

BAB III

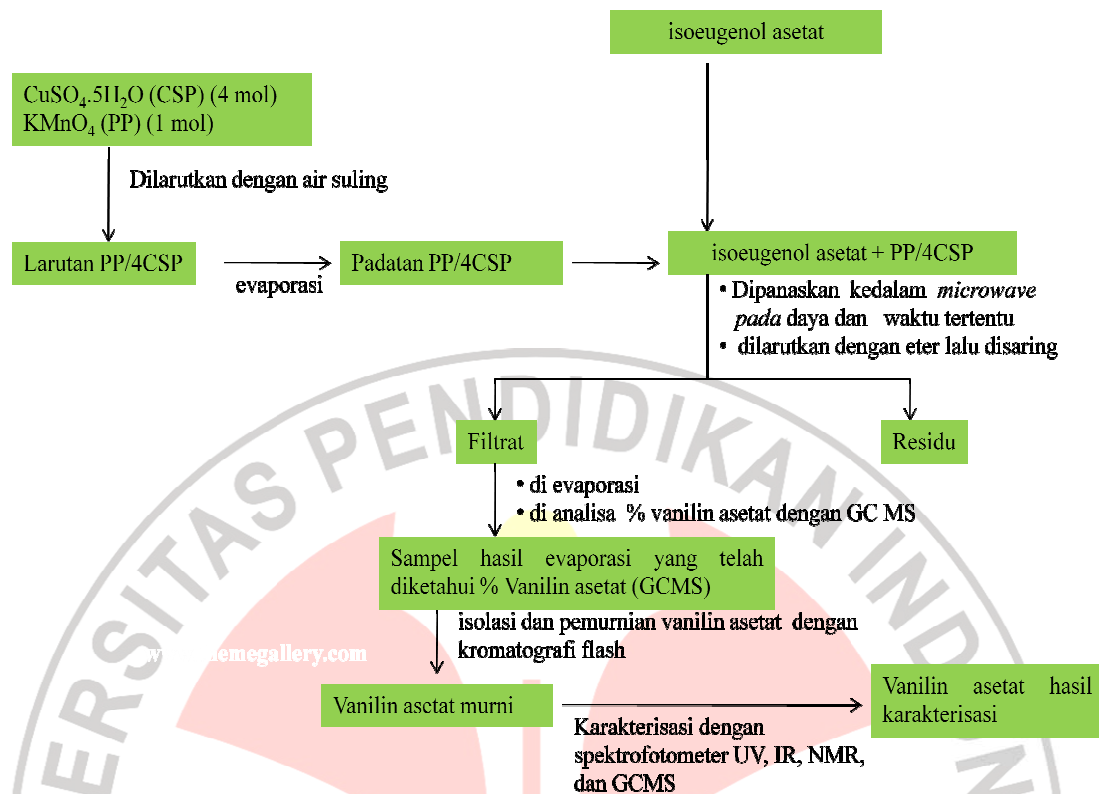
METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Lokasi Penelitian

Pelaksanaan penelitian dimulai sejak bulan Oktober 2009 sampai dengan bulan Februari 2010 di Laboratorium Riset Kimia Makanan dan Material, Laboratorium Kimia Analitik Instrumen Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Universitas Pendidikan Indonesia, serta Laboratorium NMR Pusat Kimia Lembaga Ilmiah Penelitian Indonesia (LIPI) Serpong.

3.2. Diagram Alir Penelitian

Penelitian ini secara garis besar dibagi menjadi dua tahap yaitu preparasi PP/4CSP (*Potassium Permanganate/ 4 mole Copper (II) Sulphate Pentahydrate*) dan konversi isoeugenol asetat menjadi vanilin asetat. Keseluruhan proses tersebut dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1. Diagram alir penelitian

3.3. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah alat-alat gelas, neraca analitik, botol vial, rotary evaporator Buchi, oven, pompa vakum dan cawan Buchner, *magnetic stirrer*, *Microwave* Elektrolux, kolom kromatografi, mortar, *chamber* untuk KLT, pipa kapiler, lampu UV, *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) Shimadzu 8400, Spektrofotometer UV-Vis mini Shimadzu 1240, *Proton-Nuclear Magnetic Resonance* ($^1\text{H-NMR}$) JEOL ECA 500-500 MHz, *Carbon-Nuclear Magnetic Resonance* ($^{12}\text{C-NMR}$) JEOL ECA 500-125 MHz, *Gas Chromatography-Mass Spectra* (GC-MS) Shimadzu QP-5050 Series (Class-5000 Ver 2.2).

Bahan-bahan yang digunakan adalah isoeugenol asetat, KMnO_4 , $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$, Na_2SO_4 anhidrat, silika gel untuk kromatografi kolom ukuran

0,04-0,063 mm, silika Art 7733/impreg, air suling, dietileter, etilasetat, N-heksan, kloroform, dan aseton.

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1. Preparasi PP/4CSP

- a. Dilarutkan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (CSP) (71,856 gram) kedalam air suling.
- b. Setelah semua CSP larut maka ditambahkan KMnO_4 (PP) (11,376 gram) kemudian dipanaskan pada suhu 80°C selama 10 menit sambil diaduk hingga homogen dengan *magnetic stirrer*.
- c. Setelah larutan tersebut dingin dimasukan ke dalam botol vial berukuran 100 mL yang kemudian dievaporasi dengan menggunakan evaporator hingga didapatkan padatan yang berwarna ungu kecoklatan. Set alat pada proses evaporasi dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2. Set alat evaporasi

- d. Padatan tersebut dihaluskan dengan mortar hingga menjadi serbuk yang homogen.

3.4.2. Proses Konversi Isoeugenol asetat Menjadi Vanilin asetat

- a. Ditimbang isoeugenol asetat sebanyak 0,103 gram dan PP/4CSP sebanyak 2,316 gram yang kemudian dicampurkan kedalam gelas kimia 100 mL dan ditutup dengan alumunium foil.

- b. Dipanaskan ke dalam *microwave* dengan daya dan waktu tertentu.
- c. Setelah dingin, ditambahkan 50 mL dietileter kemudian diaduk dengan *magnetic stirrer* selama 15 menit.
- d. Disaring dengan menggunakan cawan Buchner dan pompa vakum kemudian diambil filtratnya.
- e. Filtrat kemudian dimasukkan kedalam botol vial yang telah diketahui bobotnya lalu dievaporasi dengan evaporator.
- f. Botol vial kemudian ditimbang kembali.
- g. Dilakukan analisa dengan GC-MS untuk mengetahui kadar vanilin asetat yang terbentuk dan dilihat daya serta waktu yang optimum pada proses oksidasi tersebut.

3.4.3. Isolasi dan Pemurnian Vanilin asetat

3.4.3.1. Penentuan Eluen

Penentuan eluen dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Lempeng Tipis (KLT)

- a. Disiapkan lempeng tipis silika gel (KLT GF254) sebagai fasa diam berukuran panjang 5 cm dan lebar yang disesuaikan dengan jumlah fraksi yang akan ditotolkan.
- b. Lempeng tipis tersebut kemudian diberi garis batas atas dengan jarak 0,5 cm dan garis batas bawah dengan jarak 1 cm dengan menggunakan pensil.

- c. Dilarutkan sampel hasil oksidasi optimum dengan dietileter kemudian ditotolkan dengan pipa kapiler pada garis batas bawah. Dibiarkan mengering.
- d. Disiapkan *chamber* berisi kertas saring yang dibasahi eluen heksan-etilasetat 9:1 yang kemudian dibiarkan sesaat agar kondisinya jenuh.
- e. Dimasukan lempeng tipis kedalam *chamber* dengan posisi miring dengan bagian batas bawah terendam eluen. Eluen dibiarkan naik beberapa saat hingga mencapai bagian batas atas.
- f. Diambil lempeng tipis tersebut kemudian dikeringkan pada udara terbuka yang kemudian diamati hasil elusidasinya dibawah sinar lampu UV.
- g. Hal yang sama dilakukan dengan berbagai jenis eluen yaitu heksan-etilasetat 8:2, kloroform, aseton untuk melihat eluen yang paling cocok untuk proses isolasi dan pemurnian

3.4.3.2. Isolasi dan Pemurnian

Isolasi dan pemurnian dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Flash (KF)

- a. *Packing* kolom
 - 1) Silika dengan ukuran 230-400 mesh dimasukan ke dalam kolom sampai setinggi 17 cm.

- 2) Kolom siap dipakai jika silika sudah membentuk gel, dengan cara mengalirkan eluen yang telah ditentukan.
- 3) Kolom siap dipakai dengan disisakan eluen setinggi ± 3 cm.

b. Impregnasi sampel

- 1) Silika impreg ditimbang sebanyak 2 kali berat sampel.
- 2) Sampel dilarutkan dengan dietileter.
- 3) Sampel dipipet dan diteteskan ke silika impreg yang kemudian dihomogenkan dengan cara diaduk-aduk lalu hingga kering.

c. Elusi

- 1) Silika impreg dimasukkan kedalam kolom sebagai bagian atasnya lalu kemudian diratakan.
- 2) Eluen dimasukkan kedalam kolom.
- 3) Kolom diberi tekanan dari atas, lalu eluat yang dihasilkan ditampung pada botol vial 20 mL.
- 4) Proses elusi dilakukan dengan terus mengganti botol vial tersebut.

d. Pembersihan kolom

- 1) Kolom dikeringkan dari eluen.
- 2) Silika didalam kolom dibilas dengan pelarut yang lebih non polar terlebih dahulu kemudian dilanjutkan dengan

pelarut paling polar dan diakhiri dengan pelarut yang digunakan pada waktu semula.

e. Pemurnian

Eluat yang dihasilkan seluruhnya diuji kembali dengan KLT hingga dapat dipastikan bahwa senyawa yang diinginkan (vanilin asetat) telah murni.

Set alat kromatografi flash dapat dilihat pada Gambar 3.3.



Gambar 3.3. Set alat kromatografi flash

3.4.4. Karakterisasi Vanilin asetat

Karakterisasi vanilin asetat dilakukan dengan menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR), Spektrofotometer UV, *Proton-Nuclear Magnetic Resonance* ($^1\text{H-NMR}$), *Carbon-Nuclear Magnetic Resonance* ($^{12}\text{C-NMR}$) dan *Gas Chromatography-Mass Spectra* (GC-MS).