

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam penelitian jenis eksperimental laboratorik. Adapun tahapan dari penelitian ini adalah tahapan optimasi sintesis.

B. Tempat dan Lama Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium penelitian Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Penelitian dilakukan dari September 2016 – Februari 2017.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas : Kadar katalis NaOH, *power* radiasi *microwave* dan waktu reaksi.
2. Variabel tergantung : Hasil rendemen senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon.
3. Variabel Terkendali : Berat *starting material* 2,5-dihidroksiasetofenon dan piridin-2-karbaldehid.

D. Definisi Operasional

Variabel Operasional dari penelitian pengaruh kadar katalis NaOH, *power* radiasi *microwave* dan waktu reaksi terhadap rendemen sintesis senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon adalah :

1. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah *power* radiasi *microwave*, waktu reaksi dan kadar katalis NaOH yang digunakan pada sintesis senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon.
2. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah hasil rendemen senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon.
3. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah *starting material* dari senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon yaitu 2,5-dihidroksiasetofenon dan piridin-2-karbaldehid.

E. Instrumen Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan alat dan bahan sebagai berikut :

1. Alat-alat yang digunakan untuk sintesis senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon adalah *Beaker glass* (Pyrex), corong kaca (Pyrex), kertas saring, pipet tetes, *microwave* (LG *I-Wave* MS204200), mortir-stamper kaca, panci, timbangan analitik, sendok pengaduk dan penangas air (Maspion). Sementara alat yang digunakan untuk optimasi kondisi optimum pada sintesis senyawa target menggunakan seperangkat

komputer dengan *software Portable Statgraphic Centurion 15.2.11.0* yaitu aplikasi *Response Surface Methodology (RSM)*.

2. Alat-alat yang digunakan untuk uji kemurnian dan kualitatif adalah spektrofotometer IR merek *Shimadzu* tipe *FTIR-8201PC*, *Innotech Melting Point*, pipa kapiler, penggaris, *Chamber*, dan Silika Gel 60 F₂₅₄.
3. Bahan yang digunakan adalah 2,5-dihidroksiasetofenon (*Sigma*), 2-piridin-karbaldehid (*Sigma*), NaOH (*Merck*), aquadest dan Etanol (*E.Merck*).
4. Bahan yang digunakan untuk uji kemurnian KLT adalah etanol, kloroform dan hexana.

F. Cara Kerja

1. Sintesis Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon

Sintesis senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon dalam penelitian ini mengadopsi metode yang digunakan oleh Wibowo (2013). Sebanyak 0,152 gram (0,001 mol) 2,5-dihidroksiasetofenon ditimbang kemudian dicampurkan dengan 0,040 gram (0,001 mol) katalis NaOH hingga homogen dalam mortir. Lalu sebanyak 100 µl (0,001 mol) piridin-2-karbaldehid diteteskan dalam padatan dan dicampur hingga homogen. Campuran dimasukkan dalam *microwave* dengan *power* sebesar 140 watt dan waktu reaksi selama 4 menit. Hasil reaksi berupa padatan berwarna coklat kemudian didiamkan hingga dingin, lalu ditambahkan sedikit etanol untuk melarutkan senyawa 2,5-dihidroksiasetofenon, setelah itu dicuci dengan aquadest untuk menghilangkan *starting material* piridin-2-karbaldehid dan

NaOH, maka akan diperoleh padatan berwarna merah dan saring menggunakan kertas saring, tunggu padatan sampai kering. Padatan yang telah kering kemudian direkristalisasi dengan etanol, proses ini dimaksudkan untuk menghilangkan pengotor dan senyawa pengganggu lainnya, setelah beberapa menit saring kembali endapan kristal maka akan didapatkan senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon murni. Timbang berat senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon yang dihasilkan kemudian hitung rendemennya.

2. Pengaruh Katalis NaOH terhadap Rendemen Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon

Untuk mengetahui pengaruh katalis NaOH terhadap rendemen senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon maka dilakukan eksperimen sintesis senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon dengan berbagai variasi massa katalis NaOH sebesar 0 mol, 0,00025 mol, 0,00050 mol, 0,00075 mol, 0,001 mol, 0,00125 mol dan 0,002 mol dengan kekuatan *microwave* sebesar 140 watt selama 4 menit. Masing-masing variasi dilakukan replikasi sebanyak 3 kali dan dilakukan penimbang hasil rendemennya untuk mendapatkan massa katalis NaOH yang optimum.

3. Pengaruh *Power Microwave* terhadap Rendemen Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon

Setelah didapatkan massa katalis NaOH yang optimum, selanjutnya mencari pengaruh *power microwave* terhadap rendemen senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon, percobaan ini dilakukan dengan mensintesis senyawa target dalam variasi *power microwave* mulai dari 0 watt, 140 watt, 280 watt dan 420 watt selama 4 menit. Percobaan dilakukan dengan 3 kali replikasi dan dilakukan perhitungan rendemen senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon untuk mendapatkan *power microwave* yang optimum dalam menghasilkan rendemen terbanyak dari senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon.

4. Pengaruh Waktu Reaksi terhadap Rendemen Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon

Pengaruh waktu reaksi dalam sintesis senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon dilakukan dengan mereaksikan *starting material* dan massa katalis NaOH yang optimal dalam *power microwave* yang telah optimal selama 2 menit, 4 menit, 6 menit dan 8 menit. Dilakukan 3 kali replikasi di setiap menitnya, setelah itu dilakukan penghitungan rendemen senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon untuk mendapatkan lama waktu reaksi yang optimum dalam mensintesis senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon.

5. Optimasi Menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM)

Optimasi proses sintesis dilakukan dengan menggunakan *software Portable Statgraphic Centurion 15.2.11.0* yaitu aplikasi *Response Surface Methodology* (RSM). Aplikasi ini digunakan untuk mendisain sebuah eksperimen dan menganalisis fungsinya dalam upaya mendapatkan hasil optimum dari masing-masing variabel. Langkah kerja penggunaan aplikasi ini adalah pertama pilih *Design a new experiment* lalu *Design a experiment* dan selanjutnya *Response Surface*. Masukkan faktor-faktor seperti katalis, *power* radiasi *microwave* dan waktu reaksi dalam kolom yang disediakan, lalu isi nilai *low* dan *high* sesuai dengan hasil eksperimen yang didapat, selanjutnya klik OK dan ganti nama pada dialog teks yang muncul menjadi *rendemen* lalu klik OK. Setelah itu akan muncul *dialog box* bertuliskan *Box-Behnken design*, klik OK akan muncul *three level design*, klik OK sehingga akan menampilkan 15 eksperimen yang harus dilakukan untuk mendapatkan kondisi optimum dari faktor-faktor yang mempengaruhi *rendemen* senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon. Setelah melakukan eksperimen masukkan *rendemen* yang didapatkan dan analisa data dapat dilakukan dengan memilih DOE lalu *design analysis*, selanjutnya pilih *analyze design*. Masukkan *rendemen* pada kolom data dan klik OK. Akan muncul rumus serta grafik yang menggambarkan pengaruh faktor katalis, *power* radiasi *microwave* dan waktu reaksi terhadap *rendemen* senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon. Rumus fungsi pada lembar hasil tersebut dapat digunakan untuk

prediksi rendemen yang didapat secara teoritis apabila diberikan variasi massa katalis NaOH, *power* radiasi *microwave* dan waktu reaksi tertentu.

G. Analisis Kemurnian dan Kualitatif Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon

1. Titik Lebur

Sejumlah senyawa hasil sintesis dimasukkan dalam pipa kapiler kemudian pipa tersebut dimasukkan ke dalam *Innotech Melting Point* yang telah diatur pada rentang suhu tertentu. Uji dilakukan dengan replikasi sebanyak 3 kali. Senyawa hasil sintesis dikatakan murni jika memiliki titik lebur yang tajam dan jarak leburnya tidak melebihi 0,5-1 °C.

2. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

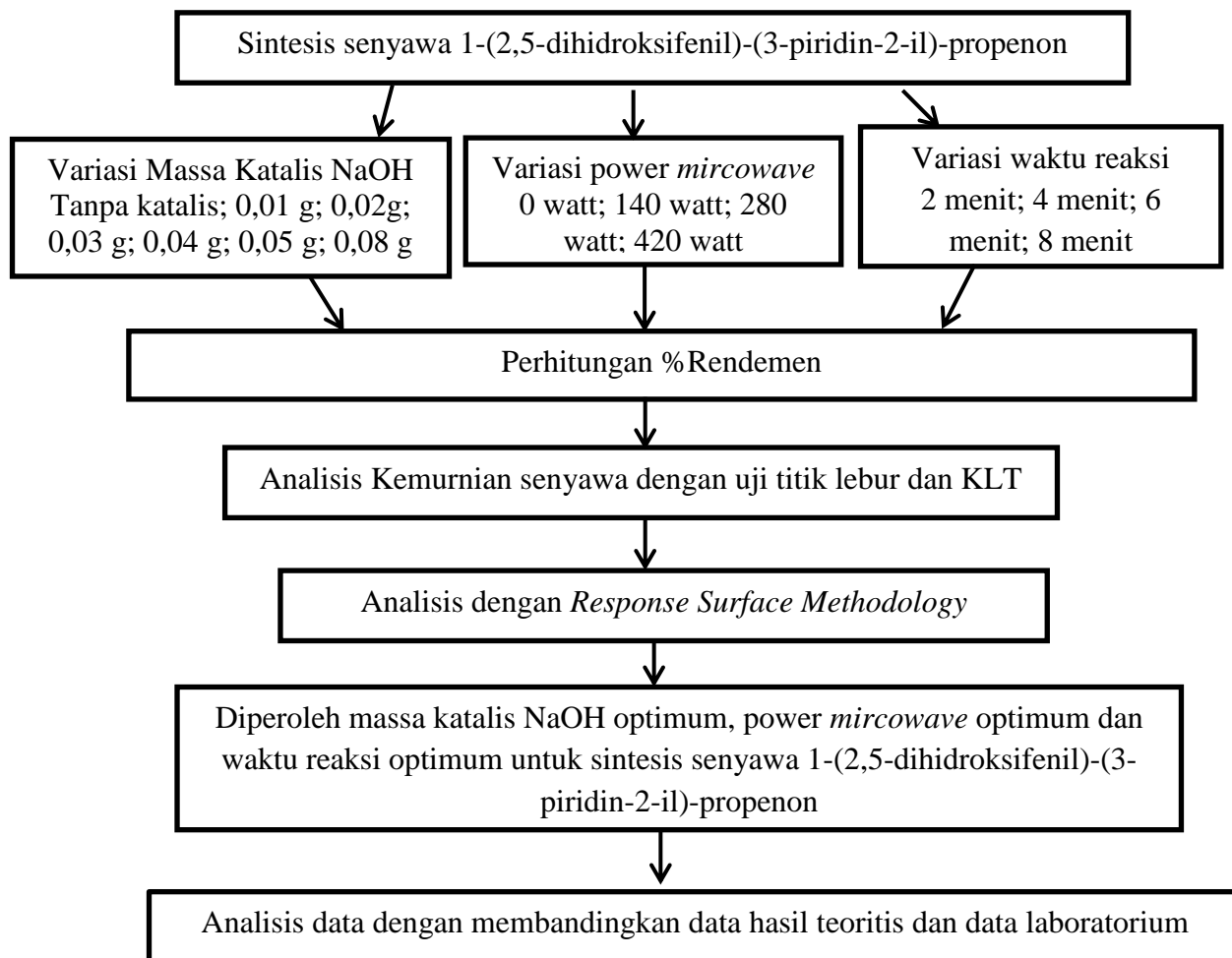
Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon dielusi menggunakan tiga fase gerak yang berbeda polaritasnya, yakni kloroform, etanol:heksana (2:1) dan etanol:heksana (1:10). Senyawa sintesis dikatakan murni jika hasil elusi pada tiga fase gerak tersebut menunjukkan 1 spot.

3. *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)

Hasil sintesis dibuat menjadi pellet KBr dengan cara dikempa dan direkam spektrumnya menggunakan spektrumnya menggunakan spektrofotometer merek *Shimadzu* tipe *FTIR-8201PC*.

H. Skema Langkah Kerja

Skema penelitian untuk sintesis senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon dengan katalis NaOH dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Bagan Uji Optimasi Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon.

I. Analisis Data

Pada penelitian ini dilakukan uji kualitatif yaitu uji kromatografi lapis tipis dan titik lebur, uji ini dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya senyawa 1-(2,5-

dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon. Bobot kristal senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon yang telah dikeringkan dicatat sebagai data rendemen hasil sintesis. Persentase perolehan rendemen senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot kristal kering}}{\text{bobot teoritis}} \times 100\%$$

Untuk mengetahui massa katalis NaOH, *power microwave*, dan waktu reaksi yang optimum pada sintesis senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon dalam menghasilkan rendemen terbanyak digunakan perangkat lunak *Portable Statgraphic Centurion 15.2.11.0* yaitu aplikasi *Response Surface Methodology* (RSM). Data diolah dan di analisis dengan menggunakan perangkat lunak tersebut untuk menentukan variabel-variabel yang paling mempengaruhi besarnya rendemen senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon. Nilai signifikansi data dicari dengan melakukan analisis menggunakan ANOVA dengan nilai probabilitas 5%.