDIN
BIJI ANGGUR BALI (*Vitis Vinifera* L. Alphonso Lavalle) DIDASARKAN
JENIS PELARUT DAN WAKTU EKSTRAKSI ULTRASONIK PADA
KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS**

SKRIPSI

Oleh:
KARTA RAHARJO ADI AFRIANTO
NIM. 16630012



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

**OPTIMASI METODE KESTABILAN SENYAWA PROANTOSIANIDIN
BIJI ANGGUR BALI (*Vitis Vinifera* L. Alphonso Lavallo) DIDASARKAN
JENIS PELARUT DAN WAKTU EKSTRAKSI ULTRASONIK PADA
KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS**

SKRIPSI

Oleh:
KARTA RAHARJO ADI AFRIANTO
NIM. 16630012

Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

**OPTIMASI METODE KESTABILAN SENYAWA PROANTOSIANIDIN
BIJI ANGGUR BALI (*Vitis Vinifera* L. Alphonso Lavalle) DIDASARKAN
JENIS PELARUT DAN WAKTU EKSTRAKSI ULTRASONIK PADA
KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS**

SKRIPSI

Oleh:
KARTA RAHARJO ADI AFRIANTO
NIM. 16630012

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 18 Desember 2020

Pembimbing I

Pembimbing II


Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002


Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P
NIP. 19750410 200501 2 009

**Mengetahui,
Ketua Jurusan**


Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

**OPTIMASI METODE KESTABILAN SENYAWA PROANTOSIANIDIN
BIJI ANGGUR BALI (*Vitis Vinifera* L. Alphonso Lavalle) DIDASARKAN
JENIS PELARUT DAN WAKTU EKSTRAKSI ULTRASONIK PADA
KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS**

SKRIPSI

Oleh:
KARTA RAHARJO ADI AFRIANTO
NIM. 16630012

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Ditanyakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 18 Desember 2020

Penguji Utama	: Eny Yulianti, M.Si NIP. 19760611 200501 2 006	(.....)
Ketua Penguji	: Dewi Yuliani, M.Si NIDT. 19880711 20160801 2 067	(.....)
Penguji Utama	: Elok Kamilah Hayati, M.Si NIP. 19790620 200604 2 002	(.....)
Anggota Penguji	: Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P NIP. 19750410 200501 2 009	(.....)

Mengesahkan,
Ketua Jurusan


Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Karta Raharjo Adi Afrianto
 NIM : 16630012
 Jurusan : Kimia
 Fakultas : Sains dan Teknologi
 Judul Penelitian : Optimasi Metode Kestabilan Senyawa Proantosianidin Biji
 Anggur Bali (*Vitis Vinifera* L. Alphonso, Lavalley)
 Didasarkan Jenis Pelarut dan Waktu Ekstraksi Ultrasonik
 pada Kromatografi Lapis Tipis

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 18 Desember 2020
 Yang membuat pernyataan,



Karta Raharjo Adi Afrianto
 NIM. 16630012

PERSEMBAHAN

Alhamdulillahrobbil'aalamiin, dengan senantiasa memanjatkan puja dan puji syukur ke hadirat Allah SWT atas rahmat, hidayah dan ridho-Nya sehingga dapat terselesaikan karya sederhana ini. Tak lupa sholawat serta salam tetap tercurahkan kepada junjungan nabi besar Muhammad SAW.

Saya persembahkan karya sederhana ini kepada:

Kedua orang tua saya tercinta Bapak Solikhan Arief dan Ibu Dariati, serta Kakek dan Nenek saya tersayang Mbah Kamil dan Mbah Sami'ah yang selama ini telah memberikan segala bentuk dukungan moral maupun materil, do'a, motivasi, dan nasihat untuk keberhasilan saya. Terima kasih Bapak dan Ibu, sang petani desa yang telah mengantarkan anakmu menjadi seorang sarjana.

Terima kasih untuk segalanya, mungkin kiranya tulisan ini hanya sebagian kecil hal yang dapat saya persembahkan untuk mereka, karena semua kebbaikannya takkan dapat terbalas dengan apapun. Semoga Allah selalu melimpahkan kasih sayang-nya dan mengangkat derajat mereka disurga. Aaamiiiiin...

Adik saya, Cahyo Ramadani yang selalu menghibur, menemani, dan mendoakan saya. Semoga Allah memudahkan kamu untuk menggapai cita-citamu.

Serta keluarga besar yang selalu memberikan dukungan, nasehat dan doa baik dalam bentuk positif maupun negatif selama proses menempuh kuliah ini.

Semoga Allah membalasnya dengan sebaik-baik balasan. Aaamiiiiin...

Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si dan Ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P selaku dosen pembimbing yang dengan sabar memberikan arahan, motivasi serta bantuan moral maupun materil. Ibu Diana Chandra Dewi, M.Si selaku dosen wali yang senantiasa memberikan motivasi.

Serta seluruh dosen, staf laboran, dan administrasi jurusan kimia yang selalu memberikan bimbingan, nasehat, pengalaman yang sangat bermanfaat baik dalam proses pembelajaran S-1 maupun dalam proses penelitian sehingga saya dapat memahami ilmu kimia dan agama dengan baik. Semoga kebaikan Bapak dan Ibu semuanya mendapat balasan yang lebih baik dari Allah SWT. Aaamiiiiin.

Kawan seperjuangan (Febri dan Fendi), tim KLT Squad, dan Analitik Squad (Febri, Teguh, Anggi, Bagas, Ummi, Siska, Alma, Inyong, Ririn, Ningsih).

Terimakasih telah membantu menyelesaikan masalah penelitian. Serta teman-teman Kimia A 2016 dan teman-teman Angkatan 2016 (Carbon Squad).

Terima kasih sudah hadir dan mengajarku arti kebersamaan. Terima kasih atas segala doa dan semangat dari kalian. Semoga cita-cita kita semua dapat terwujud dan kita semua sukses dunia sampai akhirat. Aaamiiiiin.

Keluarga besar asrama As-Shubha dan Ad-Duha serta Mbak Dian yang telah memberikan tumpangan Wi-Fi. Terimakasih atas tumpangannya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi dan lulus jalur online di tengah pandemik Covid 19 tahun 2020 ini.

MOTTO

“Perbanyak usaha, do’a, dan tawakkal untuk menggapai cita-cita dalam kehidupan dunia maupun untuk bekal akhirat”

-Karta Raharjo A.A.-

...

لَهُ مُعَقِّبَاتٌ مِّنْ بَيْنِ يَدَيْهِ وَمِنْ خَلْفِهِ يَحْفَظُونَهُ مِنْ أَمْرِ اللَّهِ إِنَّ اللَّهَ لَا يُغَيِّرُ مَا بِقَوْمٍ حَتَّىٰ يُغَيِّرُوا مَا بِأَنفُسِهِمْ وَإِذَا أَرَادَ اللَّهُ بِقَوْمٍ سُوءًا فَلَا مَرَدَّ لَهُ وَمَا هُمْ مِنْ دُونِهِ مِنْ وَّالٍ (١١)

“Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah keadaan suatu kaum sehingga mereka mengubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri.”

(QS. Surat Ar-Ra’d: 11)

...

فَبِمَا رَحْمَةٍ مِّنَ اللَّهِ لِنْتَ لَهُمْ وَلَوْ كُنْتَ فَظًّا غَلِيظَ الْقَلْبِ لَانفَضُّوا مِنْ حَوْلِكَ فَاعْفُ عَنْهُمْ وَاسْتَغْفِرْ لَهُمْ وَشَاوِرْهُمْ فِي الْأَمْرِ فَإِذَا عَزَمْتَ فَتَوَكَّلْ عَلَى اللَّهِ إِنَّ اللَّهَ يُحِبُّ الْمُتَوَكِّلِينَ (١٥٩)

“Kemudian apabila kamu telah membulatkan tekad, maka bertawakallah kepada Allah. Sesungguhnya Allah menyukai orang-orang yang bertawakal pada-Nya.”

(QS. Ali Imran: 159)

...

عَنْ أَبِي الدَّرْدَاءِ قَالَ سَمِعْتُ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ يَقُولُ.....
....إِنَّ الْأَنْبِيَاءَ لَمْ يُوْرَثُوا دِينَارًا وَلَا دِرْهَمًا إِنَّمَا وَرِثُوا الْعِلْمَ فَمَنْ أَخَذَهُ أَخَذَ بِحِطِّ وَافِرٍ
(رواه احمد و الترمذي وألوداودوابن ماجه)

“Dari Abi Darda dia berkata :”Aku mendengar Rasulullah saw bersabda:
.....Sesungguhnya para Nabi tidak mewariskan dinar dan dirham, sesungguhnya mereka hanyalah mewariskan ilmu, maka barangsiapa yang telah mengambilnya, maka ia telah mengambil bagian yang banyak.”

(HR. Abu Dawud dan At-Tirmidzi)

...

Jer Basuki Mawa Beya

“Semua keberhasilan membutuhkan biaya”

...

مَنْ جَدَّ وَجَدَ

“Siapa yang bersungguh-sungguh maka ia akan dapat”

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum wa Rahmatullahi wa Barakatuh

Alhamdulillah, puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik dan hidayah-Nya kepada penulis atas terselesaikannya skripsi ini. Sholawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW yang merupakan pencetus revolusi dunia dan penuntun umat agar senantiasa berpegang teguh pada Al-Qur'an dan al-Hadist serta beliau telah membimbing kita dari jalan yang salah menuju ke jalan yang benar.

Penulis mengucapkan syukur Alhamdulillah atas terselesaikannya skripsi dengan judul **“Optimasi Metode Kestabilan Senyawa Proantosianidin Biji Anggur Bali (*Vitis Vinifera* L. Alphonso Lavallo) Didasarkan Jenis Pelarut dan Waktu Ekstraksi Ultrasonik Pada Kromatografi Lapis Tipis”**. Skripsi ini dimaksudkan sebagai salah satu syarat untuk memenuhi kewajiban untuk jenjang S1 dalam tugas akhir.

Selama proses penyusunan skripsi, penulis memperoleh banyak bimbingan, nasihat, dan bantuan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan banyak terima kasih pada kesempatan ini yaitu kepada:

1. Bapak dan ibu tercinta telah dan akan tetap memberikan banyak nasihat, doa, dan dukungan baik moral maupun materil yang tak mungkin terbalaskan.
2. Bapak Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si, selaku Ketua dan Dosen Pembimbing Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat tentang penelitian kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

4. Ibu Dr. Akyunul Jannah S.Si, M.P. selaku dosen pembimbingn agama yang telah memberikan pengarahan, bimbingan, dan nasehat tentang keagamaan berdasarkan judul penelitian kepada penulis selama menyelesaikan skripsi ini.
5. Seluruh dosen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan, pengalaman, dan wawasannya sebagai pedoman serta bekal bagi penulis.
6. Segenap teman-teman Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberi motivasi, informasi, dan masukannya kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari akan kekurangan dan keterbatasan dalam penulisan proposal. Oleh karena itu, diperlukan kritik dan saran yang membantu dalam upaya memperbaiki tulisan dan isi skripsi sehingga menjadi lebih baik lagi. Semoga tugas pembuatan skripsi ini dapat menjadi acuan dalam pembelajaran dan bermanfaat bagi kita semuanya. Aamiin.

Wassalamualaikum wa Rahmatullahi wa Barakatuh

Malang, 12 Oktober 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
PERSEMBAHAN.....	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
مستخلص البحث	xvi
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Batasan Masalah	7
1.5 Manfaat Penelitian	8
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Anggur Bali (<i>Vitis Vinifera L.</i> Alphonso Lavalley)	9
2.1.1 Morfologi dan Klasifikasi Anggur Bali	9
2.1.2 Kandungan Kimia Tanaman Anggur Bali	11
2.1.3 Manfaat Tanaman Anggur Bali	12
2.2 Senyawa Proantosianidin	13
2.3 Ekstraksi Ultrasonik Senyawa Proantosianidin pada Biji Anggur Bali	15
2.4 Pemisahan Senyawa Proantosianidin dengan Kromatografi Lapis Tipis..	18
2.5 Validasi Metode Senyawa Penanda pada KLT	20
2.5.1 Uji Stabilitas Analit selama Kromatografi	20
2.5.2 Uji Presisi dan Presisi Antra.....	21
 BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	23
3.2 Alat dan Bahan.....	23
3.2.1 Alat.....	23
3.2.2 Bahan	23
3.3 Rancangan Penelitian.....	24
3.4 Tahapan Penelitian	26
3.5 Cara Kerja	26
3.5.1 Preparasi Sampel.....	26
3.5.2 Ekstraksi Ultrasonik Senyawa Proantosianidin Biji Anggur Bali ...	26
3.5.3 Pemisahan Senyawa Proantosianidin Biji Anggur Bali dengan KLT.....	27

3.5.3.1 Preparasi Pelat.....	27
3.5.3.2 Preparasi Fase Gerak.....	27
3.5.3.3 Identifikasi Ekstrak Kasar Senyawa Proantosianidin Biji Anggur Bali dengan Menggunakan Kromatografi Lapis Ti- pis Analitik (KLTA).....	28
3.5.3.4 Validasi Metode Senyawa Proantosianidin pada KLT	28
3.5.3.4.1 Uji Stabilitas Analit selama Kromatografi	28
3.5.3.4.2 Uji Presisi	29
3.5.3.4.3 Uji Presisi Antara	29
3.5.3.4 Identifikasi Noda.....	30
3.6 Analisis Data	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Preparasi Sampel	31
4.2 Ekstraksi Ultrasonik Biji Anggur Bali	31
4.3 Identifikasi Ekstrak Kasar Senyawa Proantosianidin Biji Anggur Bali menggunakan KLTA.....	33
4.3.1 Kromatografi Lapis Tipis pada Ekstrak Kasar Biji Anggur Bali dengan Pelarut Metanol : Air : HCl (70:29:1)	36
4.3.2 Kromatografi Lapis Tipis pada Ekstrak Kasar Biji Anggur Bali dengan Pelarut Aseton : Air : Asam Asetat (70:29,5:0,5)	41
4.3.3 Kromatografi Lapis Tipis pada Ekstrak Kasar Biji Anggur Bali dengan Pelarut Metanol : Air : Asam Asetat (70:29,5:0,1)	42
4.4 Validasi Metode Senyawa Proantosianidin pada KLT.....	49
4.4.1 Perbandingan Hasil Terbaik Antar Pelarut	45
4.4.2 Uji Stabilitas Analit selama Kromatografi.....	49
4.4.3 Uji Presisi dan Uji Presisi Antara	50
4.5 Integrasi Hasil Penelitian dalam Prespektif Al-Quran	53
BAB IV PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	55
5.2 Saran	55
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN	61

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Variasi pelarut dan waktu ekstraksi ultrasonik	25
Tabel 3.2 Analisis uji presisi dan presisi antara	25
Tabel 4.1 Hasil ekstraksi ultrasonik dengan pelarut metanol: air: HCl (70:29:1) dan eluen aseton : asam asetat : toluena (3:1:3)	37
Tabel 4.2 Hasil ekstraksi ultrasonik dengan pelarut aseton: air : asam asetat (70:29,5:0,5) dan eluen aseton : asam asetat : toluena (3:1:3)	41
Tabel 4.3 Hasil ekstraksi ultrasonik dengan pelarut metanol : air : asam asetat (70:29,9:0,1) dan eluen aseton : asam asetat : toluena (3:1:3)	44
Tabel 4.4 Perbandingan parameter antar hasil terbaik berbagai pelarut	47
Tabel 4.5 Hasil uji presisi dan presisi antara ekstrak biji anggur Bali	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Buah dan biji anggur bali.....	10
Gambar 2.2 (a) Struktur katekin dan epikatekin serta (b) Struktur proantosiandin B ₂	14
Gambar 2.3 Proses kavitasi yang terjadi pada proses ekstraksi ultrasonik	15
Gambar 2.4 Visualisai KLT senyawa proantosianidin pada sampel kulit kacang, pinus dan biji anggur	20
Gambar 2.5 Stabilitas analit daun Jati Belanda.....	21
Gambar 4.1 Filtrat ekstrak kasar dengan pelarut (a) metanol : air : HCl (70:29:1), (b) aseton : air : asam asetat (70:29,5:0,5) dan (c) metanol : air : asam asetat (70:29,5:0,1).....	33
Gambar 4.2 Reaksi reagen vanillin-HCl dengan proantosianidin.....	35
Gambar 4.3 Perbandingan hasil pemisahan ekstrak biji anggur Bali dengan pe- larut metanol : air : HCl (70:29:1) dan waktu ekstraksi 5 menit (a), 10 menit (b) dan 15 menit (c) pada U1 = ulangan 1; U2 = ulangan 2; U3 = ulangan 3.....	37
Gambar 4.4 Perbandingan hasil pemisahan ekstrak biji anggur Bali dengan pe- larut aseton : air : asam asetat (70:29,5:0,5) dan waktu ekstraksi 5 menit (a), 10 menit (b) dan 15 menit (c) pada U1 = ulangan 1; U2 = ulangan 2; U3 = ulangan 3	40
Gambar 4.5 Perbandingan hasil pemisahan ekstrak biji anggur Bali dengan pe- larut metanol : air : asam asetat (70:29,5:0,1) dan waktu ekstraksi 5 menit (a), 10 menit (b) dan 15 menit (c) pada U1 = ulangan 1; U2 = ulangan 2; U3 = ulangan 3	43
Gambar 4.6 Pengaruh variasi pelarut terhadap nilai rerata R_F	45
Gambar 4.7 Stabilitas analit selama kromatografi biji anggur Bali dengan pelarut metanol : air : asam asetat (70:29,5:0,1) dan waktu ekstraksi 5 menit setelah penyemprotan reagen vanillin-HCl.....	49
Gambar 4.8 Pola pemisahan uji presisi biji anggur Bali (a) ulangan pelat 1, (b) ulangan pelat 2 dan (c) ulangan pelat 3 dengan A = ekstrak ulangan 1; B = ekstrak ulangan 2 ; U3 = ekstrak ulangan 3; 1 = ulangan totalan ke-1; 2 = ulangan totalan ke-2; 3 = ulangan totalan ke-3.	51
Gambar 4.9 Pola pemisahan uji presisi antara biji anggur Bali (a) hari ke-1, (b) hari ke-2 dan (c) hari ke-3 dengan A = ekstrak ulangan 1; B = ekstrak ulangan 2 ; U3 = ekstrak ulangan 3; 1 = ulangan totalan ke- 1; 2 = ulangan totalan ke-2; 3 = ulangan totalan ke-3	51

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian.....	61
Lampiran 2 Skema Kerja	62
Lampiran 3 Perhitungan dan Pembuatan Larutan.....	68
Lampiran 4 Perhitungan Nilai R_F	70
Lampiran 5 Perhitungan SD Antar Lama Ekstraksi.....	75
Lampiran 6 Perhitungan Resolusi	76
Lampiran 7 Perhitungan Nilai R_F Uji Presisi dan Presisi Antara.....	79
Lampiran 8 Perhitungan Resolusi Uji Presisi dan Presisi Antara.....	83
Lampiran 9 Dokumentasi Penelitian.....	87



ABSTRAK

Afrianto, Karta R. A. 2020. **Optimasi Metode Kestabilan Senyawa Proantosianidin Biji Anggur Bali (*Vitis Vinifera* L. Alphonso Lavallo) Didasarkan Jenis Pelarut Dan Waktu Ekstraksi Ultrasonik Pada Kromatografi Lapis Tipis**. Skripsi. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M.Si, Pembimbing II : Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P

Kata Kunci : Biji anggur Bali, proantosianidin, ekstraksi ultrasonik, KLT, validasi metode

Anggur Bali (*Vitis vinifera* L. Alphonso Lavallo) merupakan anggur unggul dengan jumlah biji yang banyak. Biji anggur mengandung senyawa proantosianidin yang berpotensi sebagai obat antikanker. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengoptimasi metode kestabilan senyawa proantosianidin biji anggur Bali pada KLT berdasarkan ekstraksi ultrasonik dengan variasi pelarut dan waktu ekstraksi.

Ekstraksi senyawa proantosianidin dilakukan secara ultrasonik dengan frekuensi 20 kHz, variasi pelarut metanol : air : HCl (70:29:1), aseton : air : asam asetat (70:29,5:0,5) dan metanol : air : asam asetat (70:29,9:0,1), serta variasi waktu 5, 10, dan 15 menit. Pemisahan senyawa proantosianidin menggunakan eluen aseton : asam asetat : toluena (3:1:3) dengan metode KLT analitik. Identifikasi senyawa proantosianidin dilakukan dengan penyemprotan reagen vanillin-HCl pada pelat. Hasil pemisahan terbaik diuji dengan validasi metode meliputi uji stabilitas analit selama kromatografi, presisi, dan presisi antara.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemisahan terbaik diperoleh dari pelarut metanol : air : asam asetat (70:29,9:0,1) pada waktu 5 menit dengan hasil spot pemisahan terbanyak dan nilai terbaik dari R_F , $SD R_F$, serta resolusi. Adapun hasil uji stabilitas analit selama kromatografi menunjukkan spot pengembangan 2 sisi terhubung membentuk garis diagonal, hal ini memenuhi syarat keberterimaan. Uji presisi dan presisi antara menghasilkan nilai $SD R_F$ intrapelat kurang dari 0,01; antar pelat kurang dari 0,02; dan semua pelat kurang dari 0,05; sehingga dapat dinyatakan bahwa uji presisi dan presisi antara memenuhi syarat keberterimaan.

ABSTRACT

Afrianto, Karta R. A. 2020. **Optimization of the Stability Method of Bali Grape Seed Proanthocyanidin Compound (*Vitis Vinifera* L. Alphonso Lavallo) Based on Solvent Type and Ultrasonic Extraction Time on TLC**. Essay. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, the State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Elok Kamilah Hayati, M.Si, Supervisor II : Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P

Keyword : Bali grape seed, proanthocyanidin, ultrasonic extraction, TLC, validation method

Bali grape (*Vitis vinifera* L. Alphonso Lavallo) is a superior purple grape with a large number of seeds. Grape seeds contain proanthocyanidin compounds that have the potential as an anticancer drug. The purpose of this study was to optimize the stability of Bali grape seed proanthocyanidin compounds in TLC based on ultrasonic extraction with variations in solvents and extraction time.

Proanthocyanidin compound extraction was carried out ultrasonic with a frequency of 20 kHz, variations of methanol: water: HCl (70:29:1), acetone: water: acetic acid (70:29,5:0,5) and methanol: water: acetic acid (70:29,9:0,1), and time variations of 5, 10, and 15 minutes. Separation of proanthocyanidin compounds using acetone: acetic acid: toluene as eluent (3:1:3) using analytical TLC method. The identification of proanthocyanidin compounds was carried out by spraying the vanillin-HCl reagent on the plate. The best separation results were tested by method validation including analyte stability testing during chromatography, intermediate precision, and precision.

The results showed that the best separation was obtained from the solvent methanol: water: acetic acid (70:29,9:0,1) at 5 minutes with the most spot separation results and the best value of R_F , SD R_F and resolution. The results of the analyte stability test during chromatography show that the 2-sided development spots are connected to form a diagonal line, this fulfills the acceptance requirements. Intermediate precision and precision test yields intraplate R_F SD value less than 0.01; between plates less than 0.02; and all plates less than 0.05; so that it can be stated that the intermediate precision and precision tests meet the acceptance requirements.

ملخص البحث

أفرينط, كرت ر. أ. ٢٠٢٠. تحسين طريقة مركب *Proanthocyanidin* لبذور العنب بالي (*Vitis Vinifera L.*) *Alphonso Laval* بناءً على نوع المذيبات ووقت الاستخراج بالموجات فوق الصوتية على كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة (TLC). رسالة الليسانس. قسم الكيمياء. كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرفة الأولى: ايلوك كميلا حياتي, الماجستير. المشرفة الثانية: أعين الجنة, الماجستير.

الكلمة الرئيسية: بذور العنب بالي ، بروتوسيانيدين ، استخراج الموجات فوق الصوتية ، TLC ، طريقة التحقق من صحة

عنب بالي (*Vitis Vinifera L. Alphonso Laval*) هو العنب الأرجواني متفوقة مع عدد كبير من البذور. تحتوي بذور العنب على مركبات بروتوسيانيدين التي لها القدرة على أن تكون دواءً مضاداً للسرطان. وكان الغرض من هذه الدراسة لتحسين استقرار بالي بذور العنب البروتوسيانيدين المركبات في TLC القائمة على استخراج بالموجات فوق الصوتية مع وجود اختلافات في المذيبات ووقت استخراج.

البروتوسيانيدين استخراج مركب نفذت بالموجات فوق الصوتية مع تردد 20 كيلوهرتز، والاختلافات من الميثانول: المياه: حمض الهيدروكلوريك (٧٠: ٢٩: ١)، والأسيتون: المياه: حمض الخليك (٧٠: ٢٩: ٠,٥) والميثانول: المياه: حمض الخليك (٧٠: ٢٩: ٠,١)، والوقت الاختلافات من ٥ و ١٠ و ١٥ دقيقة. فصل مركبات بروتوسيانيدين باستخدام الأسيتون: حمض الأسيتيك: التولوين كما شطف (3: 1: 3) باستخدام طريقة TLC التحليلية. تم تحديد مركبات بروتوسيانيدين عن طريق رش كاشف فانيلين حمض الهيدروكلوريك على اللوحة. تم اختبار أفضل نتائج الفصل عن طريق التحقق من صحة الطريقة بما في ذلك اختبار ثبات المادة التحليلية أثناء الفصل الكروماتوغرافي والدقة الوسيطة والدقة.

أظهرت النتائج أن أفضل فصل تم الحصول عليه من مذيب الميثانول: ماء: حمض أسيتيك (٧٠: ٢٩: ٠,١) عند 5 دقائق مع أفضل نتائج فصل موضعي وأفضل فصل موضعي لقيم R_F و $SD R_F$ ودقة الوضوح. تظهر نتائج اختبار ثبات المادة التحليلية أثناء الفصل الكروماتوغرافي أن نقاط التطور ثنائية الجوانب متصلة لتشكيل خطأ قطريًا ، وهذا يفي بمتطلبات القبول. ينتج عن اختبار الدقة والدقة المتوسط قيمة $SD R_F$ داخل الخلايا أقل من 0.01 ؛ بين لوحات أقل من 0.02 ؛ وجميع لوحات أقل من 0.05. بحيث يمكن التأكيد على أن اختبارات الدقة والدقة الوسيطة تفي بمتطلبات القبول.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Beberapa tahun terakhir obat-obatan herbal dari produk bahan alam semakin banyak digunakan untuk keperluan kesehatan. Terbukti dengan obat herbal indonesia yang mengalami peningkatan ekspor selama periode 2009-2013 dengan kenaikan 6,49% pertahun. Berdasarkan pernyataan dari WHO bahwa penggunaan obat herbal diberbagai negara telah yang mencapai 80% (Mardopo dkk., 2014). Hal ini tidak terlepas dari keunggulan obat herbal yaitu bebas toksin, efek samping rendah, dan multifungsi (Harmanto & Ahkam, 2007).

Kandungan fitokimia yang kompleks dalam tumbuhan obat dan produk obat herbal, menjadikan proses standarisasi sebagai perangkat kendali mutu menjadi sesuatu hal yang tidak mudah (Rafi dkk., 2017). Meningkatnya permintaan produk yang tidak sebanding dengan ketersediaan bahan baku dapat menjadi peluang kecurangan penggunaan bahan baku obat herbal (Villani dkk., 2015). Standardisasi umumnya diterapkan pada bahan baku (tumbuhan obat) dan produk obat herbal berdasarkan konsistensi kualitas, khasiat, dan keamanan obat herbal. Hal tersebut berhubungan erat dengan konsistensi profil komponen kimia (metabolit sekunder) yang dikandungnya. Salah satu pendekatan alternatif yang dapat digunakan sebagai kendali mutu, yaitu berbasis identifikasi senyawa penanda (senyawa marker) yang merupakan senyawa khas dalam tumbuhan obat dengan menggunakan metode KLT (Rafi dkk., 2017).

Anggur merupakan salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat herbal karena berpotensi mengandung senyawa antikanker (Mantena dkk., 2006), antioksidan (Handayani dkk., 2016), antibakteri (Setyohadi, 2010), dan antiinflamasi (Xia dkk., 2010). Anggur Bali (*Vitis vinifera* L. Alphonso Lavalle) merupakan anggur ungu unggulan yang dibudidayakan di Buleleng, Bali. Daerah tersebut merupakan sentra produksi anggur terbesar di Indonesia dengan luas lahan mencapai ± 808 ha dan hasil produksi ± 10.000 ton pertahun (Sumiarta, 2013). Anggur jenis ini memiliki ciri khas buah berbentuk bulat dengan kulit ungu kehitaman dan memiliki biji yang banyak (Rukmana, 2004). Anggur bali merupakan jenis anggur yang mengandung senyawa polifenol dengan aktivitas antioksidan sangat tinggi (Khotimah, 2013).

Tanaman anggur dapat tumbuh subur di Indonesia merupakan salah satu nikmat yang telah Allah SWT berikan kepada kita. Alam dengan segala isinya diciptakan oleh Allah SWT memiliki sebab akibat maupun manfaat bagi makhluk ciptaannya. Sehingga kita wajib bersyukur seperti halnya mempelajari dan memanfaatkannya pada jalan yang benar. Sebagaimana firman Allah SWT dalam al-Qur'an surah an-Nahl ayat 11:

يُنَبِّتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ ۚ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ (١١)

Artinya: “Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanaman-tanaman: zaitun, kurma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan” (QS. an-Nahl [16]: 11).

Berdasarkan tafsir al-Mishbah oleh Shihab (2003), Surah an-Nahl ayat 11 dijelaskan bahwa Allah SWT menurunkan air dari langit untuk menumbuhkan tanaman-tanaman yang menghasilkan biji-bijian seperti zaitun, kurma, anggur, dan jenis buah-buahan lainnya sebagai bentuk rizki berupa makanan bagi umatnya. Sesungguhnya didalam penciptaan tersebut terdapat tanda yang jelas akan keberadaan, kekuasaan, ilmu, hikmah, dan kasih sayang Allah SWT bagi kaum yang mempergunakan akalnyanya dan selalu memikirkan kekuasaan pencipta-Nya. Sehingga didapatkanlah petunjuk kebenaran perintah beribadah kepada-Nya dengan berdzikir dan bersyukur. Salah satu bentuk syukur yaitu mengambil manfaat dan hikmah terhadap segala ciptaan-Nya. Segala yang Allah ciptakan di langit dan di bumi tidak akan sia-sia. Salah satunya yaitu tanaman anggur yang mempunyai potensi sebagai buah untuk dikonsumsi maupun obat.

Biji anggur sebagai bagian yang sering dibuang mengandung senyawa polifenol yang tinggi dengan menyumbang 60-70% ekstrak kering jika dibandingkan ekstrak kulit dan buah anggur (Zhou dkk., 2012). Senyawa polifenol dari ekstrak biji anggur mengandung 92-95% proantosianidin (Fiume dkk., 2014). Proantosianidin merupakan senyawa polimer flavan-3-ol yang tersusun minimal dua senyawa yaitu hanya katekin atau epikatekin, ataupun keduanya yang dihubungkan oleh ikatan C-C (C_4-C_6 atau C_4-C_8) dan terkadang berupa obligasi C-O-C (C_2-O-C_7) (Hagerman, 2002). Adapun jenis proantosianidin yang terdapat pada anggur adalah proantosianidin B₂ (Epicatechin-(4 β →8)-epicatechin) (Villani dkk., 2015). Mantena dkk. (2006) melaporkan bahwa ekstrak biji anggur dengan kandungan proantosianidin yang memiliki aktivitas antikanker mampu menghambatan pertumbuhan sel kanker payudara.

Metode pemisahan senyawa proantosianidin sebagai senyawa penanda (marker) dari biji anggur dapat dilakukan dengan ekstraksi ultrasonik yang memiliki keunggulan waktu ekstraksi lebih cepat, hasil randemen lebih maksimal dan lebih hemat pelarut (Yuliantari, 2017). Berdasarkan Xu dkk. (2010) melakukan ekstraksi biji anggur untuk mengetahui kuantitas total polifenol dengan metode maserasi menghasilkan asam galat 77,4 mg/g sampel selama 100 menit dan metode ultrasonik menghasilkan asam galat 82,2 mg/g sampel selama 20 menit. Porto dkk. (2013) melakukan ekstraksi ultrasonik minyak dan polifenol biji anggur pada 20 kHz selama 30 menit disertai maserasi menghasilkan total polifenol (104,19 mg GAE/g sampel) lebih besar dari hasil ekstraksi sokhlet selama 6 jam diekstraksi maserasi (89,47 mg GAE/g sampel). Berdasarkan hasil tersebut dapat dilihat bahwa ekstraksi ultrasonik sangat efektif untuk mengekstrak senyawa polifenol maupun senyawa turunannya seperti proantosianidin pada biji anggur.

Salah satu faktor yang mempengaruhi hasil ekstraksi ultrasonik yaitu waktu ekstraksi yang berhubungan dengan rentang waktu berlangsungnya proses ekstraksi (Khopkar, 2003). Penelitian Carrera dkk. (2012) dalam ekstraksi ultrasonik senyawa polifenol pada anggur merah dengan frekuensi 24 kHz dan variasi waktu ekstraksi 3, 6, 9, dan 12 menit menghasilkan ekstrak tertinggi yaitu pada waktu 6 menit dengan hasil ± 12 mg/g sampel. Pada penelitian Porto dkk. (2013) dalam ekstraksi minyak dan polifenol pada biji anggur (*Vitis vinifera* L.) menghasilkan ekstrak maksimum total polifenol sebesar 104,19 mg GAE/g sampel pada frekuensi 20 kHz dengan waktu ekstraksi 15 menit.

Faktor lain yang mempengaruhi yaitu jenis pelarut ekstraksi yang berhubungan dengan daya kelarutan suatu senyawa ekstrak dari sampel pada pelarut (Khopkar,

2003). Berdasarkan penelitian Xu dkk. (2010) pada ekstraksi ultrasonik senyawa proantosianidin biji anggur menggunakan tiga jenis pelarut meliputi metanol : air : HCl (70:29:1), aseton : air : asam asetat (70:29,5:0,5), dan metanol : air : asam asetat (70:29:0,5) menghasilkan ekstrak proantosianidin secara berurutan yaitu 69,8 mg/g sampel, 60 mg/g sampel, dan 38 mg/g sampel. Penelitian Cai dkk. (2011) pada ekstraksi ultrasonik senyawa proantosianidin biji anggur menggunakan pelarut metanol 50% menghasilkan ekstrak proantosianidin 12,25 mg/g sampel. Penelitian Villani dkk. (2015) pada analisis proantosianidin sampel produk turunan biji anggur komersial untuk menilai kualitas dan mendeteksi pemalsuan menggunakan metode ekstraksi ultrasonik dengan pelarut metanol : air : asam asetat (70:29,5:0,1) menghasilkan pola kromatogram dengan pemisahan antar jenis senyawa proantosianidin yang baik pada metode KLT.

Pemisahan untuk melihat kestabilan senyawa proantosianidin dapat dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis. Vermaak dkk. (2009) menyatakan bahwa metode KLT menjadi pilihan atraktif sebagai metode kendali mutu tumbuhan obat karena memiliki keunggulan seperti sederhana, biaya rendah, kapasitas sampel yang besar, hasil yang cepat, dan memberikan resolusi pemisahan yang baik. Berdasarkan penelitian proantosianidin sampel produk turunan biji anggur komersial menggunakan metode KLT dengan pelat silika gel F₂₅₄, eluen aseton : asam asetat : toluena (3:1:3) dan bantuan visualisasi reagen vanillin-HCl, dihasilkan pola pemisahan dalam bentuk kromatogram pita merah muda dengan latar belakang putih. Senyawa proantosianidin pada biji anggur (proantosianidin B₂) teramati berupa pita merah muda dengan R_F 0,35 (Villani dkk., 2015).

Profil pemisahan pada KLT yang absah sebagai syarat metode deteksi kendali mutu obat herbal diperoleh melalui validasi metode. Salah satunya yaitu uji stabilitas analit selama kromatografi menggunakan KLT dua dimensi untuk mengetahui stabilitas analit selama kromatografi berlangsung dengan syarat dapat diterima yaitu hasil pengembangan 2 sisi dapat terhubung membentuk garis diagonal. Uji presisi dilakukan untuk mengamati pengaruh lingkungan pada hari pertama dengan syarat diterima uji ini jika simpangan baku R_F pita tidak lebih dari 0,02 dan uji presisi antara dilakukan untuk mengamati pengaruh lingkungan dan penyimpanan pada hari kedua dan ketiga dengan syarat diterima uji ini jika simpangan baku R_F pita tidak lebih dari 0,05 (Reich & Schibli, 2006).

Meninjau dari penelitian-penelitian sebelumnya, maka pada penelitian ini dilakukan ekstraksi senyawa proantosianidin dari biji anggur Bali (*Vitis vinifera* L. Alphonso Lavalley) menggunakan ekstraksi ultrasonik dengan frekuensi 20 kHz. Digunakan variasi pelarut metanol : air : HCl (70:29:1), aseton : air : asam asetat (70:29,5:0,5), dan metanol : air : asam asetat (70:29,9:0,1) serta waktu ekstraksi 5, 10, dan 15 menit untuk mencari kondisi optimum kestabilan senyawa proantosianidin biji anggur Bali pada KLT. Kromatografi lapis tipis sebagai metode penentuan senyawa proantosianidin dan validasi metode senyawa penanda dari hasil ekstrak menggunakan pelat silika gel F₂₅₄ dan eluen aseton : asam asetat : toluena (3:1:3) yang disempnot reagen vanillin-HCl, sehingga diperoleh noda berwarna merah muda pada R_F 0,35 sebagai senyawa proantosianidin B2. Berdasarkan penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai standarisasi kendali mutu bahan baku tumbuhan serta produk obat herbal biji anggur Bali.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana kondisi optimum kestabilan senyawa proantosianidin biji anggur Bali (*Vitis vinifera* L. Alphonso Lavalley) pada KLT berdasarkan ekstraksi ultrasonik dengan variasi waktu dan pelarut ekstraksi?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kondisi optimum kestabilan senyawa proantosianidin biji anggur Bali (*Vitis vinifera* L. Alphonso Lavalley) pada KLT berdasarkan ekstraksi ultrasonik dengan variasi pelarut dan waktu ekstraksi.

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah

1. Biji anggur Bali (*Vitis vinifera* L. Alphonso Lavalley) yang digunakan berasal dari perkebunan di Buleleng, Bali.
2. Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi ultrasonik dengan frekuensi 20 kHz menggunakan suhu kamar.
3. Pelarut yang digunakan yaitu metanol : air : HCl (70:29:1), aseton : air : asam asetat (70:29,5:0,5), dan metanol : air : asam asetat (70:29,5:0,1).
4. Variasi lama ekstraksi yaitu 5, 10, dan 15 menit.
5. Penentuan kestabilan senyawa proantosianidin dengan metode KLT.

1.5 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai stabilitas senyawa proantosianidin biji anggur Bali (*Vitis vinifera* L. Alphonso Lavalle) hasil ekstraksi ultrasonik untuk pengembangan penelitian selanjutnya dan evaluasi kendali mutu tanaman obat serta produk obat herbal.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Anggur Bali (*Vitis Vinifera* L. Alphonso Lavallo)

2.1.1 Morfologi dan Klasifikasi Anggur Bali

Tanaman anggur memiliki banyak jenis (*spesies*) maupun *varietas* dengan morfologi yang khas. Salah satu contoh anggur lokal yang dibudidayakan di Indonesia yaitu anggur Bali (*Vitis Vinifera* L. Alphonso Lavallo) (Rukmana, 2004). Anggur Bali termasuk salah satu varietas anggur ungu unggulan yang dibudidayakan di Buleleng, Bali (Andrini & Budiyati, 2008). Daerah Buleleng merupakan sentra penghasil anggur terbesar di Indonesia yang menghasilkan anggur ± 10.000 ton pertahun dari luas lahan mencapai ± 808 ha (Sumiarta, 2013).

Allah SWT telah menciptakan berbagai macam tanaman dengan segala macam jenis serta bentuk, salah satunya yaitu anggur. Berbagai bentuk, warna, dan rasa pada anggur membuktikan keagungan ciptaan Allah SWT. Sebagaimana firman Allah SWT dalam Q.S. Al-An'am ayat 141:

وَهُوَ الَّذِي أَنشَأَ جَنَّاتٍ مَّعْرُوشَاتٍ وَغَيْرَ مَعْرُوشَاتٍ وَالنَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أَكْثُلُهُ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُتَشَبِهًا
وغيرَ مُتَشَبِهٍ، كُلُوا مِنْ ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَءَاتُوا حَقَّهُ يَوْمَ حَصَادِهِ وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ (١٤١)

Artinya: “dan Dialah yang menjadikan kebun-kebun yang merambat dan yang tidak merambat, pohon korma, tanam-tanaman yang bermacam-macam buahnya, zaitun dan delima yang serupa (bentuk dan warnanya) dan tidak sama (rasanya). Makanlah dari buahnya (yang bermacam-macam itu) bila dia berbuah, dan tunaikanlah haknya di hari memetik hasilnya (dengan disedekahkan kepada fakir miskin) dan janganlah kamu berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan” (QS. Al-An'am[6]: 141).

Berdasarkan tafsir al-Mishbah oleh Shihab (2003), Surah Al-An'am ayat 141 dijelaskan bahwa Allah SWT memiliki kekuatan dan kekuasaan dengan menciptakan beranekaragam tanaman berbuah yang berkarakteristik khas tiap jenisnya. Adapun dengan bentuk buah dan warna yang serupa, namun rasanya berbeda meskipun tumbuh di daerah yang sama. Allah SWT menganjurkan untuk mengambil manfaat dan menyedekahkannya sebagai bentuk kasih sayang Allah terhadap umat-Nya.

Anggur Bali memiliki buah berbentuk bulat sampai bulat telur, berkulit halus dan tertutup bedak tebal, berwarna hijau tua hingga ungu kehitaman dengan mengandung 2-4 biji. Biji anggur berbentuk lonjong berukuran 1-2 cm dan berwarna cokelat muda. Memiliki batang pohon berkayu dengan bentuk merambat dan berwarna cokelat tua. Anggur Bali memiliki bentuk daun tunggal berbentuk bulat dengan urat daun menjari, panjang daun 13 cm, dan lebar 12 cm serta berwarna hijau kekuningan dengan sedikit bulu (Rukmana, 2004). Adapun gambar buah dan biji anggur dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Buah dan biji anggur Bali (Rukmana, 2004)

Adapun klasifikasi tanaman anggur Bali adalah sebagai berikut (Rukmana, 2004) :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Divisio	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivisio	: <i>Magnoliphyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Subkelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Rhamnales</i>
Famili	: <i>Vitaceae</i>
Genus	: <i>Vitis</i>
Spesies	: <i>Vitis Vinifera</i> L. var. Alphonso Lavallo

2.1.2 Kandungan Kimia Tanaman Anggur Bali

Anggur memiliki nilai gizi yang baik yaitu dari kandungan vitamin (C, A, dan B), mineral (kalsium, zat besi, magnesium, fosfor, kalium, sodium, dan seng), karbohidrat dan senyawa fitokimia yang berupa senyawa polifenol dengan aktivitas biologinya yang bermanfaat untuk kesehatan (Xia dkk., 2010). Anggur ungu merupakan jenis anggur yang tinggi akan kandungan polifenol dalam bentuk senyawa flavonoid dengan aktivitas antioksidan yang sangat tinggi (Khotimah, 2013). Flavonoid tersebut meliputi proantosianidin, antosianin, flavonol, flavanol, dan resveratrol (Hernandez dkk., 2009).

Secara umum biji anggur tersusun atas 40% serat, 16% minyak, 11% protein, dan 7% fenol kompleks seperti flavan-3-ols termasuk (+) katekin, (-) epikatekin (EC), (-) epikatekin-3-O-galat, baik sebagai monomer maupun polimer proantosianidin. Biji anggur mengandung senyawa polifenol yang tinggi dikarenakan menyumbang 60-70% ekstrak kering dibandingkan kandungan senyawa polifenol dari ekstrak kulit anggur dan buah anggur (Zhou dkk., 2012). Konstituen utama biji anggur adalah senyawa flavonoid dalam bentuk proantosianidin oligomer sebanyak 92-95% (Fiume dkk., 2014). Proantosianidin

biji anggur merupakan kelompok dari polifenolik bioflavonoid dengan ciri khas warna kemerah-merahan dan rasa astringen (Perumalla & Hettiarachchy, 2011).

2.1.3 Manfaat Tanaman Anggur Bali

Tanaman anggur memiliki banyak manfaat untuk kesehatan karena adanya kandungan fitokimia. Salah satunya yaitu senyawa proantosianidin pada biji anggur dengan aktivitas antikanker yang mampu mencegah pertumbuhan sel kanker prostat, kolon, dan payudara (Sudewo, 2012). Mantena dkk. (2006) melaporkan bahwa ekstrak biji anggur yang kaya akan proantosinidin memiliki aktivitas antikanker melalui uji invitro, yaitu mampu menghambatan secara signifikan terhadap proliferasi dan viabilitas seluler, serta induksi apoptosis dalam sel kanker payudara 4T1, MCF-7, dan MDA-MB-468. Ekstrak biji anggur juga menghasilkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker kulit A431 (Mohansrinivasan dkk., 2015).

Senyawa proantosianidin pada biji anggur juga memiliki aktivitas antioksidan 20 kali lebih besar dibandingkan vitamin E dan 50 kali lebih besar dibandingkan vitamin C yang berfungsi melindungi kerusakan sel (Handayani dkk., 2016). Handayani dkk. (2016) melaporkan bahwa biji anggur (*Vitis vinifera* L.) varietas Hijau memiliki aktivitas antioksidan yang kuat yaitu nilai IC_{50} sebesar 33.937: g/mL, sedangkan biji anggur (*Vitis vinifera* L.) varietas Merah dengan nilai IC_{50} 60.947: g/mL. Monomer polifenol pada biji anggur seperti katekin, epikatekin, epikatekin-3-O-gallat, dan dimerik prosianidin juga diketahui dapat berfungsi sebagai antioksidan (Kim dkk., 2006).

Senyawa flavonoid pada biji anggur dapat digunakan sebagai senyawa antibakteri untuk menghambat beberapa bakteri patogen (Jayaprakasha dkk., 2002).

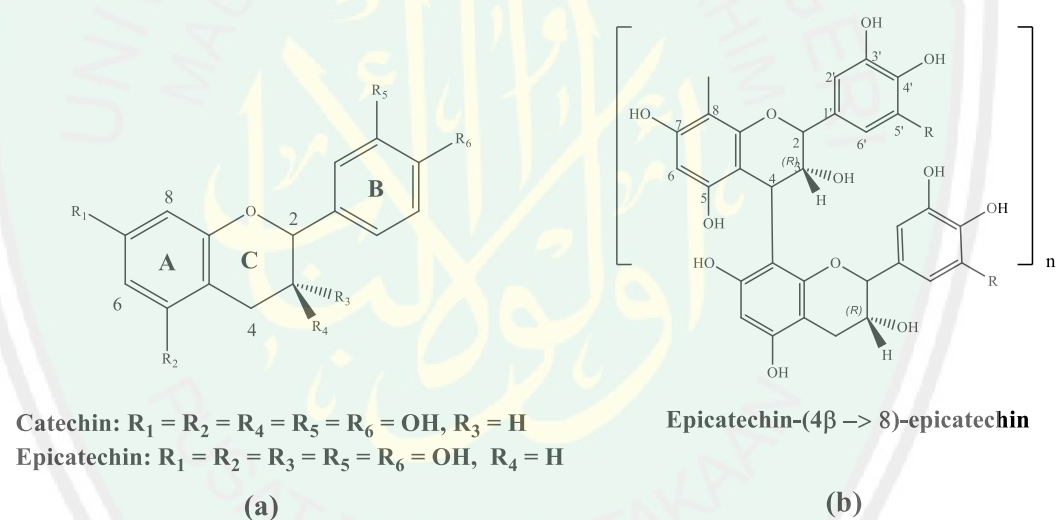
Setyohadi (2010) mengemukakan bahwa flavonoid dari estrak biji anggur memiliki aktivitas antibakteri karena dapat berinteraksi terhadap DNA bakteri dan dapat mengakibatkan kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, lisosom, serta mikrosom. Flavonoid memiliki kemampuan merusak protein ekstraseluler, protein terlarut, serta merusak dinding sel bakteri.

Senyawa polifenol dalam biji anggur yaitu flavonol, flavanol, dan prosianidin (flavonoid oligomer) telah menunjukkan efek antiinflamasi yang signifikan pada tikus dan manusia (Xia dkk., 2010). Bralley dkk. (2007) mengemukakan bahwa ekstrak dari kulit dan biji anggur menghambat peradangan, edema, dan infiltrasi leukosit polimorfonuklear yang diinduksi oleh 12-O-tetradecanoylphorbol-13-asetat. Apalagi efek kombinasi biji anggur dan kulit hampir sejajar dengan indometasin, obat yang biasa digunakan untuk melawan penyakit degeneratif sendi.

2.2 Senyawa Proantosianidin

Proantosianidin merupakan salah satu senyawa flavonoid yang terbagi dalam jenis polifenol tumbuhan dan banyak terdapat dalam buah-buahan segar. Proantosianidin juga disebut sebagai prosianidin dan proantosianidin oligomer. Proantosianidin termasuk oligomer atau polimer dari monomer unit flavan-3-ol yang dihubungkan oleh ikatan karbon-karbon sehingga tidak mudah terhidrolisis, maka proantosianidin disebut juga sebagai senyawa tanin terkondensasi (Altiok, 2003). Tanin terkondensasi ada tiga jenis yaitu prosianidin, prodelfinidin, dan propelargonidin. Proantosianidin banyak ditemukan dalam bentuk prosianidin (Unusan, 2020).

Proantosianidin memiliki struktur dasar inti flavan dengan 15 atom karbon yang tersusun pada tiga cincin (difenilpropana $C_6-C_3-C_6$) dalam bentuk senyawa katekin (bentuk cis) dan epikatekin (bentuk trans) (Altiok, 2003). Struktur katekin dan epikatekin dapat dilihat pada Gambar 2.2 (a). Berdasarkan model pemasangannya proantosianidin terbagi menjadi beberapa jenis meliputi proantosianidin A, B, dan C (Rauf dkk., 2019). Namun proantosianidin khas yang terdapat pada biji anggur adalah proantosianidin B₂ dengan ikatan kimia C_4-C_8 (Epicatechin-(4 β →8)-epicatechin) (Villani dkk., 2015). Struktur proantosianidin B₂ dapat dilihat pada Gambar 2.2 (b).



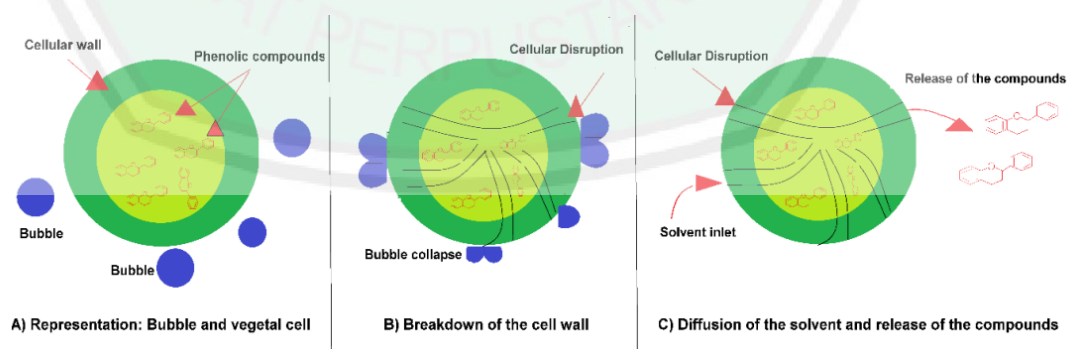
Gambar 2.2 (a) Struktur katekin dan epikatekin serta (b) Struktur proantosiandin B₂ (Dai dkk., 2010)

Secara umum proantosianidin bersifat polar sehingga dapat larut dalam air maupun larutan protik dan mudah untuk dipisahkan melalui ekstraksi. Stabilitas polifenol biji anggur sangat sensitif terhadap oksigen, cahaya, asam dan basa, tetapi relatif kurang sensitif terhadap panas (Shi dkk., 2003). Senyawa flavan-3-ol diekstrak dengan bantuan pemanasan selama 60 menit pada 60°C mampu

menurunkan kadar yang diperoleh (Fuleki & Ricardo, 2003). Kandungan proantosianidin dalam anggur menurunkan 11-16% pada pemanasan 140,8°C dan 100°C (Larrauri dkk., 1997). Secara umum senyawa golongan polifenol saat dipanaskan dengan asam menghasilkan warna merah. Sedangkan dalam larutan alkali, akan bereaksi dengan reagen dan menghasilkan warna biru (Shi dkk., 2003).

2.3 Ekstraksi Ultrasonik Senyawa Proantosianidin pada Biji Anggur Bali

Metode ekstraksi yang digunakan untuk mengekstrak senyawa proantosianidin dari biji anggur Bali pada penelitian ini yaitu metode ekstraksi ultrasonik. Ekstraksi ultrasonik merupakan sebuah metode ekstraksi yang menggunakan energi gelombang ultrasonik pada frekuensi antara 20-100 kHz yang merambat pada media cairan sehingga menimbulkan efek kavitasi (Yuliantari dkk., 2017). Efek kavitasi adalah proses pembentukan gelembung-gelembung mikro yang mampu memecah dinding sel sehingga pelarut akan berdifusi dalam sel dan senyawa proantosianidin yang ada didalam sel akan keluar dan terekstraksi (Torres dkk., 2017). Proses kavitasi dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Proses kavitasi yang terjadi pada proses ekstraksi ultrasonik (Torres dkk., 2017)

Pemilihan metode ekstraksi ultrasonik berdasarkan pada keunggulan yang dimiliki seperti kecepatan ekstraksi, lebih aman, hemat energi, hemat pelarut, dan meningkatkan jumlah rendemen kasar (Yuliantari dkk., 2017). Berdasarkan penelitian Xu dkk. (2010) pada ekstraksi total polifenol biji anggur menggunakan metode ekstraksi maserasi menghasilkan nilai asam galat 77,4 mg/g sampel dengan lama ekstraksi 100 menit dan menggunakan metode ekstraksi ultrasonik menghasilkan nilai asam galat 82,2 mg/g sampel dengan lama ekstraksi 20 menit. Asam galat pada penelitian ini sebagai ukuran kuantitatif total fenol (total polifenol), sedangkan hubungannya dengan flavonoid yaitu dimana flavonoid merupakan golongan dari senyawa fenol (polifenol).

Keunggulan metode ekstraksi ultrasonik juga terbukti dalam penelitian Porto dkk. (2013) pada ekstraksi minyak dan total polifenol biji anggur melalui ekstraksi ultrasonik 20 kHz selama 30 menit memberikan hasil minyak biji anggur (14% b/b) mirip dengan ekstraksi sokhlet selama 6 jam. Hasil total polifenol biji anggur melalui ekstraksi sokhlet (89,47 mg GAE/g sampel) lebih kecil dari hasil ekstraksi ultrasonik (104,19 mg GAE/g sampel). Hasil total polifenol tersebut diperoleh melalui ekstraksi maserasi dari ekstrak minyak biji anggur. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstraksi ultrasonik sangat efektif digunakan untuk mengekstrak senyawa polifenol maupun senyawa turunannya seperti proantosianidin pada biji anggur.

Pemilihan waktu ekstraksi ultrasonik merupakan salah satu faktor penting dikarenakan berhubungan dengan lamanya waktu kontak antara sampel dengan gelombang ultrasonik (Khopkar, 2003). Berdasarkan penelitian Carrera dkk. (2012) dalam ekstraksi ultrasonik senyawa polifenol pada anggur merah menggunakan

variasi waktu ekstraksi 3, 6, 9, dan 12 menit dengan frekuensi 24 kHz menghasilkan ekstrak tertinggi ± 12 mg/g sampel pada waktu ekstraksi 6 menit. Berdasarkan penelitian Porto dkk. (2013) mengenai perbandingan ekstraksi ultrasonik dengan ekstraksi konvensional sebagai metode ekstraksi minyak dan polifenol dari biji anggur (*Vitis vinifera* L.) menyatakan bahwa ekstraksi ultrasonik yang dilakukan pada frekuensi 20 kHz menunjukkan hasil maksimum total polifenol pada 15 menit dengan hasil 104,19 mg GAE/g sampel. Berdasarkan data tersebut, maka variasi waktu ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini meliputi 5, 10, dan 15 menit dengan frekuensi ultrasonik 20 kHz.

Selain faktor waktu ekstraksi, pemilihan pelarut ekstraksi juga mempengaruhi hasil ekstrak, dikarenakan berhubungan dengan daya kelarutan suatu senyawa ekstrak dari sampel pada pelarut (Khopkar, 2003). Berdasarkan penelitian Xu dkk. (2010) dalam ekstraksi ultrasonik senyawa proantosianidin biji anggur menggunakan variasi pelarut meliputi metanol : air : HCl (70:29:1), aseton : air : asam asetat (70:29,5:0,5), dan metanol : air : asam asetat (70:29:0,5) menghasilkan ekstrak proantosianidin secara berurutan 69,8 mg/g sampel, 60 mg/g sampel, dan 38 mg/g sampel. Senyawa proantosianidin biji anggur dapat diekstraksi ultrasonik menggunakan pelarut metanol 50% dengan hasil ekstrak 12,25 mg/g sampel (Cai dkk., 2011).

Pemilihan pelarut tidak hanya mempengaruhi hasil ekstrak, namun juga mempengaruhi proses pemisahan selanjutnya. Berdasarkan penelitian Villani dkk. (2015) pada ekstraksi ultrasonik produk turunan biji anggur sebagai analisis kualitas dan deteksi pemalsuan menggunakan pelarut metanol : air : asam asetat (70:29,5:0,1) menghasilkan pola pemisahan KLT yang baik antar jenis senyawa

proantosianidin. Penggunaan asam pekat dalam ekstraksi senyawa proantosianidin berfungsi untuk menghidrolisis O-glikosil pada proantosianidin sehingga diperoleh proantosianidin dalam bentuk aglikonnya. Glikosida yang biasa dijumpai yaitu glukosa, galaktosa dan ramnosa (Marliana, 2005). Berdasarkan data penelitian terdahulu, maka variasi pelarut pada penelitian ini yaitu metanol : air : HCl (70:29:1), aseton : air : asam asetat (70:29,5:0,5), dan metanol : air : asam asetat (70:29,5:0,1).

2.4 Pemisahan Senyawa Proantosianidin dengan Kromatografi Lapis Tipis

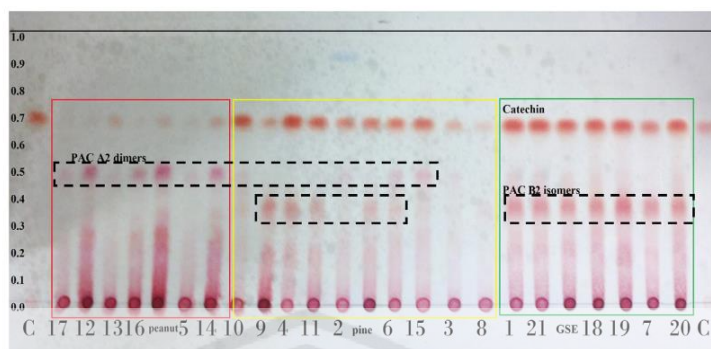
Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu metode pemisahan fisikokimia yang didasarkan pada perbedaan distribusi molekul komponen antara dua fase yaitu fase gerak (eluen) dan fase diam (adsorben) yang berbeda tingkat kepolarannya (Sastrohamidjojo, 2007). Adapun prinsip pemisahan dengan KLT adalah adanya perbedaan sifat fisik dan kimia dari senyawa yaitu kecenderungan dari molekul untuk melarut dalam cairan (kelarutan), kecenderungan molekul untuk menguap, dan kecenderungan molekul untuk melekat pada permukaan (Hendayana, 2006).

Kromatografi lapis tipis merupakan salah satu pilihan terbaik sebagai metode kendali mutu tumbuhan obat khususnya berbasis identifikasi senyawa penanda (senyawa marker). Hal ini dikarenakan keunggulannya seperti sederhana, biaya rendah, kapasitas sampel yang besar, hasil yang cepat, dan memberikan resolusi pemisahan yang baik (Vermaak dkk., 2009). Profil pemisahan pada KLT dapat digunakan untuk mengetahui kesamaan atau ketidaksamaan dan untuk mengetahui ada atau tidak adanya suatu senyawa penanda (senyawa marker), sehingga dapat

digunakan sebagai metode deteksi adanya pemalsuan bahan tumbuhan obat yang digunakan dalam suatu produk obat herbal (Rafi dkk, 2017).

Pemisahan dengan metode KLT dipengaruhi oleh dua faktor utama yaitu fase gerak (eluen) dan fase diam. Adapun pemilihannya berdasarkan struktur komponen yang akan dipisahkan karena dapat menentukan keterpisahan senyawa-senyawa yang terkandung pada ekstrak (Rafi dkk, 2017). Penggunaan fase diam dan fase gerak pada penelitian ini berdasarkan penelitian Villani dkk. (2015) yaitu dengan pelat silika gel F₂₅₄ dan eluen aseton : asam asetat : toluena (3:1:3). Eluen yang digunakan bersifat semipolar kearah nonpolar karena dilihat dari komposisi aseton yang bersifat semipolar dan toluen yang bersifat nonpolar memiliki jumlah perbandingan yang sama. Oleh karena itu, sifat proantosianidin yang polar akan lebih terdistribusi ke fase diam (pelat silika gel).

Pola pemisahan dari proses elusi diamati dengan bantuan visualisasi reagen vanillin-HCl, sehingga diperoleh visualisasi pita merah muda dengan latar belakang putih. Penampakan warna merah tersebut disebabkan oleh reaksi antara reagen vanillin-HCl dengan flavan-3-ol maupun proantosianidin berdasarkan kondensasi aldehida fenilik (vanillin) dengan struktur phloroglucinol dari flavan-3-ols dan proantosianidin dalam kondisi asam (D'Mello, 1997). Kromatogram yang dihasilkan menunjukkan pola pemisahan yang sangat bagus, hal ini terbukti dengan teramatinya beberapa golongan senyawa proantosianidin yang menjadi senyawa spesifik dari tiap bahan. Sedangkan untuk senyawa proantosianidin B₂ sebagai senyawa spesifik yang berada pada biji anggur teramati pada R_F 0,35. Visualisasi KLT dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Visualisasi KLT senyawa proantosianidin pada sampel kulit kacang, pinus dan biji anggur (Villani dkk., 2015)

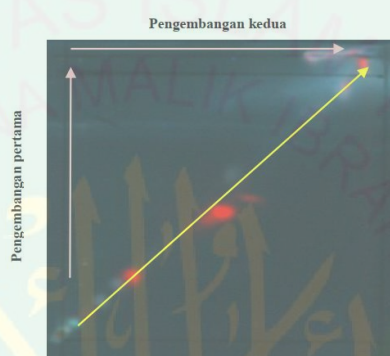
2.5 Validasi Metode Senyawa Penanda pada KLT

Validasi metode merupakan proses yang berhubungan dengan pengembangan dan pengoptimuman metode analisis untuk tujuan evaluasi parameter kinerja analitik agar metode yang dihasilkan absah. Adapun tahap awal disebut prevalidasi yang dilakukan untuk menguji kekonsistenan dengan memeriksa stabilitas analit, selektivitas metode serta menguji ketahanan dan ketersalinannya berdasarkan kriteria yang dapat diterima. Melalui hasil tersebut digunakan untuk menyatakan kevaliditasan suatu metode analisis (Rafi dkk, 2017). Uji validasi yang digunakan pada penelitian ini berupa stabilitas analit selama kromatografi, presisi, dan presisi antara sebagai metode validasi awal tema penelitian.

2.5.1 Uji Stabilitas Analit selama Kromatografi

Kromatografi lapis tipis adalah metode pemisahan dengan sistem terbuka dan tidak saling terhubung sehingga menyebabkan gangguan dari lingkungan yang dapat mempengaruhi kestabilan hasil pemisahan (Reich & Schibli 2006). Maka dilakukan beberapa parameter salah satunya uji stabilitas selama kromatografi. Uji tersebut dilakukan untuk mengetahui stabilitas analit selama kromatografi

berlangsung melalui konsistensi R_F spot yang dihasilkan apabila dielusi dari 2 sisi jarak pengembangan. Analit dikatakan stabil apabila dari hasil pengembangan 2 sisi dapat terhubung membentuk garis diagonal yang menghubungkan kedua arah pengembangan (Reich & Schibli 2006). Metode ini telah banyak digunakan sebagai uji validasi bahan baku obat herbal, salah satunya pada penelitian Karimah (2017) mengenai Analisis Sidik Jari KLT Daun Jati Belanda dengan hasil pemisahan yang tersajikan pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Stabilitas analit daun Jati Belanda (Karimah, 2017)

2.5.2 Presisi dan Presisi Antara

Uji presisi berfungsi untuk melihat presisi pemisahan hasil ekstrak terhadap pengaruh lingkungan pada waktu yang lebih singkat. Sedangkan uji presisi antara yaitu pengaruh pada waktu yang lebih lama, sehingga dapat memberikan perkiraan mengenai stabilitas jangka panjang. Uji presisi dilakukan dengan mengembangkan 3 ulangan ekstrak dalam 3 pelat pada waktu dan hari yang sama berdasarkan kriteria penerimaan simpangan baku R_F tidak lebih dari 0,02. Pengujian presisi antara sama dengan uji presisi, namun hanya dilakukan dengan 1 pelat pada hari ke dua dan ke tiga berdasarkan kriteria penerimaan simpangan baku R_F tidak lebih dari 0,05 (Reich & Schibli, 2006). Metode ini telah banyak digunakan sebagai uji validasi

bahan baku obat herbal, salah satunya pada penelitian Fatahillah (2016) mengenai Analisis Sidik Jari KLT Tanaman Pegagan dengan hasil presisi interpelat dan antarpelat 0,005-0,01 serta hasil presisi antra semua pelat 0,01.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2020 sampai November 2020 di Laboratorium Kimia Analitik Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam tahap preparasi meliputi pisau dan alat penggiling dengan ayakan 90 mesh. Tahap ekstraksi ultrasonik membutuhkan neraca analitik, seperangkat alat gelas, kertas saring, dan ekstraktor ultrasonik. Peralatan yang dibutuhkan pada tahap pemisahan dengan metode KLT meliputi oven, *chamber*, pipa kapiler, dan alat penyemprot.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji anggur Bali yang berasal dari perkebunan di Kabupaten Buleleng, Bali. Tahap ekstraksi ultrasonik menggunakan variasi beberapa pelarut ekstraksi meliputi akuades, metanol, aseton, HCl, dan asam asetat. Bahan yang digunakan pada tahap pemisahan dengan metode KLT adalah pelat silika gel F₂₅₄ dengan eluen campuran aseton : asam asetat : toluena (3:2:3), serta reagen vanillin-HCl.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode deskriptif kualitatif. Tahapan dimulai dengan preparasi sampel biji anggur Bali melalui pencucian dan pengeringangan, serta dihaluskan dengan alat penggiling yang menggunakan ayakan 90 mesh sehingga menghasilkan serbuk. Selanjutnya, dilakukan ekstraksi ultrasonik pada frekuensi 20 kHz menggunakan variasi waktu ekstraksi 5 menit, 10 menit, dan 15 menit serta variasi pelarut metanol : air : HCl (70:29:1), aseton : air : asam asetat (70:29,5:0,5), dan metanol : air : asam asetat (70:29,9:0,1), sehingga diperoleh ekstrak kasar senyawa proantosianidin melalui penyaringan hasil ekstraksi. Rancangan variasi pada ekstraksi ultrasonik dapat dilihat pada Tabel 3.1. Kemudian tahap validasi melalui pemisahan menggunakan pelat silika gel F₂₅₄ dengan eluen aseton : asam asetat : toluena (3:2:3), serta reagen vanillin-HCl. Metode validasi yang dilakukan terdiri atas uji stabilitas analit selama kromatografi, uji presisi, dan uji presisi antara.

Analisis data yang dilakukan yaitu dengan menentukan simpangan baku R_F intrapelat, antarpelat, dan semua pelat untuk menetapkan bahwa uji presisi dan presisi antara dapat diterima. Sedangkan pada uji stabilitas analit selama kromatografi dengan mendiskripsikan kestabilan analit pada kromatografi dua dimensi. Sehingga berdasarkan hasil terbaik dari ketiga uji tersebut dengan pengaruh variasi pada ekstraksi ultrasonik dapat ditarik kesimpulan hasil optimasi metode kestabilan senyawa proantosianidin biji anggur Bali pada penelitian ini. Adapun rancangan analisis data uji presisi dan presisi antara tersaji pada Tabel 3.2.

Tabel 3.1 Variasi pelarut dan waktu ekstraksi ultrasonik

T S	T1	T2	T3
S1	T1S1	T2S1	T3S1
S2	T1S2	T2S2	T3S2
S3	T1S3	T2S3	T3S3

Keterangan :

T1 : Waktu ekstraksi 5 menit

T2 : Waktu ekstraksi 10 menit

T3 : Waktu ekstraksi 15 menit

S1 : Pelarut metanol : air : HCl (70:29:1)

S2 : Pelarut aseton : air : asam asetat (70:29,5:0,5)

S3 : Pelarut metanol : air : asam asetat (70:29,9:0,1)

Tabel 3.2 Analisis uji presisi dan presisi antara

Ekstrak Biji Anggur	Lajur	R_F Proantosianidin				
		Hari 1			Hari 2	Hari 3
		Pelat 1	Pelat 2	Pelat 3		
SnTn	1	U1	U1	U1	U1	U1
	2	U1	U1	U1	U2	U2
	3	U1	U1	U1	U3	U3
	4	U2	U2	U2		
	5	U2	U2	U2		
	6	U2	U2	U2		
	7	U3	U3	U3		
	8	U3	U3	U3		
	9	U3	U3	U3		
Intrapelat	Rerata RF	X	X	X	X	X
	SD RF	X	X	X	X	X
Antarpelat	Rerata RF	X			X	X
	SD RF	X			X	X
Semua pelat	Rerata RF	X				
	SD RF	X				

Keterangan :

SnTn : Hasil ekstraksi ultrasonik dengan variasi pelarut dan waktu ekstraksi

- U1 : Hasil ekstraksi ulangan 1
U2 : Hasil ekstraksi ulangan 2
U3 : Hasil ekstraksi ulangan 3
SD : Standar deviasi (simpangan baku)

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut :

1. Preparasi sampel.
2. Ekstraksi biji anggur Bali menggunakan metode ekstraksi ultrasonik dengan variasi pelarut dan variasi lama ekstraksi.
3. Pemisahan senyawa proantosianidin dengan kromatografi lapis tipis.
4. Analisis data.

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Preparasi Sampel

Sampel biji anggur Bali sebanyak 100 gram dicuci dengan air terlebih dahulu. Selanjutnya dikeringanginkan pada suhu ruang. Sampel yang telah kering dihaluskan dengan alat penggiling menggunakan ayakan 90 mesh hingga menjadi serbuk. Setelah itu disimpan dalam wadah gelap di suhu 20°C. Hasil yang diperoleh digunakan sebagai sampel dalam penelitian.

3.5.2 Ekstraksi Ultrasonik Senyawa Proantosianidin Biji Anggur Bali

Proses ekstraksi biji anggur Bali dilakukan dengan metode ekstraksi ultrasonik. Pertama ditimbang sebanyak 1 gram serbuk halus hasil preparasi sampel biji anggur Bali, dimasukkan erlenmeyer/botol kaca. Kemudian dilarutkan dengan variasi pelarut metanol : air : HCl (70:29:1), aseton : air : asam asetat (70:29,5:0,5) (Xu

dkk., 2010), dan metanol : air : asam asetat (70:29,9:0,1) (Villani dkk., 2015) masing-masing sebanyak 10 mL. Perbandingan bahan dan pelarut yang digunakan sebanyak 1 : 10. Selanjutnya, sampel dalam pelarut tersebut diekstraksi ultrasonik pada frekuensi 20 kHz (Porto dkk., 2013), dengan menggunakan variasi waktu ekstraksi meliputi 5 menit, 10 menit, dan 15 menit (Carrera dkk., 2012 dan Porto dkk., 2013). Hasil ekstraksi yang diperoleh disaring untuk diambil filtratnya sebagai ekstrak kasar biji anggur Bali yang diduga mengandung senyawa proantosianidin.

3.5.3 Pemisahan Senyawa Proantosianidin Biji Anggur Bali dengan KLT.

3.5.3.1 Persiapan Pelat

Pemisahan senyawa ekstrak kasar senyawa proantosianidin dilakukan dengan menggunakan pelat silika gel F₂₅₄ sebagai fase diamnya dengan ukuran 20x20 cm yang dapat dipotong sesuai kebutuhan. Selanjutnya diberi garis pada tepi atas dengan jarak 0,5 cm untuk mengetahui batas akhir elusi dan batas tepi bawah dengan jarak 1,5 cm untuk menentukan titik awal penotolan. Selanjutnya pelat silika gel F₂₅₄ diaktivasi dengan cara dioven pada suhu 100°C selama 30 menit untuk menghilangkan kadar airnya.

3.5.3.2 Persiapan Fase Gerak

Sebelum dilakukan pengelusan, eluen dalam bejana dijenuhkan terlebih dahulu. Fase gerak yang berupa campuran aseton : asam asetat : toluena (3:1:3) (Villani dkk., 2015), dengan volume total 7 mL dimasukkan ke dalam *chamber*, kemudian ditutup rapat dan dilakukan penjenuhan selama 60 menit. Penjenuhan dilakukan untuk menyamakan tekanan uap pada seluruh bagian bejana.

3.5.3.3 Identifikasi Ekstrak Kasar Senyawa Proantosianidin Biji Anggur Bali dengan Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)

Pemisahan ekstrak kasar senyawa proantosianidin dilakukan dengan menggunakan pelat silika gel F₂₅₄ sebagai fase diam dengan ukuran 3x10 cm. Selanjutnya diberi garis batas pada tepi bawah dengan jarak 1,5 cm untuk menentukan titik awal penotolan dan tepi atas dengan jarak 0,5 cm untuk mengetahui batas akhir elusi. Setiap pelat terdiri atas tiga spot penotolan yaitu dari tiga ulangan ekstraksi dalam satu kombinasi variasi pelarut dan waktu ekstrak yang sama dengan 15 totolan tiap spot. Pelat dikembangkan dalam bejana sampai fase gerak mencapai garis batas tepi atas. Setelah pengembangan selesai dilakukan, pelat diangkat, dan dikeringkan. Pelat disemprot dengan pereaksi vanillin dan didokumentasi. Dilakukan pengamatan visualisasi dan penghitungan nilai R_F , SD R_F , dan R_S dari semua pita KLT. Hasil terbaik diperoleh melalui terdeteksinya pita dugaan senyawa penanda (marker) proantosianidin, jumlah pita yang terbentuk, intensitas warna, nilai R_F , dan SD $R_F \leq 0,02$, serta nilai $R_S \geq 1,5$.

3.5.3.4 Validasi Metode Senyawa Proantosianidin pada KLT

3.5.3.4.1 Uji Stabilitas Analit selama Kromatografi (Reich & Schibli, 2006)

Pelat 10x10 cm diberi garis dengan jarak 1 cm dari masing-masing tepi. Sebanyak 15 totolan ekstrak anggur diaplikasikan sebagai bercak di bagian tepi kiri bawah pelat tersebut (1 cm dari tiap tepi). Pelat dikembangkan dalam bejana hingga fase gerak mencapai tinggi 8 cm dari posisi aplikasi ekstrak. Setelah pengembangan dilakukan, pelat diangkat dan dikeringkan. Pelat diputar 90° ke kiri kemudian pengembangan dilakukan untuk kedua kalinya menggunakan fase gerak dengan

komposisi sama namun baru disiapkan hingga fase gerak mencapai tinggi 8 cm dari garis awal. Pelat disemprot dengan pereaksi vanillin dan didokumentasi. Analit stabil selama proses kromatografi jika semua bercak berada pada posisi diagonal yang menghubungkan posisi awal aplikasi ekstrak dengan perpotongan garis kedua fase gerak, khususnya bercak (spot) dari dugaan senyawa penanda (marker) yaitu senyawa proantsianidin pada kisaran R_F 0,35 (Villani dkk., 2015).

3.5.3.4.2 Uji Presisi (Reich & Schibli, 2006)

Masing-masing ekstrak diaplikasikan tiga kali sebanyak 15 totolan pada pelat 10x10 cm. Aplikasi ekstrak dilakukan pada 3 pelat berbeda. Pengembangan setiap pelat dilakukan dengan bejana pengembang menggunakan fase gerak yang baru disiapkan, hingga fase gerak mencapai tinggi 8 cm dari posisi aplikasi ekstrak. Selanjutnya pelat diangkat dan dikeringanginkan. Pelat didokumentasi setelah disemprot pereaksi vanillin-HCl. Nilai R_F pada masing-masing zona pita dugaan senyawa penanda (marker) proantosianidin yaitu pada kisaran R_F 0,35 dihitung kemudian ditentukan rerata dan simpangan relatifnya. Hasil dapat diterima jika pola kromatogram identik terkait dengan jumlah, letak, warna, intensitas warna, dan perbedaan nilai R_F yang tidak lebih dari 0,02.

3.5.3.4.3 Uji Presisi Antara (Reich & Schibli 2006)

Ekstrak diaplikasikan tiga kali sebanyak 15 totolan berbentuk pita pada pelat 4x10 cm. Aplikasi ekstrak dilakukan pada 2 hari yang berbeda setelah pengujian presisi, satu pelat perhari. Pengembangan setiap pelat dilakukan dengan bejana hingga fase gerak mencapai tinggi 8 cm dari posisi aplikasi ekstrak. Selanjutnya

pelat diangkat dan dikeringanginkan. Pelat didokumentasi setelah disemprot reagen. Nilai R_F pada masing-masing zona pita dugaan senyawa penanda (marker) proantosianidin yaitu pada kisaran R_F 0,35 dihitung kemudian ditentukan rerata dan simpangan relatifnya. Hasil dapat diterima jika pola kromatogram identik terkait dengan jumlah, letak, warna, intensitas warna, dan perbedaan nilai R_F yang tidak lebih dari 0,05.

3.5.3.4 Identifikasi Noda

Noda-noda yang terbentuk pada pelat silika silika gel F₂₅₄ dapat diperjelas dengan penyemprotan reagen vanillin-HCl (1 g vanillin dilarutkan dalam 20 mL HCl pekat) kemudian dikeringanginkan. Setelah itu noda yang muncul diukur jarak tempuh spot, dihitung nilai R_F , serta diamati warna noda yang dihasilkan.

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil uji presisi dan presisi antara dengan KLT dianalisis dengan mengamati warna noda, nilai R_F , dan SD R_F intrapelat, antarpelat dan semua pelat, serta nilai resolusi dari senyawa proantosianidin biji anggur Bali, yang disajikan dalam bentuk Tabel 3.1. Nilai R_F dapat dihitung dengan persamaan 3.1; sedangkan nilai resolusi dihitung dengan persamaan 3.2.

$$R_F = \frac{\text{Jarak tempuh senyawa}}{\text{Jarak tempuh eluen}} \dots\dots\dots 3.1$$

$$\text{Resolusi} = \frac{d}{(W_1 + W_2)\sqrt{2}} \dots\dots\dots 3.2$$

Keterangan : d = Jarak antar noda 1 dan lainnya
 W1 = Lebar (diameter) noda 1
 W2 = Lebar (diameter) noda 2

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu biji anggur Bali (*Vitis Vinifera* L. Alphonso Lavallo) dari perkebunan di Kabupaten Buleleng, Bali sebanyak 250 gram. Preparasi dengan pencucian sampel sebagai proses awal pembersihan. Proses pengeringan menggunakan kering angin pada suhu ruang untuk mencegah kerusakan atau hilangnya senyawa aktif yang terkandung. Sampel yang telah kering berubah warna dari hijau kecokelatan menjadi coklat. Proses penghalusan sampel menggunakan alat penggiling dengan ukuran ayakan 90 mesh. Hasil preparasi sampel berupa serbuk berwarna coklat sebanyak 235 gram.

4.2 Ekstraksi Ultrasonik Biji Anggur Bali

Proses ekstraksi ultrasonik dilakukan untuk mendapatkan ekstrak kasar biji anggur Bali dengan kandungan proantosianidin. Ekstraktor ultrasonik yang digunakan dalam penelitian ini berfrekuensi 20 kHz dengan jenis *probe system* menghasilkan suhu konstan 56-58°C pada waktu 3-15 menit. Suhu tersebut tidak dapat merusak senyawa aktif flavan-3-ol dan proantosianidin pada biji anggur Bali dalam sampel karena suhu degradasi flavan-3-ol yaitu 60°C (Fuleki & Ricardo, 2003) dan proantosianidin yaitu 100-140,8°C (Larrauri dkk., 1997).

Pada penelitian ini digunakan variasi pelarut metanol : air : HCl (70:29:1), aseton : air : asam asetat (70:29,5:0,5), dan metanol : air : asam asetat (70:29,9:0,1).

Penggunaan variasi tersebut bertujuan untuk mencari pelarut optimum pada proses ekstraksi senyawa proantosianidin biji anggur Bali dalam bentuk aglikonnya yang bersifat polar. Metanol dan aseton bersifat polar karena memiliki gugus hidroksil pada metanol dan gugus keton pada aseton, serta kedua pelarut tersebut memiliki gugus alkil yang bersifat non polar. Sehingga metanol dan aseton dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar hingga non polar. Adapun penambahan asam bertujuan untuk mempercepat pemutusan ikatan glikosida antara senyawa glikon (gula) dan aglikon (bukan gula).

Penggunaan variasi waktu ekstraksi 5, 10, dan 15 menit dilakukan untuk mencari waktu optimum pada proses ekstraksi senyawa proantosianidin biji anggur Bali. Pemilihan waktu ekstraksi tersebut salah satunya beracuan pada Carrera dkk. (2012) yang menyatakan waktu ekstraksi ultrasonik terbaik pada senyawa polifenol anggur merah dengan frekuensi 24 kHz adalah 6 menit yang menghasilkan ekstrak ± 12 mg/g sampel. Porto dkk. (2013) menyatakan juga bahwa waktu ekstraksi ultrasonik terbaik pada senyawa polifenol biji anggur dengan frekuensi 20 kHz adalah 15 menit yang menghasilkan ekstrak 104,19 mg GAE/g sampel.

Hasil ekstrak yang dapat diamati dari variasi pelarut adalah intensitas warna. Hasil ekstrak pelarut metanol : air : HCl (70:29:1) memiliki warna merah bata. Berbeda dengan kedua pelarut terakhir yang sama-sama menghasilkan ekstrak berwarna merah bata pudar, namun untuk pelarut aseton : air : asam asetat (70:29,5:0,5) lebih jernih dibandingkan pelarut metanol : air : asam asetat (70:29,9:0,1) yang lebih keruh. Adapun pada variasi waktu ekstraksi 5, 10 dan 15 menit dalam satu variasi pelarut tidak menghasilkan perbedaan intensitas warna

ekstrak yang signifikan (Lampiran 9). Gambar ketiga filtrat ekstrak kasar dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Filtrat ekstrak kasar dengan pelarut (a) metanol : air : HCl (70:29:1), (b) aseton : air : asam asetat (70:29,5:0,5), dan (c) metanol : air : asam asetat (70:29,9:0,1)

Perbedaan warna ekstrak tersebut diduga dipengaruhi oleh senyawa polifenol yang terekstrak sebagai senyawa mayoritas pada biji anggur. Zhou dkk. (2012) melaporkan bahwa 60-70% senyawa polifenol pada anggur terkandung dalam biji anggur. Berdasarkan Gambar 4.1 bahwa ekstrak dengan pelarut metanol : air : HCl (70:29:1) menghasilkan warna ekstrak yang lebih pekat dibandingkan pelarut lainnya karena diduga mengandung senyawa polifenol yang lebih tinggi. Neves dkk. (2010) menyatakan bahwa penambahan ekstrak biji anggur yang tinggi akan polifenol berpengaruh nyata terhadap peningkatan intensitas warna pada *wine* yang rendah akan polifenol.

4.3 Identifikasi Senyawa Proantosianidin menggunakan KLTA

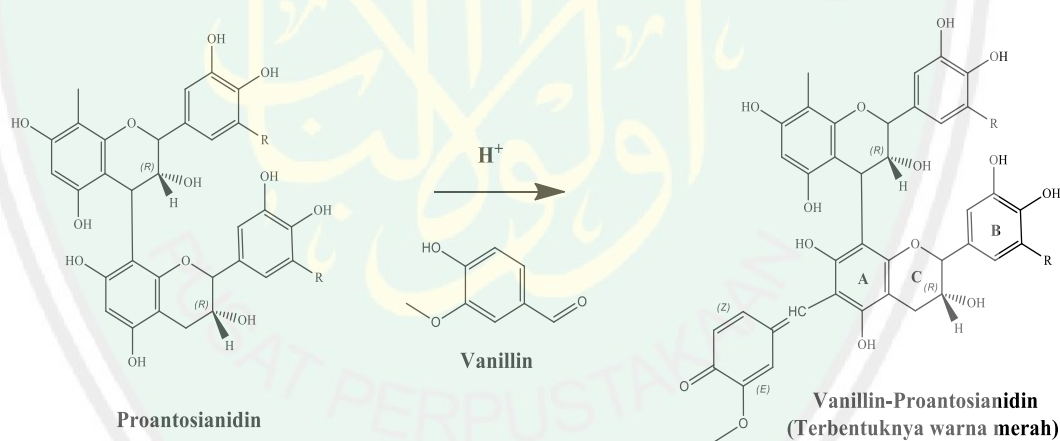
Hasil ekstraksi ultrasonik dalam penelitian ini dianalisis menggunakan KLTA. Penggunaan metode KLTA pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pola pemisahan terbaik dari senyawa proantosianidin yang terdapat dalam ekstrak biji

anggur Bali, yang akan digunakan sebagai standarisasi kendali mutu. Parameter pemisahan dalam penelitian ini adalah jumlah noda, intensitas warna, presisi, dan resolusi noda pada pelat KLT yang diamati secara langsung dari hasil penyemprotan reagen.

Ekstrak kasar biji anggur Bali dielusi menggunakan eluen campuran aseton : asam asetat : toluena (3:1:3) yang dapat menghasilkan pola pemisahan senyawa proantosianidin pada pelat KLT. Perbandingan komposisi eluen yang sama antara aseton yang bersifat semipolar dengan gugus alkil dan ketonnya terhadap toluena yang bersifat nonpolar dengan struktur hidrokarbon aromatik, menjadikan eluen bersifat semipolar kearah nonpolar. Dalam penelitian Villani dkk. (2015) dilakukan analisis proantosianidin menggunakan eluen aseton : asam asetat : toluena (3:1:3) menghasilkan pola kromatogram senyawa proantosianidin pada biji anggur (proantosianidin B₂) dengan R_F 0,35. Proantosianidin yang bersifat polar akan lebih terdistribusi ke fase diam (pelat silika gel) yang bersifat polar, maka menghasilkan spot noda senyawa proantosianidin pada R_F menengah kebawah.

Noda proantosianidin B₂ pada penelitian ini diketahui melalui pendekatan referensi R_F diatas dengan melalui proses penyemprotan reagen vanillin-HCl. Proses penyemprotan reagen dilakukan setelah pelat hasil elusi dikeringanginkan untuk menguapkan eluen, kemudian dilakukan proses penyemprotan reagen untuk mengetahui dugaan noda proantosianidin B₂ pada pelat. Setelah reagen disemprotkan pada pelat, muncul bercak warna merah muda dengan latar belakang putih. Setelah itu dikeringanginkan dan terjadi perubahan warna merah muda menjadi merah bata dengan bentuk noda yang lebih jelas. Adapaun gambar hasil setelah penyemprotan reagen dapat dilihat pada Lampiran 8.3.

Deteksi dengan reagen vanillin-HCl dinyatakan berhasil mengidentifikasi senyawa polifenol jika terbentuk warna merah, merah muda, maupun merah bata setelah proses penyemprotan reagen (Nugrahaningtyas dkk., 2005). Penampakan warna tersebut disebabkan oleh reaksi kondensasi aldehida fenilik yang tersajikan pada Gambar 4.2 (D'Mello, 1997). Reaksi kondensasi aldehida fenilik terjadi antara vanillin berupa gugus aldehid yang tidak memiliki atom $H\alpha$ (Azizah dkk., 2015), terhadap senyawa aldehid pada ekstrak yaitu flavan-3-ols dan proantosianidin melalui struktur *phloroglucinol* yang terdapat pada cincin A (Clarke dan Hartman, 1929). Penggunaan HCl pada reagen berfungsi sebagai katalis (Budimarwanti dan Handayani, 2010). Hasil pola pemisahan pada penelitian ini akan dijabarkan lebih lanjut.

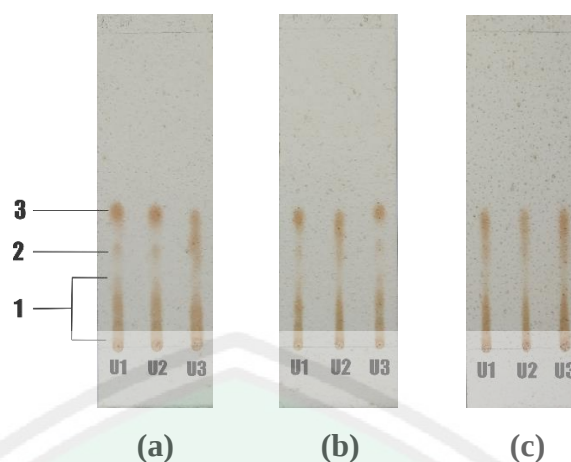


Gambar 4.2. Reaksi reagen vanillin-HCl dengan proantosianidin (Schofield dkk., 2001)

4.3.1 Kromatografi Lapis Tipis pada Ekstrak Kasar Biji Anggur Bali dengan Pelarut Metanol : Air : HCl (70:29:1)

Hasil ekstrak kasar biji anggur Bali dengan pelarut metanol : air : HCl (70:29:1) pada waktu 5, 10, dan 15 menit diidentifikasi dengan metode KLTA yang tersajikan dalam Gambar 4.3 dan Tabel 4.1. Berdasarkan hasil tersebut diperoleh pola pemisahan dengan jumlah noda yang sama yaitu tiga noda (1, 2, dan 3), sehingga diduga senyawa yang terpisah tersebut sama. Namun untuk ulangan ke-3 dari ekstrak pada waktu 5 menit, ulangan ke-2 dari ekstrak pada waktu 10 menit serta semua ulangan pada ekstrak dengan waktu 15 menit menghasilkan proses pemisahan kurang baik dengan membentuk spot berekor.

Spot berekor yang terjadi diduga disebabkan oleh penggunaan asam klorida pada pelarut dalam waktu ekstraksi yang semakin lama, sehingga dapat menghasilkan ekstrak dengan kandungan polifenol yang lebih tinggi. Putnik dkk. (2016) melaporkan bahwa jumlah polifenol umumnya meningkat seiring meningkatnya keasaman dan panjangnya waktu ekstraksi. Tingginya kandungan polifenol pada perlakuan penotolan yang sama dapat menyebabkan intensitas materi yang ditotolkan pada pelat berlebih. Sehingga menyebabkan adanya senyawa terelusi pada selang waktu yang lebih lama dan tidak mencapai posisi yang sama pada pelat KLT untuk sesama jenis senyawa atau terbentuk spot berekor (*tailing*). Kemampuan eluen saat mengelusi hanya dapat membawa maksimal sejumlah senyawa yang sesuai dengan kapasitasnya, jika melebihi kapasitas akan membentuk spot berekor (*tailing*) (Kumar dkk., 2013).



Gambar 4.3 Perbandingan hasil pemisahan ekstrak biji anggur Bali dengan pelarut metanol : air : HCl (70:29:1) dan waktu ekstraksi 5 menit (a), 10 menit (b), dan 15 menit (c) pada U1 = ulangan 1; U2 = ulangan 2; U3 = ulangan 3

Intensitas warna noda pada semua variasi waktu dengan ekstrak pelarut metanol : air : HCl (70:29:1) dalam Gambar 4.3 membentuk pola yang sama yaitu intensitas noda 1 dan 3 tampak lebih tinggi dari noda 2. Perbedaan tersebut diduga oleh perbedaan konsentrasi senyawa melalui interaksi reagen terhadap senyawa ekstrak, yaitu lebih besar pada noda 1 dan 3. Rendahnya intensitas warna pita disebabkan oleh rendahnya konsentrasi senyawa pada pita tersebut (Syafi'i dkk., 2018)

Tabel 4.1 Hasil ekstraksi ultrasonik dengan pelarut metanol : air : HCl (70:29:1) dan eluen aseton : asam asetat : toluena (3:1:3)

Lama Ekstraksi (menit)	Nomor Noda	R_F			Rerata $R_F \pm SD$	Resolusi
		U1	U2	U3		
5 menit	1	0,112	0,112	0,094	$0,106 \pm 0,0108$	
	2	0,306	0,294	0	$0,300 \pm 0,00884$	0,558
	3	0,419	0,406	0,325	$0,383 \pm 0,0509$	0,796
10 menit	1	0,106	0,100	0,106	$0,104 \pm 0,00361$	
	2	0,294	0	0,312	$0,303 \pm 0,0133$	0,619
	3	0,387	0,337	0,419	$0,381 \pm 0,0410$	0,607
15 menit	1	0,106	0,100	0,106	$0,104 \pm 0,00361$	
	2	0	0	0	0 ± 0	0
	3	0,350	0,360	0,350	$0,352 \pm 0,00361$	0,522

Keterangan: U1=Ulangan 1, U2= Ulangan 2, U3= Ulangan 3.

Berdasarkan Tabel 4.1 pada waktu ekstraksi 5 menit, 10 menit, dan 15 menit menghasilkan penurunan nilai rerata R_F pada noda pertama dan ketiga. Penurunan nilai rerata R_F ini diduga disebabkan oleh proses KLT masing-masing waktu ekstraksi yang dilakukan secara terpisah pada hari dan waktu yang berbeda. Sehingga menyebabkan perbedaan kondisi lingkungan dan menjadi gangguan yang mempengaruhi sistem. Pengaruh tersebut menyebabkan R_F yang dihasilkan tidak stabil. Terdapat beberapa faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi sistem seperti cahaya, kelembapan dan perubahan suhu udara (Sastrohamidjojo, 1996).

Nilai SD (simpangan baku) R_F noda yang dihasilkan dapat menyatakan kepresisian antar noda. Presisi antar noda dapat diketahui melalui. Berdasarkan Tabel 4.1 diperoleh nilai SD R_F antar ulangan yaitu antara 0,00361 – 0,0509. Nilai SD R_F antar lama ekstraksi didapatkan antara 0,00121 – 0,0221 (Lampiran 5). Nilai SD R_F noda yang diperoleh tersebut melebihi syarat diterimanya presisi yaitu melebihi 0,02 dan menghasilkan pola pemisahan yang menjauhi garis lurus antar spot noda senyawa yang sama pada Gambar 4.1, sehingga dapat disimpulkan bahwa noda pemisahan yang dihasilkan belum memenuhi syarat presisi. Presisi yang baik memenuhi syarat keberterimaan SD R_F yaitu kurang dari 0,02 dan menghasilkan pola mendekati garis lurus pada pita senyawa yang sama (Reich dan Schibli, 2006).

Syarat presisi yang tidak terpenuhi diduga disebabkan adanya spot berekor dari salah satu ulangan dalam satu ekstrak yang dapat menghasilkan nilai R_F berbeda dan nilai SD R_F yang tinggi. Terbentuknya spot berekor tersebut diduga disebabkan oleh aplikasi penotolan dengan teknik manual yang dipengaruhi oleh faktor pipa kapiler dan larutan ekstrak, sehingga dapat mengakibatkan penotolan sampel tidak tepat. Wulandari (2011) melaporkan bahwa aplikasi penotolan dengan teknik manual

hampir tidak mungkin tanpa menghasilkan beberapa penyimpangan, sehingga sangat sulit untuk mendapatkan lebar dan panjang pita yang seragam, serta dengan konsentrasi seragam.

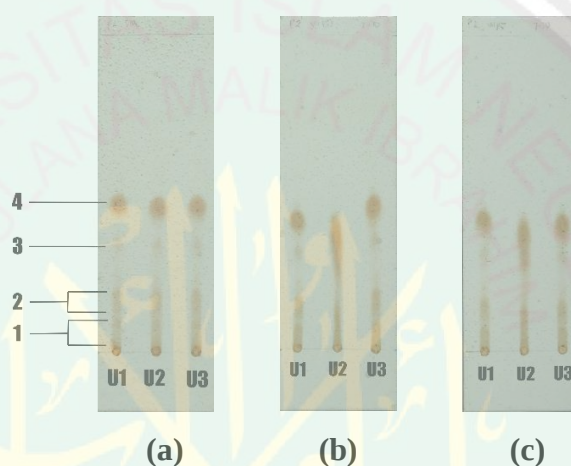
Selain nilai R_F , pola pemisahan terbaik juga dapat dilihat dari nilai resolusi. Berdasarkan Tabel 4.1, dapat diketahui bahwa ekstrak dengan waktu ekstraksi 5 menit menghasilkan nilai resolusi yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak 10 menit dan 15 menit. Adapun rerata resolusi pola pemisahan hasil KLT pelarut metanol : air : HCl (70:29:1) pada variasi waktu ekstraksi 5 menit yaitu 0,632 lebih besar dari rerata resolusi ekstrak pada variasi waktu 10 menit dan 15 menit secara berturut-turut sebesar 0,612 dan 0,522 (Lampiran 6).

Perbedaan nilai resolusi diduga disebabkan oleh faktor perbedaan kondisi lingkungan dalam perlakuannya. Faktor lain yang diduga juga mempengaruhi yaitu poses penotolan manual melalui faktor pipa kapiler dan larutan ekstrak. Sastrohamidjojo (1996) melaporkan bahwa semakin besar diameter spot penotolan, maka semakin kecil nilai resolusi. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak pelarut metanol : air : HCl (70:29:1) pada waktu ekstraksi 5 menit menghasilkan pemisahan yang lebih baik dibandingkan ekstrak pelarut metanol : air : HCl (70:29:1) pada waktu 10 menit dan 15 menit.

4.3.2 Kromatografi Lapis Tipis pada Ekstrak Kasar Biji Anggur Bali dengan Pelarut Aseton : Air : Asam Asetat (70:29,5:0,5)

Hasil identifikasi melalui metode KLTA dengan variasi pelarut kedua tersajikan pada Gambar 4.4 dan Tabel 4.2. Berdasarkan hasil tersebut diperoleh pola pemisahan dengan jumlah noda yang sama yaitu empat noda (1, 2, 3, dan 4),

sehingga diduga senyawa yang terpisah adalah sama. Namun untuk ulangan ke-2 dari ekstrak pada waktu 10 menit dan 15 menit menghasilkan proses pemisahan kurang baik dengan membentuk spot berekor. Diduga spot berekor tersebut disebabkan oleh hasil ekstrak dengan kandungan polifenol yang lebih tinggi dari penggunaan asam dalam jumlah besar dibandingkan variasi pelarut ketiga pada waktu ekstraksi yang lebih lama dengan perlakuan penotolan yang sama.



Gambar 4.4 Perbandingan hasil pemisahan ekstrak biji anggur Bali dengan pelarut aseton : air : asam asetat (70:29,5:0,5) dan waktu ekstraksi 5 menit (a), 10 menit (b) dan 15 menit (c) pada U1 = ulangan 1; U2 = ulangan 2; U3 = ulangan 3

Berdasarkan Gambar 4.4, hasil intensitas warna noda pada semua variasi waktu dengan ekstrak pelarut aseton : air : asam asetat (70:29,5:0,5) membentuk pola yang sama yaitu intensitas warna noda 1, 2, dan 4 tampak sama. Namun intensitas noda 3 tampak lebih rendah dibandingkan noda yang lain. Perbedaan intensitas warna tersebut dimungkinkan oleh perbedaan konsentrasi senyawa melalui interaksi reagen terhadap senyawa ekstrak, yaitu lebih besar pada noda 1, 2, dan 4.

Nilai rerata R_F yang tersajikan pada Tabel 4.2 menunjukkan hasil bahwa pada waktu ekstraksi 5 menit, 10 menit, dan 15 menit mengalami penurunan nilai rerata

R_F pada noda pertama hingga keempat. Penurunan nilai tersebut diduga disebabkan oleh faktor perbedaan kondisi lingkungan pada tiap proses KLT. Perbedaan pengaruh lingkungan yang mengakibatkan ketidak stabilan nilai R_F .

Tabel 4.2 Hasil ekstraksi ultrasonik dengan pelarut aseton: air : asam asetat (70:29,5:0,5) dan eluen aseton : asam asetat : toluena (3:1:3)

Lama Ekstraksi (menit)	Nomor Noda	R_F			Rerata $R_F \pm SD$	Resolusi
		U1	U2	U3		
5 menit	1	0,0656	0,0625	0,0625	$0,0635 \pm 0,00180$	
	2	0,156	0,150	0,150	$0,152 \pm 0,00361$	0,354
	3	0,331	0,331	0,325	$0,329 \pm 0,00361$	1,08
	4	0,456	0,437	0,450	$0,448 \pm 0,00955$	0,753
10 menit	1	0,0437	0,0937	0,05	$0,0625 \pm 0,0272$	
	2	0,125	0	0,144	$0,134 \pm 0,0133$	0,413
	3	0,294	0	0,344	$0,319 \pm 0,0353$	1,10
	4	0,394	0,300	0,444	$0,379 \pm 0,0730$	0,549
15 menit	1	0,0437	0,0812	0,0447	$0,0562 \pm 0,0216$	
	2	0,125	0	0,119	$0,122 \pm 0,00442$	0,442
	3	0,306	0	0,281	$0,294 \pm 0,177$	1,21
	4	0,394	0,306	0,381	$0,36 \pm 0,0473$	0,517

Keterangan : U1=Ulangan 1, U2= Ulangan 2, U3= Ulangan 3,

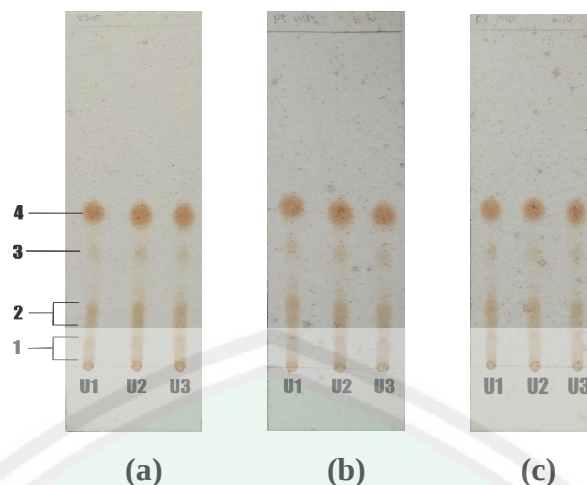
Berdasarkan Tabel 4.2 diperoleh nilai SD R_F antar ulangan adalah 0,00180 – 0,177 serta nilai SD R_F antar lama ekstraksi didapatkan antara 0,00152 – 0,0461 (Lampiran 5). Khusus nilai SD R_F noda antar ulangan pada waktu ekstraksi 5 menit menghasilkan nilai kurang dari 0,02; sehingga noda pemisahan yang dihasilkan memenuhi syarat presisi. Namun untuk nilai SD R_F noda pada waktu ekstraksi 10 dan 15 menit belum memenuhi syarat keberterimaan presisi karena menghasilkan nilai presisi SD R_F yang melebihi 0,02 dan menghasilkan pola pemisahan yang menjauhi garis lurus antar spot noda senyawa yang sama pada Gambar 4.4. Syarat presisi yang tidak terpenuhi diduga disebabkan adanya spot berekor dari salah satu

ulangan dalam satu ekstrak, sehingga menghasilkan nilai R_F yang berbeda dan nilai SD R_F yang tinggi.

Pola pemisahan terbaik juga dapat dilihat dari nilai resolusi yang tersajikan juga pada Tabel 4.2. Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa nilai resolusi tertinggi diperoleh pada waktu ekstraksi 5 menit. Nilai rerata resolusi pola pemisahan hasil KLT berdasarkan variasi waktu ekstraksi dengan pelarut aseton: air : asam asetat (70:29,5:0,5) 5 menit, 10 menit dan 15 menit berturut-turut sebesar 0,728; 0,663; dan 0,695 (Lampiran 6). Perbedaan nilai resolusi yang dihasilkan disebabkan faktor lingkungan dan faktor penotolan manual yang dilakukan. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa ekstrak aseton: air : asam asetat (70:29,5:0,5) pada waktu ekstraksi 5 menit menghasilkan pemisahan yang lebih baik dibanding dari waktu ekstraksi 10 menit dan 15 menit.

4.3.3 Kromatografi Lapis Tipis pada Ekstrak Kasar Biji Anggur Bali dengan Pelarut Metanol : Air : Asam Asetat (70:29,9:0,1)

Hasil pola pemisahan pelarut ketiga tersajikan pada Gambar 4.5 dan Tabel 4.3, yaitu diperoleh kromatogram dengan jumlah noda yang sama yaitu empat noda (1, 2, 3, dan 4), sehingga diduga senyawa yang terpisah adalah sama. Intensitas warna noda 1, 2, dan 4 tampak sama, namun intensitas noda 3 tampak lebih rendah. Perbedaan intensitas warna tersebut dimungkinkan oleh perbedaan konsentrasi senyawa melalui interaksi reagen terhadap senyawa ekstrak, yaitu lebih besar pada noda 1, 2, dan 4.



Gambar 4.5 Perbandingan hasil pemisahan ekstrak biji anggur Bali dengan pelarut metanol : air : asam asetat (70:29,9:0,1) dan waktu ekstraksi 5 menit (a), 10 menit (b) dan 15 menit (c) pada U1 = ulangan 1; U2 = ulangan 2; U3 = ulangan 3

Nilai rerata R_F yang tersajikan pada Tabel 4.3 menunjukkan hasil bahwa pada waktu ekstraksi 5 menit, 10 menit, dan 15 menit mengalami kenaikan nilai rerata R_F pada noda pertama hingga keempat. Kenaikan nilai tersebut diduga disebabkan oleh faktor perbedaan kondisi lingkungan pada setiap proses KLT yang mengakibatkan ketidak stabilan nilai R_F . Berdasarkan Tabel 4.3 dan Lampiran 5 diperoleh nilai SD R_F antar ulangan adalah 0,00144 – 0,0361 dan nilai SD R_F antar lama ekstraksi adalah 0,00132 – 0,00361. Nilai SD R_F noda yang diperoleh tersebut memenuhi syarat diterimanya presisi yaitu kurang dari 0,02 dan menghasilkan pola pemisahan yang menjauhi garis lurus antar spot noda senyawa yang sama pada Gambar 4.5, sehingga dapat disimpulkan bahwa noda pemisahan yang dihasilkan memenuhi syarat presisi.

Tabel 4.3 Hasil ekstraksi ultrasonik dengan pelarut metanol : air : asam asetat (70:29,9:0,1) dan eluen aseton : asam asetat : toluena (3:1:3)

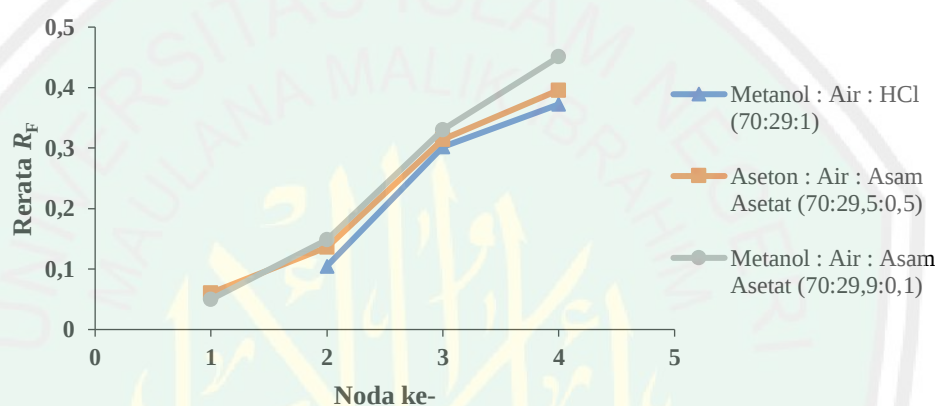
Lama Ekstraksi (menit)	Nomor Noda	R_F			Rerata $R_F \pm SD$	Resolusi
		U1	U2	U3		
5 menit	1	0,044	0,0500	0,0437	$0,0458 \pm 0,00361$	
	2	0,144	0,150	0,144	$0,146 \pm 0,00361$	0,534
	3	0,325	0,319	0,319	$0,321 \pm 0,00361$	1,25
	4	0,437	0,437	0,431	$0,435 \pm 0,00361$	0,788
10 menit	1	0,056	0,0500	0,0500	$0,0521 \pm 0,00361$	
	2	0,150	0,144	0,144	$0,146 \pm 0,00361$	0,457
	3	0,331	0,325	0,325	$0,327 \pm 0,00361$	1,139
	4	0,456	0,462	0,456	$0,458 \pm 0,00361$	0,721
15 menit	1	0,056	0,0500	0,0500	$0,0521 \pm 0,00361$	
	2	0,162	0,150	0,150	$0,154 \pm 0,00722$	0,468
	3	0,356	0,344	0,331	$0,344 \pm 0,0125$	1,19
	4	0,475	0,45	0,45	$0,458 \pm 0,0144$	0,751

Keterangan : U1=Ulangan 1, U2= Ulangan 2, U3= Ulangan 3,

Nilai resolusi sebagai salah satu acuan pola pemisahan terbaik tersajikan juga pada Tabel 4.2. Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa nilai resolusi tertinggi diperoleh pada waktu ekstraksi 5 menit. Nilai rerata resolusi pola pemisahan hasil KLT berdasarkan variasi lama ekstraksi 5 menit, 10 menit, dan 15 menit berturut-turut sebesar 0,859; 0,772; dan 0,804 (Lampiran 6). Perbedaan nilai resolusi disebabkan faktor lingkungan dan faktor proses penotolan manual yang dilakukan. Maka dari itu, dapat disimpulkan bahwa ekstrak pelarut metanol : air : asam asetat (70:29,9:0,1) pada waktu ekstraksi 5 menit menghasilkan pemisahan yang lebih baik dibanding dari waktu ekstrak 10 menit dan 15 menit.

4.3.4 Perbandingan Hasil Terbaik Antar Pelarut

Hasil pola pemisahan yang tersajikan pada ketiga sub bab diatas menunjukkan kekhasan dalam setiap pelarut pada semua variasi waktu melalui jumlah noda dan nilai R_F yang dihasilkan. Perbedaan tersebut diduga disebabkan oleh kemampuan campuran pelarut dalam mengekstrak senyawa pada sampel. Adapun perbandingan hasil pola pemisahan berdasarkan variasi pelarut tersajikan pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Pengaruh variasi pelarut terhadap nilai rerata R_F

Berdasarkan Gambar 4.6 dapat diketahui bahwa semakin sedikit dan lemah asam yang digunakan dalam pelarut polar maka semakin banyak pemisahan yang terjadi dibuktikan dengan semakin banyak noda yang terbentuk. Ekstrak dengan pelarut metanol : air : HCl (70:29:1) menghasilkan jumlah noda lebih sedikit yaitu 3 noda. Berdasarkan sub bab 4.3.1, dugaan rendahnya jumlah noda ini disebabkan oleh tingkat keasaman dan jumlah HCl yang digunakan menghasilkan ekstrak yang tinggi polifenol. Perlakuan KLT yang sama pada ekstrak yang tinggi polifenol dapat menghasilkan pola pemisahan yang kurang baik bahkan sampai terbentuk spot berekor pada waktu ekstraksi yang lebih lama (Gambar 4.3).

Ekstrak dengan pelarut metanol : air : asam asetat (70:29,9:0,1) dan aseton : air : asam asetat (70:29,5:0,5) pada Gambar 4.6 menghasilkan jumlah spot yang sama yaitu 4 spot saat menggunakan jenis asam yang sama. Namun pelarut metanol lebih jelas menghasilkan pemisahan spot. Hal ini diduga disebabkan oleh sifat metanol yang lebih bersifat polar dan jumlah asam yang digunakan lebih sedikit. Berdasarkan sub bab 4.3.2, dugaan penggunaan asam asetat dengan jumlah yang lebih banyak pada waktu ekstraksi yang semakin lama menyebabkan pola pemisahan yang kurang baik maupun spot berekor (Gambar 4.4). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa pada ekstrak biji anggur Bali memiliki kedekatan kepolaran pada pelarut metanol : air : asam asetat (70:29,9:0,1) serta kesesuaian jenis asam dan komposisi terhadap metode penotolan yang dilakukan.

Berdasarkan uraian penjelasan diatas, menunjukkan bahwa jumlah polifenol meningkat seiring meningkatnya tingkat keasamaan, volume asam yang digunakan, dan waktu ekstraksi. Namun hal tersebut menghasilkan pola pemisahan yang kurang baik maupun spot berekor (*tailing*) dengan jumlah penotolan yang sama pada pelat KLT seiring bertambahnya waktu ekstraksi. Sehingga pola pemisahan dipengaruhi oleh kesesuaian proses KLT dengan ekstrak yang diuji.

Nilai R_F yang diperoleh berdasarkan Gambar 4.6 sedikit berbeda dengan kedekatan kepolaran komponen terhadap kedua fase. Pada ekstrak metanol : air : HCl (70:29:1) memiliki nilai R_F rendah dibandingkan ekstrak aseton : air : asam asetat (70:29,5:0,5) dikarenakan sifat metanol yang lebih polar sehingga lebih terdistribusi ke fase diam. Namun berbeda dengan ekstrak metanol : air : asam asetat (70:29,9:0,1) yang menghasilkan nilai R_F lebih besar dibandingkan ekstrak aseton : air : asam asetat (70:29,5:0,5), hal ini berkebalikan dengan teori seharusnya.

Sastrohamidjojo (2007) menyatakan bahwa komponen yang memiliki kepolaran mendekati fase gerak akan bergerak lebih cepat dari komponen yang memiliki kepolaran mendekati fase diam.

Begitu juga nilai R_F dugaan senyawa proantosianidin pada Gambar 4.6 berkisar 0,37-0,45 berbeda dengan referensi Villani dkk. (2015) yaitu dengan nilai R_F 0,35. Namun menghasilkan pola pemisahan yang sesuai referensi tersebut. Perbedaan nilai R_F ini diduga disebabkan adanya pengaruh dari perbedaan kondisi lingkungan, alat, bahan, serta optimasi perlakuan dari referensi dengan penelitian yang mempengaruhi sistem KLT. Bahkan nilai R_F biasanya tidak selalu sama dari laboratorium ke laboratorium lain bahkan pada waktu analisis yang berbeda dalam laboratorium yang sama (Wulandari, 2011). Berdasarkan uraian pada sub bab 4.3.1, 4.3.2, dan 4.3.3, hasil terbaik pada masing-masing pelarut disajikan pada Tabel 4.4 berikut.

Tabel 4.4 Perbandingan parameter antar hasil terbaik berbagai pelarut

Parameter	Ekstrak		
	Metanol : Air : HCl (70:29:1) 5 menit	Aseton : Air : Asam Asetat (70:29,5:0,5) 5 menit	Metanol : Air : HCl (70:29,9:0,1) 5 menit
Jumlah noda	3 Noda	4 Noda	4 Noda
SD R_F antar ulangan	0,00884 – 0,0509	0,00180 – 0,00955	0,00361
Resolusi	0,0632	0,728	0,859

Berdasarkan Tabel 4.4 pada parameter jumlah noda menunjukkan bahwa ekstrak pelarut metanol : air : HCl (70:29:1) 5 menit menghasilkan jumlah noda lebih sedikit dibandingkan dengan dua ekstrak pelarut lainnya. Sehingga dapat disimpulkan pelarut metanol : air : HCl (70:29:1) kurang baik pola pemisahannya.

Pemisahan yang menghasilkan noda dengan jumlah banyak menghasilkan merupakan pemisahan yang baik. Jumlah noda menunjukkan banyaknya senyawa yang berhasil diekstrak dan dipisahkan (Sastrohamidjojo, 1996).

Adapun pada parameter SD R_F antar ulangan berdasarkan Gambar 4.6, diperoleh nilai dari pelarut metanol : air : asam asetat (70:29,9:0,1) 5 menit memiliki nilai SD R_F yang konstan. Nilai tersebut yaitu 0,00361 memenuhi syarat nilai keberterimaan yaitu kurang dari 0,02. Hal ini menunjukkan tingkat kepresisian yang baik antar ulangan. Reich dan Schibli (2006) menyatakan bahwa nilai SD R_F yang rendah ataupun sama menunjukkan presisi noda yang baik karena menghasilkan nilai R_F yang sama atau mendekati garis lurus.

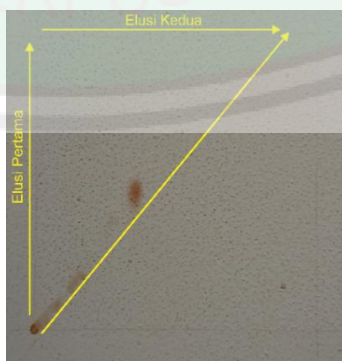
Parameter resolusi berdasarkan Gambar 4.6, menunjukkan resolusi ekstrak pelarut metanol : air : asam asetat (70:29,9:0,1) 5 menit lebih besar dibandingkan kedua ekstrak lainnya. Hal tersebut menunjukkan baiknya pola pemisahan yang dihasilkan. Berdasarkan hasil penelitian melalui variasi pelarut dan waktu ekstraksi, dapat disimpulkan bahwa ekstrak yang memiliki pemisahan terbaik yaitu ekstrak pelarut metanol : air : asam asetat (70:29,9:0,1) 5 menit. Selanjutnya ekstrak pelarut terpilih digunakan untuk uji validasi metode senyawa penanda meliputi uji stabilitas analit selama kromatografi, uji presisi, dan presisi antara.

4.4 Validasi Metode Senyawa Proantosianidin pada KLT

4.4.1 Stabilitas Analit Selama Kromatografi

Proses validasi metode dimulai dengan uji stabilitas analit untuk mengevaluasi mutu dari sampel. Uji stabilitas menjadi salah satu parameter penting untuk memastikan kestabilan dan tidak ada degradasi senyawa yang terjadi selama waktu analisis (Fatimah, 2018). Faktor-faktor yang mempengaruhi ketidakstabilan analit dapat disebabkan oleh suhu, kelembapan, kondisi penyimpanan, dan kejenuhan eluen (Reich dan Schibli, 2006). Uji stabilitas analit selama kromatografi dilakukan dengan KLT dua dimensi sebagai identifikasi senyawa sampel multikomponen dan meningkatkan resolusi (Wulandari, 2011).

Berdasarkan hasil pengembangan, senyawa dalam biji anggur Bali menghasilkan bercak yang terhubung membentuk garis diagonal perpotongan 2 fase gerak dan tidak terjadi penyimpangan, hasil pengembangan dapat dilihat pada Gambar 4.7. Hal tersebut menunjukkan bahwa analit stabil selama kromatografi. Reich dan Schibli (2006) mengasumsikan bahwa analit dikatakan stabil jika zona bercak yang dihasilkan berada dalam garis diagonal yang menghubungkan posisi awal penotolan dengan perpotongan garis dari kedua fase gerak.

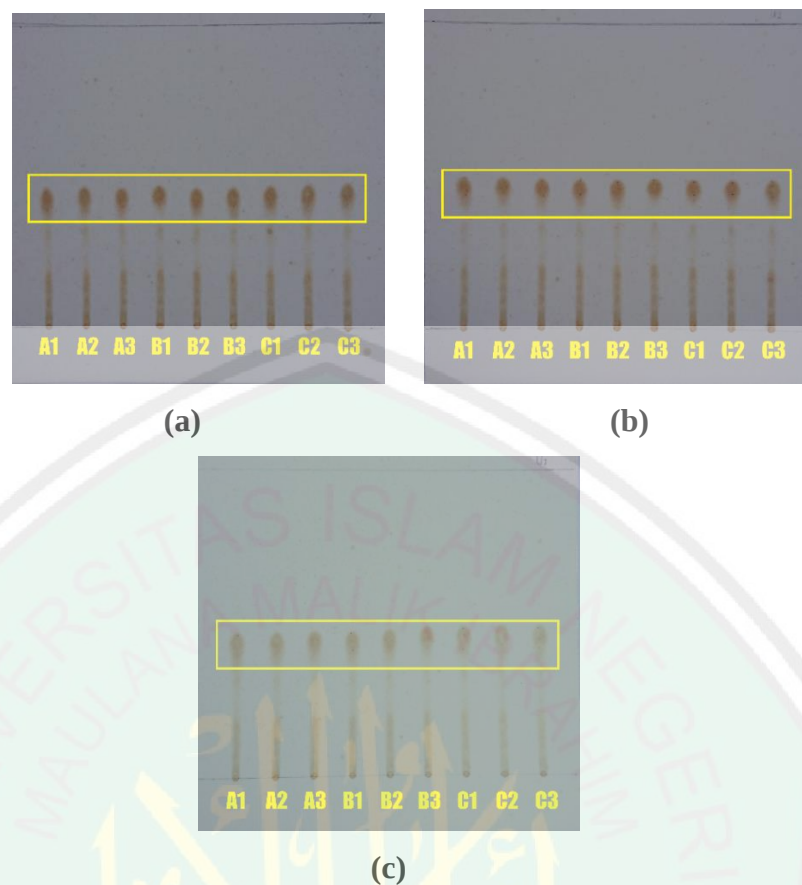


Gambar 4.7 Stabilitas analit selama kromatografi biji anggur Bali dengan pelarut metanol : air : asam asetat (70:29,9:0,1) dan waktu ekstraksi 5 menit setelah penyemprotan reagen vanillin-HCl

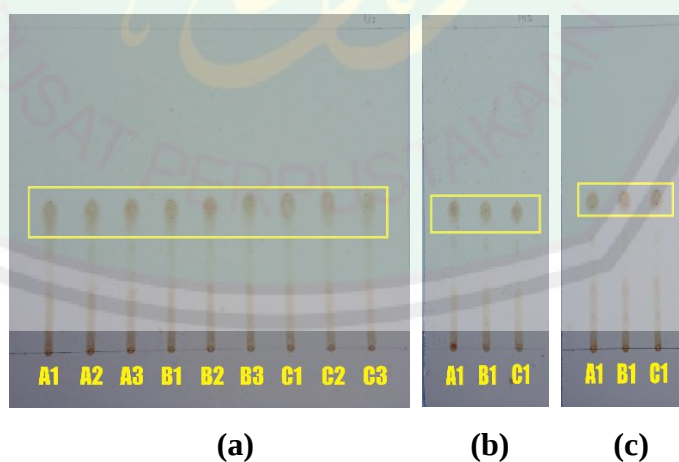
4.4.2 Uji Presisi dan Presisi Antara

Parameter presisi yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu presisi dan presisi antara. Uji presisi mencakup keterulangan variasi dalam sehari (*intraday*) untuk melihat pengaruh lingkungan pada waktu yang lebih singkat. Adapun presisi antara mencakup keterulangan pada variasi dengan perlakuan yang sama selama tiga hari berturut turut (*interday*) untuk melihat pengaruh lingkungan penyimpanan yang dapat berbeda antar hari (Kardela dkk., 2015). Hasil presisi dan presisi antara dalam validasi metode kromatografi lapis tipis dapat diketahui melalui pola pemisahan dan nilai simpangan baku R_F pita senyawa-senyawa yang sama.

Hasil pengembangan untuk uji presisi tersajikan pada Gambar 4.8, dengan hasil ketiga pelat memberikan pola pemisahan yang tidak berbeda nyata dari jumlah, intensitas, dan warna pita sehingga dapat dikatakan identik. Dipilih satu spot yaitu senyawa penciri proantosianidin untuk mewakili penghitungan simpangan baku R_F pada uji presisi. Hasil perhitungan pada Tabel 4.5 menunjukkan simpangan baku R_F intrapelat pada hari pertama berkisar 0.00442-0.00706 yang berarti tidak melebihi 0,01 sebagai syarat keberterimaan intrapelat dan antar pelat 0,0181 yang berarti tidak lebih dari 0,02 sebagai syarat keberterimaan antar pelat. Hasil uji yang tidak melebihi syarat keberterimaan tersebut, menunjukkan bahwa hasil uji telah memenuhi syarat keberterimaan uji presisi.



Gambar 4.8 Pola pemisahan uji presisi biji anggur Bali (a) ulangan pelat 1, (b) ulangan pelat 2 dan (c) ulangan pelat 3 dengan A = ekstrak ulangan 1; B = ekstrak ulangan 2 ; U3 = ekstrak ulangan 3; 1 = ulangan totalan ke-1; 2 = ulangan totalan ke-2; 3 = ulangan totalan ke-3



Gambar 4.9 Pola pemisahan uji presisi antara biji anggur Bali (a) hari ke-1, (b) hari ke-2 dan (c) hari ke-3 dengan A = ekstrak ulangan 1; B = ekstrak ulangan 2 ; U3 = ekstrak ulangan 3; 1 = ulangan totalan ke-1; 2 = ulangan totalan ke-2; 3 = ulangan totalan ke-3

Tabel 4.5 Hasil uji presisi dan presisi antara ekstrak biji anggur Bali

Ekstrak Biji Anggur Bali	Lajur	R_F Proantosianidin				
		Hari 1			Hari 2	Hari 3
		Pelat 1	Pelat 2	Pelat 3		
A	1	0,412	0,45	0,406	0,425	0,456
	2	0,419	0,456	0,412	0,419	0,456
	3	0,412	0,456	0,412	0,419	0,462
	4	0,431	0,45	0,412		
B	5	0,419	0,45	0,412		
	6	0,425	0,462	0,419		
	7	0,419	0,456	0,425		
C	8	0,425	0,456	0,425		
	9	0,431	0,45	0,419		
Intrapelat	Rerata R_F	0,421	0,454	0,416	0,421	0,458
	SD R_F	0,00706	0,00442	0,00634	0,00361	0,00361
Antarpelat	Rerata R_F		0,43		0,421	0,458
	SD R_F		0,0181		0,00361	0,00361
Semua Pelat	Rerata R_F			0,432		
	SD R_F			0,0186		

Hasil pengembangan untuk uji presisi antara pada Gambar 4.9 memperlihatkan ketiga pelat memberikan pola pemisahan yang tidak berbeda nyata sehingga dapat dikatakan identik. Berdasarkan pada Tabel 4.5 hasil perhitungan uji presisi antara memiliki nilai simpangan baku R_F intrapelat antar pelat hari kedua dan ketiga menunjukkan nilai kurang dari 0,01 dan 0,02. Adapun hasil nilai simpangan baku R_F untuk semua pelat 0,0186 yang berarti tidak lebih dari 0,05 sebagai syarat keberterimaan semua pelat. Sehingga dapat disimpulkan hasil pengujian telah memenuhi syarat keberterimaan uji presisi antara.

4.5 Integrasi Hasil Penelitian dalam Prespektif Al-Quran

Kajian penelitian ini membahas tentang stabilitas profil kromatografi ekstrak kasar biji anggur Bali. Stabilitas profil kromatografi merupakan kemampuan konsistensi senyawa yang terkandung pada ekstrak dalam mempertahankan karakteristiknya terhadap pengaruh lingkungan. Kromatografi lapis tipis sebagai metode identifikasi secara terbuka dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan seperti udara, cahaya, asap, debu, suhu, dan kelembapan dalam proses kromatografi maupun proses penyimpanan sampel. Sebagaimana firman Allah SWT dalam al-Qur'an surah al-Mulk ayat 3:

الَّذِي خَلَقَ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ طِبَاقًا ۚ مَا تَرَىٰ فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِن تَفْوُتٍ ۚ فَارْجِعِ الْبَصَرَ هَلْ تَرَىٰ مِن فُطُورٍ (٣)

Artinya: “Yang telah menciptakan tujuh langit berlapis-lapis. Kamu sekali-kali tidak melihat pada ciptaan Tuhan Yang Maha Pemurah sesuatu yang tidak seimbang. Maka lihatlah berulang-ulang, adakah kamu lihat sesuatu yang tidak seimbang?” (QS. al-Mulk [67]: 3).

Menurut tafsir Ibnu Katsir pada kalimat “مَا تَرَىٰ فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِن تَفْوُتٍ” menegaskan bahwa langit diciptakan sangat rapi, sempurna, seimbang, tidak tumpang tindih, tidak terdapat kekurangan bahkan cacat atau retak meskipun tujuh tingkat tanpa tiang dan tanpa pengikat. Hal tersebut menunjukkan sistem yang stabil, seimbang, dan tidak berubah-ubah sampai kondisi dan waktu tertentu yang ditentukan-Nya. Sehingga disebutkan dalam firman berikutnya, “فَارْجِعِ الْبَصَرَ هَلْ تَرَىٰ مِن فُطُورٍ” yang menegaskan kepada hambah-Nya untuk melihat secara cermat agar menemukan ketidakseimbangan, celah, cacat pada langit, hal ini sebagai bentuk bukti kebesaran Allah terhadap penciptaan-Nya.

Berdasarkan penjelasan tersebut menunjukkan dasar mengenai suatu keadaan yang seimbang dan stabil terjadi di alam semesta. Segala sesuatu di muka bumi tidak akan mencapai kondisi yang stabil tanpa izin Allah SWT. Seperti halnya pada hasil penelitian bahwa stabilitas selama kromatografi pada ekstrak biji anggur Bali dengan spot senyawa dugaan proantosianidin sebagai penciri akan memperoleh kestabilan pada kondisi tertentu dan waktu tertentu.

Penelitian ini juga mengkaji tentang presisi sebagai pendukung stabilitas profil kromatografi. Presisi adalah derajat kepastian hasil suatu pengukuran yang menunjukkan seberapa dekat hasil pengukuran satu dengan yang lain. Allah telah berfirman mengenai presisi suatu peristiwa pada QS. Yasiin ayat 40:

لَا الشَّمْسُ يَنْبَغِي لَهَا أَنْ تُدْرِكَ الْقَمَرَ وَلَا اللَّيْلُ سَابِقُ النَّهَارِ ۚ وَكُلٌّ فِي فَلَكٍ يَسْبَحُونَ (٤٠)

Artinya : *“Tidaklah mungkin bagi matahari mendapatkan bulan dan malam pun tidak mendahului siang. Dan masing-masing beredar pada garis edarnya.”* (QS. Yasiin [36]: 40).

Menurut tafsir Quraishy Shihab, ayat tersebut menunjukkan kepresisian (tepat) dan konsistensi takdir Allah pada waktu (kondisi) yang telah Allah tentukan. Hal ini menandakan bahwa segala sesuatu tidak akan mencapai kepresisiannya kecuali pada kondisi yang tepat, sebagaimana matahari yang tidak akan berjalan pada orbital bulan. Demikian pula senyawa analit pada proses pemisahan yang dilakukan secara KLT dapat memperoleh kepresisian terbaik pada kondisi yang tepat. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi uji stabilitas ekstrak biji anggur Bali menggunakan pelarut pelarut metanol : air : asam asetat (70:29,5:0,1) dengan waktu ekstraksi 5 menit telah menghasilkan stabilitas dan presisi yang baik.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Hasil pemisahan dengan kromatografi lapis tipis pada ekstrak biji anggur Bali (*Vitis vinifera* L. Alphonso Lavalley) berdasarkan jenis pelarut dan waktu ekstraksi menghasilkan pola pemisahan senyawa proantosianidin terbaik pada pelarut metanol : air : asam asetat (70:29,5:0,1) dengan waktu ekstraksi 5 menit.
2. Hasil optimasi metode kestabilan senyawa proantosianidin menggunakan validasi metode menghasilkan bentuk analit yang stabil dengan membentuk garis diagonal perpotongan dua fase gerak tanpa terjadi penyimpangan pada uji stabilitas analit selama kromatografi. Adapun uji presisi dan presisi antara dapat diterima karena menghasilkan nilai simpangan baku R_F intrapelat berkisar 0,00442-0,00706; antar pelat 0,0181; serta semua pelat 0,0186 yang tidak lebih dari nilai keberterimaan.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan optimasi metode KLT menggunakan metode KLT aplikator dan penyesuaian perlakuan penotolan untuk memperoleh hasil yang lebih baik.
2. Perlu dilakukan identifikasi pada spot yang diduga senyawa target dalam KLT menggunakan instrumentasi seperti UV-Vis, FTIR, dan HPLC.
3. Perlu dilakukan uji validasi metode lanjutan seperti uji spesifitas, uji ketegaran, dan stabilitas analit untuk kelengkapan metode kendali mutu tanaman obat.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Imam Abul Fida Isma'il Ibnu Katsir ad-Dimasyqi. 2002. *Terjemah Tafsir Ibnu Katsir Juz 1*. Bandung: Sinar Baru al-Gensindo.
- Altioek, E. 2003. *Production of Proanthocyanidin From Grape Seeds*. İzmir: İIT.
- Andrini, A. & Emi B. 2008. *Promising Variety Of Indonesian*. Jakarta: ISHS.
- Azizah, Yuzkiya., Ahmad Hanapi, Tri Kustono Adi. 2015. Synthesis Of 3-(4-Hydroxy-3-Metoxyphenyl)-1-Phenyl-2-Propen-1-On and Its Antioxidant Activity Assay Using DPPH. *ALCHEMY*, 4(1), 67-72.
- Bralley, E. E., Hargrove, J. L., Greenspan, P. & Hartle, D. K. 2007. Topical anti-inflammatory activities of vitis rotundifolia (*Muscadine Grape*) extracts in the tetradecanoylphorbol acetate model of ear inflammation. *Journal Medical Food*, 10(1), 636–642.
- Budimarwanti, C dan Handayani, S. 2010. Efektivitas Katalis Asam Basa pada Sintesis 2-hidroksikalkon, Senyawa yang Berpotensi sebagai Zat Warna. *Prosiding seminar nasional Kimia dan Pendidikan Kimia 2010*. ISBN: 978-979-98117-7-6.
- Cai, Y., Yingjia, Y., Gengli, D. & Yan L. 2011. Study on Infrared-Assisted Extraction Coupled With High Performance Liquid Chromatography (HPLC) for Determination of Catechin, Epicatechin, and Procyanidin B2 in Grape Seeds. *Food Chemistry*, 127(1), 1872-1877.
- Carrera, C., Ana, R., Miguel, P. & Carmelo, G. B. 2012. Ultrasound Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Grapes. *Analytica Chimica Acta*, 732 (1). 100–104.
- Clarke, HT dan Hartman, WW. 1929. Phloroglucinol. *Org. Synth*, 9(74).
- Dai, J. & Russell, J. M. 2010. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, 1(15), 7313-7352.
- D'Mello, J. P. 1997. *Handbook of Plant and Fungal Toxicants*. New York: CRC Press.
- Fatahillah, A. U. 2016. *Skripsi: Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Tanaman Pegagan (Centella asiatica)*. Bogor: IPB Press.
- Fatimah, Nurul. 2018. *Skripsi: Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Daun Rimpang Kencur (Kaempferia galanga)*. Bogor: IPB Press.
- Fiume, M. M., Wilma. F. B., Donald. V. B., Ronald A. H. Ronald A. H., Curtis D. K., Daniel C. L., James G. M., Ronald C. S., Thomas J. S., Paul W. S., & F. Alan A. 2014. Safety Assessment of Vitis Vinifera (Grape)-Derived Ingredients as Used in Cosmetics. *International Journal of Toxicology*, 33(3), 48-83.

- Fuleki, T. & Ricardo S. J. M. 2003. Effects of cultivar and processing method on the contents of catechins and procyanidins in grape juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 640–646.
- Hagerman, A. 2002. *Tannin Chemistry*. Miami: Departemen of Chemistry and Biochemistry Miami University.
- Handayani, V., Abdul M. & Nur R. R. 2016. Comparative Study of Intioxidant Activity of Red and Green Varieties of Grape Seed (*Vitis Vinifera L.*) using DPPH Reduction Methode. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(10), 160-163.
- Harmanto, N. & M. Ahkam S. 2007. *Pilih Jamu dan Herbal Tanpa Efek Samping*. Jakarta: Gramedia.
- Hendayana, S. 2006. *Kimia Pemisaham Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya.
- Hernandez, J. A., Gomez, P. E., Martinez, C. A., Kennedy, J. A. 2009. Grape Skin and Seed Proanthocyanidins from Monastrell x Syrah grapes. *J. Agric. Food Chem*, 57(22), 10798–10803.
- Jayaprakasha, G. K., T. Selvi & K. K. Skaria. 2003. Antibacterial And Antioxidant Activities of Grape (*Vitis vinifera*) Seed Extracts. *Food Research International*, 36 (2), 117-122.
- Kardela, W., Rasyid R., Widyawati W. 2015. Validasi Metode Analisis α -Mangostin dalam Plasma Darah Manusia Secara In Vitro dengan Metode Spektrometri Ultraviolet. *Prosiding Seminar Nasional & Workshop "Perkembangan Terkini Sains Farmasi & Klinik 5*.
- Karimah, S. 2017. *Skripsi: Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Daun Jati Belanda (Guazuma ulmifolia)*. Bogor: IPB Press.
- Khopkar, S. M. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Khotimah, K. 2013. *The Miracle of Colors*. Yogyakarta: Rapha Publishing.
- Kim, D., Lee, J., Yu, K. & Yoon, T. J. 2006. Innate Immune Stimulation of polysaccharide Fraction from Grape Peel. *Food Sci.Biotechnol*, 20(1), 107-113.
- Kumar, Sanjeet., K. Jyotirmayee, and Monalisa Sarangi. 2013. Thin Layer Chromatography: A Tool of Biotechnology for Isolation of Bioactive Compounds from Medicinal Plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 18(1), 126-132.
- Larrauri, J. A., Rupérez, P. & Saura, C. F. 1997. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(4), 1390-1393.

- Mantena, S. K., Baliga, M. S., Katiyar, S. K. 2006. Grape seed proanthocyanidins induce apoptosis and inhibit metastasis of highly metastatic breast carcinoma cells. *Carcinogenesis*, 27(8), 1682–1691.
- Mardopo, A. S., Marlana, Sugiarti & Dewi. 2014. Obat Hebal Tradisional. *Warta Ekspor DJPEN Kementrian Perdagangan*. Ditjen PEN/MJL/005 /9/2014 September, 1-20.
- Marliana, E. 2005. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Andong (*Cordyline fruticosa* A. Cheval). *Jurnal Mulawarman Scientifie*, 11(1), 1-9.
- Mohansrinivasan, V., Subathra, D. C., Meenakshi, D., Ananya, B & Jemimah N. S. 2015. Exploring the Anticancer Activity of Grape Seed Extract on Skin Cancer Cell Lines A431. *Brazilian Archives Of Biology And Technology*, 58(4), 540-546.
- Neves, Ana C., Maria I. Spranger, Yuqing Zhao, Maria C. Leandro, And Baoshan Sun. 2010. Effect of Addition of Commercial Grape Seed Tannins on Phenolic Composition, Chromatic Characteristics, and Antioxidant Activity of Red Wine. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 58(22), 11775–11782.
- Nugrahaningtyas, Khoirina Dwi., Sabirin Matsjeh, Tutik Dwi Wahyuni. 2005. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Rimpang Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb.). *Biofarmasi*, 3(1), 32-38.
- Perumalla, A. V. S. & Hettiarachchy, N. S. 2011. Green Tea and Grape Seed Extracts-Potential Applications in Food Safety and Quality. *Food Research International*, 44(1), 827–839.
- Porto, C. D., Erica P. & Deborha D. 2013. Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. *Science Direct*, 20(1), 1076–1080.
- Putnik, P.,a D. Bursać Kovačević,a, M. Radojčin,b and V. Dragović-Uzelaca. 2016. Influence of Acidity and Extraction Time on the Recovery of Flavonoids from Grape Skin Pomace Optimized by Response Surface. *Methodology Chem. Biochem. Eng. Q.*, 30(4), 455–464.
- Rafi, M., Rudi H. & Dewi A. S. 2017. *Atlas Kromatograf Lapis Tipis Tumbuhan Obat Indonesia*. Bogor: IPB Press.
- Rauf, A., Muhammad, I., Tareq, A., Iahtisham U., Seema, P., Xiandao, P., Saima, N., Ana, S. S., Farhan, S., Hafiz, A. R. 2019. Proanthocyanidins: A comprehensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 116(1), 1-6.
- Reich, E. & Schibli, A. 2006. *High-Performance Thin-Layer Chromatography for the Analysis of Medicinal Plants*. New York (US): Thieme.
- Rukmana, H. R. 2004. *Anggur; Budidaya & Penanganan Pasca Panen*. Yogyakarta: Kanisius.

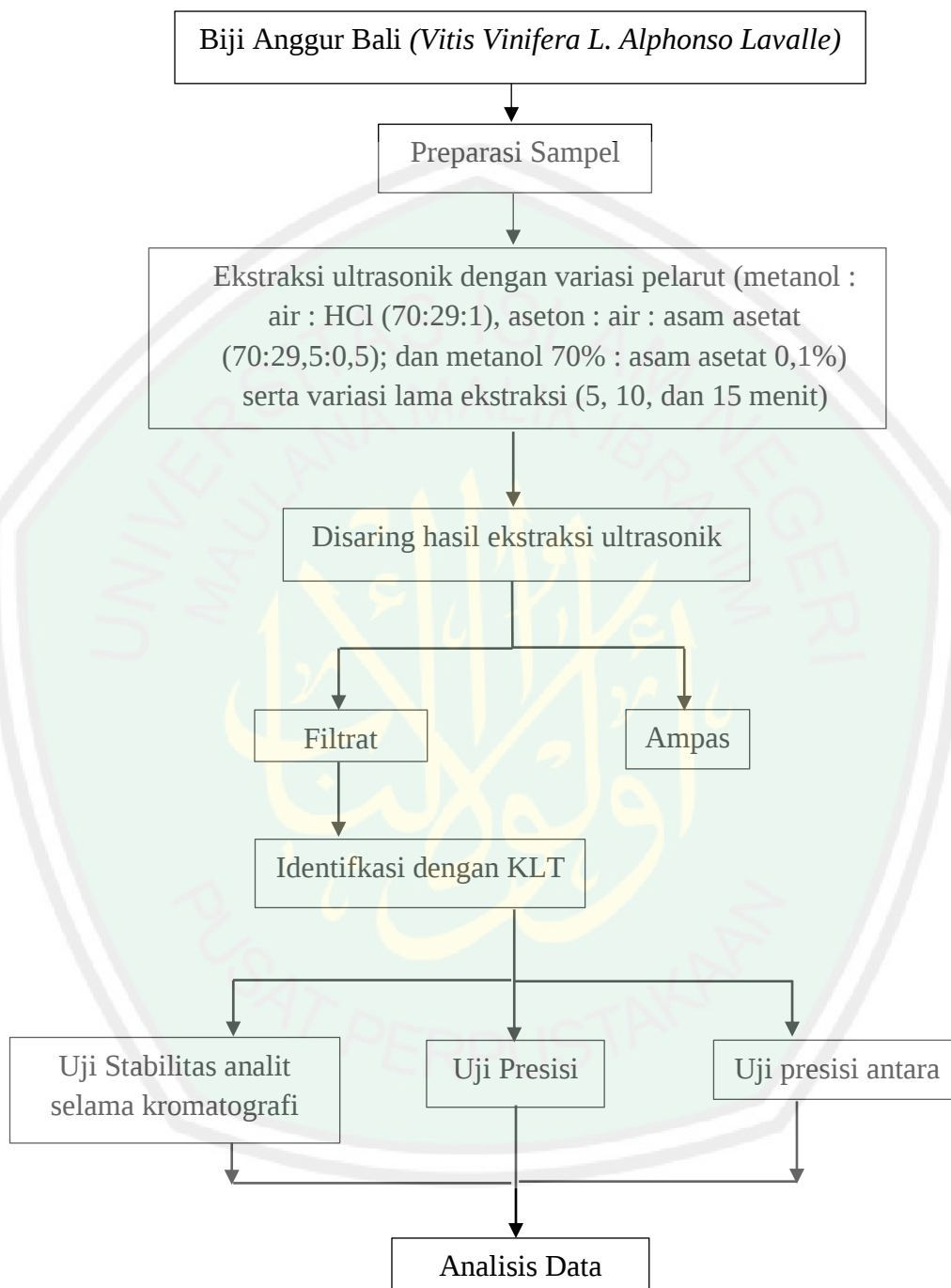
- Sastrohamidjojo, H. 1996. *Sintesis Bahan Alam*. Yogyakarta: UGM Press.
- Sastrohamidjojo, H. 2007. *Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Setyohadi, R., 2010. Uji Efektivitas Ekstrak *Ethanol* Biji Buah Anggur (*Vitis vinifera*) sebagai Antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* secara *In Vitro*. *Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya*.
- Schofield, d., D.M. Mbugua, and A.N. Pell. 2001. Analysis of Condensed Tannins: a Riview. *Animal Feed Science and Technology*, 91(1), 21-40.
- Shi, J., Yu, J., Pohorly, J.E. & Kakuda, Y. 2003. Polyphenolics in grape seeds- biochemistry and functionality. *J. Med. Food*, 6(4), 291-299.
- Shihab, M. Q. 2003. *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan, dan Keserasian al-Qur'an Volume 7*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sudewo, B. 2012. *Basmi Kanker dengan Herbal*. Jakarta: Visimedia.
- Sumiarta, I. M. 2013. Kelompok Tani Anggur. *Dinas Pertanian Dan Peternakan Kabupaten Buleleng*. Bali.
- Syafi'i, Makmum., Eti Rohaeti¹, Wulan Tri Wahyuni¹, Mohamad Rafi¹, Dewi Anggraini Septaningsih. 2018. Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga*). *Jurnal Jamu Indonesia*. 3(3), 109-115.
- Torres, N. M., Talavera, T. A., Andrews, H. E., Contreras, A. S. & Pacecho, N. 2017. Ultrasond Assisted Extraction for the Recovery of Phenolic Compound from Vegetable Sources. *Agronomy*, 7 (47), 1-19.
- Unusan, N. 2020. Proanthocyanidins in grape seeds: An updated review of their health benefits and potential uses in the food industry. *Journal of Functional Foods*, 67(1), 1-11.
- Vermaak, I., Hamman, J. H. & Viljoen, A. M. 2010. High performance thin layer chromatography as a method to authenticcate *Hoodia gordonii* raw material and products. *South African Journal of Botany*, 76(1), 119-124.
- Villani, Tom S. William Reichert, Mario G. Ferruzzi, Giulio M., Pasinetti, James E. Simon and Qingli Wu. 2015. Chemical investigation of commercial grape seed derived products to assess quality and detect adulteration. *Elsevier*, 170(1), 271-28.
- Wulandari, Lestyo. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. Jember: PT. Taman Kampus Presindo.
- Xia, E., Gui-Fang, D., Ya-Jun G. & Hua-Bin L. 2010. Biological Activities of Polyphenols from Grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(1), 622-646.

- Xu, C., Yali, Z., Jun W. & Jiang, L. 2010. Extraction, Distribution and Characterisation of Phenolic Compounds and Oil in Grapeseeds. *Food Chemistry*, 122(1), 688–694.
- Yuliantari, N. W. A., I Wayan, R. W. & I Dewa G. M. P. 2017. Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.). *Scientific Journal of Food Technology*, 4(1), 25-45.
- Zhou, K. & Julian, J. R. 2012. Potential Anticancer Properties of Grape Antioxidants. A Review. *Journal of Oncology*, 1(1), 1-9.



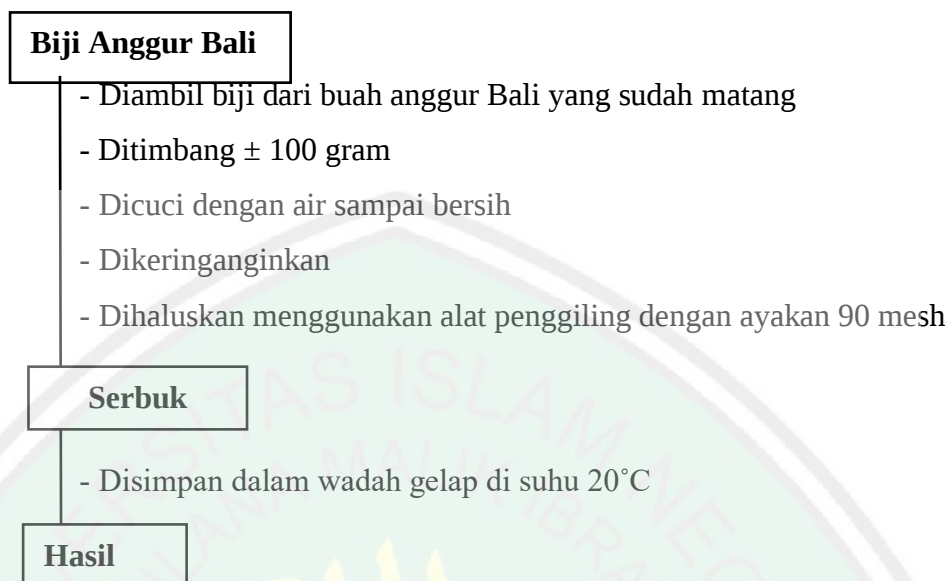
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

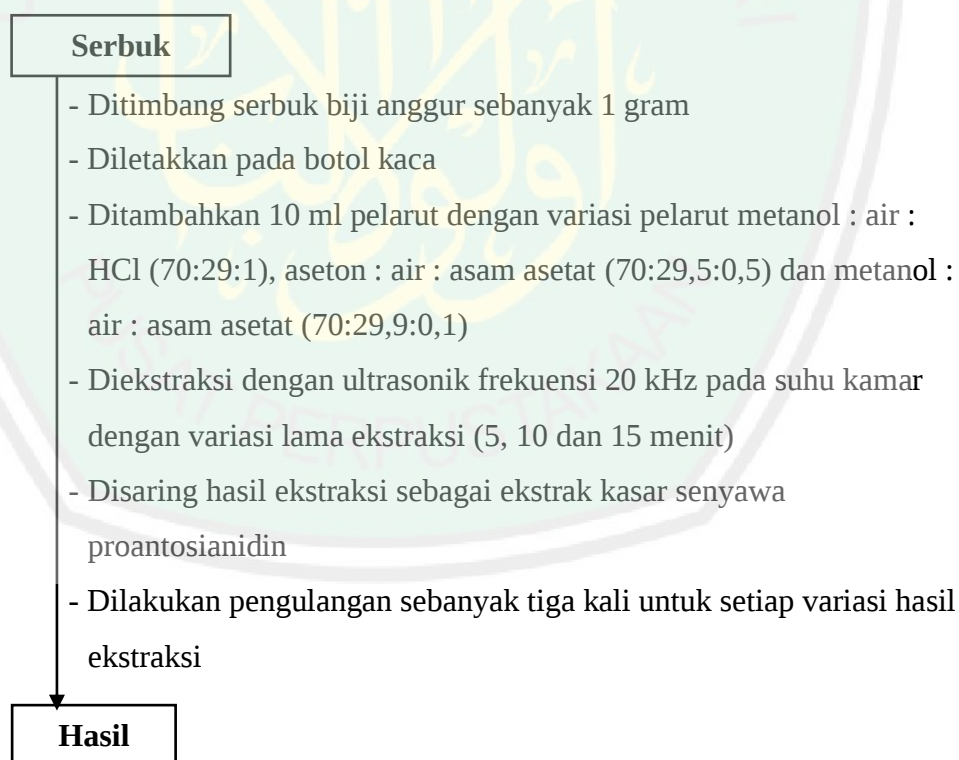


Lampiran 2. Skema Kerja

1. Preparasi Sampel



2. Ekstraksi Senyawa Proantosianidin dengan ultrasonik



3. Identifikasi Ekstrak Kasar Biji Anggur dengan KLTA

A. Persiapan Pelat KLT

Pelat silika GF₂₅₄

- Dipotong pelat 3x10 cm
- Diberi batas bawah 1,5 cm dan batas atas; 0,5 cm kanan kiri 0,5 cm
- Diaktivasi pelat dengan oven pada suhu 100°-105°C selama 30 menit.

Hasil

B. Persiapan Fase Gerak (Eluen)

Chamber

- Dimasukkan 10 mL eluen aseton : asam asetat : toluena (3:2:3)
- Dijenuhkan selama 60 menit dan ditutup rapat selama penjenhuan

Hasil

C. Proses Elusi

Ekstrak Kasar

- Diaplikasikan ekstrak sebanyak 3 kali ulangan
- Ditotolkan sebanyak 15 totolan masing masing Ekstrak pada 3 pelat berbeda (1 pelat tiga jalur pengulangan) dan Dikeringanginkan
- Dimasukkan pelat ke dalam *chamber* yang berisi eluen
- Ditutup rapat dan jangan dipindahkan hingga proses elusi selesai
- Pelat dikeringanginkan kemudian Didokumentasi sebelum dan sesudah disemprot pereaksi vanillin
- Diamati hasil dan dihitung R_f
- Diulang perlakuan diatas pada setiap variasi pelarut dan waktu ekstraksi ultrasonik

Hasil

4. Stabilitas Analit selama Kromatografi (Reich dan Schibli, 2006)

A. Persiapan Pelat KLT

Pelat silika GF₂₅₄

- Dipotong pelat 10x10 cm
- Diberi garis batas dengan jarak 10 mm dari masing-masing tepi
- Diaktivasi pelat dengan oven pada suhu 100°C selama 30 menit.

Hasil

B. Persiapan Fase Gerak (Eluen)

Chamber

- Dimasukkan 10 mL eluen aseton : asam asetat : toluena (3:2:3)
- Dijenuhkan selama dan ditutup 60 menit rapat selama penjenuhan
- Dilakukan pengulangan persiapan fase gerak pada chamber yang berbeda

Hasil

C. Proses Elusi

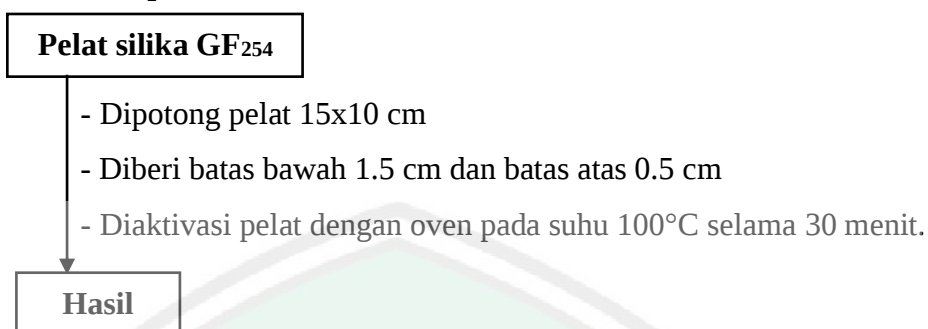
Ekstrak Kasar

- Ditotolkan Ekstrak sebanyak 15 totolan tepi kiri bawah pelat tersebut (10 mm dari tiap tepi)
- Dimasukkan pelat ke dalam bejana pengembang yang berisi eluen
- Ditutup rapat dan jangan dipindahkan hingga fase gerak mencapai tinggi 8 cm dari posisi aplikasi ekstrak
- Diangkat dan keringanginkan pelat kemudian didokumentasi sebelum dan sesudah
- Diputar 90° pelat kekiri kemudian dilakukan pengembangan untuk kedua kalinya menggunakan fase gerak dengan komposisi sama namun dengan kondisi baru disiapkan
- Ditutup rapat dan jangan dipindahkan hingga fase gerak mencapai tinggi 8 cm dari posisi aplikasi ekstrak
- Diangkat dan keringanginkan pelat
- Disemprot dengan pereaksi vanillin kemudian Didokumentasi sebelum dan sesudah proses elusi
- Diamati hasil dan dihitung R_F
- Diulang perlakuan diatas pada setiap variasi pelarut dan waktu ekstraksi ultrasonik

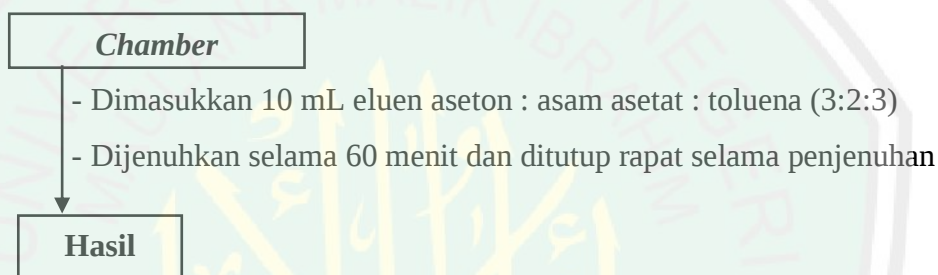
Hasil

5. Uji Presisi (Reich dan Schibli, 2006)

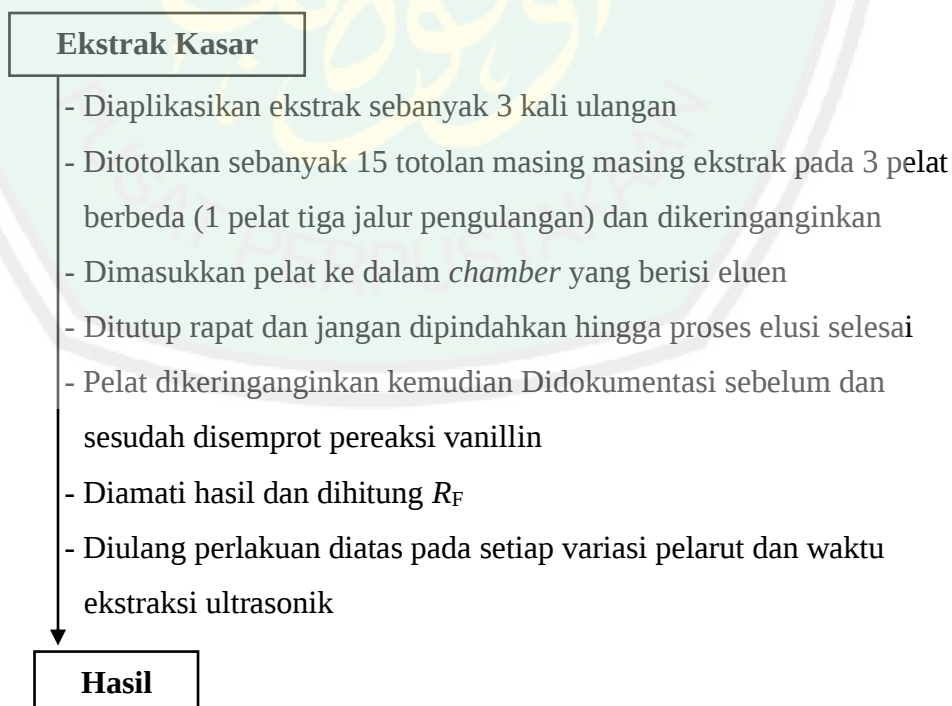
A. Persiapan Pelat KLT



B. Persiapan Fase Gerak (Eluen)



C. Proses Elusi



6. Uji Presisi Antara

A. Persiapan Pelat KLT

Pelat silika GF₂₅₄

- Dipotong pelat 15x10 cm
- Diberi batas bawah 1.5 cm dan batas atas 0.5 cm
- Diaktivasi pelat dengan oven pada suhu 100°C selama 30 menit.

Hasil

B. Persiapan Fase Gerak (Eluen)

Chamber

- Dimasukkan 10 mL eluen aseton : asam asetat : toluena (3:2:3)
- Dijenuhkan selama 60 menit dan ditutup rapat selama penjenuhan

Hasil

C. Proses Elusi

Ekstrak Kasar

- Diaplikasikan ekstrak sebanyak 3 kali ulangan
- Ditotolkan Ekstrak pada 2 hari yang berbeda setelah uji presisi, satu Pelat per hari
- Dimasukkan pelat ke dalam *chamber* yang berisi eluen
- Ditutup rapat dan jangan dipindahkan hingga proses elusi selesai
- Pelat dikeringanginkan kemudian
- Didokumentasi sebelum dan sesudah disemprot pereaksi vanillin
- Diamati hasil dan dihitung R_F
- Diulang perlakuan diatas pada setiap variasi pelarut dan waktu ekstraksi ultrasonik

Hasil

Lampiran 3. Perhitungan dan Pembuatan Larutan

3.1 Pembuatan Larutan Esktraksi Metanol : Air : HCl (70:29:1)

$$\text{Metanol} = \frac{70}{100} \times 10 \text{ ml} = 7 \text{ mL}$$

$$\text{Air} = \frac{29}{100} \times 10 \text{ ml} = 2,9 \text{ mL}$$

$$\text{HCl} = \frac{1}{100} \times 10 \text{ ml} = 0,1 \text{ mL}$$

Cara pembuatan: dipipet 7 mL metanol, dipipet 2,9 mL akuades dan dipipet 0,1 mL HCl, kemudian dimasukkan dalam wadah ekstrak yang berisi sampel.

3.2 Pembuatan Larutan Esktraksi Aseton : Air : Asam asetat (70:29,5:0,5)

$$\text{Aseton} = \frac{70}{100} \times 10 \text{ ml} = 7 \text{ ml}$$

$$\text{Air} = \frac{29,5}{100} \times 10 \text{ ml} = 2,95 \text{ ml}$$

$$\text{Asam asetat} = \frac{0,5}{100} \times 10 \text{ ml} = 0,05 \text{ ml}$$

Cara pembuatan: dipipet 7 mL aseton, dipipet 2,95 mL akuades dan dipipet 0,05 mL asam asetat, kemudian dimasukkan dalam wadah ekstrak yang berisi sampel.

3.3 Pembuatan Larutan Esktraksi Metanol : Air : Asam asetat (70:29,9:0,1)

$$\text{Aseton} = \frac{70}{100} \times 10 \text{ ml} = 7 \text{ ml}$$

$$\text{Air} = \frac{29,9}{100} \times 10 \text{ ml} = 2,99 \text{ ml}$$

$$\text{Asam asetat} = \frac{0,5}{100} \times 10 \text{ ml} = 0,01 \text{ ml}$$

Cara pembuatan: dipipet 7 mL metanol, dipipet 2,99 mL akuades dan dipipet 0,01 mL asam asetat, kemudian dimasukkan dalam wadah ekstrak yang berisi sampel.

3.4 Pembuatan Larutan Pengembang Aseton : Asam asetat : Toluena (3:1:3)

$$\text{Aseton} = \frac{3}{7} \times 7 \text{ ml} = 3 \text{ ml}$$

$$\text{Asam asetat} = \frac{1}{7} \times 7 \text{ ml} = 1 \text{ ml}$$

$$\text{Toluena} = \frac{3}{7} \times 7 \text{ ml} = 3 \text{ ml}$$

Cara pembuatan: dipipet 3 mL aseton, dipipet 1 mL asam asetat dan dipipet 3 mL toluene, kemudian dimasukkan dalam chamber.

3.3 Pembuatan Reagen Vanillin

$$\text{ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{volume (1000 ml)}}$$

$$\text{ppm} = \frac{1000 \text{ mg}}{20 \text{ ml}}$$

$$\text{ppm} = \frac{1000 \text{ mg}}{20 \text{ ml}} \times \frac{50}{50}$$

$$\text{ppm} = \frac{50000 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= \frac{50000 \text{ mg}}{1 \text{ L}}$$

$$\text{ppm} = 50000 \text{ ppm}$$

Cara pembuatan: ditimbang vanillin 1 gram, ditambahkan 20 mL HCl p.a.

Lampiran 4. Perhitungan Nilai R_F

$$R_F = \frac{\text{Jarak tempuh noda}}{\text{Jarak tempuh eluen}}$$

4.1 Hasil Nilai R_F pada Ekstrak Metanol : Air : HCl (70:29:1)

Perlakuan	Ulangan	Nomor Noda	Jarak Tempuh Noda (cm)	Jarak Tempuh Eluen (cm)	R_F
5 menit	1	1	0,9	8	0,112
		2	2,45	8	0,306
		3	3,35	8	0,419
	2	1	0,9	8	0,112
		2	2,35	8	0,294
		3	3,25	8	0,406
	3	1	0,75	8	0,0937
		2	0	8	0
		3	2,6	8	0,325
10 menit	1	1	0,85	8	0,106
		2	2,35	8	0,294
		3	3,1	8	0,387
	2	1	0,8	8	0,1
		2	0	8	0
		3	2,7	8	0,337
	3	1	0,85	8	0,106
		2	2,5	8	0,312
		3	3,35	8	0,419
15 Menit	1	1	0,85	8	0,106
		2	0	8	0
		3	2,8	8	0,35
	2	1	0,8	8	0,1
		2	0	8	0
		3	2,85	8	0,356
	3	1	0,85	8	0,106
		2	0	8	0
		3	2,8	8	0,35

4.2 Hasil Nilai R_F pada Ekstrak Aseton : Air : Asam asetat (70:29,5:0,5)

Perlakuan	Ulangan	Nomor Noda	Jarak Tempuh Noda (cm)	Jarak Tempuh Eluen (cm)	R_F
5 menit	1	1	0,525	8	0,0656
		2	1,25	8	0,156
		3	2,65	8	0,331
		4	3,65	8	0,456
	2	1	0,5	8	0,0625
		2	1,2	8	0,15
		3	2,65	8	0,331
		4	3,5	8	0,437
	3	1	0,5	8	0,0625
		2	1,2	8	0,15
		3	2,6	8	0,325
		4	3,6	8	0,45
10 menit	1	1	0,35	8	0,0437
		2	1	8	0,125
		3	2,35	8	0,294
		4	3,15	8	0,394
	2	1	0,75	8	0,0937
		2	0	8	0
		3	0	8	0
		4	2,4	8	0,3
	3	1	0,4	8	0,05
		2	1,15	8	0,144
		3	2,75	8	0,344
		4	3,55	8	0,444
15 Menit	1	1	0,35	8	0,044
		2	1	8	0,125
		3	2,45	8	0,306
		4	3,15	8	0,394
	2	1	0,65	8	0,0812
		2	0	8	0
		3	0	8	0
		4	2,45	8	0,306
	3	1	0,35	8	0,0437
		2	0,95	8	0,119
		3	2,25	8	0,281
		4	3,05	8	0,381

4.3 Hasil Nilai R_F pada Ekstrak Metanol : Air : Asam asetat (70:29,9:0,1)

Perlakuan	Ulangan	Nomor Noda	Jarak Tempuh Noda (cm)	Jarak Tempuh Eluen (cm)	R_F
5 menit	1	1	0,35	8	0,0437
		2	1,15	8	0,144
		3	2,6	8	0,325
		4	3,5	8	0,437
	2	1	0,4	8	0,05
		2	1,2	8	0,15
		3	2,55	8	0,319
		4	3,5	8	0,437
	3	1	0,35	8	0,0437
		2	1,15	8	0,144
		3	2,55	8	0,319
		4	3,45	8	0,431
10 menit	1	1	0,45	8	0,0562
		2	1,2	8	0,15
		3	2,65	8	0,331
		4	3,65	8	0,456
	2	1	0,4	8	0,05
		2	1,15	8	0,144
		3	2,6	8	0,325
		4	3,7	8	0,462
	3	1	0,4	8	0,05
		2	1,15	8	0,144
		3	2,6	8	0,325
		4	3,65	8	0,456
15 Menit	1	1	0,45	8	0,0562
		2	1,3	8	0,162
		3	2,85	8	0,356
		4	3,8	8	0,475
	2	1	0,4	8	0,05
		2	1,2	8	0,15
		3	2,75	8	0,344
		4	3,6	8	0,45
	3	1	0,4	8	0,05
		2	1,2	8	0,15
		3	2,65	8	0,331
		4	3,6	8	0,45

4.4 Hasil Nilai Rearata R_F dan SD Antar Ulangan dalam Ekstrak Metanol :
Air : HCl (70:29:1)

Waktu Ekstraksi	Nomor Noda	R_F			Rerata R_F	SD R_F	Rerata SD R_F
		U1	U2	U3			
5 Menit	1	0,112	0,112	0,0937	0,106	0,0108	0,0235
	2	0,306	0,294	0	0,3	0,00884	
	3	0,419	0,406	0,325	0,383	0,0509	
10 Menit	1	0,106	0,1	0,106	0,1041	0,00361	0,0193
	2	0,294	0	0,312	0,303	0,0133	
	3	0,387	0,337	0,419	0,381	0,041	
15 Menit	1	0,106	0,1	0,106	0,104	0,00361	0,00361
	2	0	0	0	0	0	
	3	0,35	0,356	0,35	0,352	0,00361	

4.5 Hasil Nilai Rearata R_F dan SD Antar Ulangan dalam Ekstrak Aseton :
Air : Asam asetat (70:29,5:0,5)

Waktu Ekstraksi	Nomor Noda	R_F			Rerata R_F	SD R_F	Rerata SD R_F
		U1	U2	U3			
5 Menit	1	0,0656	0,0625	0,0625	0,0635	0,00181	0,00464
	2	0,156	0,15	0,15	0,152	0,00361	
	3	0,331	0,331	0,325	0,329	0,00361	
	4	0,456	0,437	0,45	0,448	0,00955	
10 Menit	1	0,0437	0,0937	0,05	0,0625	0,0272	0,0372
	2	0,125	0	0,144	0,134	0,0133	
	3	0,294	0	0,344	0,319	0,0353	
	4	0,394	0,3	0,444	0,379	0,073	
15 Menit	1	0,0437	0,0812	0,0437	0,0562	0,0216	0,0228
	2	0,125	0	0,119	0,122	0,00442	
	3	0,306	0	0,281	0,294	0,0177	
	4	0,394	0,306	0,381	0,361	0,0473	

**4.6 Hasil Nilai Rerata R_F dan SD Antar Ulangan dalam Ekstrak Metanol :
Air : Asam asetat (70:29,9:0,1)**

Waktu Ekstraksi	Nomor Noda	R_F			Rerata R_F	SD R_F	Rerata SD R_F
		U1	U2	U3			
5 Menit	1	0,0437	0,05	0,0437	0,0458	0,00361	0,00361
	2	0,1437	0,15	0,144	0,146	0,00361	
	3	0,325	0,319	0,319	0,321	0,00361	
	4	0,4375	0,437	0,431	0,435	0,00361	
10 Menit	1	0,0562	0,05	0,05	0,0521	0,00361	0,00361
	2	0,15	0,144	0,144	0,146	0,00361	
	3	0,331	0,325	0,325	0,327	0,00361	
	4	0,456	0,462	0,456	0,458	0,00361	
15 Menit	1	0,056	0,05	0,05	0,0521	0,00361	0,00944
	2	0,162	0,15	0,15	0,154	0,00722	
	3	0,356	0,344	0,331	0,344	0,0125	
	4	0,475	0,45	0,45	0,458	0,0144	

Lampiran 5. Perhitungan SD Antar Lama Ekstraksi

Pelarut	Noda	Rerata R_F			SD Antara Lama Ekstraksi	Rerata SD Antar Lama Ekstraksi
		5 Menit	10 menit	15 menit		
Metanol : Air : HCl (70:29:1)	1	0,106	0,104	0,104	0,0012	0,00696
	2	0,3	0,303	0	0,00221	
	3	0,383	0,381	0,352	0,0175	
Etanol : Air : Asam Asetat (70:29,5:0,5)	1	0,0635	0,0625	0,0562	0,00394	0,0208
	2	0,152	0,134	0,122	0,0152	
	3	0,329	0,319	0,294	0,0182	
	4	0,448	0,379	0,36	0,0461	
Metanol : Air : Asam Asetat (70:29,9:0,1)	1	0,0458	0,0521	0,0521	0,00361	0,00837
	2	0,146	0,146	0,154	0,00481	
	3	0,321	0,327	0,344	0,0118	
	4	0,435	0,458	0,458	0,0132	



Lampiran 6. Perhitungan Resolusi

$$\text{Resolusi} = \frac{d}{(W_1 + W_2)\sqrt{2}}$$

Keterangan :

d = jarak antar noda 1 dan lainnya

W1 = Lebar (diameter) noda 1

W2 = Lebar (diameter) noda 2

6.1 Perhitungan Resolusi Pelarut Metanol : Air : HCl (70:29:1)

Perlakuan	Ulangan	Resolusi	d	W1	W2	$\sqrt{2}$	Hasil	Rerata Resolusi
5 Menit	1	1	1,55	1,6	0,3	1,414	0,577	0,632
		2	0,9	0,3	0,5	1,414	0,796	
	2	1	1,45	1,6	0,3	1,414	0,54	
		2	0,9	0,3	0,5	1,414	0,796	
	3	1	0	0	0	1,414	0	
		2	1,85	1,3	1,6	1,414	0,451	
10 Menit	1	1	1,5	1,5	0,3	1,414	0,589	0,612
		2	0,75	0,3	0,6	1,414	0,589	
	2	1	0	0	0	1,414	0	
		2	1,9	1,4	1,4	1,414	0,48	
	3	1	1,65	1,5	0,3	1,414	0,648	
		2	0,85	0,3	0,5	1,414	0,751	
15 Menit	1	1	0	0	0	1,414	0	0,522
		2	1,95	1,5	1,2	1,414	0,511	
	2	1	0	0	0	1,414	0	
		2	2,05	1,4	1,1	1,414	0,58	
	3	1	0	0	0	1,414	0	
		2	1,95	1,5	1,4	1,414	0,475	

6.2 Perhitungan Resolusi Pelarut Aseton : Air : Asam asetat (70:29,5:0,5)

Perlakuan	Ulangan	Resolusi	d	W1	W2	$\sqrt{2}$	Hasil	Rerata Resolusi
5 Menit	1	1	0,725	0,85	0,6	1,414	0,354	0,728
		2	1,4	0,6	0,3	1,414	1,1	
		3	1	0,3	0,5	1,414	0,884	
	2	1	0,7	0,8	0,6	1,414	0,354	
		2	1,45	0,6	0,3	1,414	1,139	
		3	0,85	0,3	0,6	1,414	0,668	
	3	1	0,7	0,8	0,6	1,414	0,353	
		2	1,4	0,6	0,4	1,414	0,99	
		3	1	0,4	0,6	1,414	0,707	
10 Menit	1	1	0,65	0,5	0,6	1,414	0,4178	0,663
		2	1,35	0,6	0,3	1,414	1,061	
		3	0,8	0,3	0,5	1,414	0,707	
	2	1	0	0	0	1,414	0	
		2	0	0	0	1,414	0	
		3	1,65	1,3	2	1,414	0,354	
	3	1	0,75	0,6	0,7	1,414	0,408	
		2	1,6	0,7	0,3	1,414	1,131	
		3	0,8	0,3	0,7	1,414	0,566	
15 Menit	1	1	0,65	0,5	0,5	1,414	0,46	0,695
		2	1,45	0,5	0,3	1,414	1,282	
		3	0,7	0,3	0,7	1,414	0,495	
	2	1	0	0	0	1,414	0	
		2	0	0	0	1,414	0	
		3	1,8	1,1	1,5	1,414	0,49	
	3	1	0,6	0,5	0,5	1,414	0,424	
		2	1,3	0,5	0,3	1,414	1,149	
		3	0,8	0,3	0,7	1,414	0,566	

6.3 Perhitungan Resolusi Pelarut Metanol : Air : Asam asetat (70:29,9:0,1)

Perlakuan	Ulangan	Resolusi	d	W1	W2	$\sqrt{2}$	Hasil	Rerata Resolusi
5 Menit	1	1	0,8	0,5	0,5	1,414	0,566	0,859
		2	1,45	0,5	0,2	1,414	1,465	
		3	0,9	0,2	0,5	1,414	0,909	
	2	1	0,8	0,6	0,6	1,414	0,471	
		2	1,35	0,6	0,3	1,414	1,0608	
		3	0,95	0,3	0,6	1,414	0,746	
	3	1	0,8	0,5	0,5	1,414	0,566	
		2	1,4	0,5	0,3	1,414	1,238	
		3	0,9	0,3	0,6	1,414	0,707	
10 Menit	1	1	0,75	0,7	0,6	1,414	0,408	0,772
		2	1,45	0,6	0,3	1,414	1,139	
		3	1	0,3	0,7	1,414	0,707	
	2	1	0,75	0,6	0,5	1,414	0,482	
		2	1,45	0,5	0,4	1,414	1,139	
		3	1,1	0,4	0,6	1,414	0,778	
	3	1	0,75	0,6	0,5	1,414	0,482	
		2	1,45	0,5	0,4	1,414	1,139	
		3	1,05	0,4	0,7	1,414	0,675	
15 Menit	1	1	0,85	0,7	0,6	1,414	0,462	0,804
		2	1,55	0,6	0,3	1,414	1,218	
		3	0,95	0,3	0,6	1,414	0,746	
	2	1	0,8	0,6	0,6	1,414	0,471	
		2	1,55	0,6	0,3	1,414	1,218	
		3	0,85	0,3	0,6	1,414	0,668	
	3	1	0,8	0,6	0,6	1,414	0,471	
		2	1,45	0,6	0,3	1,414	1,139	
		3	0,95	0,3	0,5	1,414	0,84	

Lampiran 7. Perhitungan Nilai R_F Uji Presisi dan Presisi Antara

$$R_F = \frac{\text{Jarak tempuh noda}}{\text{Jarak tempuh eluen}}$$

7.1 Hasil Nilai R_F pada Uji Presisi Hari Pertama Pelat 1

Perlakuan	Ulangan	Penotolan	Nomor Noda	Jarak Tempuh Noda (cm)	Jarak Tempuh Eluen (cm)	R_F
5 menit	1	1	1	0,45	8	0,0562
			2	1,15	8	0,144
			3	2,5	8	0,312
			4	3,3	8	0,412
		2	1	0,45	8	0,0562
			2	1,2	8	0,15
			3	2,55	8	0,319
			4	3,35	8	0,419
		3	1	0,45	8	0,0562
			2	1,15	8	0,144
			3	2,5	8	0,312
			4	3,3	8	0,412
	2	1	1	0,45	8	0,0562
			2	1,2	8	0,15
			3	2,6	8	0,325
			4	3,45	8	0,431
		2	1	0,45	8	0,0562
			2	1,2	8	0,15
			3	2,5	8	0,312
			4	3,35	8	0,419
		3	1	0,45	8	0,0562
			2	1,2	8	0,15
			3	2,5	8	0,312
			4	3,4	8	0,425
	3	1	1	0,45	8	0,0562
			2	1,2	8	0,15
			3	2,6	8	0,325
			4	3,35	8	0,419
		2	1	0,45	8	0,0562
			2	1,2	8	0,15
			3	2,6	8	0,325
			4	3,4	8	0,425
		3	1	0,45	8	0,0562
			2	1,2	8	0,15
			3	2,5	8	0,312
			4	3,45	8	0,431

7.2 Hasil Nilai R_F pada Uji Presisi Hari Pertama Pelat 2

Perlakuan	Ulangan	Penotolan	Nomor Noda	Jarak Tempuh Noda (cm)	Jarak Tempuh Eluen (cm)	R_F
5 menit	1	1	1	0,45	8	0,0562
			2	1,25	8	0,156
			3	2,65	8	0,331
			4	3,6	8	0,45
		2	1	0,45	8	0,0562
			2	1,25	8	0,156
			3	2,65	8	0,331
			4	3,65	8	0,456
		3	1	0,45	8	0,0562
			2	1,25	8	0,156
			3	2,65	8	0,331
			4	3,65	8	0,456
	2	1	1	0,45	8	0,0562
			2	1,25	8	0,156
			3	2,65	8	0,331
			4	3,6	8	0,45
		2	1	0,45	8	0,0562
			2	1,25	8	0,156
			3	2,65	8	0,331
			4	3,6	8	0,45
		3	1	0,45	8	0,0562
			2	1,25	8	0,156
			3	2,65	8	0,331
			4	3,7	8	0,462
	3	1	1	0,45	8	0,0562
			2	1,25	8	0,156
			3	2,55	8	0,319
			4	3,65	8	0,456
		2	1	0,45	8	0,0562
			2	1,25	8	0,156
			3	2,55	8	0,319
			4	3,65	8	0,456
		3	1	0,45	8	0,0562
			2	1,25	8	0,156
			3	2,55	8	0,319
			4	3,6	8	0,45

7.3 Hasil Nilai R_F pada Uji Presisi Hari Pertama Pelat 3

Perlakuan	Ulangan	Penotolan	Nomor Noda	Jarak Tempuh Noda (cm)	Jarak Tempuh Eluen (cm)	R_F
5 menit	1	1	1	0,45	8	0,0562
			2	1,15	8	0,144
			3	2,5	8	0,312
			4	3,25	8	0,406
		2	1	0,45	8	0,0562
			2	1,2	8	0,15
			3	2,5	8	0,312
			4	3,3	8	0,412
		3	1	0,45	8	0,0562
			2	1,2	8	0,15
			3	2,5	8	0,312
			4	3,3	8	0,412
	2	1	1	0,45	8	0,0562
			2	1,2	8	0,15
			3	2,5	8	0,312
			4	3,3	8	0,412
		2	1	0,45	8	0,0562
			2	1,2	8	0,15
			3	2,5	8	0,312
			4	3,3	8	0,412
		3	1	0,45	8	0,0562
			2	1,25	8	0,156
			3	2,6	8	0,325
			4	3,35	8	0,419
	3	1	1	0,45	8	0,0562
			2	1,25	8	0,156
			3	2,6	8	0,325
			4	3,4	8	0,425
		2	1	0,45	8	0,0562
			2	1,25	8	0,156
			3	2,6	8	0,325
			4	3,4	8	0,425
		3	1	0,45	8	0,0562
			2	1,25	8	0,156
			3	2,6	8	0,325
			4	3,4	8	0,425

7.4 Hasil Nilai R_F pada Uji Presisi Antara Hari Kedua

Perlakuan	Ulangan	Penotolan	Nomor Noda	Jarak Tempuh Noda (cm)	Jarak Tempuh Eluen (cm)	R_F
5 menit	1	1	1	0,45	8	0,0562
			2	1,2	8	0,15
			3	2,6	8	0,325
			4	3,4	8	0,425
	2	2	1	0,45	8	0,0562
			2	1,2	8	0,15
			3	2,5	8	0,312
			4	3,35	8	0,419
	3	3	1	0,5	8	0,0625
			2	1,1	8	0,137
			3	2,5	8	0,312
			4	3,35	8	0,419

7.5 Hasil Nilai R_F pada Uji Presisi Antara Hari Ketiga

Perlakuan	Ulangan	Penotolan	Nomor Noda	Jarak Tempuh Noda (cm)	Jarak Tempuh Eluen (cm)	R_F
5 menit	1	1	1	0,45	8	0,0562
			2	1,3	8	0,162
			3	2,7	8	0,337
			4	3,65	8	0,456
	2	2	1	0,45	8	0,0562
			2	1,3	8	0,162
			3	2,7	8	0,337
			4	3,65	8	0,456
	3	3	1	0,5	8	0,0625
			2	1,3	8	0,162
			3	2,7	8	0,337
			4	3,7	8	0,462

Lampiran 8. Perhitungan Resolusi Uji Presisi dan Presisi Antara

$$\text{Resolusi} = \frac{d}{(W1+W2)\sqrt{2}}$$

Keterangan :

d = jarak antar noda 1 dan lainnya

W1 = Lebar (diameter) noda 1

W2 = Lebar (diameter) noda 2

8.1 Hasil Nilai Resolusi pada Uji Presisi Hari Pertama Pelat 1

Ulangan	Penotolan	Resolusi	d	W1	W2	$\sqrt{2}$	Hasil	Rerata Resolusi
1	1	1	0,7	0,7	0,5	1,414	0,412	0,768
		2	1,35	0,5	0,2	1,414	1,364	
		3	0,8	0,2	0,8	1,414	0,566	
	2	1	0,75	0,7	0,6	1,414	0,408	
		2	1,35	0,6	0,2	1,414	1,193	
		3	0,8	0,2	0,7	1,414	0,629	
	3	1	0,7	0,7	0,5	1,414	0,412	
		2	1,35	0,5	0,2	1,414	1,364	
		3	0,8	0,2	0,8	1,414	0,566	
2	1	1	0,75	0,7	0,6	1,414	0,408	0,757
		2	1,4	0,6	0,2	1,414	1,238	
		3	0,9	0,2	0,6	1,414	0,751	
	2	1	0,75	0,7	0,6	1,414	0,408	
		2	1,3	0,6	0,2	1,414	1,149	
		3	0,85	0,2	0,7	1,414	0,668	
	3	1	0,75	0,7	0,6	1,414	0,408	
		2	1,3	0,6	0,2	1,414	1,149	
		3	0,9	0,2	0,8	1,414	0,636	
3	1	1	0,75	0,7	0,6	1,414	0,408	0,757
		2	1,4	0,6	0,2	1,414	1,238	
		3	0,75	0,2	0,7	1,414	0,589	
	2	1	0,75	0,7	0,6	1,414	0,408	
		2	1,4	0,6	0,2	1,414	1,238	
		3	0,8	0,2	0,7	1,414	0,629	
	3	1	0,75	0,7	0,6	1,414	0,408	
		2	1,3	0,6	0,2	1,414	1,149	
		3	0,95	0,2	0,7	1,414	0,746	

8.2 Hasil Nilai Resolusi pada Uji Presisi Hari Pertama Pelat 2

Ulangan	Penotolan	Resolusi	d	W1	W2	$\sqrt{2}$	Hasil	Rerata Resolusi
1	1	1	0,8	0,7	0,7	1,414	0,404	0,69
		2	1,4	0,7	0,3	1,414	0,99	
		3	0,95	0,3	0,8	1,414	0,611	
	2	1	0,8	0,7	0,7	1,414	0,404	
		2	1,4	0,7	0,3	1,414	0,99	
		3	1	0,3	0,7	1,414	0,707	
	3	1	0,8	0,7	0,7	1,414	0,404	
		2	1,4	0,7	0,3	1,414	0,99	
		3	1	0,3	0,7	1,414	0,707	
2	1	1	0,8	0,7	0,7	1,414	0,404	0,722
		2	1,4	0,7	0,3	1,414	0,99	
		3	0,95	0,3	0,6	1,414	0,746	
	2	1	0,8	0,7	0,7	1,414	0,404	
		2	1,4	0,7	0,3	1,414	0,99	
		3	0,95	0,3	0,6	1,414	0,746	
	3	1	0,8	0,7	0,7	1,414	0,404	
		2	1,4	0,7	0,3	1,414	0,99	
		3	1,05	0,3	0,6	1,414	0,825	
3	1	1	0,8	0,7	0,7	1,414	0,404	0,785
		2	1,3	0,7	0,3	1,414	0,919	
		3	1,1	0,3	0,5	1,414	0,972	
	2	1	0,8	0,7	0,7	1,414	0,404	
		2	1,3	0,7	0,3	1,414	0,919	
		3	1,1	0,3	0,3	1,414	1,296	
	3	1	0,8	0,7	0,7	1,414	0,404	
		2	1,3	0,7	0,3	1,414	0,919	
		3	1,05	0,3	0,6	1,414	0,825	

8.3 Hasil Nilai Resolusi pada Uji Presisi Hari Pertama Pelat 3

Ulangan	Penotolan	Resolusi	d	W1	W2	$\sqrt{2}$	Hasil	Rerata Resolusi
1	1	1	0,7	0,7	0,5	1,414	0,412	0,859
		2	1,35	0,5	0,2	1,414	1,364	
		3	0,75	0,2	0,9	1,414	0,482	
	2	1	0,75	0,7	0,6	1,414	0,408	
		2	1,3	0,6	0,2	1,414	1,149	
		3	0,8	0,2	0,8	1,414	0,566	
	3	1	0,75	0,7	0,6	1,414	0,408	
		2	1,3	0,6	0,2	1,414	1,149	
		3	0,8	0,2	0,8	1,414	0,566	
2	1	1	0,75	0,7	0,6	1,414	0,408	0,772
		2	1,3	0,6	0,2	1,414	1,149	
		3	0,8	0,2	0,8	1,414	0,566	
	2	1	0,75	0,7	0,6	1,414	0,408	
		2	1,3	0,6	0,2	1,414	1,149	
		3	0,8	0,2	0,8	1,414	0,566	
	3	1	0,8	0,7	0,7	1,414	0,404	
		2	1,35	0,7	0,2	1,414	1,061	
		3	0,75	0,2	0,8	1,414	0,53	
3	1	1	0,8	0,7	0,7	1,414	0,404	0,727
		2	1,35	0,7	0,2	1,414	1,061	
		3	0,85	0,2	0,7	1,414	0,629	
	2	1	0,8	0,7	0,6	1,414	0,435	
		2	1,35	0,6	0,2	1,414	1,193	
		3	0,85	0,2	0,7	1,414	0,629	
	3	1	0,8	0,7	0,6	1,414	0,435	
		2	1,35	0,6	0,2	1,414	1,193	
		3	0,8	0,2	0,8	1,414	0,566	

8.4 Hasil Nilai Resolusi pada Uji Presisi Hari Kedua

Ulangan	Penolakan	Resolusi	d	W1	W2	$\sqrt{2}$	Hasil	Rerata Resolusi
1	1	1	0,75	0,7	0,6	1,414	0,408	0,818
		2	1,4	0,6	0,2	1,414	1,238	
		3	0,8	0,2	0,5	1,414	0,808	
2	2	1	0,75	0,7	0,6	1,414	0,408	0,805
		2	1,3	0,6	0,2	1,414	1,149	
		3	0,85	0,2	0,5	1,414	0,859	
3	3	1	0,6	0,8	0,6	1,414	0,303	0,8
		2	1,4	0,6	0,2	1,414	1,238	
		3	0,85	0,2	0,5	1,414	0,859	

8.5 Hasil Nilai Resolusi pada Uji Presisi Hari Ketiga

Ulangan	Penolakan	Resolusi	d	W1	W2	$\sqrt{2}$	Hasil	Rerata Resolusi
1	1	1	0,85	0,7	0,6	1,414	0,462	0,887
		2	1,4	0,6	0,2	1,414	1,238	
		3	0,95	0,2	0,5	1,414	0,96	
2	2	1	0,85	0,7	0,6	1,414	0,462	0,887
		2	1,4	0,6	0,2	1,414	1,238	
		3	0,95	0,2	0,5	1,414	0,96	
3	3	1	0,8	0,8	0,6	1,414	0,404	0,884
		2	1,4	0,6	0,2	1,414	1,238	
		3	1	0,2	0,5	1,414	1,01	

Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian

9.1 Preparasi Sampel Biji Anggur Bali



Gambar 1. Biji anggur Bali



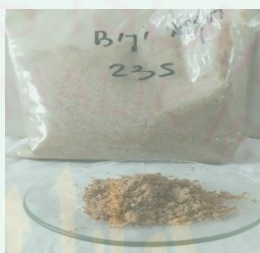
Gambar 2. Pencucian biji anggur Bali



Gambar 3. Biji anggur Bali kering



Gambar 4. Penggilingan sampel



Gambar 5. Serbuk sampel

9.2 Ekstraksi Ultrasonik



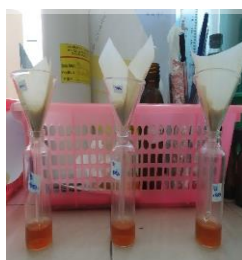
Gambar 6. Penimbangan serbuk sampel



Gambar 7. Penambahan pelarut ekstraksi



Gambar 8. Ekstraksi ultrasonik 20 kHz



Gambar 9. Filtrat ekstrak kasar biji anggur Bali

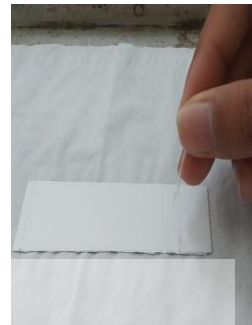
9.3 Kromatografi Lapis Tipis



Gambar 10. Penjenuhan Eluen



Gambar 11. Aktivasi Pelat KLT



Gambar 12. Penotolan ekstrak



Gambar 13. Proses elusi



Gambar 14. Pelat setelah elusi

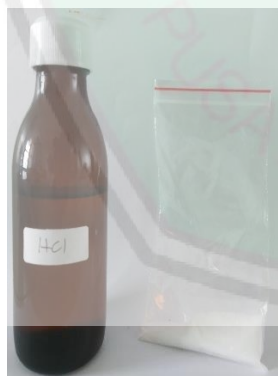


Gambar 15. Penyemprotan reagen



Gambar 16. Pelat setelah penyemprotan

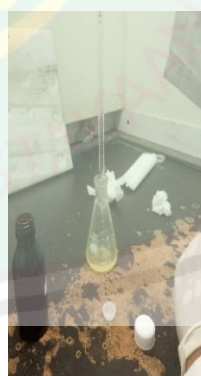
9.4 Pembuatan Reagen Vanillin-HCl



Gambar 17. Vanillin dan HCl



Gambar 18. Penimbangan vanillin



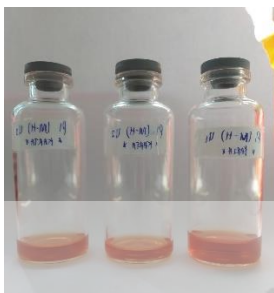
Gambar 19. Penambahan HCl



Gambar 20. Reagen vanillin-HCl

9.5 Filtrat Ekstrak Kasar

9.5.1 Filtrat Ekstrak Kasar Pelarut Metanol : Air : HCl (70:29:1)



Gambar 21. Ekstrak waktu 5 menit



Gambar 22. Ekstrak waktu 10 menit



Gambar 23. Ekstrak waktu 15 menit

9.5.2 Filtrat Ekstrak Kasar Pelarut Aseton : Air : Asam asetat (70:29,5:0,5)



Gambar 24. Ekstrak waktu 5 menit



Gambar 25. Ekstrak waktu 10 menit



Gambar 26. Ekstrak waktu 15 menit

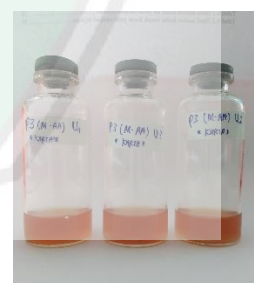
9.5.3 Filtrat Ekstrak Kasar Pelarut Metanol : Air : Asam asetat (70:29,9:0,1)



Gambar 27. Ekstrak waktu 5 menit



Gambar 28. Ekstrak waktu 10 menit



Gambar 29. Ekstrak waktu 15 menit