

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

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

B. Tempat dan Waktu

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

C. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas : Massa katalis K_2CO_3 , daya *microwave* dan waktu reaksi.
2. Variabel tergantung : Hasil rendemen senyawa AEW1.
3. Variabel Terkendali : Jumlah mol *starting material*.

D. Definisi Operasional

Variabel Operasional dari penelitian optimasi massa katalis K_2CO_3 , daya *microwave* dan waktu reaksi terhadap rendemen sintesis senyawa AEW1 adalah :

1. Senyawa AEW1 adalah senyawa turunan kalkon dengan rumus molekul $C_{14}H_{11}O_3N$ mempunyai bobot molekul (BM) 241 serta memiliki efek farmakologis sebagai antiinflamasi dan antioksidan.

2. Katalis K_2CO_3 merupakan katalis garam yang sering digunakan dalam sintesis senyawa karena tidak toksik, murah, dan mudah digunakan.
3. Waktu reaksi adalah waktu yang diperlukan suatu senyawa kimia untuk bereaksi membentuk senyawa baru.
4. Rendemen adalah rasio perbandingan bobot produk hasil sintesis senyawa dengan bobot teoritis senyawa pada suatu reaksi kimia yang dinyatakan dalam persen.
5. *Starting material* merupakan bahan dasar untuk mensintesis suatu senyawa. Pada sintesis senyawa AEW1 *starting material* yang digunakan yaitu 2,5-dihidroksiasetofenon dan piridin-2-karbaldehid.

E. Instrumen Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan alat dan bahan sebagai berikut:

1. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan adalah mortir-stamper kaca, gelas beker (*Pyrex*), sendok pengaduk, panci, corong kaca (*Pyrex*), kertas saring, pipet tetes, neraca analitik (*Wiggen Hauser*), pipa kapiler, *microwave* (LG I-Wave MS204200), plat KLT silica gel 60 GF₂₅₄, lampu UV 254, bejana untuk KLT dan *Innotech Melting Point*. 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. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk sintesis AEW1 adalah 2,5-dihidroksiasetofenon (*Sigma*), 2-piridin-karbaldehid (*Sigma*), K_2CO_3 (*E. Merck*), etanol (*E. Merck*) dan aquadest. Jika tidak dinyatakan lain, bahan kimia tersebut berderajat analisis.

F. Cara Kerja

1. Pengaruh massa K_2CO_3 terhadap rendemen senyawa AEW1

Sebanyak 152 mg (1 mmol) 2,5-dihidroksiasetofenon ditimbang seksama kemudian dicampurkan hingga homogen menggunakan mortir dan stemper dengan K_2CO_3 anhidrat sesuai dengan variasi kadar yang telah ditentukan. Variasi kadar K_2CO_3 yang ditambahkan pada penelitian ini adalah tanpa katalis K_2CO_3 , 34,5 mg (0,25 mmol), 69 mg (0,5 mmol), 103,5 mg (0,75 mmol), 138 mg (1 mmol), 276 mg (2 mmol) dan 414 mg (3 mmol). Kemudian sebanyak 100 μ l 2-piridin-karbaldehid diteteskan dalam padatan dan dicampur hingga homogen. Campuran kemudian dimasukkan kedalam *microwave* selama 4 menit dengan daya 140 watt. Hasil reaksi berupa padatan berwarna kecoklatan kemudian didiamkan hingga dingin. Padatan dicuci dengan etanol dan air sambil digerus sampai diperoleh padatan berwarna merah tua, kemudian dilanjutkan proses rekristalisasi. Massa katalis K_2CO_3 optimum untuk sintesis AEW1 ditandai dengan penambahan K_2CO_3 yang memperoleh rendemen tertinggi.

2. Pengaruh daya *microwave* terhadap rendemen senyawa AEW1

Sebanyak 152 mg (1 mmol) 2,5-dihidroksiasetofenon ditimbang seksama kemudian dicampurkan hingga homogen menggunakan mortir dan stemper dengan K_2CO_3 anhidrat. Kadar K_2CO_3 yang digunakan yaitu yang menghasilkan rendemen tertinggi pada percobaan 1. Kemudian sebanyak 100 μ l 2-piridin-karbaldehid diteteskan dalam padatan dan dicampur hingga homogen. Untuk mengetahui daya *microwave* optimum untuk mensintesis senyawa AEW1, campuran dimasukkan kedalam *microwave* dengan variasi daya yaitu tanpa daya *microwave*, 140, 260, dan 480 selama 4 menit. Hasil reaksi berupa padatan berwarna kecoklatan kemudian didiamkan hingga dingin. Padatan dicuci dengan etanol dan air sambil digerus sampai diperoleh padatan berwarna merah tua, kemudian dilanjutkan proses rekristalisasi. Daya *microwave* optimum untuk sintesis senyawa AEW1 ditandai dengan daya *microwave* yang memperoleh rendemen tertinggi.

3. Pengaruh waktu reaksi terhadap rendemen senyawa AEW1

Sebanyak 152 mg (1 mmol) 2,5-dihidroksiasetofenon ditimbang seksama kemudian dicampurkan hingga homogen menggunakan mortir dan stemper dengan K_2CO_3 anhidrat. Kadar K_2CO_3 yang digunakan yaitu yang menghasilkan rendemen tertinggi pada percobaan 1. Kemudian sebanyak 100 μ l 2-piridin-karbaldehid diteteskan dalam padatan dan dicampur hingga homogen. Campuran kemudian

dimasukkan kedalam *microwave*. Untuk mengetahui kondisi optimum waktu reaksi sintesis senyawa AEW1, digunakan daya *microwave* yang menghasilkan rendemen tertinggi pada percobaan 2 dengan variasi waktu reaksi yaitu 2 menit, 4 menit, 6 menit dan 8 menit. Hasil reaksi berupa padatan berwarna kecoklatan kemudian didiamkan hingga dingin. Padatan dicuci dengan etanol dan air sambil digerus sampai diperoleh padatan berwarna merah tua, kemudian dilanjutkan proses rekristalisasi. Waktu reaksi optimum untuk sintesis senyawa AEW1 ditandai dengan waktu reaksi yang memperoleh rendemen tertinggi.

4. Proses Rekristalisasi

Proses rekristalisasi diawali dengan pelarutan padatan hasil reaksi dalam 5 ml etanol yang dipanaskan. Setelah itu, larutan panas disaring untuk menghilangkan partikel-partikel pengotor yang tidak larut. Kemudian filtrat didinginkan untuk mengkristalkan senyawa kembali dan memisahkan kristal yang terbentuk dari pelarut. Hasil sintesis senyawa AEW1 berupa kristal berbentuk amorf berwarna merah.

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

Optimasi proses sintesis senyawa AEW1 dibuat dengan menggunakan perangkat lunak *portable statgraphic centurion* 15.2.11.0 yaitu aplikasi *Response Surface Methodology* (RSM) dengan 3 faktor yang digunakan yaitu massa katalis K_2CO_3 , daya

microwave dan waktu reaksi. Pertama, buka aplikasi *Response Surface Methodology (RSM)*, klik *Design a new experiment* lalu klik *Design a experiment* dan selanjutnya klik *Response Surface*. Masukkan faktor-faktor yang digunakan, lalu isi nilai *low* dan *high* sesuai dengan eksperimen yang didapat pada kolom yang tersedia, selanjutnya klik OK. Maka akan muncul dialog teks *response definition*, lalu tuliskan rendemen pada kolom yang tersedia. Setelah itu akan muncul kotak dialog bertuliskan *Box-Behnken design*, klik OK akan muncul kotak dialog *three level design*, klik OK sehingga akan menampilkan 15 eksperimen yang harus dilakukan untuk mendapatkan kondisi optimum dari faktor-faktor yang mempengaruhi rendemen senyawa AEW1. Hasil rendemen yang didapat dari eksperimen tersebut kemudian dimasukkan dan dilakukan analisis data dengan memilih DOE lalu klik *design analysis*, selanjutnya pilih *analyze design*. Masukkan rendemen pada kolom data dan klik OK. Maka akan muncul rumus serta grafik yang menggambarkan pengaruh faktor katalis, daya *microwave* dan waktu reaksi terhadap rendemen senyawa AEW1. Rumus fungsi pada lembar hasil tersebut dapat digunakan untuk menghitung rendemen yang didapat secara teoritis apabila diketahui massa katalis K_2CO_3 , daya *microwave* dan waktu reaksinya.

6. Analisis kemurnian senyawa hasil sintesis

a) Titik lebur

Senyawa hasil sintesis diuji titik leburnya dengan alat *Innotech Melting Point*. Diamati pada suhu berapa kristal mulai meleleh dan pada suhu berapa seluruh kristal meleleh. Senyawa hasil sintesis dikatakan murni, apabila kisaran titik leburnya lebur kurang dari 2° C.

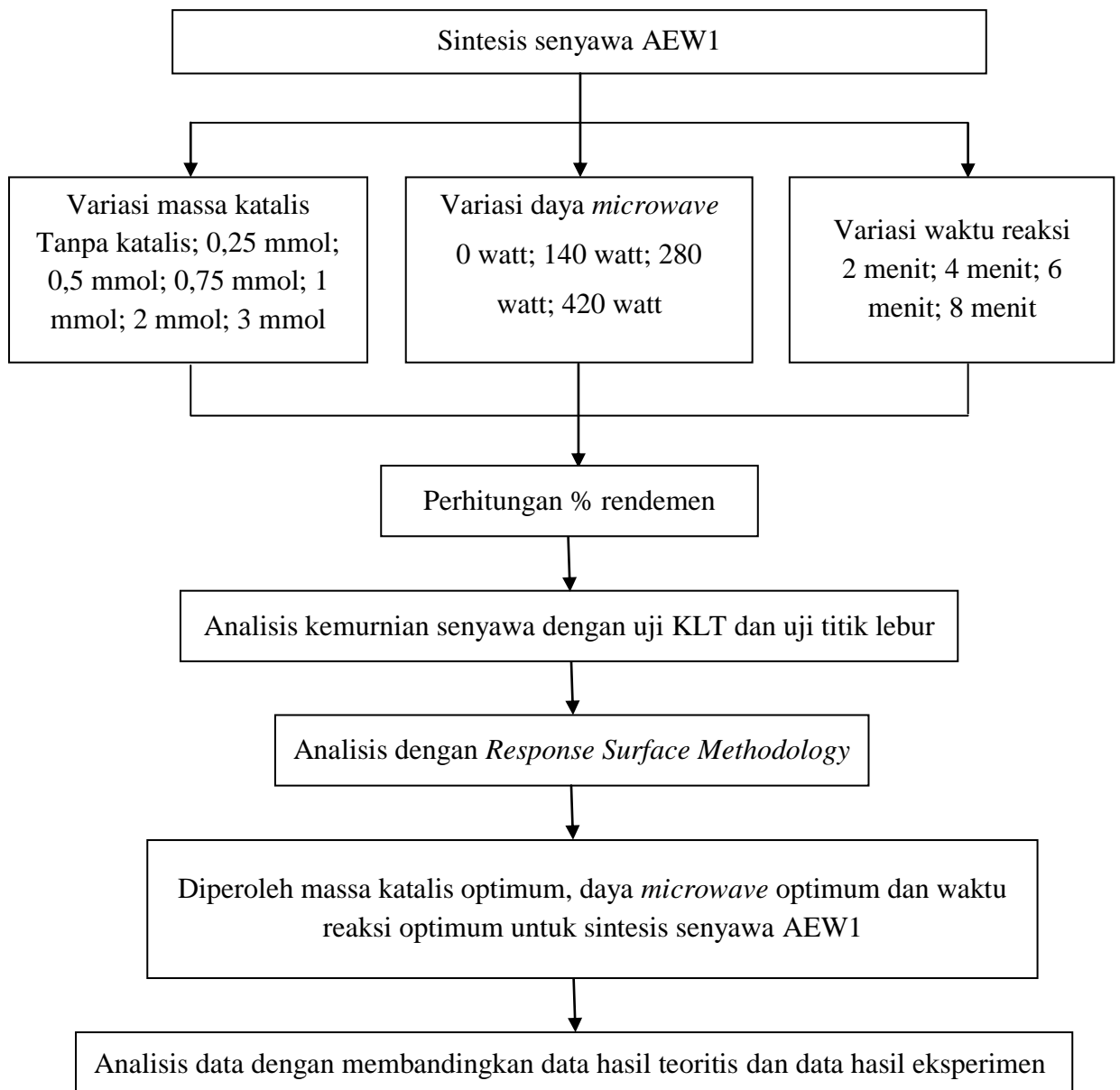
b) Pengujian kromatografi lapis tipis (KLT)

Senyawa hasil sintesis dilarutkan dalam etano p.a, ditotolkan pada lempeng silika Gel₂₅₄ dengan fase gerak sebagai berikut:

- a. Kloroform
- b. Etanol : heksana (2:1)
- c. Etanol : heksana (1:10)

Kromatogram dideteksi dengan sinar UV 254. Senyawa hasil sintesis dikatakan murni secara KLT jika hasil elusi pada tiga fase gerak tersebut menunjukkan satu bercak.

G. Skema Langkah Kerja



Gambar 3. Skema langkah kerja optimasi senyawa AEW1

H. Analisis Data

Analisis hasil sintesis senyawa AEW1 dilakukan secara kuantitatif berdasarkan perhitungan rendemen. Uji kualitatif senyawa hasil sintesis berdasarkan uji KLT dan uji titik lebur. Persentase perolehan rendemen senyawa AEW1 dihitung dengan rumus:

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

Untuk mengetahui massa katalis K_2CO_3 , daya *microwave* serta waktu reaksi yang optimum untuk mensintesis senyawa AEW1 dalam meningkatkan hasil rendemen digunakan perangkat lunak *Portable Statgraphic Centurion 15.2.11.0* yaitu aplikasi *Response Surface Methodology* (RSM). Data diolah dan dianalisis menggunakan perangkat lunak tersebut untuk menentukan variabel-variabel mana yang paling mempengaruhi besarnya rendemen senyawa. Nilai signifikansi data dicari dengan melakukan analisis menggunakan ANOVA dengan nilai probabilitas 5%.