

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratorik. Tahapan penelitian ini yaitu sintesis, isolasi, dan analisis GVT-0. Tahap sintesis yaitu membuat GVT-0 dengan variasi waktu pemanasan. Setelah itu, pada tahap isolasi dilakukan pemisahan GVT-0 dari senyawa lain. Tahap akhir dari penelitian ini yaitu analisis GVT-0 menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Densitometri.

#### **B. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dari Juni 2016 sampai Juni 2017 di Laboratorium Penelitian Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

#### **C. Variabel Penelitian**

1. Variabel bebas : Waktu pemanasan (jam).
2. Variabel tergantung : Jumlah GVT-0 hasil sintesis (%).
3. Variabel terkontrol : Katalisator ( $\mu$ l), *raw material*, skala pemanasan *heating mantle*.

#### **D. Definisi Operasional**

1. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah waktu pemanasan dengan variasi 1 jam, 2 jam, 3 jam dan 4 jam.
2. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah jumlah GVT-0 hasil sintesis yang dinyatakan dalam persen (%).

3. Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah katalisator berupa HCl pekat 37 % sebanyak 50 µl, *raw material* berupa vanilin 2 mol dan aseton 1 mol atau vanilin 4,141 gram dan aseton 1 ml kemudian skala pemanasan *heating mantle* sebesar 4,5.

#### **E. Instrumen Penelitian**

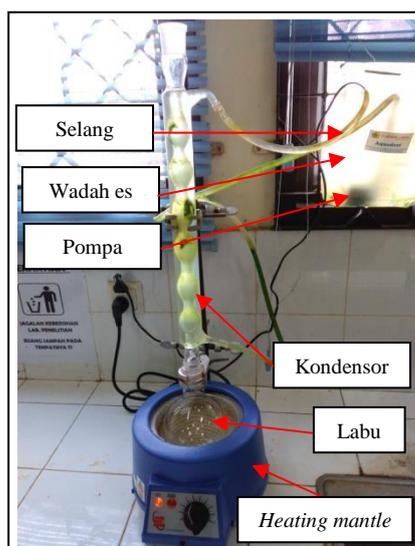
1. Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu gelas beker Iwaki Pyrex, labu alas bulat Iwaki Pyrex, mortir, stamper, mikro pipet Socorex, *yellow tip*, *blue tip*, pipet tetes, pipet volume Iwaki Pyrex, pipet ukur Iwaki Pyrex, kondensor Iwaki Pyrex, pompa air, *heating mantle* Bibby Scientific, kertas saring, *magnetic stirrer* Cimarec, corong Herma, cawan porselen, plat KLT silika gel 60 F<sub>254</sub> Merck, bejana KLT Camag, *microsyringe* Hamilton Co., neraca analitik Mettler Toledo, dan *TLC scanner 4* Camag.
2. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu vanilin teknis Brataco, aseton pro analisis Merck, HCl pekat 37% Merck, etanol pro analisis 96% Merck, kloroform pro analisis Merck, asam asetat glasial Brataco, natrium sulfat anhidrat Brataco, metanol pro analisis Merck, etil asetat pro analisis Merck, dan aquadest Brataco.

#### **F. Cara Kerja**

##### **1. Sintesis Gamavuton-0**

Sintesis Gamavuton-0 atau GVT-0 dilakukan memakai metode Samtisar (Samhoedi-Timmerman-Sardjiman) yang telah dimodifikasi. Sintesis menggunakan *raw material* vanilin dan aseton serta HCl sebagai

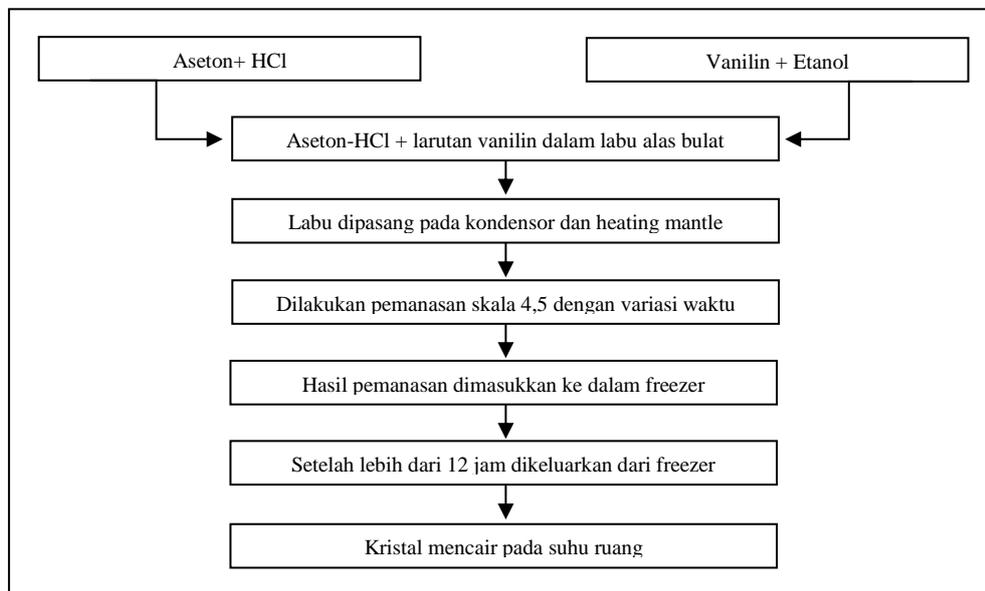
katalis. Ratio *raw material* vanilin : aseton yaitu 2:1 mol. Tahap pertama yang dilakukan yaitu mencampur aseton sebanyak 10 ml dengan HCl sebanyak 50  $\mu$ l. Vanilin ditimbang sebanyak 4,141 gram dan dihaluskan dalam mortir kemudian dimasukkan ke dalam labu alas bulat. Etanol sebanyak 8 ml ditambahkan ke dalam labu alas bulat yang berisi vanilin kemudian dikocok sampai vanilin larut. Campuran aseton dan HCl diambil sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan ke dalam labu alas bulat yang berisi larutan vanilin. Pengaturan alat sintesis dapat dilihat pada gambar 9.



**Gambar 9.** Pengaturan alat sintesis

Air yang mengalir melalui kondensor diatur agar tetap dingin menggunakan es. *Heating mantle* diatur pada skala 4,5 dengan variasi waktu pemanasan 1 jam, 2 jam, 3 jam, dan 4 jam. Proses ini menghasilkan larutan kuning kecoklatan. Setelah itu, labu alas bulat dimasukkan ke dalam *freezer*. Hasil yang didapatkan berupa kristal

kuning kecoklatan yang mencair pada suhu ruang. Tahapan sintesis GVT-0 dapat dilihat pada gambar 10.

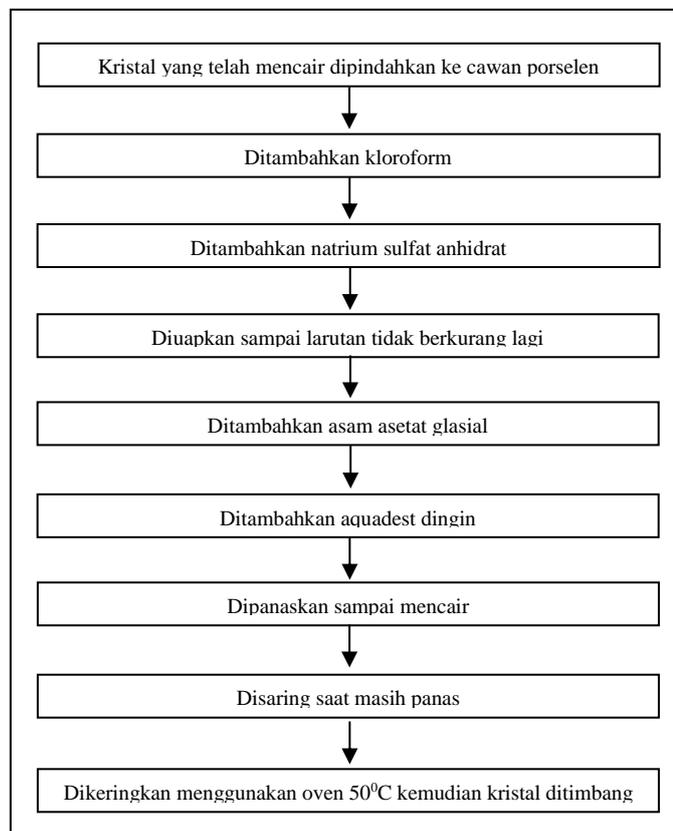


**Gambar 10.** Skema sintesis gamavuton-0

## 2. Isolasi Gamavuton-0

Isolasi Gamavuton atau GVT-0 dilakukan dengan cara maserasi. Kristal yang telah mencair dipindahkan ke cawan porselen. Ditambahkan kloroform sebanyak 2 ml pada cawan porselen kemudian diaduk perlahan. Ditambahkan natrium sulfat anhidrat yang telah dipanaskan sebanyak satu sendok spatula kemudian diaduk perlahan. Larutan diuapkan sampai jumlah larutan tidak berkurang lagi. Ditambahkan asam asetat glasial dua tetes dan diaduk perlahan. Setelah itu, ditambahkan aquadest dingin kemudian larutan membentuk padatan. Padatan dipanaskan sampai mencair kemudian disaring saat masih panas. Zat yang berada pada kertas saring dikeringkan menggunakan oven pada

suhu 50°C kemudian kristal GVT-0 yang didapatkan ditimbang. Tahapan isolasi GVT-0 dapat dilihat pada gambar 11.

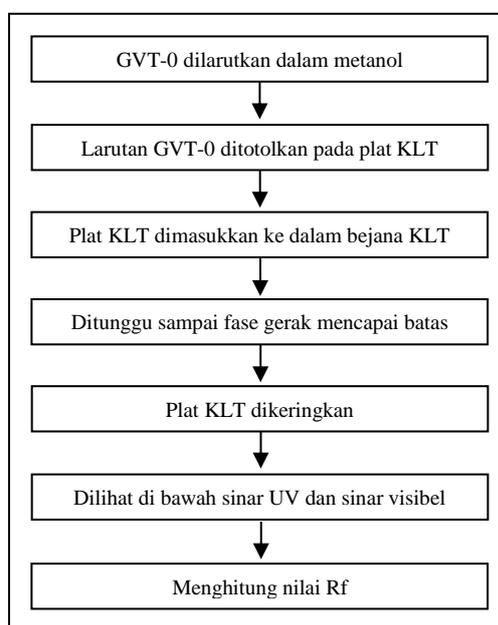


**Gambar 11.** Skema isolasi gamavuton-0

### 3. Analisis Gamavuton-0

Analisis Gamavuton-0 atau GVT-0 dilakukan secara kualitatif menggunakan KLT dan secara kuantitatif menggunakan Densitometri. KLT digunakan untuk menganalisis GVT-0 dengan cara mengalirkan sampel yang terdapat pada fase diam menggunakan fase gerak sehingga senyawa yang terdapat dalam sampel akan terpisah berdasarkan kelarutan. Kristal GVT-0 sebanyak 40 mg dilarutkan dalam metanol 1 ml. Larutan GVT-0 diambil sebanyak 15 µl menggunakan microsyringe kemudian diteteskan pada fase diam yaitu plat KLT silica gel 60 F<sub>254</sub>.

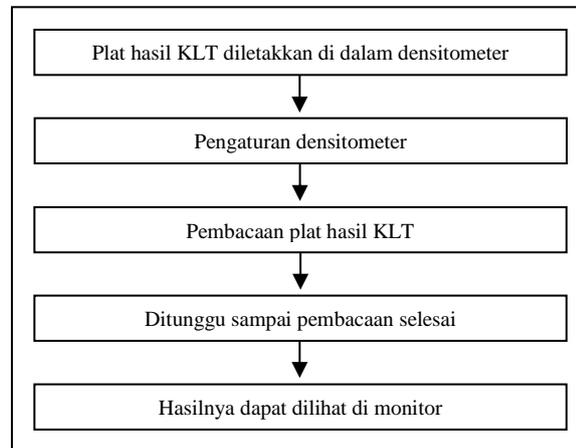
Plat KLT dimasukkan ke dalam bejana KLT yang telah dijenuhkan oleh fase gerak yaitu kloroform : etil asetat (5:1). Setelah fase gerak mencapai tanda batas atas plat KLT kemudian plat KLT dikeringkan. Plat KLT yang telah dikeringkan kemudian dilihat di bawah sinar UV dan sinar visibel. Setelah itu dihitung nilai Rf untuk mengetahui senyawa yang terkandung. Urutan melakukan KLT dapat dilihat pada gambar 12.



**Gambar 12.** Skema Kromatografi Lapis Tipis

Densitometri digunakan untuk menganalisis GVT-0 dengan membaca hasil KLT menggunakan TLC scanner (densitometer). Hasil yang diperoleh dapat berupa peak, luas area, dan nilai Rf. Cara menggunakan densitometer yaitu meletakkan plat hasil KLT di dalam densitometer. Pengaturan densitometer disesuaikan dengan plat hasil KLT. Jika sudah sesuai kemudian mulai melakukan pembacaan oleh densitometer. Ditunggu sampai proses pembacaan selesai kemudian

hasilnya dapat dilihat di monitor. Urutan melakukan densitometri dapat dilihat pada gambar 13.



**Gambar 13.** Skema Densitometri

#### **G. Analisis Data**

Pengaruh waktu pemanasan pada penelitian ini dapat dianalisa menggunakan grafik regresi linier. Selain pengaruh waktu pemanasan, waktu pemanasan optimum juga dapat dihitung untuk mengoptimalkan GVT-0 yang terbentuk.