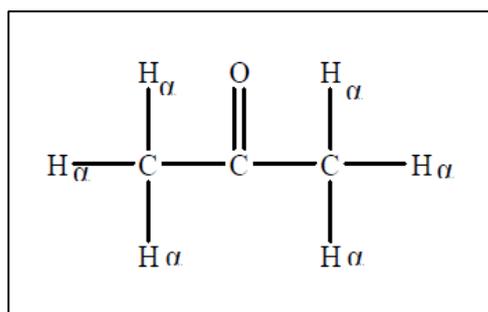


BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Sintesis GVT-0

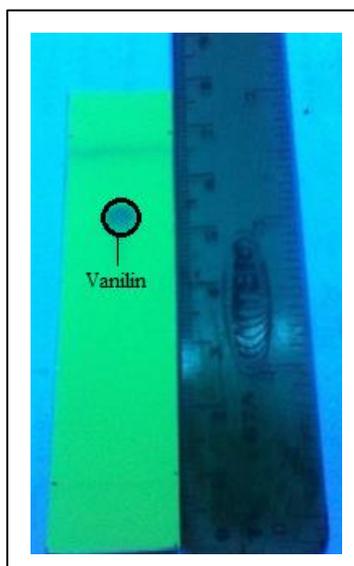
Sintesis GVT-0 dalam penelitian ini mengikuti metode Samhoedi-Timmerman-Sardjiman (SAMTISAR) dengan beberapa modifikasi. Pada penelitian Fahrurozi (2008), GVT-0 disintesis menggunakan *starting material* vanilin dan aseton dengan penambahan asam tanpa menggunakan pelarut. Sintesis dilakukan pada suhu -10°C , berikutnya pada suhu kamar (Sardjiman, 2000). Pada penelitian ini, sintesis GVT-0 menggunakan *starting material* vanilin dan aseton dengan menggunakan pelarut etanol. Pengadukan dilakukan selama 1,5 jam, kemudian dilakukan pemanasan menggunakan *heating mantle* pada skala 4. Dalam sintesis GVT-0 reaksi yang terjadi adalah reaksi kondensasi Claisen-Schmidt. Reaksi ini dapat terjadi pada senyawa yang memiliki H_{α} seperti aseton (Gambar 7) dengan senyawa karbonil yang tidak memiliki H_{α} seperti pada vanilin.



Gambar 7. Atom Hidrogen H_{α} pada aseton.

Pada penelitian ini variasi perbandingan *starting material* vanilin dan aseton yang digunakan adalah 2:1, 3:1, 4:1 dan 5:1. Vanilin yang digunakan diperoleh dari Laboratorium Kimia Organik, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan.

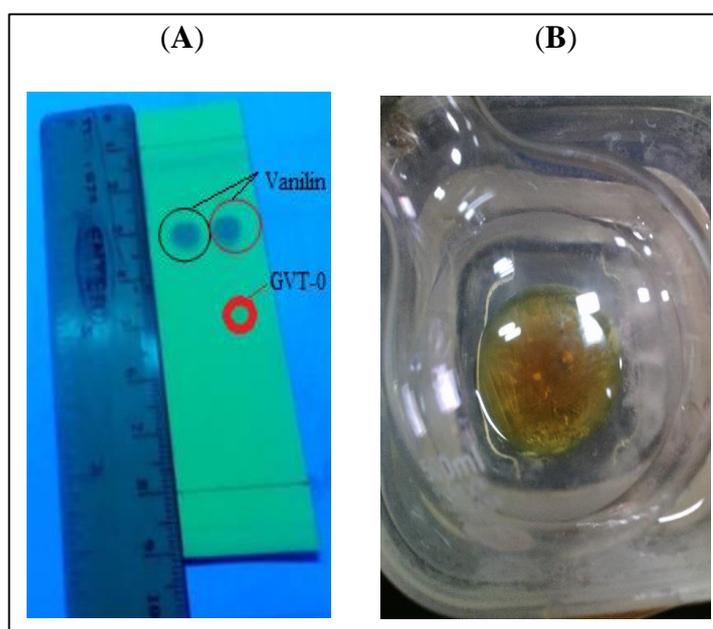
Vanilin terlebih dahulu dilakukan identifikasi karena yang digunakan pada penelitian ini merupakan vanilin teknis bukan pro sintesis. Sedangkan aseton tidak perlu dilakukan identifikasi karena merupakan aseton pro analisis. Identifikasi vanilin dilakukan dengan 2 cara yaitu secara organoleptik dan uji KLT. Hasil identifikasi organoleptik vanilin dari Universitas Ahmad Dahlan berupa serbuk kristal, berbentuk jarum, berwarna putih, dengan rasa dan bau khas vanilin yang sesuai dengan pemerian vanilin pada Farmakope Edisi IV. Selanjutnya dilakukan identifikasi menggunakan KLT dengan perbandingan nilai R_f yang diperoleh dari penelitian sebelumnya. Menurut penelitian Fahrurrozi (2008), nilai R_f vanilin sebesar 0,72, sedangkan nilai R_f vanilin pada penelitian ini tidak jauh berbeda yaitu sebesar 0,73. Berdasarkan analisis organoleptik dan uji KLT, maka vanilin yang diperoleh dari Universitas Ahmad Dahlan layak untuk digunakan dalam sintesis. Hasil KLT dari *starting material* vanilin dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Hasil KLT dari *starting material* vanilin.

Sebelum melakukan optimasi, perlu dilakukan validasi metode sintesis yang digunakan dalam penelitian. Hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa metode

yang digunakan dapat menghasilkan GVT-0. Validasi metode ini dilakukan dengan cara membandingkan GVT-0 hasil yang didapatkan dengan hasil penelitian sebelumnya. Secara organoleptik diperoleh senyawa berwarna kuning kehijauan dan berbentuk kristal yang sesuai dengan penelitian sebelumnya. Sedangkan uji KLT diperoleh nilai R_f yang sama dengan penelitian Fahrurrozi (2008) yaitu 0,5. Hasil KLT dan kristal hasil sintesis GVT-0 dapat dilihat pada Gambar 9.A dan 9.B.



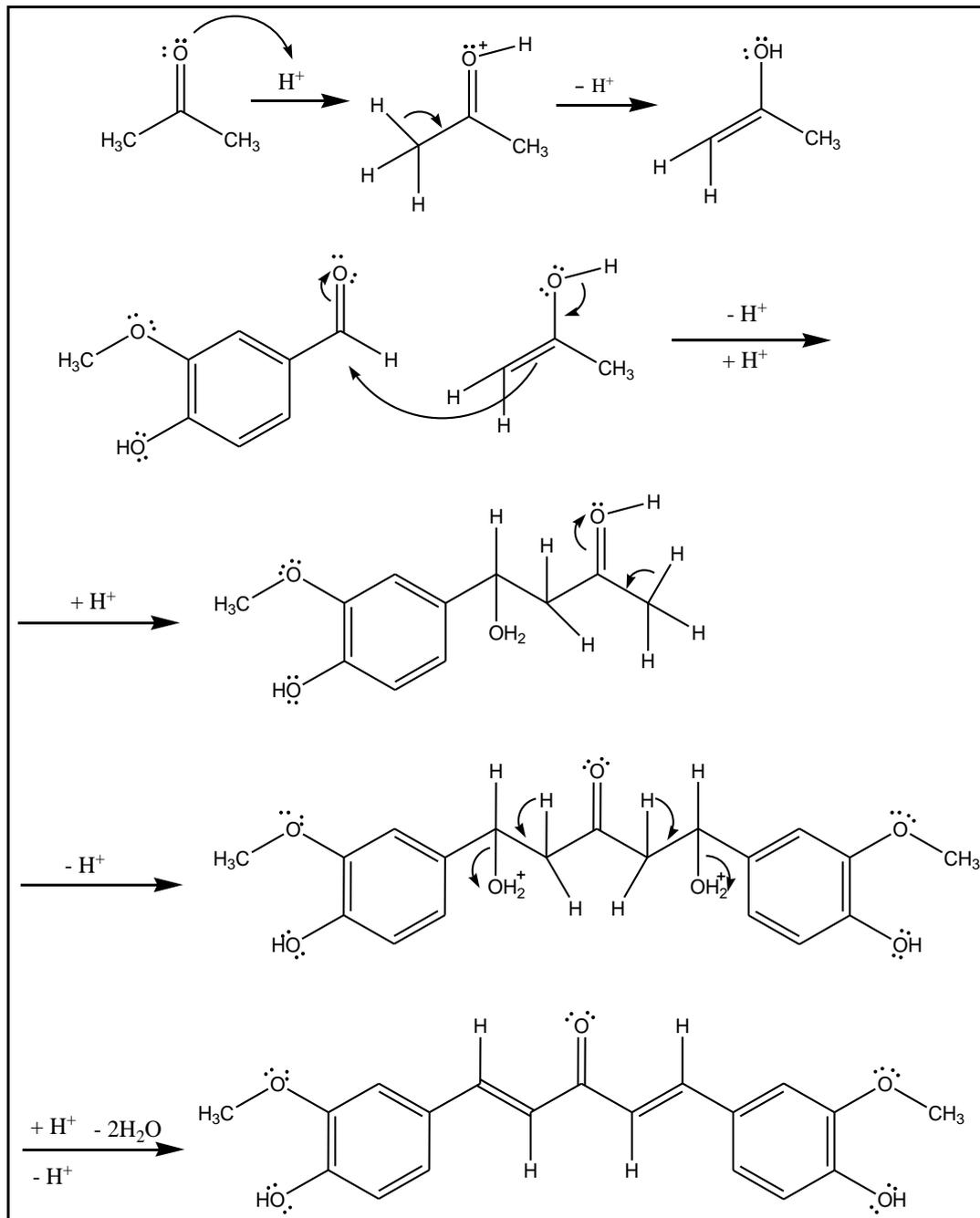
Gambar 9. A. KLT (R_f vanilin = 0,72 ; R_f GVT-0 = 0,52 ; Deteksi pada λ 254 nm). B. Kristal GVT-0 hasil sintesis.

Proses sintesis GVT-0 pada penelitian ini menggunakan pemanasan untuk mempercepat reaksi. Dikarenakan melibatkan proses pemanasan, maka prosesnya dimodifikasi dengan menggunakan *heating mantle* dan kondensor. Penggunaan *heating mantle* sebagai pemanas bertujuan agar diperoleh pemanasan yang konstan dan merata. Kondensor digunakan bertujuan untuk pendingin pada saat reaksi karena sifat aseton yang mudah menguap. Aseton yang menguap akibat

pemanasan pada saat reaksi akan terkondensasi kembali dan akan mengoptimalkan reaksi pada sintesis GVT-0.

Hasil reaksi yang berupa larutan didiamkan selama 12 jam pada air dingin. Pendiaman ini bertujuan untuk menghentikan reaksi yang terjadi secara tiba-tiba. Dengan penghentian yang tiba-tiba, didiamkan pada suhu dingin akan mempercepat terbentuknya kristal GVT-0. Setelah didiamkan akan terdapat senyawa kristal dan larutan berwarna kuning kehijauan. GVT-0 kemudian diekstraksi dengan kloroform. Berdasarkan prinsip *like dissolve like* dimana senyawa yang memiliki kepolaran sama akan mudah tercampur satu sama lain. Kemudian fase kloroform yang telah dipisahkan ditambahkan Na sulfat anhidrat yang berfungsi sebagai pengikat tapak-tapak air yang terdapat pada fase kloroform yang dipisahkan, sehingga akan mendapatkan residu yang kering pada saat penguapan.

Tahapan pertama pembentukan GVT-0 dengan reaksi kondensasi Claisen-Schmidt adalah Protonasi atom O pada gugus karbonil aseton. Hasil protonasi tersebut akan membentuk intermediet enol yang berperan sebagai nukleofil. Kemudian nukleofil yang terbentuk akan menyerang atom C karbonil pada gugus aldehid vanilin. Hal tersebut dikarenakan atom C karbonil memiliki muatan yang lebih positif sehingga akan lebih reaktif dan menghasilkan ikatan $\alpha\beta$ -unsaturated karbonil. Atom O keton $\alpha\beta$ -unsaturated akan membentuk senyawa antara intermediet enol. Senyawa ini akan menyerang gugus karbonil aldehid vanilin kedua untuk membentuk ikatan GVT-0. Tahapan-tahapan reaksi pada sintesis GVT-0 yang dilakukan oleh Sardjiman (2000) dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Reaksi sintesis GVT-0.
(Sardjiman, 2000)

Proses selanjutnya adalah rekristalisasi agar didapatkan senyawa yang berbentuk kristal yang baik. Dalam proses rekristalisasi ditambahkan asam asetat

glasial yang berfungsi melarutkan residu hitam hasil penguapan. Setelah dilarutkan, dilakukan penambahan aquades pada kondisi dingin sehingga akan terbentuk senyawa berwarna kuning. Selanjutnya dilakukan penyaringan untuk memisahkan kristal dari campuran. Senyawa hasil rekristalisasi tersebut kemudian dimaserasi dengan air panas yang bertujuan untuk menghilangkan vanilin yang larut air panas. Senyawa vanilin akan larut dengan air panas tetapi tidak dengan GVT-0. Sehingga senyawa hasil rekristalisasi tersebut telah diasumsikan murni dari vanilin dan senyawa pengotor lainnya. Hasil pemurnian GVT-0 dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Hasil pemurnian GVT-0 dengan variasi perbandingan *starting material* vanilin dan aseton (2:1, 3:1, 4:1, dan 5:1).

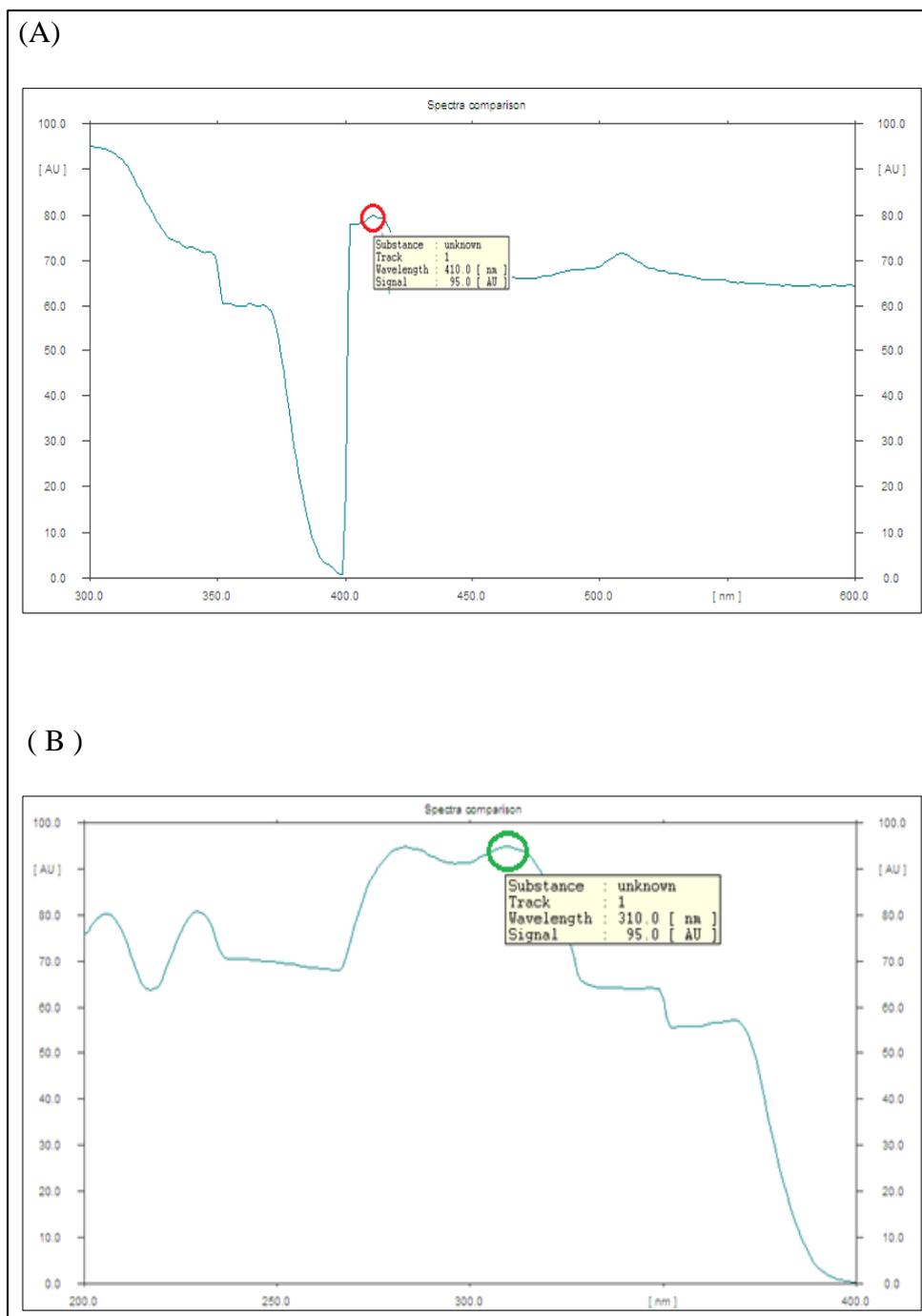
B. Analisis Kualitatif Dan Kuantitatif GVT-0

Hasil sintesis GVT-0 kemudian diuji kemurniannya dengan menggunakan KLT. KLT merupakan bentuk kromatografi planar selain kromatografi kertas dan elektroforesis. Kinerja lapisan KLT tergantung pada karakteristik fisika-kimia

penjerap, seperti luas permukaan spesifik, diameter rata-rata pori dan distribusinya, serta ukuran dan distribusi partikel. Rata-rata ukuran partikel penjerap KLT adalah 10-50 mikron. Semakin kecil ukuran partikel maka akan semakin meningkatkan resolusinya, menurunkan waktu analisis dan meningkatkan sensitifitas deteksi. Uji KLT senyawa GVT-0 menggunakan pembanding vanilin. Adapun fase diam yang digunakan adalah silika GF 254. Silika GF 254 merupakan lempeng KLT yang mengandung lapisan halus gipsum ditambah dengan bahan yang berflouresensi pada panjang gelombang 254 nm. Sedangkan fase gerak yang digunakan disesuaikan dengan penelitian yang dilakukan oleh Fahrurozi. Fase gerak yang digunakan pada penelitian ini adalah kloroform : etil asetat (5: 1) dengan jarak elusi 8 cm. Fase gerak yang digunakan harus mempunyai kemurnian yang sangat tinggi karena KLT merupakan teknik yang sangat sensitif pada analisis kualitatif. Pemilihan fase gerak kloroform dan etil asetat akan menghasilkan fase gerak yang memiliki kepolaran yang lebih tinggi daripada kloroform dan lebih rendah daripada etil asetat. Pada analisis KLT dengan silika, polaritas fase gerak akan menentukan kecepatan migrasi solut yang berarti juga menentukan nilai R_f (Rohman, A., 2007). Berdasarkan pengujian KLT didapatkan nilai R_f GVT-0 sebesar 0,5, sedangkan senyawa pembanding vanilin sebesar 0,72. Nilai R_f yang didapatkan tidak jauh berbeda dari penelitian Fahrurozi (2008) yaitu pada GVT-0 sebesar 0,5 dan vanilin sebesar 0,73.

Selanjutnya lempeng KLT dilakukan *scanning* panjang gelombang dengan menggunakan Densitometri / TLC *scanner*. Densitometri adalah suatu instrumen yang dapat mengukur intensitas radiasi yang direfleksikan dari permukaan

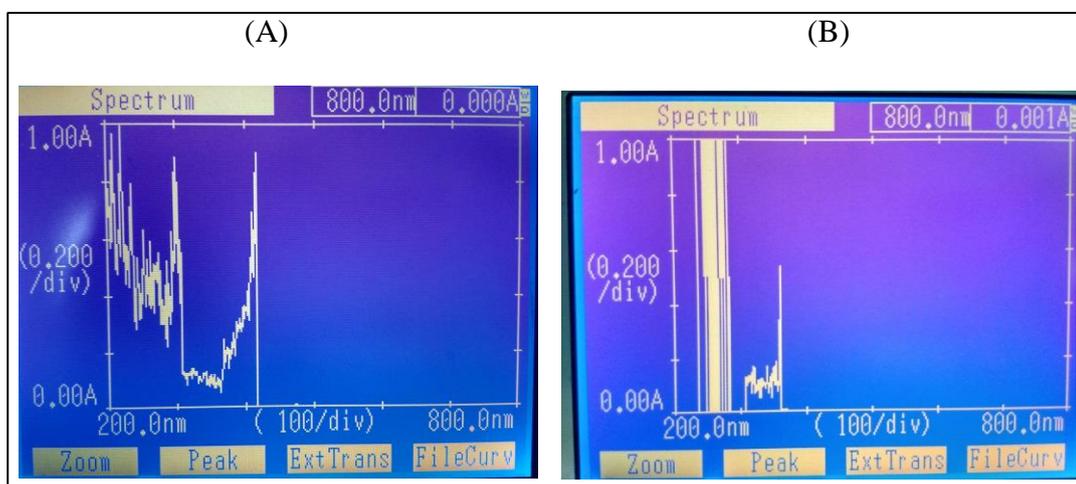
lempeng ketika disinari dengan lampu UV atau sinar tampak. Solut yang mampu menyerap sinar akan dicatat sebagai puncak (*peak*) pada pencatat (*recorder*) (Rohman, A., 2007). *Scanning* vanilin dengan densitometer dilakukan pada panjang gelombang antara 200-400 nm. Hal ini dikarenakan vanilin merupakan senyawa yang tidak berwarna dan akan menyerap sinar pada panjang gelombang 200-400 nm. GVT-0 merupakan senyawa berwarna yang akan diukur pada panjang gelombang 400-800 nm atau pada sinar tampak. Menurut Abdul Rahman (2007), senyawa berwarna kuning kehijauan akan menyerap panjang gelombang sekitar 400-435 nm. Berdasarkan hasil *scanning*, puncak tertinggi GVT-0 diperoleh pada panjang gelombang 410 nm, sedangkan vanilin pada panjang gelombang 234 nm. vanilin memiliki gugus kromofor dan gugus auksokrom. Gugus kromofor yaitu suatu gugus atau atom dalam senyawa organik yang mampu menyerap sinar UV-Vis seperti gugus C-H, sedangkan gugus auksokrom adalah gugus fungsional yang mempunyai elektron bebas seperti -OH, O-NH₂ dan OCH₃. Terikatnya gugus auksokrom oleh gugus kromofor pada GVT-0 akan mengakibatkan pergeseran pita absorpsi menuju ke panjang gelombang yang lebih panjang (pergeseran merah = batokromik) disertai dengan peningkatan intensitas (efek hiperkromik). Oleh karena itu, GVT-0 menghasilkan panjang gelombang yang lebih panjang dibandingkan dengan vanilin. Hasil analisis KLT-Densitometri dapat dilihat pada Gambar 12.A dan 12.B.



Gambar 12. (A) Hasil TLC *Scanner* GVT-0 dan (B) Hasil TLC *Scanner* Vanilin.

Analisis kualitatif selanjutnya dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Analisis kualitatif dengan spektrofotometri ini bertujuan untuk menentukan serapan panjang gelombang maksimum pada GVT-0 dengan pembanding standar

vanilin. Analisis ini dilakukan untuk mendukung analisis menggunakan densitometer. Hasil analisis spektrofotometri dapat dilihat pada Gambar 13.

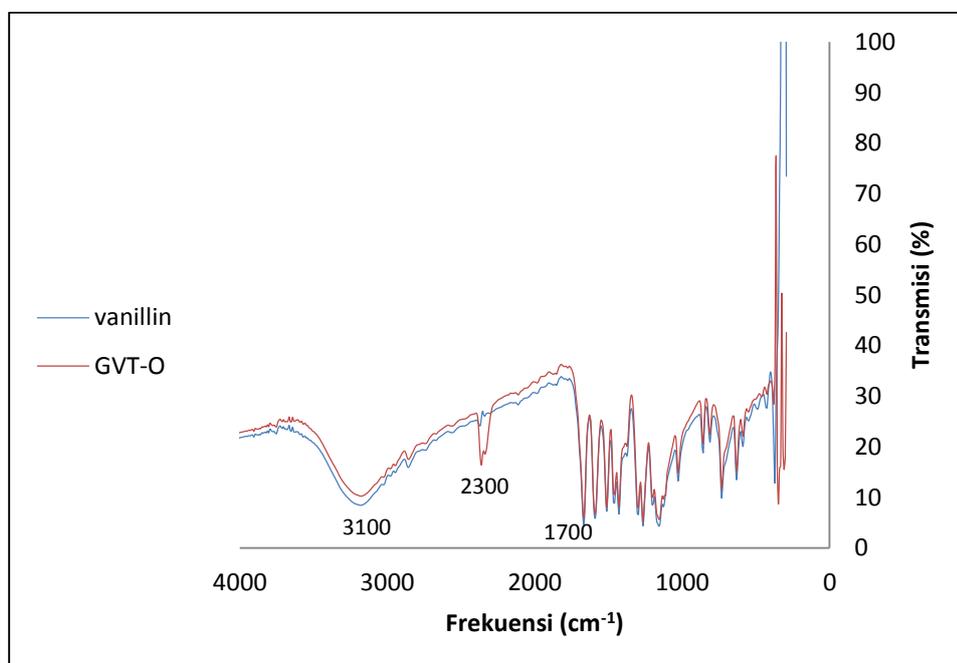


Gambar 13. Hasil Spektrofotometri UV-Vis (A) GVT-0 (B) Vanilin.

Pada Gambar 13. dapat dilihat perbedaan antara panjang gelombang yang diserap oleh vanilin dan GVT-0, dimana GVT-0 menyerap sinar pada daerah yang memiliki panjang gelombang 473 nm sedangkan vanilin pada panjang gelombang 359 nm. Hal ini menunjukkan telah terbentuknya senyawa baru yang berbeda dari *starting material* vanilin yang digunakan sebagai pembanding. Tetapi hasil yang diperoleh berbeda dengan hasil yang didapatkan oleh Meigawati (2005) yaitu panjang gelombang GVT-0 pada 390 nm. Hal ini mengindikasikan adanya efek pergeseran merah (*bathochromic shift*) yang menyebabkan pergeseran penyerapan pada panjang gelombang yang lebih panjang pada senyawa hasil sintesis GVT-0.

Selanjutnya, untuk mengetahui gugus fungsional pada GVT-0, hasil sintesis dilakukan dengan menggunakan analisis FTIR. Uji analisis menggunakan FTIR akan mengidentifikasi gugus-gugus yang terdapat didalam GVT-0 dan vanilin.

Hasil FTIR dari kedua senyawa (GVT-0 dan vanilin) dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Hasil FTIR GVT-0 dan Vanilin.

Dari hasil FTIR diperoleh spektra yang mirip antara vanilin dan GVT-0, hal ini menandakan bahwa sebagian besar gugus fungsi dari vanilin dan GVT-0 adalah sama. Pada frekuensi 3000-3100 cm^{-1} terdapat puncak dengan spektrum yang luas dari cincin fenil pada GVT-0 dan vanilin. Pada frekuensi 1700 cm^{-1} terdapat puncak spektrum yang diperoleh dari gugus karbonil (C=O). Sedangkan pada frekuensi 1732,32 cm^{-1} terdapat puncak spektrum yang diperoleh dari ikatan $-\text{CH}_3$. Dan pada frekuensi 1589,34 terdapat puncak spektrum yang diperoleh dari ikatan C=C. Akan tetapi terdapat spektra khusus yang berbeda pada GVT-0 terhadap vanilin, yang diidentifikasi sebagai ikatan C-H pada puncak 2300 cm^{-1} . Puncak tersebut merupakan hasil proses konjugasi antara vanilin sebagai grup Aldehida dengan gugus metil dari aseton yang menyisakan satu ikatan C-H

(Silverstein *et al.*, 2005). Dari hasil FTIR yang diperoleh dapat dilihat bahwa senyawa hasil sintesis memiliki gugus fungsional yang terdapat pada GVT-0 dan sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Fahrurozi (2008). Maka dapat disimpulkan bahwa senyawa sintesis yang telah dimurnikan adalah senyawa GVT-0. Selanjutnya dilakukan uji kuantitatif. Uji kuantitatif dilakukan dengan menimbang berat GVT-0 yang diperoleh dari hasil Pemurnian. GVT-0 hasil sintesis dengan variasi perbandingan *starting material* vanilin dan aseton dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil sintesis GVT-0.

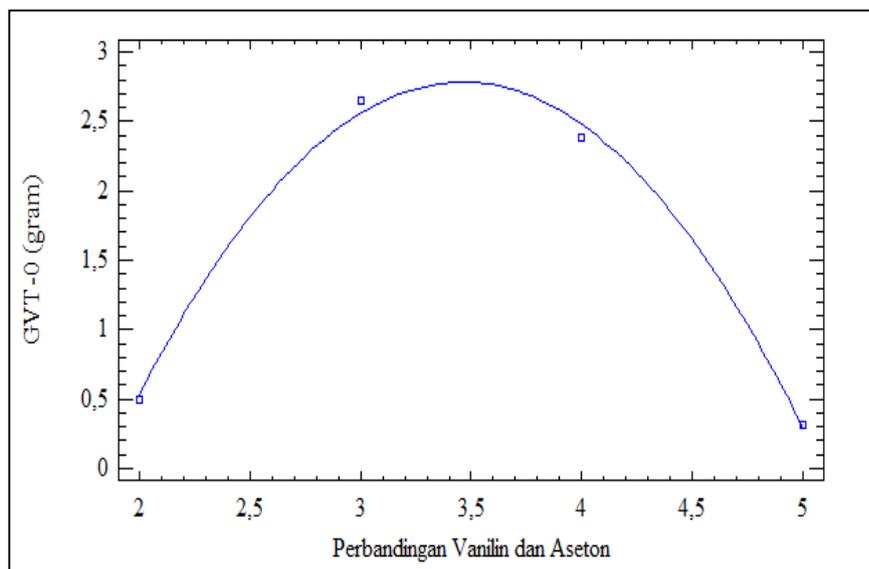
Perbandingan	Hasil (1)	Hasil (2)	Rata-rata
2 : 1	0,497 gram	0,506 gram	0,501 gram
3 : 1	2,650 gram	2,512 gram	2,585 gram
4 : 1	2,386 gram	2,298 gram	2,342 gram
5 : 1	0,232 gram	0,407 gram	0,319 gram

C. Optimasi Perbandingan *Starting Material* Menggunakan Analisis Regresi

Polinomial Orde 2

Uji analisis dengan menggunakan regresi polinomial orde 2 bertujuan untuk mengetahui hubungan antara variabel dependent (GVT-0 hasil sintesis sebagai Y) dengan variabel independent (perbandingan vanilin dan aseton sebagai X). Analisis ANOVA digunakan untuk menentukan ada tidaknya hubungan yang signifikan antar variabel. Untuk mempertimbangkan faktor-faktor kesalahan yang dilakukan maupun didapat dari penelitian, AQL yang digunakan adalah 10%. Hasil analisis regresi polinomial orde 2 menghasilkan sebuah grafik hubungan

antara perbandingan *starting material* dengan berat GVT-0 hasil sintesis yang dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Grafik hubungan antara perbandingan *starting material* sintesis GVT-0.

Grafik pada Gambar 15 mengikuti Persamaan 4 berikut ini :

$$Y = -9,8465 + 7,297 X - 1,054 X^2 \quad (4)$$

Berdasarkan Gambar 15, perbandingan optimal vanilin dan aseton yang menghasilkan GVT-0 maksimal adalah 3,5 : 1. Apabila dibandingkan dengan penelitian Fahrurozi (2008) terdapat perbedaan. Hal ini dikarenakan *starting material* yang digunakan berbeda tingkatannya. Dari hasil ANOVA *P-Value* diperoleh kurang dari nilai AQL yang ditetapkan yaitu sebesar 0,0635. Hal ini menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara perbandingan *starting material* vanilin dan aseton dengan GVT-0 yang dihasilkan. Sedangkan nilai *R-Squared* sebesar 99,5861% dan standar deviasi sebesar 0,1364. Hasil ini membuktikan bahwa analisis yang dilakukan memiliki tingkat ketepatan yang

baik. Hal ini menandakan bahwa Persamaan (4) dapat digunakan untuk memprediksi GVT-0 yang diinginkan. Hasil analisis ANOVA dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil analisis ANOVA.

<i>Source</i>	<i>Sum of Square</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Model	4,47647	2	2,23823	120,30	0,0635
Residual	0,018605	1	0,018605		
Total (Corr.)	4,49507	3			

Validasi Persamaan (4) perlu dilakukan, untuk membuktikan bahwa persamaan tersebut benar-benar bisa digunakan untuk memprediksi hasil GVT-0. Validasi dilakukan dengan membandingkan hasil prediksi berat GVT-0 (hitungan menggunakan Persamaan 4) dengan hasil GVT-0 eksperimen. Perbandingan *starting material* yang digunakan untuk memvalidasi persamaan adalah vanilin dan aseton 3,5 : 1. Perbandingan tersebut adalah perbandingan optimum berdasarkan grafik pada Gambar 15. GVT-0 hasil prediksi berat GVT-0 dapat dihitung sebagai berikut :

$$Y = -9,8465 + 7,297 (X) - 1,054 (X)^2$$

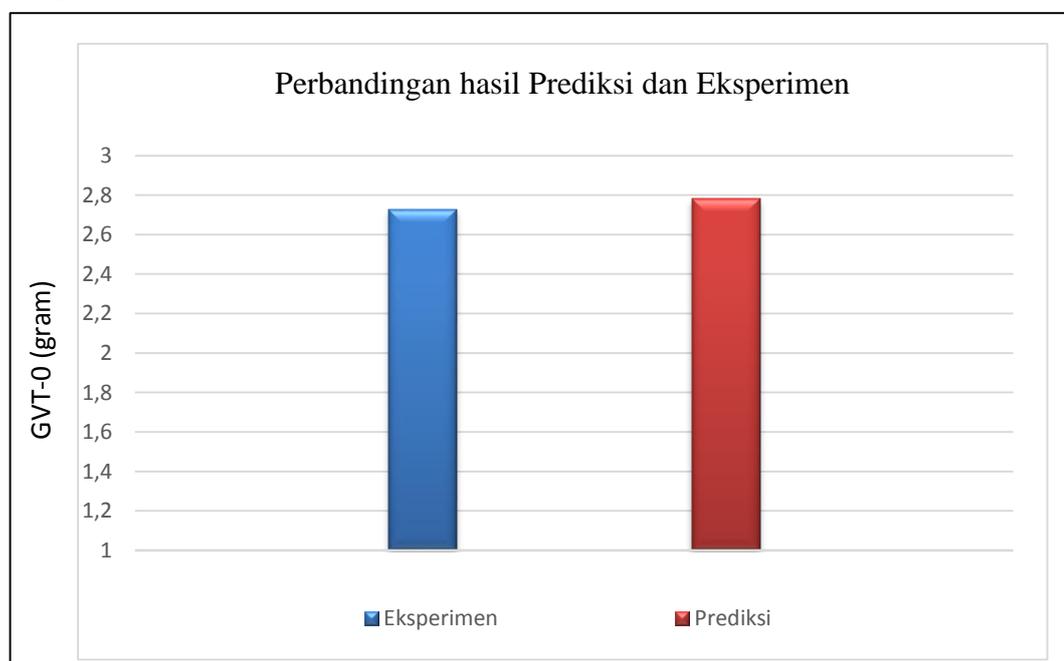
$$Y = -9,8465 + 7,297 (3,5) - 1,054 (3,5)^2$$

$$Y = 2,7815 \text{ gram}$$

Sedangkan hasil eksperimen diperoleh GVT-0 sebesar 2,728 gram. Untuk mengetahui tingkat kesalahan dari perbedaan berat yang diperoleh dari hasil perhitungan dan eksperimen dapat dihitung menggunakan Persamaan (5).

$$\text{Perbedaan berat} = \left\{ \frac{\text{prediksi berat GVT-0} - \text{berat hasil eksperimen}}{\text{prediksi berat GVT-0}} \right\} \times 100\% \quad (5)$$

Hasil perhitungan yang diperoleh dari perbedaan antara prediksi berat GVT-0 dan eksperimen sebesar 1,92%. Hasil ini menunjukkan bahwa perbedaan berat < 10% dari nilai AQL yang sudah ditetapkan. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa persamaan yang didapat dari analisis bisa digunakan untuk memprediksi hasil apabila diketahui perbandingan *starting materialnya*. Gambar 16 adalah diagram batang dari berat GVT-0 hasil eksperimen dengan hasil prediksi berat GVT-0.



Gambar 16. Diagram batang GVT-0 hasil prediksi berat dan hasil eksperimen.