

## BAB IV

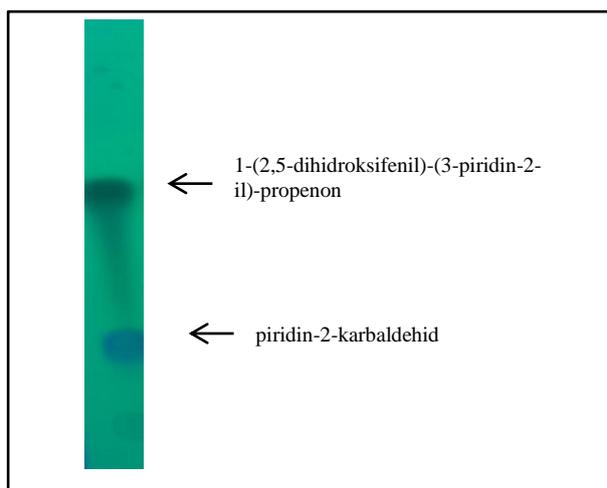
### PEMBAHASAN

#### A. Validasi senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon

Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon merupakan senyawa turunan kalkon. Senyawa ini mengandung substansi dasar nitrogen basa dalam bentuk cincin heterosiklik, sifat basa senyawa ini disebabkan adanya elektron bebas pada atomnya, bentuk senyawa ini berwarna merah seperti kristal, tidak larut dalam air serta mudah larut dalam DMSO. Rumus molekul senyawa ini  $C_{14}H_{11}O_3N$ , senyawa ini mempunyai berat molekul ganjil yaitu 241 karena menganut aturan nitrogen (Wibowo, 2013). Dalam penelitian ini dilakukan uji validasi untuk mengetahui senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon. Validasi *raw material* yang digunakan metode KLT dengan fase gerak etil asetat dan N-heksan serta fase diam silika 60 GF<sub>254</sub>. Hasil analisis terdapat 2 spot senyawa diduga spot pertama adalah piridin-2-karbaldehid dan spot kedua 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon (gambar 9). Rf senyawa piridin-2-karbaldehid sesuai dengan Rf senyawa yang ada pada bahan sintesis *raw material* (Wibowo, 2013). Sehingga *raw material* ini dianggap belum murni secara analisis KLT.

Pada penelitian ini senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon tetap dijadikan sebagai *raw material* dalam sintesis senyawa 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on, karena kadar senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon masih tinggi sehingga

masih dapat digunakan. Pada sintesis selanjutnya diharapkan menggunakan 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon tervalidasi murni sehingga senyawa yang dihasilkan tidak dipengaruhi oleh kadar senyawa lain.



**Gambar 9.** Uji validasi senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon menggunakan KLT dengan fase gerak etil asetat : N-heksan dan fase diam silika 60 GF<sub>254</sub>

### B. Sintesis 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on

Dalam menghasilkan senyawa 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on diperlukan reaksi oksidasi 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon dengan katalis I<sub>2</sub> dalam DMSO menggunakan bantuan radiasi *microwave*. Dalam penelitian ini dilakukan optimasi sintesis untuk membuat senyawa 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on. Optimasi sintesis senyawa yang dilakukan seperti perbandingan *microwave* dan tanpa *microwave* serta waktu radiasi *microwave* dalam pembentukan senyawa 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on. Mekanisme

pembentukan struktur senyawa (6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on) adalah reaksi oksidatif menggunakan I<sub>2</sub>.

Keuntungan dari I<sub>2</sub> ini adalah katalis pengoksidasi yang memberikan hasil terbaik sehubungan dengan waktu dan hasil reaksi dibandingkan katalis SnCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, AlCl<sub>3</sub> dan ZnCl<sub>2</sub> (Sashidhara *et al.*, 2012) serta katalisis organik yang tidak beracun (aman jika digunakan dalam sintesis) (Bhosale *et al.*, 2005) sedangkan kerugian dari I<sub>2</sub> adalah bahan yang mudah menguap jika tidak disimpan dalam wadah khusus.

Pada penelitian ini *microwave* digunakan dalam sintesis sebagai transformasi organik dengan teknik polarisasi dielektrik. Ketika sebuah molekul disinari dengan gelombang mikro, molekul ini akan berotasi untuk menyesuaikan dirinya dengan bidang yang diaplikasikan oleh medan elektrik. Molekul ini kurang mampu untuk berotasi karena frekuensi tidak mencukupi dengan medan elektrik. Akibatnya molekul terus berusaha untuk menyesuaikan diri atau reorientasi dengan medan elektrik, sehingga menghasilkan energi elektromagnetik. Energi elektromagnetik dapat dirubah ke energi panas pada frekuensi dan suhu tertentu (Caddick, 1995).

Energi panas *microwave* ini dapat mempercepat reaksi oksidasi senyawa sintesis dengan mekanisme melalui polarisasi dipolar serta konduksi sedangkan pemanasan konvensional hanya melalui konduksi (Lidström *et al.*, 2001). Karena alat ini memiliki daya panas yang lebih

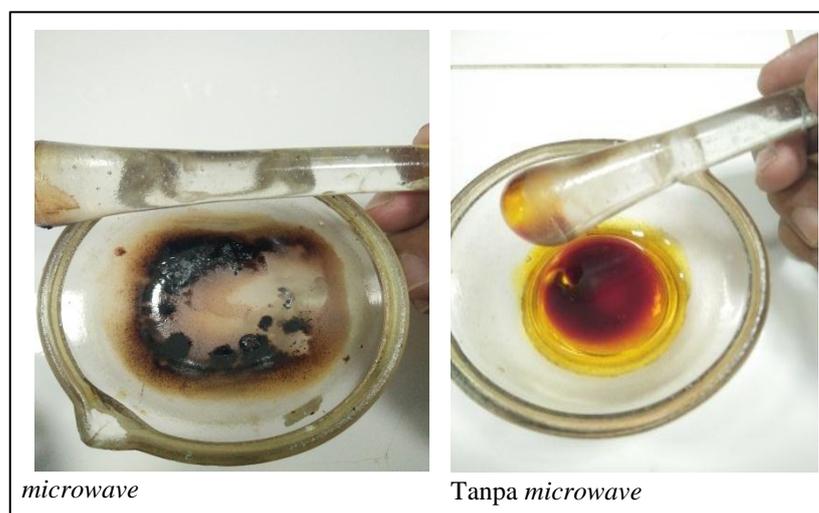
baik dan stabil dibandingkan dengan pemanasan konvensional sehingga dapat digunakan untuk mempercepat reaksi terbentuknya senyawa 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on (Schanche, 2003). Untuk mensintesis senyawa 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on diperlukan beberapa optimasi sintesis untuk memperoleh hasil yang baik. Pertama dilakukan perhitungan massa dari masing-masing bahan yang digunakan dalam sintesis untuk menyetarakan reaksi yang terjadi (lampiran 1). Setelah diperoleh perhitungan massa reaksi, dilanjutkan ke tahap sintesis senyawa. Hasil sintesis ini berbentuk seperti padatan hitam dan berbau seperti jangung. Hasil padatan tersebut kemudian dianalisis menggunakan KLT-densitometer. Analisis KLT senyawa 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on dapat dilihat pada spot yang terbentuk kemudian untuk mengetahui hasil semikuantitatif dari spot senyawa 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on, digunakan alat densitometri dengan aplikasi winCAT. Hasil KLT-densitometri akan terbentuk kromatogram atau grafik yang dapat dianalisis.

### **1. Pengaruh *microwave* pada hasil reaksi sintesis**

*Microwave* adalah alat untuk mempercepat reaksi terbentuknya senyawa baru dengan teknik pemanasan gelombang elektromagnetik. Pada penelitian ini *microwave* digunakan sebagai alat mempercepat reaksi sintesis senyawa 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on. Untuk mengetahui pengaruh reaksi sintesis terhadap *microwave* dibandingkan dengan reaksi sintesis tanpa menggunakan alat

*microwave*. Pada penelitian ini sintesis dilakukan 2 kali percobaan untuk memastikan adanya pengaruh *microwave* terhadap reaksi. Sintesis senyawa menggunakan *microwave* diatur pada pemanasan 140 *watt* selama 4 menit sedangkan sintesis tanpa *microwave* hanya campuran bahan-bahan reaksi ( *raw material*,  $I_2$ , dan DMSO) (tabel 2).

Hasil sintesis senyawa menggunakan alat *microwave* memberikan perubahan warna senyawa dari coklat ke hitam kering karena efek pemanasan yang tinggi dan waktu retensi panas yang lama, sedangkan tanpa *microwave* tidak mengalami perubahan warna senyawa karena tidak mengalami proses pemanasan (gambar 10).



**Gambar 10.** Hasil sintesis senyawa

Radiasi *microwave* ini dapat mempercepat reaksi oksidasi senyawa dengan pelarut DMSO dan katalis  $I_2$  sedangkan pada

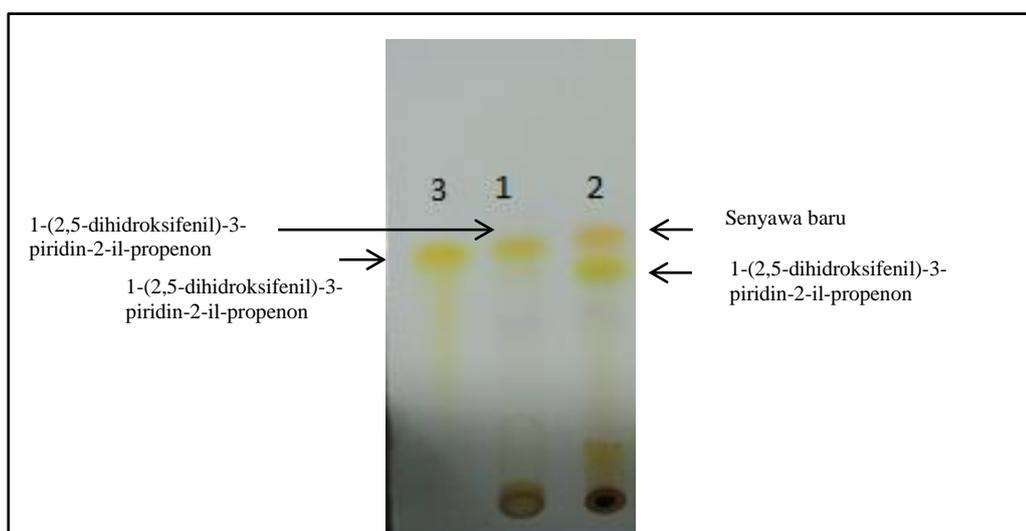
senyawa tanpa radiasi *microwave* hasil yang didapatkan sama dengan senyawa asal atau *raw material* pada KLT (gambar 11). Hal ini mungkin karena pelarut DMSO yang digunakan sedikit sehingga tidak dapat terbuntuknya senyawa baru atau reaksi oksidasi pada *crude product*. Meskipun I<sub>2</sub> ini adalah sebagai agen mempercepat reaksi, namun pada kasus sintesis senyawa ini tidak dapat memberikan hasil yang baik jika direaksikan tanpa bantuan alat *microwave*.

Pada pemanasan *microwave* hanya menggunakan pelarut yang sedikit yaitu 3 tetes DMSO agar mengurangi waktu yang diperlukan dalam reaksi dan dapat meningkatkan hasil (Menezes *et al.*, 2009). Apabila menggunakan volume DMSO yang banyak tanpa bantuan radiasi *microwave* dimungkinkan dapat terjadi reaksi oksidasi atau pembentukan senyawa dengan bantuan refluks (Menezes *et al.*, 2009), karena DMSO mempunyai kemampuan pengoksidasi dan dapat bertindak sebagai nukleofil ataupun elektrofil (Epstein dan Sweat, 1967). Faktor yang menyebabkan senyawa baru ini tidak terbentuk oleh I<sub>2</sub> ataupun DMSO saja, dimungkinkan karena kurang energi untuk reaksi atau volume pelarut yang digunakan. Hal itu bisa dilihat hanya yang memakai *microwave* yang terbentuk senyawa baru. Energi untuk reaksi dimungkinkan bisa diperoleh dari *microwave*, pemanasan

konvensional dan jumlah pelarut DMSO dengan bantuan refluks (Menezes *et al.*, 2009).

**Tabel 2.** Hasil data sintesis dengan *microwave* dan tanpa *microwave*.

No	Massa raw material (mg)	Massa I <sub>2</sub> (mg)	Volume DMSO (tetes)	Warna sebelum <i>microwave</i>	Daya <i>microwave</i> (watt)	Warna sesudah <i>microwave</i>	Waktu <i>microwave</i> (menit)
1	125,7	130,6	3 tetes	Coklat	140	Hitam kering	4
2	124	128,7	3 tetes	Coklat	140	Hitam Kering	4
3	125,8	128,9	3 tetes	Coklat	-	Coklat	-
4	124,0	128,7	3 tetes	Coklat	-	Coklat	-



**Gambar 11.** Sintesis dengan *microwave* dan tanpa *microwave* menggunakan fase gerak etil asetat dan N-heksan dengan perbandingan 9:1.

#### Keterangan

1. Reaksi tanpa *microwave*
2. Reaksi dengan *microwave* waktu 4 menit
3. *Raw material*

Pada hasil KLT *raw material* dan senyawa reaksi sintesis tanpa *microwave* pada gambar 11 mempunyai Rf yang sama yaitu 0.787 (3:1). KLT pada senyawa reaksi sintesis yang memakai *microwave* (2) terbentuk 2 spot berwarna kuning dan orange dengan nilai Rf 0.737 ; 0.825. Spot yang terbentuk diakibatkan oleh pengaruh radiasi *microwave*, sehingga terjadi pembentukan spot baru dengan warna orange sedangkan tanpa *microwave* tidak terjadi reaksi apapun atau tidak terjadi pembentukan spot yang baru pada plat KLT. Rf spot baru ini muncul pada nilai 0.825.

Terbentuk senyawa baru pada KLT (2) diakibatkan oleh adanya *microwave* dalam sintesis. *Microwave* ini mempunyai gelombang yang dapat mempercepat reaksi senyawa baru dengan cara pemanasan yang stabil, efisien dan waktu yang dapat diatur. Kemampuan *microwave* dapat meningkatkan titik didih dari pada pelarut sehingga mempengaruhi terhadap bahan yang digunakan dan meningkatkan reproduktifitas sintesis (England, 2003).

## **2. Pengaruh waktu sintesis dan perbandingan massa *raw material* secara semikuantitatif menggunakan KLT-densitometri (CAMAG) dalam menghasilkan kondisi reaksi paling optimal**

Pada penelitian sintesis senyawa 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on dilakukan uji pengaruh waktu yang dibutuhkan untuk sintesis dengan paparan *microwave* untuk mendapatkan hasil yang optimal, sehingga dapat diterapkan pada sintesis selanjutnya.

Perbandingan waktu sintesis yang digunakan adalah 2 menit dan 4 menit serta melihat pengaruh massa *raw material* terhadap sintesis.

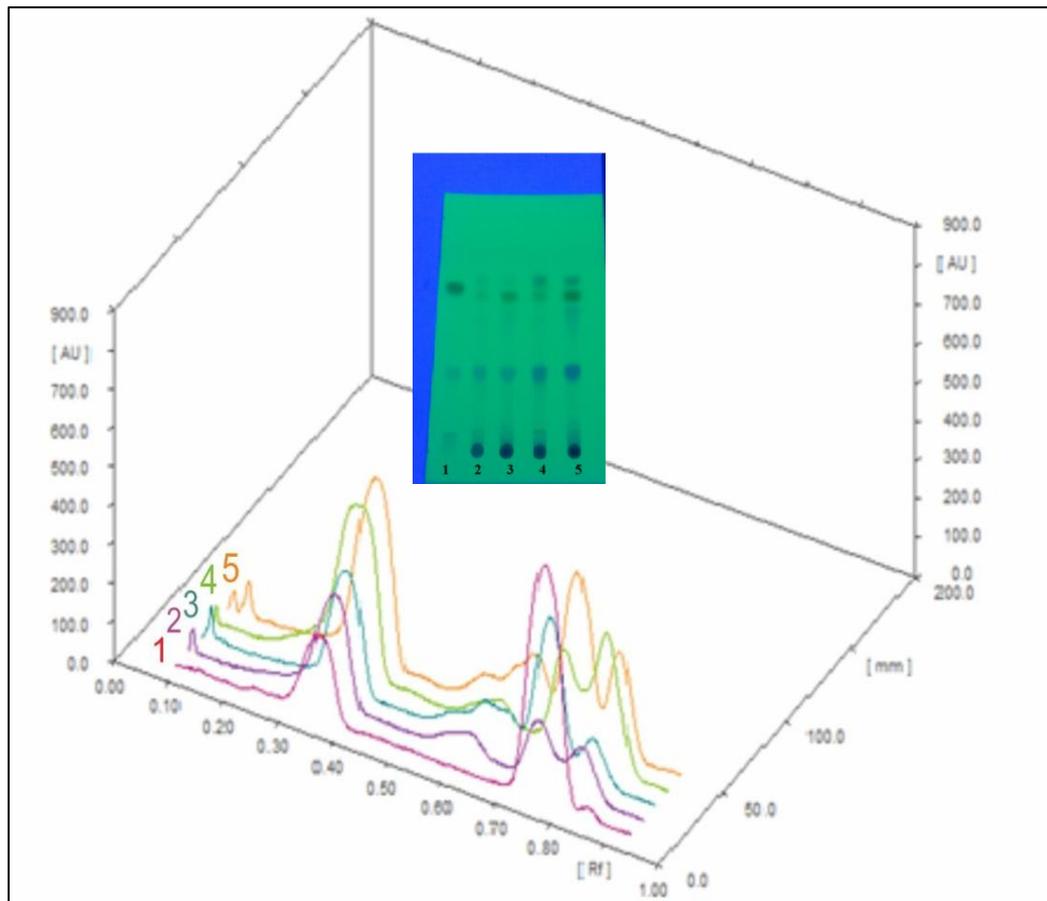
Dalam sintesis senyawa 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on dengan *raw material* yang telah ditambahkan DMSO dan I<sub>2</sub>, kemudian dimasukkan kedalam alat *microwave* dengan daya 140 watt dan diatur waktu pemanasan antara 2 menit. Hasil yang diperoleh perubahan warna senyawa dari coklat menjadi hitam pekat pada menit ke-2 sedangkan pada menit ke-4 menghasilkan senyawa berwarna hitam kering (tabel 3). Hal ini disebabkan proses pemanasan yang lama dan memiliki bau khas seperti jagung. *Crude product* yang telah di *microwave* harus didinginkan terlebih dahulu selama 1- 2 jam sebelum di KLT, agar pada saat diuji tidak terjadi kerusakan senyawa karena pengaruh panas *microwave* yang menyebabkan perubahan polaritas dari senyawa jika ditotolkan langsung pada plat KLT sehingga dapat menimbulkan kegagalan pemisahan senyawa.

Untuk mengetahui pengaruh lama pemanasan terhadap banyak senyawa 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on yang terbentuk dan pengaruh *raw material* terhadap sintesis dilakukan analisis dengan alat densitometri (CAMAG). Plat KLT yang digunakan adalah silika gel 60 GF<sub>254</sub>. Deteksi spot digunakan sinar uv pada panjang gelombang 254 nm. Untuk membandingkan banyak senyawa 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on yang terbentuk digunakan

luas area dibawah kurva (AUC) yang dihasilkan dari analisis densitometri.

**Tabel 3.** Hasil data waktu sintesis senyawa

No	Massa <i>raw</i> <i>material</i> (mg)	Massa I <sub>2</sub> (mg)	Volume DMSO (tetes)	Warna sebelum <i>microwave</i>	Daya <i>microwave</i> (watt)	Warna sesudah <i>microwave</i>	Waktu <i>microwave</i> (menit)
1	50.2	129.2	3 tetes	Coklat	140	Hitam pekat	2
2	50.8	128.7	3 tetes	Coklat	140	Hitam kering	4
3	124.5	128.0	3 tetes	Coklat	140	Hitam pekat	2
4	124.0	128.7	3 tetes	Coklat	140	Hitam Kering	4



Keterangan :

Kondisi reaksi

1. *Raw material*
2. Senyawa sintesis (*raw material* 50.2 mg) dalam *microwave* 2 menit dengan power 140 watt.
3. Senyawa sintesis (*raw material* 50.8 mg) dalam *microwave* 4 menit dengan power 140 watt.
4. Senyawa sintesis (*raw material* 124.5 mg) dalam *microwave* 2 menit dengan power 140 watt.
5. Senyawa sintesis (*raw material* 124.0 mg) dalam *microwave* 4 menit dengan power 140 watt.

**Gambar 12.** Hasil KLT-Densitometri senyawa sintesis

**Tabel 4.** Data puncak hasil KLT-densitometri pada kondisi reaksi

Kondisi reaksi	Nilai Rf	Nilai	Nilai Rf	Nilai	Nilai Rf	Nilai
		AUC		AUC		AUC
	piridin-2-karbaldehid	piridin-2-karbaldehid	<i>raw material</i>	<i>raw material</i>	Hasil sintesis	Hasil sintesis
1	0.35	9662.6	0.77	28574.0	-	-
2	0.36	4674.3	0.73	6010.1	0.82	4965.1
3	0.36	13911.8	0.73	15597.9	0.81	3726.4
4	0.36	2814.9	0.74	10488.1	0.81	14413.4
5	0.36	24438.6	0.74	17342.2	0.81	8320.4

Pada kondisi reaksi ke-1 digunakan *raw material* sebagai pembanding dengan hasil sintesis. *Raw material* ini memiliki luas area 28574 dan nilai Rf 0.77. Kondisi reaksi 1 ini memiliki beberapa puncak diantaranya yaitu piridin-2-karbaldehid. Senyawa ini merupakan bahan dasar sintesis *raw material* (1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon) yang tidak murni dalam analisis KLT-densitometri. Luas area senyawa ini 9662.6 dan nilai Rf 0.35. Senyawa ini juga ditemukan dalam kondisi reaksi hasil sintesis 2, 3, 4, dan 5 (tabel 4).

Proses pada sintesis kondisi reaksi ke 2, 3, 4, dan 5 memiliki beberapa puncak diantara piridin-2-karbaldehid, *raw material*, serta

senyawa produk baru. Senyawa produk baru ini memiliki nilai maksimal posisi (Rf) antara 0.81-0.82. Luas area kondisi reaksi 2, 3, 4, dan 5 berturut-turut 4965.1, 3726.4, 14413.4, dan 8320.4. Pada kondisi optimal hasil reaksi yang diperoleh adalah kondisi reaksi 4 karena memiliki luas area produk baru hasil sintesis yang diduga senyawa 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on paling besar dengan nilai 14413.4.

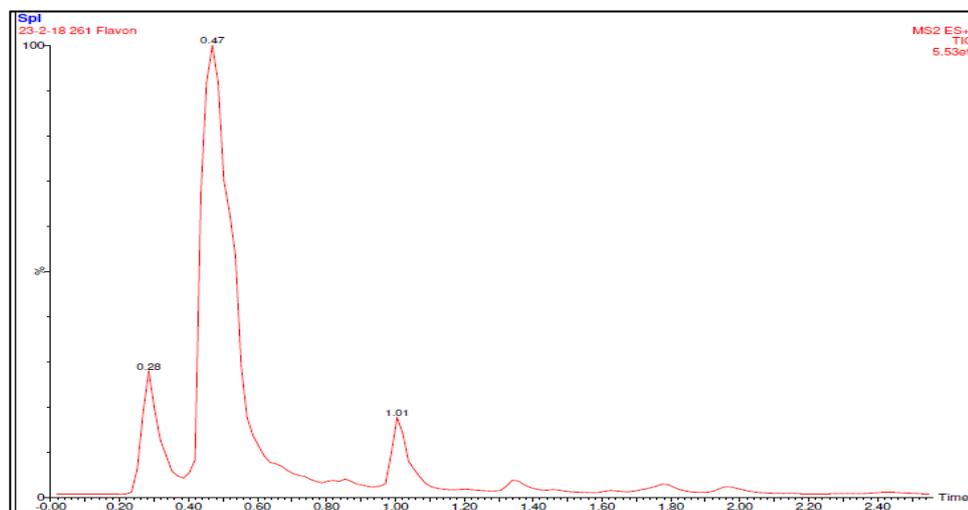
### C. Analisis berat molekul senyawa hasil reaksi menggunakan (LC-MS)

Pada sintesis senyawa 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on digunakan metode LC-MS untuk mengetahui berat molekul. Metode LC-MS yang digunakan dari range massa 100-1500 m/z untuk mengidentifikasi berat molekul dari *crude product*. Fase gerak yang digunakan pada metode LC-MS ini adalah 0,1 % *formic acid* dalam aquadest dan metanol dengan kerapatan aliran fase gerak 0.5 ml/men, *capillary* 3,5, *cone* 30, *desolvation temp* 500 °C dan *desolvation* (L/H) 1000. Fase gerak yang digunakan pada LC-MS ini etil asetat dan N-heksan dengan perbandingan 9 : 1 tetapi tidak dipakai seperti pada KLT.

Senyawa sintesis 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on yang digunakan dalam eksperimen ini adalah 124 mg *raw material* dilarutkan dengan DMSO 3 tetes kemudian ditambahkan 128 mg I<sub>2</sub> serta di *microwave* selama 4 menit. Langkah selanjutnya dianalisis menggunakan LC-MS menggunakan metode ESI. Metode ESI ini adalah metode yang bergantung pada pelarut agar analit mampu mengionkan senyawa dengan

baik sebelum mencapai spektrometer massa. pelarut ini disemprotkan bersamaan dengan gas nabulizer ke dalam elektrostatik. Sehingga disaat yang bersamaan gas yang dipanaskan menimbulkan penguapan pelarut sehingga tetesan analit mengkerut, konsentrasi tetesan muatan akan meningkat. Kemudian ion akan dikeluarkan kedalam fase gas. Ion-ion akan tertarik melewati pipa kapiler dan selanjutnya akan dilanjutkan ke dalam analisis massa serta menimbulkan molekul ion-ion pada kromatogram MS (Hoffmann & Stroobant, 2007).

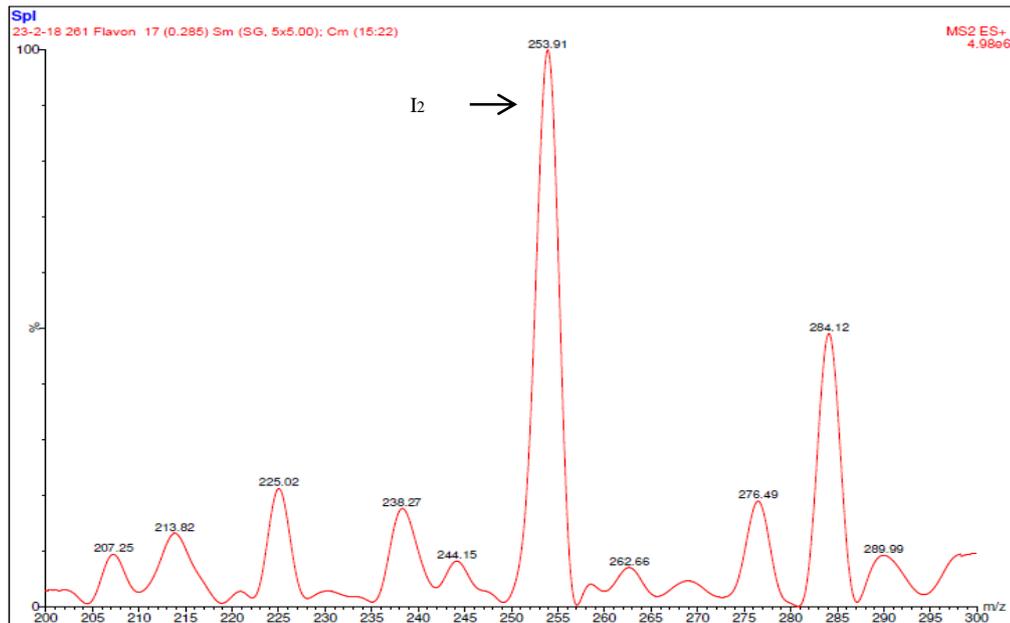
Hasil kromatogram dari LC-MS bisa dilihat pada gambar 13. Pada gambar tersebut terdapat 3 puncak. Masing-masing puncak selanjutnya dilakukan analisis oleh jarak yang bisa dijabarkan sebagai berikut :



**Gambar 13.** Kromatogram LC hasil pemisahan senyawa sintesis (*crude product*).

Pada puncak pertama waktu retensi 0.28 menit diduga I<sub>2</sub>. Hasil analisis MS menunjukkan beberapa ion molekul senyawa pada puncak

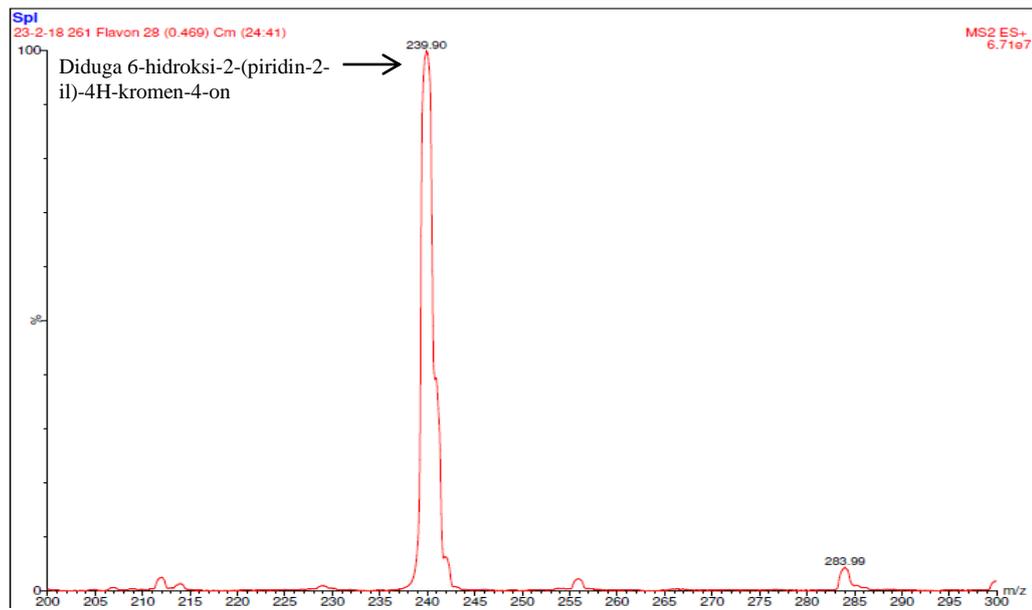
(gambar 14). Berat molekul yang diketahui antara lain  $I_2$  dan berat molekul senyawa lain tidak dapat diidentifikasi.. Hal ini dimungkinkan karena pengaruh  $I_2$  yang digunakan tidak murni.



**Gambar 14.** Hasil pemisahan *crude product* dengan metode MS retensi waktu 0,28 menit.

Molekul dengan berat 253,91 m/z presentase 100 %. Apabila dilihat dari literatur,  $I_2$  memiliki berat molekul 253.9 (Meija *et al.*, 2016). Oleh karena itu bisa dikatakan bahwa senyawa dengan waktu retensi 0.28 adalah  $I_2$ . Pada penelitian ini  $I_2$  digunakan sebagai katalis untuk mempercepat reaksi. Kadar  $I_2$  yang tinggi pada hasil sintesis tidak semua bereaksi dan masih terdapat dalam *crude product* yang bisa dilihat kromatogram MS.

Puncak kedua LC dengan waktu retensi 0.47 menit diduga puncak ini adalah senyawa 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on pada hasil MS.

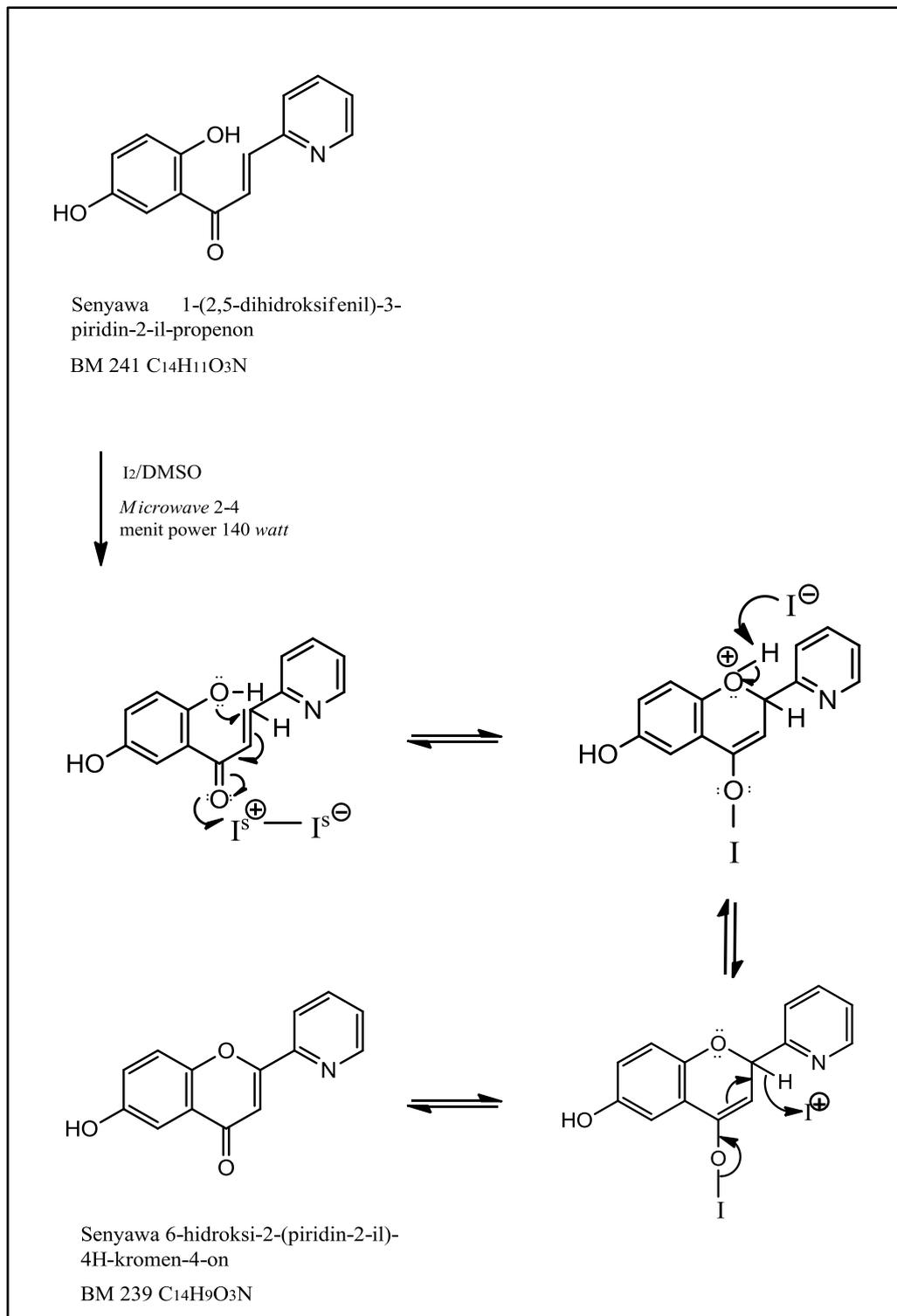


**Gambar 15.** Hasil pemisahan *crude product* dengan metode MS retensi waktu 0,47 menit

Senyawa 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on merupakan modifikasi dari struktur senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon. Perbedaan dari kedua senyawa ini hanyalah pada gugus 2'-hidroksi. Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon diubah menjadi bentuk siklik. Senyawa yang diduga 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on mempunyai puncak retensi waktu 0.47 menit dengan berat molekul 239.90 m/z pada kromatogram spektrometer massa (gambar 15). Berat molekul senyawa 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on ( $C_{14}H_9O_3N$ ) diprediksikan mempunyai berat molekul sebesar

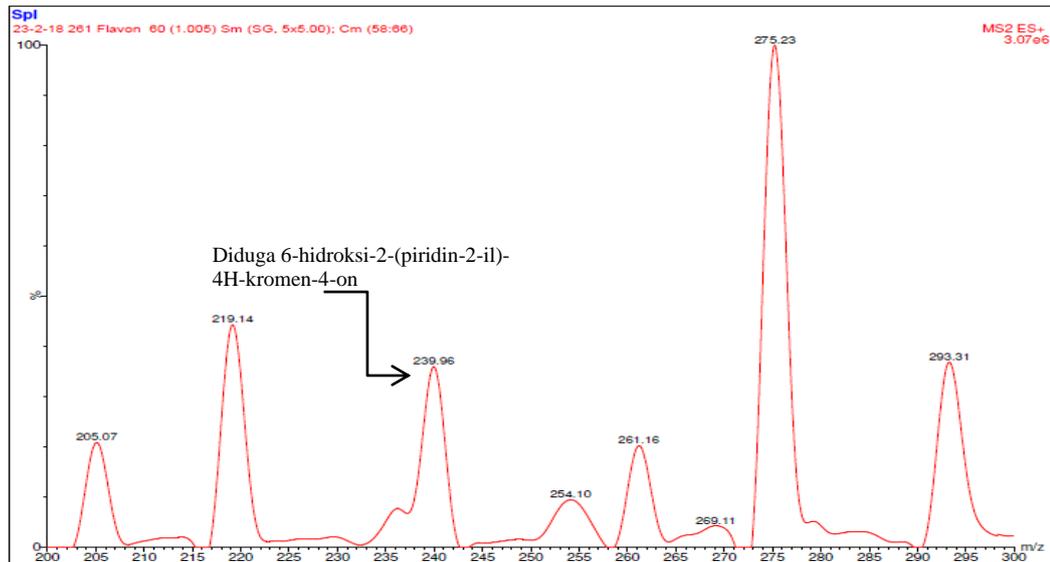
239, sedangkan berat molekul dari *raw material* (1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon) mempunyai berat molekul 241 m/z. Menurut Wibowo, (2013) apabila mengikuti aturan atom N maka berat molekul senyawa harus ganjil yaitu 241. Struktur hasil sintesis senyawa 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on kehilangan sebanyak atom 2 hidrogen dari struktur awal. *Raw material* tidak dapat ditemukan pada kromatogram LC-MS ini karena telah teroksidasi sempurna menjadi bentuk senyawa diduga 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on sehingga senyawa dengan berat molekul yang seharusnya 241 m/z tidak teridentifikasi pada kromatogram MS.

Mekanisme sintesis senyawa 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on ini adalah siklisasi oksidatif yang dimediasi oleh I<sub>2</sub> yang bisa dilihat pada gambar 16. Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon mengalami isomerisasi diikuti oleh hasil siklisasi intramolekul, membentuk siklik yang terdiri dari atom satu O dan 4 atom C kemudian menjadi bentuk senyawa 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on.



**Gambar 16.** Mekanisme reaksi oksidasi senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-(2-piridin-2-il)-propenon (Sashidhara & Menezes, 2012, 2009).

Puncak ketiga LC dengan waktu retensi 1.01 menit diduga puncak ini adalah pengotor atau senyawa yang tidak dapat diidentifikasi pada hasil analisis spektrometer massa.



**Gambar 17.** Hasil pemisahan *crude product* dengan metode MS retensi waktu 1.01 menit.

Sistem spektrometer massa yang dikombinasikan dengan kromatografi cair dapat mendeteksi karakteristik dari senyawa atau kelas senyawa. Sistem ini secara selektif dapat mendeteksi senyawa yang menarik dalam matriks yang kompleks, sehingga memudahkan untuk menemukan dan mengidentifikasi pengotor yang dicurigai (Parshall & Ittel, 1980). Gambar 17 adalah hasil dari MS untuk puncak yang mempunyai waktu retensi 1.01 menit memiliki 8 ion molekul. Konsentrasi ion molekul yang dihasilkan berturut-turut 275.23 m/z (100%), 219.14 m/z (47%), 293.31 (40%) m/z, 239.96 m/z (38%), 205.07 m/z (23%), 261.16 m/z (23%), 254.10 (10%) m/z dan 269.11 m/z (5%). Berat molekul 239.96

m/z ini diduga senyawa 6-hidroksi-2-(piridin-2-il)-4H-kromen-4-on. Berat molekul senyawa lain yang terdapat pada *crude product* tersebut adalah senyawa pengotor. Sehingga diharapkan senyawa sebelum di LC-MS harus dimurnikan. Saran dalam penelitian selanjutnya dalam memurnikan senyawa. Pertama *crude product* diencerkan terlebih dahulu menggunakan air dan diekstraksi dengan dietil eter (3 x 20 ml). Lapisan organik dicuci dengan natrium tiosulfat 20% encer, kemudian ditambahkan natrium sulfat anhidrat. Padatan mentah yang diperoleh dikenai kromatografi kolom di atas silika gel menggunakan N-heksana: etil asetat (80:20 v / v). Padatan yang diperoleh direkristalisasi menggunakan etil alcohol (Menezes *et al.*, 2009).