

**SINTESIS ESTER FRUKTOVANILAT DARI FRUKTOSA DAN ASAM
VANILAT MENGGUNAKAN METODE GELOMBANG MIKRO SERTA UJI
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN**

EKA FITRIANTI

0304030154



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN KIMIA
DEPOK
2008**

**SINTESIS ESTER FRUKTOVANILAT DARI FRUKTOSA DAN ASAM
VANILAT MENGGUNAKAN METODE GELOMBANG MIKRO SERTA UJI
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN**

**Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains**

Oleh :

EKA FITRIANTI

0304030154



DEPOK

2008

**SKRIPSI : Sintesis Ester Fruktovanilat dari Fruktosa dan Asam vanilat
Menggunakan Metode Gelombang Mikro serta Uji Aktivitas
Antioksidan**

NAMA : Eka Fitrianti

NPM : 0304030154

Skripsi ini TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, JULI 2008



Pembimbing

Pof.Dr.Soleh Kosela, M.Sc

*Have We not expanded for you your breast,
And taken off from you your burden,
Which pressed heavily upon your back,
And exalted for you your esteem?
Surely with difficulty is ease.
With difficulty is surely ease.
So when you are free, nominate.
And make your Lord your exclusive object.
(Al Insyirah 1-8)*



*Mama...Papa....
Ini bukti usahaku
untuk membuat kalian bangga
dan bukti usaha kalian untuk membuat ku ada...*

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah 'Azza wa Jalla, Dzat yang menciptakan alam semesta ini dengan kekuasaan-Nya yang tak terbatas, Dzat Maha Sempurna, Dzat yang ilmu-Nya meliputi segala sesuatu, karena atas segala cinta, rahmat, hidayah, dan izin-Nyalah, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Sholawat serta salam takkan henti saya curahkan kepada Rasul-Nya, Muhammad , *wash shalaatu wassalaamu 'ala rasuulillaah!*

Skripsi yang berjudul *Sintesis Ester Fruktovanilat dari Fruktosa dan Asam Vanilat Menggunakan Metode Gelombang Mikro serta Uji Aktivitas Antioksidan* ini, disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan program sarjana strata satu di Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

Terima kasih yang tidak terhitung saya ucapkan kepada dua hamba Allah yang sangat saya cintai di dunia ini, Djamilah Dunda dan Budhianto, dua orang yang tak pernah berhenti memberikan kasih sayang, doa, semangat, serta perhatian yang luar biasa kepada anak tunggalnya. Mama, Papa, *loving you is like food to my soul*. Juga kepada seluruh keluarga di Jakarta, Solo, dan Gorontalo yang ternyata tidak pernah berhenti mendoakan. Terutama kepada oma dan *mbah* Mul yang masih setia memberikan dukungan.

Selain itu, penulis juga ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Soleh Kosela,.M.Sc selaku dosen pembimbing penelitian yang telah banyak sekali memberikan perhatian, arahan, bantuan, serta masukan yang tentunya sangat berarti bagi penulis. Semoga Allah SWT selalu memberikan kasih sayang, perlindungan, kesehatan, dan kebaikan dalam hidup Bapak dan keluarga. Amin.
2. Ibu Dr.rer nat Widayanti Wibowo selaku pembimbing akademik yang dengan sabar membimbing dan memberikan masukan kepada saya selama kuliah di Departemen Kimia,FMIPA UI.
3. Bapak Prof. Dr. Wahyudi Priyono; Bapak Drs. Sultan Badjri,.M.Si; serta Bapak Drs. Sunardi selaku dosen penguji.
4. Bapak Drs. Ridla Bakri,.M.Phil selaku Ketua Departemen Kimia FMIPA UI; Ibu Dra. Triesye Utari,M.Si selaku Koordinator Penelitian Departemen Kimia FMIPA UI; Ibu Ir. Widyastuti,.M.Sc selaku Koordinator Pendidikan Departemen Kimia FMIPA UI, serta seluruh dosen pengajar Departemen Kimia yang telah memberikan ilmu dengan tulus.
5. Ana, Niezha, Indah, Yunita, Irwan, Danar, dan Ridlo. Sahabat-sahabat tercinta; yang merupakan pendorong dan penyemangat jiwa terhebat dalam hidup saya. *You're all my strength when I was weak.*
6. Sahabat-sahabat asam vanilatq Vero, Ruth, dan kak Wawan.

Terima kasih atas segala bantuannya, semoga kalian semua menjadi orang yang sukses dalam segala hal.

7. Bapak Hanafi, mbak Nita, mbak Lala, dan mas Ghozali yang selalu baik hati dan setia membantu, memberikan dorongan, dan doa selama berada di LIPI Serpong, serta Aldi yang selalu bersedia mengantarkan saya ke sana.
8. Teman-teman seperjuangan; tim polimer, tim biodiesel, tim enzim, tim anorganik, tim xylosa, tim biomonitoring, tim katalis, tim surfaktan, dan tim analisa. Semangat perjuangan kalian menjadi motivasi bagi saya.
9. Riska, Cacha, buḡik, Ika, Wuri, Ratih, Adine, Visdut, Fajriah, Bibibh, Cingcingq Iman, Wahyu, Alex, Calvin, Gegeq dan teman-teman Kimia 2004 lainnya. Terima kasih mau menjadi temanku..
10. Hasbi yang baik hati, yang mau menjadi pembimbing nonformalḡu. Andika yang juga ikut memberi semangat, dan kak Tia atas ilmunya.
11. Anggi, Sepit, Samira, Susi, Destya, Agung, Yusni, Daniel, dan seluruh mahasiswa Kimia UI angkatan 2003-2007.
12. Mbak Atik, mbak Indri, mbak Ema, mbak Tri, Pak Amin, serta seluruh staf dan karyawan Departemen Kimia FMIPA UI.
13. Pihak-pihak lain yang telah banyak membantu saya namun belum disebutkan namanya disini. Terima kasih atas bantuannya..

Depok, Juni 2008

Penulis

ABSTRAK

Gelombang mikro merupakan gelombang elektromagnetik yang mempunyai kemampuan untuk memanaskan suatu senyawa ionik atau yang memiliki momen dipol. Penggunaan gelombang mikro dalam sintesis senyawa organik adalah untuk memperbaiki atau meningkatkan efisiensi reaksi dengan cara mengurangi waktu reaksi dan meningkatkan rendemen produk. Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan senyawa ester fruktovanilat dengan waktu reaksi yang relatif singkat menggunakan metode gelombang mikro serta menentukan kondisi (waktu pemanasan) optimumnya. Asam vanilat yang digunakan berasal dari vanili yang telah dioksidasi oleh Ag_2O yang dibentuk dari hasil reaksi AgNO_3 dengan NaOH berlebih. Asam vanilat yang dihasilkan dari percobaan seberat 2,5128 g dengan rendemen sebesar 82,37%mol. Esterifikasi dilakukan dengan mereaksikan asam vanilat dan fruktosa dalam pelarut aseton dan katalis H_2SO_4 menggunakan gelombang mikro. Pada metode ini waktu reaksi divariasikan 4, 6, 8, 10, dan 12 menit. Ester pertama dibuat dengan menggunakan perbandingan mol fruktosa terhadap asam vanilat 1:3, dengan menggunakan aseton sebagai pelarut dan variasi waktu reaksi 4, 6, 8, dan 10 menit. Sedangkan ester kedua dibuat dengan menggunakan perbandingan mol fruktosa terhadap asam vanilat 1:5, menggunakan aseton sebagai pelarut dan variasi waktu reaksi 6, 8, 10, dan 12 menit. Dari percobaan yang telah dilakukan,

rendemen tertinggi untuk ester pertama diperoleh melalui pemanasan gelombang mikro selama 8 menit sebesar 44,31%(mmol) dengan berat 0,1061 g sedangkan ester kedua sebesar 46,12%(mmol) dan berat 0,2241 g dengan waktu reaksi 10 menit. Kedua ester yang diperoleh diuji dengan KLT, FTIR, serta dilakukan pula uji aktivitas antioksidan.

Kata kunci : *vanili, asam vanilat, fruktosa, esterifikasi, gelombang mikro*
xiii +(82); Tabel; Gambar; Lampiran



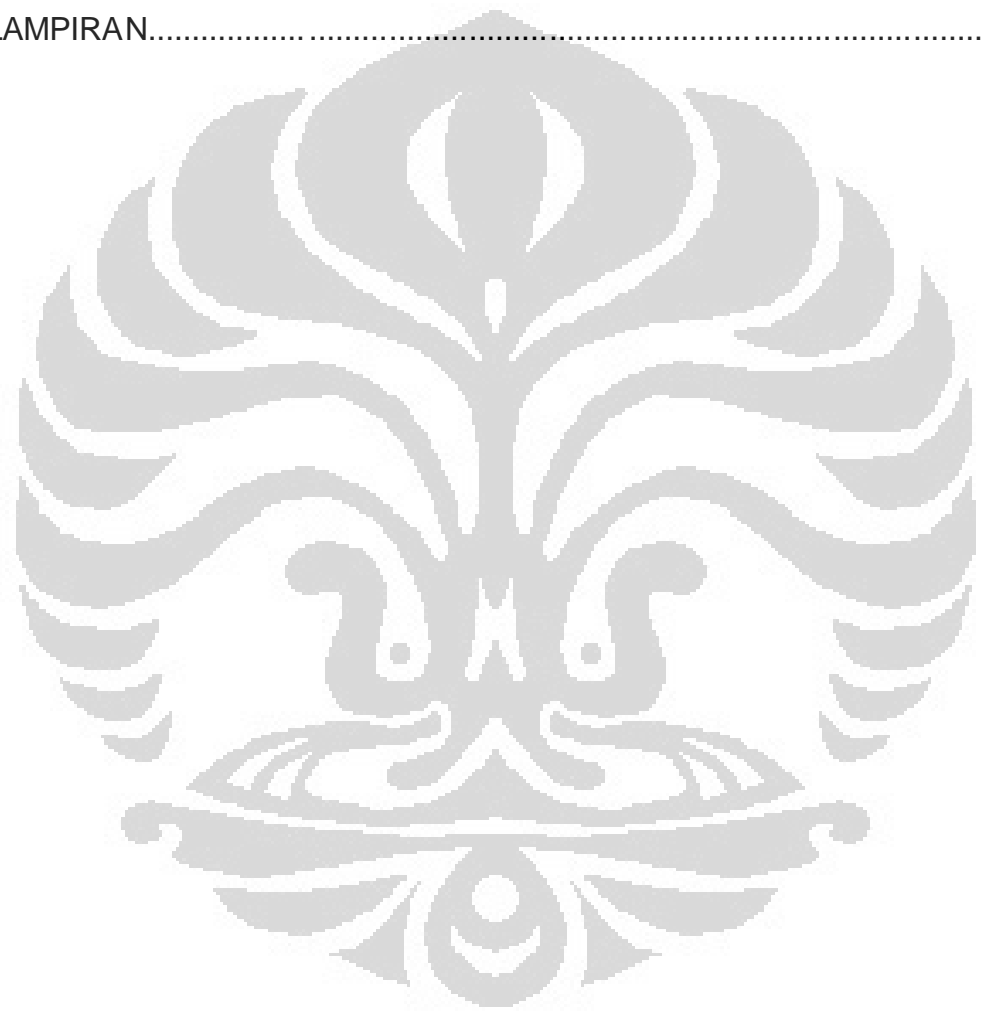
DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--------------------------|---------|
| KATA PENGANTAR | i |
| ABSTRAK | iv |
| DAFTAR ISI | vi |
| DAFTAR TABEL | x |
| DAFTAR GAMBAR | xi |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiii |
| BAB I. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Tujuan Penelitian | 3 |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA | 4 |
| 2.1 Ester | 4 |
| 2.2 Fruktosa | 6 |
| 2.3 Vanili | 7 |
| 2.4 Asam vanilat | 9 |
| 2.5 Aldehida | 11 |
| 2.6 Asam Karboksilat | 12 |
| 2.7 Esterifikasi | 14 |
| 2.8 Gelombang Mikro | 15 |
| 2.8.1 Prinsip Umum | 15 |

| | | |
|----------------------------|---|----|
| 2.8.2 | Mekanisme Pemanasan | 16 |
| 2.8.3 | Rotasi Dipol | 17 |
| 2.8.4 | Konduksi Ion | 19 |
| 2.8.5 | Instrumentasi Gelombang Mikro | 19 |
| 2.9 | Penggunaan Gelombang Mikro pada Penelitian Kimia Organik | 21 |
| 2.10 | Antioksidan | 22 |
| 2.11 | DPPH | 24 |
| 2.12 | Metode Pengukuran Efek Peredaman (<i>Scavenging</i>) Radikal Bebas DPPH | 25 |
| 2.13 | Metode Identifikasi | 26 |
| 2.13.1 | Kromatografi Lapis Tipis | 26 |
| 2.13.2 | Spektroskopi Inframerah | 28 |
| BAB III. METODE PENELITIAN | | 29 |
| 3.1 | Metode Penelitian | 29 |
| 3.2 | Alat dan Bahan | 29 |
| 3.2.1 | Alat | 29 |
| 3.2.2 | Bahan | 30 |
| 3.3 | Instrumentasi | 30 |
| 3.4 | Prosedur Kerja | 30 |
| 3.4.1 | Pembuatan Asam Vanilat | 30 |
| 3.4.1.1 | Oksidasi Vanili | 30 |
| 3.4.1.2 | Ekstraksi Asam Vanilat | 31 |

| | |
|--|----|
| 3.4.1.3 Uji Kemurnian..... | 31 |
| 3.4.2 Esterifikasi Asam Vanilat Dengan Fruktosa (I)..... | 32 |
| 3.4.2.1 Proses Pemurnian Produk..... | 32 |
| 3.4.2.2 Uji Kemurnian..... | 33 |
| 3.4.3 Esterifikasi Asam Vanilat Dengan Fruktosa (II)..... | 33 |
| 3.4.3.1 Proses Pemurnian Produk..... | 33 |
| 3.4.3.2 Uji Kemurnian..... | 34 |
| 3.4.4 Uji Aktivitas Antioksidan..... | 34 |
| 3.4.4.1 Penyiapan larutan pereaksi dan standar..... | 34 |
| 3.4.4.2 Pengukuran absorbansi peredaman radikal bebas DPPH..... | 35 |
| BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 36 |
| 4.1 Oksidasi vanili menjadi asam vanilat..... | 36 |
| 4.2 Ekstraksi asam vanilat | 41 |
| 4.3 Uji kemurnian..... | 43 |
| 4.4 Analisis FT-IR asam vanilat..... | 44 |
| 4.5 Esterifikasi asam vanilat dengan fruktosa..... | 47 |
| 4.6 Ekstraksi Ester..... | 50 |
| 4.7 Pengaruh waktu reaksi..... | 53 |
| 4.8 Identifikasi ester..... | 56 |
| 4.8.1 Identifikasi dengan Kromatografi Lapis Tipis..... | 56 |
| 4.8.2 Identifikasi dengan Spektrofotometer Infra Merah..... | 59 |
| 4.9 Uji aktivitas antioksidan produk ester fruktovanilat..... | 62 |

| | |
|---|----|
| BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN..... | 69 |
| 5.1 Kesimpulan..... | 69 |
| 5.2 Saranõ õ õ õ õ õ õ õ õ õ õ õ õ õ .õ õ õ .õ õ õ .õ | 70 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | 71 |
| LAMPIRAN..... | 75 |



DAFTAR TABEL

| | | |
|-----------|--|----|
| Tabel 2.1 | Ester sintetik dan citarasanya | 5 |
| Tabel 2.2 | Frekuensi gelombang mikro dan area operasi | 16 |
| Tabel 4.1 | Identifikasi beberapa gugus fungsi spektrum FT-IR asam vanilat standar dan asam vanilat hasil oksidasi | 46 |
| Tabel 4.2 | Pengaruh waktu reaksi terhadap %rendemen produk ester I | 54 |
| Tabel 4.3 | Pengaruh waktu reaksi terhadap %rendemen produk ester II | 54 |
| Tabel 4.4 | Identifikasi beberapa gugus fungsi spektra FT-IR ester fruktovanilat I dan fruktovanilat II | 60 |
| Tabel 4.5 | Nilai absorbansi serta %inhibisi larutan pada berbagai konsentrasi | 64 |
| Tabel 4.6 | Nilai IC ₅₀ dan sifat keaktifan suatu senyawa antioksidan | 67 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|---|----|
| Gambar 2.1 Hubungan sintetik ester dengan senyawa lain..... | 5 |
| Gambar 2.2 Struktur rantai terbuka dan siklik D- fruktosa..... | 6 |
| Gambar 2.3 Struktur vanili..... | 7 |
| Gambar 2.4 Vanilla planifolia..... | 8 |
| Gambar 2.6 Reaksi sintesis vanili dari eugenol..... | 9 |
| Gambar 2.7 Struktur asam vanilat..... | 10 |
| Gambar 2.8 Reaksi Oksidasi vanili menjadi Asam Vanilat..... | 10 |
| Gambar 2.9 Gugus karbonil..... | 11 |
| Gambar 2.10 Asam Karboksilat..... | 12 |
| Gambar 2.11 Resonansi anion karboksilat..... | 13 |
| Gambar 2.12 Mekanisme reaksi esterifikasi Fischer..... | 14 |
| Gambar 2.13 Skema respon molekul terhadap medan elektomagnet..... | 18 |
| Gambar 2.14 Skema instrumentasi dalam oven microwave..... | 20 |
| Gambar 2.15 Struktur radikal DPPH..... | 24 |
| Gambar 2.16 Mekanisme reaksi DPPH dengan antioksidan..... | 25 |
| Gambar 2.17 Bagan kromatografi lapis tipis..... | 27 |
| Gambar 4.1 Endapan Ag ₂ O basah..... | 37 |
| Gambar 4.2 Ag ₂ O yang telah tereduksi..... | 38 |
| Gambar 4.3 Pembentukan garam dari senyawa fenol dengan adanya basa kuat..... | 39 |

| | |
|---|----|
| Gambar 4.4 Keseluruhan reaksi oksidasi vanili oleh AgNO_3 | 40 |
| Gambar 4.5 Endapan asam vanilat belum murni..... | 41 |
| Gambar 4.6 Pemisahan fasa dalam corong pisah pada ekstraksi asam vanilat..... | 42 |
| Gambar 4.7 Endapan asam vanilat hasil ekstraksi..... | 43 |
| Gambar 4.8 Hasil KLT asam vanilat hasil oksidasi vanili..... | 43 |
| Gambar 4.9 Struktur dimer asam karboksilat..... | 45 |
| Gambar 4.10 Mekanisme esterifikasi asam vanilat dan fruktosa..... | 48 |
| Gambar 4.11. Cavity yang dilengkapi dengan sirkulator untuk merotasikan sampel..... | 50 |
| Gambar 4.12 Pemisahan fasa produk ester fruktovanilat..... | 52 |
| Gambar 4.13 Ester fruktovanilat I..... | 53 |
| Gambar 4.14 Ester fruktovanilat II..... | 53 |
| Gambar 4.15 Grafik pengaruh waktu reaksi terhadap rendemen..... | 55 |
| Gambar 4.16 Hasil KLT ester fruktovanilat I sebelum diekstraksi..... | 57 |
| Gambar 4.17 Hasil KLT ester fruktovanilat II sebelum diekstraksi..... | 57 |
| Gambar 4.18 Hasil KLT ester fruktovanilat I setelah diekstraksi..... | 58 |
| Gambar 4.19 Hasil KLT ester fruktovanilat II setelah diekstraksi..... | 58 |
| Gambar 4.20 Spektrum FT-IR dari α -D-Fruktosa..... | 61 |
| Gambar 4.21 Bercak kuning dari produk ester fruktovanilat..... | 63 |
| Gambar 4.22 Grafik Konsentrasi asam vanilat terhadap %inhibisi..... | 65 |
| Gambar 4.23 Grafik Konsentrasi sampel ester I terhadap %inhibisi..... | 66 |
| Gambar 4.24 Grafik Konsentrasi sampel ester II terhadap %inhibisi..... | 66 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | | |
|------------|--|----|
| Lampiran 1 | Pembuatan Asam Vanilat | 76 |
| Lampiran 2 | Pembuatan Ester Fruktovanilat I | 77 |
| Lampiran 3 | Pembuatan Ester Fruktovanilat II | 78 |
| Lampiran 4 | Spektrum FT-IR asam vanilat standar | 79 |
| Lampiran 5 | Spektrum FT-IR asam vanilat hasil oksidasi vanilin | 80 |
| Lampiran 6 | Spektrum FT-IR ester fruktovanilat I | 81 |
| Lampiran 7 | Spektrum FT-IR ester fruktovanilat II | 82 |

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Senyawa monosakarida merupakan jenis karbohidrat paling sederhana yang tidak dapat dihidrolisis menjadi karbohidrat lain yang lebih sederhana. Fungsi utama senyawa ini dalam tubuh adalah sebagai sumber energi untuk keperluan hidup. Salah satu senyawa monosakarida terpenting adalah fruktosa yang merupakan monosakarida dari golongan *ketoheksosa* (polihidroksiketon) karena mempunyai satu gugus keton dan 5 gugus hidroksil. Pada strukturnya, monosakarida banyak mengandung gugus hidroksil yang dapat membentuk turunannya, salah satunya adalah bentuk ester dengan senyawa yang mengandung gugus karboksilat.

Dalam beberapa dekade terakhir, telah banyak kemajuan dalam bidang kimia organik, baik itu sintesis senyawa baru maupun penemuan metode baru yang membuat sintesis kimia organik semakin efektif dan dinamis dari sebelumnya. Untuk reaksi. reaksi endoterm, peralatan utama yang umum digunakan untuk menghasilkan panas antara lain adalah *water bath*, *oil bath*, dan *heating mantle*. Akan tetapi, metode pemanasan konvensional ini memerlukan waktu yang cukup lama, bahkan kadang kala menyebabkan pemanasan berlebih sehingga berakibat terjadinya dekomposisi substrat dan

produk. Penggunaan gelombang mikro dalam kimia organik bertujuan untuk mengurangi waktu reaksi, meningkatkan rendemen dan selektivitas reaksi ¹.

Selama beberapa tahun terakhir penggunaan gelombang mikro telah banyak menarik perhatian para ahli kimia. Pada tahun 1960 para ahli kimia fisik menggunakan oven gelombang mikro untuk mengoptimalkan suhu reaksi. Tahun 1967 gelombang mikro mulai digunakan dalam sintesis polimer. Awal dekade 80-an beberapa ahli kimia organik menggunakan oven gelombang mikro domestik di laboratorium ².

Keuntungan utama penggunaan gelombang mikro adalah mempercepat reaksi secara signifikan dan meningkatkan rendemen produk, bahkan dapat melakukan reaksi yang tidak mungkin dilakukan dengan cara konvensional. Pada awalnya banyak eksperimen yang menggunakan gelombang mikro dilakukan dengan oven domestik ^{2,3}. Walaupun memiliki keterbatasan, oven domestik sudah banyak digunakan secara luas di laboratorium karena kemudahannya.

Dalam penelitian ini, dilakukan reaksi esterifikasi fruktosa dengan asam vanilat yang diperoleh dari hasil oksidasi senyawa vanilin dengan Ag_2O yang dihasilkan dari reaksi antara AgNO_3 dengan NaOH yang berlebih. Esterifikasi dilakukan dengan menggunakan gelombang mikro sebagai kondisi pemanasan dan H_2SO_4 sebagai katalis. Dengan menggunakan gelombang mikro, diharapkan reaksi ini dapat berjalan dalam waktu yang lebih singkat, karena biasanya jika esterifikasi ini dilakukan dengan metode

refluks maka akan memerlukan waktu reaksi yang cukup lama dengan kecepatan reaksi yang rendah karena berkesetimbangan.

1.1 Tujuan Penelitian

1. Menghasilkan senyawa ester fruktovanilat dari fruktosa dan asam vanilat (hasil vanillin yang teroksidasi) dengan menggunakan metode gelombang mikro.
2. Menentukan kondisi (waktu pemanasan) optimum esterifikasi fruktosa dan asam vanilat menggunakan gelombang mikro.
3. Mengetahui sifat aktivitas antioksidan senyawa ester fruktovanilat.

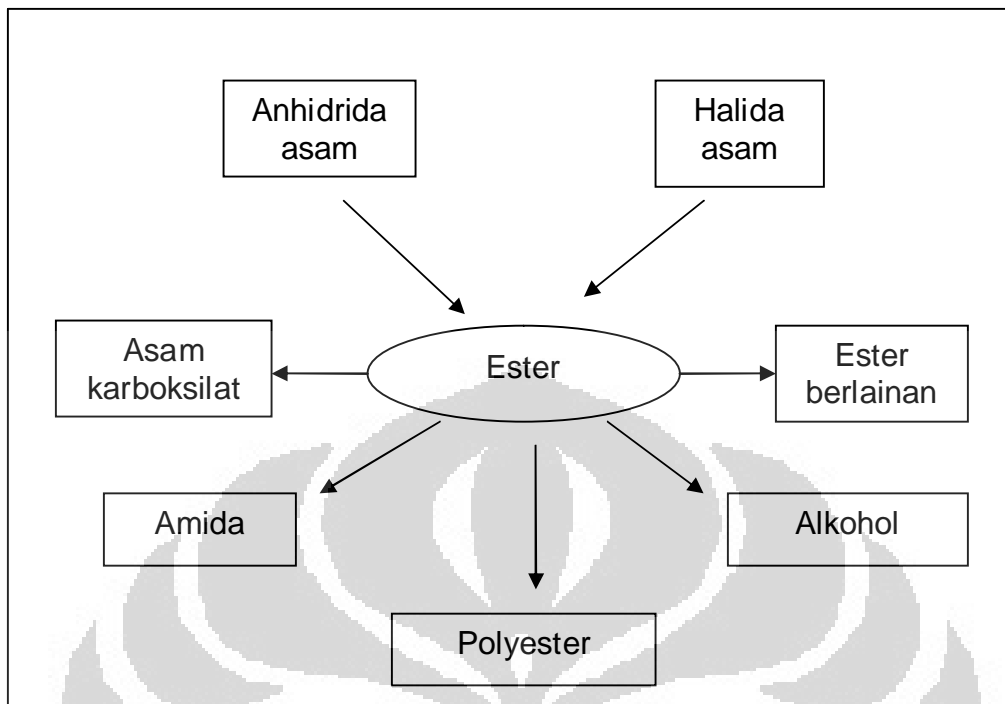
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ester

Ester merupakan golongan senyawa kimia organik yang mengandung gugus -COOR dengan R adalah gugus alkil atau aril. Ester adalah salah satu kelas dari kelas-kelas senyawa organik yang cukup banyak memiliki manfaat. Senyawa ini dapat diubah menjadi senyawa-senyawa lain. Ester adalah salah satu senyawa turunan asam karboksilat. Penamaan senyawa ester dilakukan dengan cara yang sama dengan garam karboksilatnya. Bagian R dari gugus -OR ditulis terlebih dahulu, kemudian diikuti dengan nama asam dengan akhiran -at yang tidak hilang⁴.

Ester dengan berat molekul rendah mempunyai bau yang harum dan merupakan komponen utama dari aroma dan rasa buah-buahan serta beberapa jenis bunga. Walaupun aroma alami dapat terbentuk dari ratusan senyawa berbeda, suatu ester dapat mewakili satu aroma alami dan sering digunakan dalam industri makanan sebagai citarasa sintetik⁵.



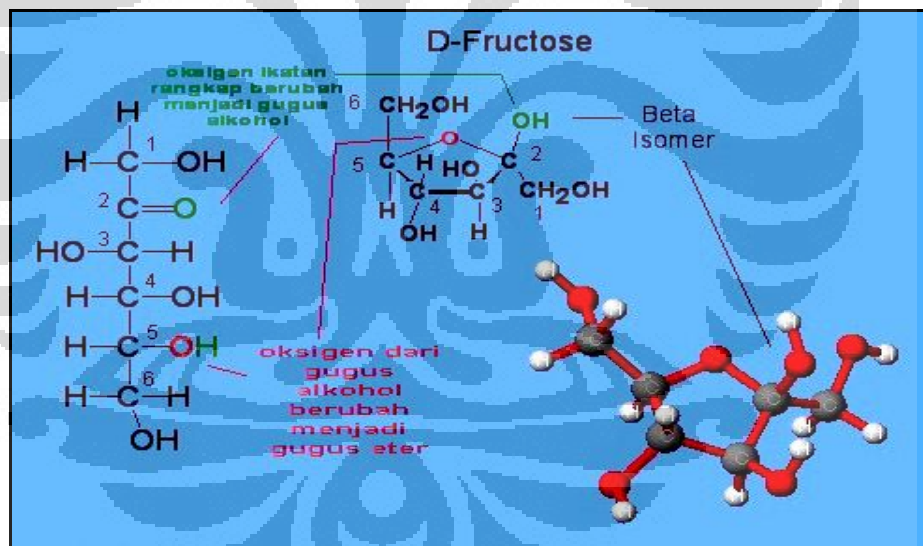
Gambar 2.1. Hubungan sintetik ester dengan senyawa lain ⁶

Tabel 2.1. Ester sintetik dan citarasanya

| Ester | Titik Didih (° C) | Aroma |
|--------------------------|-------------------|------------------|
| 2- metilpropil format | 98,4 | <i>Raspberry</i> |
| Metil butirat | 102,3 | Apel |
| Etil butirat | 121 | Nanas |
| 2- metilpropil propionat | 136,8 | <i>Rum</i> |
| 3-metilbutil asetat | 142 | Pisang |
| Benzil asetat | 213,5 | Peach |
| Oktil asetat | 210 | Jeruk |

2.2 Fruktosa

Fruktosa adalah gula yang terkandung dalam buah-buahan, madu, serta beberapa jenis sayuran seperti jagung, kentang, wortel, dan bawang, yang banyak digunakan untuk proses campuran rasa manis pada makanan (biasanya kombinasi dengan sukrosa dan glukosa)⁷. Fruktosa merupakan monosakarida dari golongan *ketoheksosa* (polihidroksiketon). Senyawa monosakarida ini merupakan gula yang paling manis (diperkirakan dua kali lebih manis dari sukrosa), dan merupakan salah satu dari tiga [gula darah](#) penting bersama dengan [glukosa](#) dan [galaktosa](#)⁸.



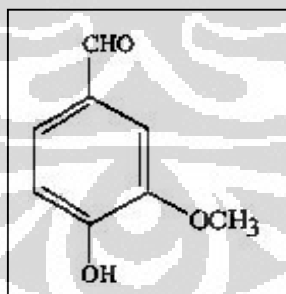
Gambar 2.2. Struktur rantai terbuka dan siklik D-fruktosa

Fruktosa dapat juga terbentuk dari hasil pemecahan sukrosa (disakarida yang tersusun atas glukosa dan fruktosa). Pada proses pemecahannya, sukrosa dipecah oleh enzim glikosida hidrolase.

Larutannya merupakan pemutar kiri, sehingga D-fruktosa disebut juga levulosa (*levorotatory monosaccharide*) dan merupakan isomer dari glukosa. Rumus molekul kimia dari fruktosa adalah $C_6H_{12}O_6$. Pada dasarnya, fruktosa murni memiliki rasa manis yang sama dengan gula tebu, namun terdapat tambahan aroma buah yang terkandung dalam citarasanya. Walaupun fruktosa merupakan monosakarida golongan heksosa (terdiri dari 6 atom karbon), namun biasanya bentuk siklik dari senyawa ini merupakan bentuk furanosa (memiliki 5 cincin hemiketal).⁶

2.3 Vanili⁷

Rumus molekul dari senyawa vanili adalah $C_8H_8O_3$. Nama lain dari senyawa ini adalah 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehid dengan struktur molekul sebagai berikut :



Gambar 2.3. Struktur vanili

Gugus fungsi yang terdapat pada senyawa vanilin ialah gugus aldehid, eter, dan fenol. Vanili alami diperoleh dari fermentasi glukovanili yang dihasilkan dari tanaman *Vanilla planifolia*, yang klasifikasi secara

taksonominya adalah sebagai berikut ⁷ :

Kingdom : Plantae
 Divisi : Tracheophyta
 Kelas : Monocotyledoneae
 Ordo : Orchidales
 Famili : Orchidaceae
 Subfamili : Vanilloideae
 Genus : Vanilla
 Spesies : *Vanilla planifolia*



Gambar 2.4
Vanilla planifolia

Deskripsi morfologi tanaman *Vanilla planifolia*

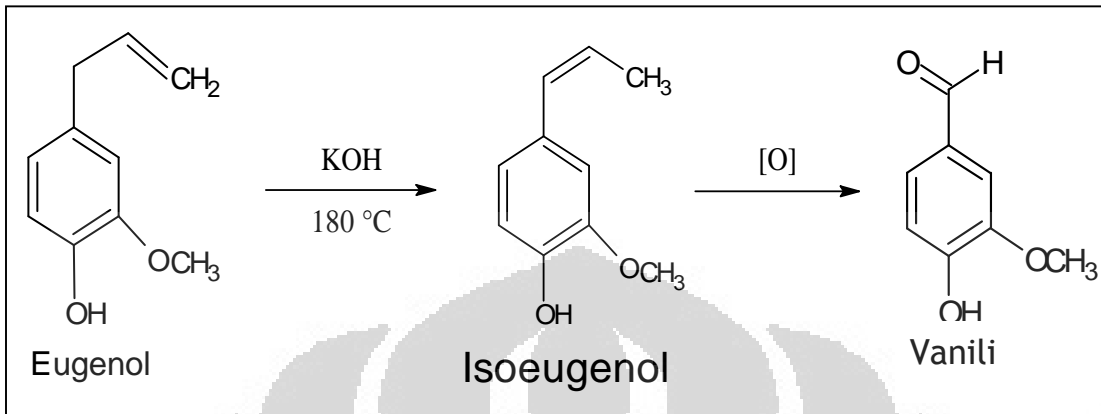
Batang : berbentuk silindris, beruas-ruas, lunak, rata-rata diameter \pm 1,5 cm, berwarna hijau berbintik putih

Daun : tunggal, lonjong, berseling, pangkal melingkar, ujung meruncing, rata-rata panjang 15-19 cm serta lebar 5-8 cm, pelepah kecil, pertulangan sejajar, dan berwarna hijau

Bunga : berbunga setelah 2 tahun, berbunga satu kali dalam setahun dan hanya 50 bunga dari setiap tanaman yang dapat dilakukan penyerbukan dengan bantuan manusia.

Vanili juga dapat disintesis dalam laboratorium melalui dua tahap, yaitu bila eugenol dipanaskan dengan KOH pada suhu 180°C akan menjadi isoeugenol, kemudian isoeugenol dioksidasi menjadi vanili.

Reaksinya sebagai berikut :

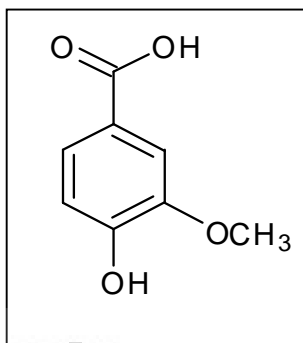


Gambar 2.6. Reaksi sintesis vanili dari eugenol

Vanili secara luas digunakan sebagai bahan tambahan untuk minuman, masakan, serta sebagai tambahan aroma untuk lilin, dupa, dan penyegar udara. Buah *Vanilla planifolia* berkhasiat sebagai obat pusing dan sebagai bahan kosmetika.

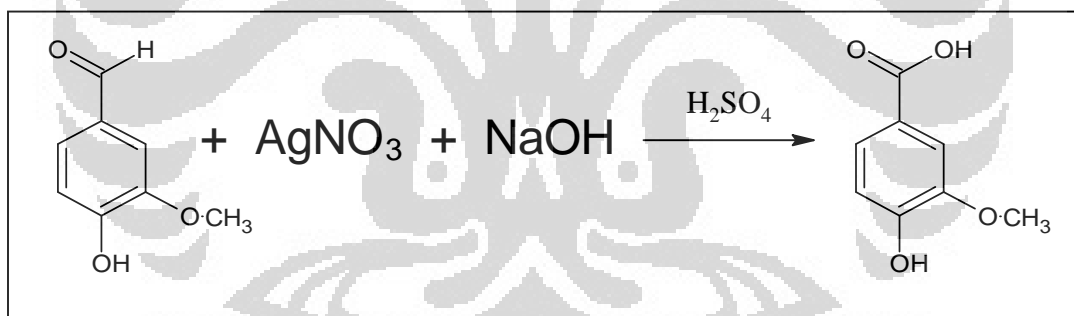
2.4 Asam Vanilat

Asam vanilat memiliki rumus molekul C₈H₈O₄, dengan nama lain asam 4-hidroksi-3-metoksibenzoat. Asam vanilat memiliki gugus asam karboksilat, eter, dan fenol. Secara fisik asam vanilat berupa padatan atau kristal berwarna putih hingga kuning muda dengan titik leleh 211-213°C. Asam vanilat sedikit larut dalam air dan stabil dalam kondisi ruang.



Gambar 2.7. Struktur asam vanilat

Asam vanilat merupakan hasil oksidasi dari vanili. Salah satu metode oksidasi asam vanilat yang terbukti dapat menghasilkan rendemen dalam jumlah besar adalah oksidasi vanili dengan menggunakan perak nitrat dan penambahan basa berlebihan.

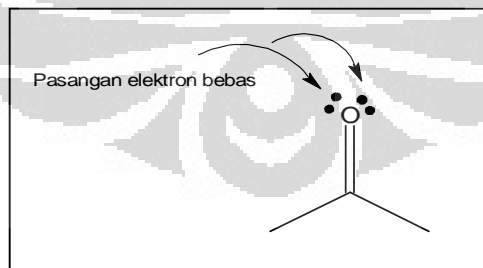


Gambar 2.8. Reaksi Oksidasi vanili menjadi Asam Vanilat

Secara alami asam vanilat juga terdapat dalam tanaman vanila, namun dengan konsentrasi yang jauh lebih sedikit dari vanili. Derivat asam vanilat juga digunakan dalam bidang farmasi dan kesehatan.⁹

2.4 Aldehida

Aldehida merupakan salah satu kelompok senyawa organik yang mengandung gugus karbonil. Aldehida mempunyai satu atom hidrogen yang terikat pada karbon karbonilnya. Dalam sistem IUPAC, nama suatu aldehida diturunkan dari nama alkana induknya dengan mengubah huruf akhir . a menjadi . al. Gugus . CHO selalu memiliki nomor 1 untuk karbonnya.¹⁰ Sedangkan nama trivial aldehida diberi nama berdasarkan nama asam karboksilat induknya dengan mengubah akhiran *asam -oat* atau *asam -al* menjadi akhiran *aldehida*¹¹. Posisi-posisi lain dalam suatu molekul dapat dirujuk oleh huruf Yunani, dalam hubungannya dengan gugus karbonil itu. Karbon terdekat dengan . CHO disebut karbon alfa (α). Karbon berikutnya beta (β), kemudian gamma (γ), delta (δ), dan seterusnya. Kadang-kadang digunakan omega (ω), untuk menandai karbon ujung (dari) suatu rantai panjang, tanpa memperhatikan banyaknya atom karbon sebenarnya.



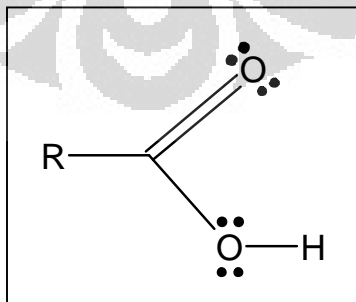
Gambar 2.9. Gugus karbonil

Gugus karbonil terdiri dari sebuah atom karbon sp^2 yang dihubungkan ke sebuah atom oksigen oleh sebuah ikatan sigma dan sebuah ikatan-pi. Ikatan-ikatan sigma gugus karbonil terletak dalam suatu bidang dengan sudut ikatan kira-kira 120° disekitar karbon sp^2 .¹² Ikatan-pi yang menghubungkan C dan O terletak di atas dan di bawah bidang ikatan sigma tersebut. Oksigen gugus karbonil mempunyai dua pasang elektron bebas.

Dalam laboratorium, metode umum untuk membuat suatu aldehida sederhana ialah dengan oksidasi suatu alkohol primer. Aldehida juga dapat dioksidasi lebih lanjut membentuk suatu senyawa asam karboksilat.

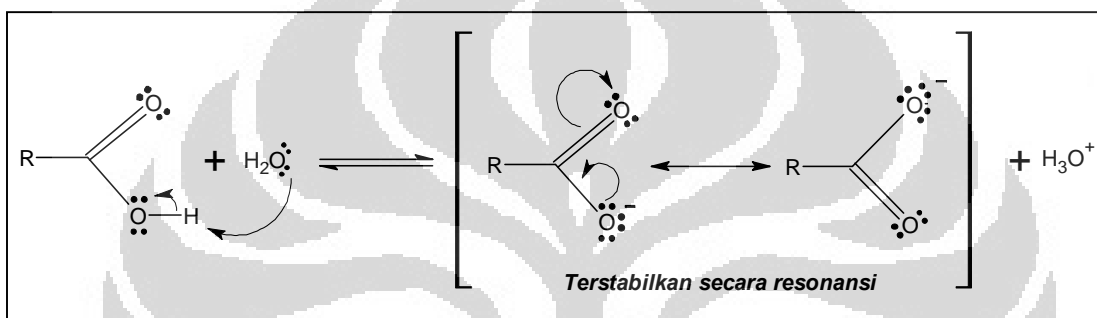
2.6 Asam Karboksilat^{5,12}

Asam karboksilat adalah suatu senyawa organik yang mengandung gugus karboksil (-COOH). Gugus karboksil mengandung sebuah gugus karbonil dan sebuah gugus hidroksil. Antaraksi dari kedua gugus ini mengakibatkan suatu kereaktifan kimia yang unik pada asam karboksilat.



Gambar 2.10. Asam Karboksilat

Sifat kimia yang paling menonjol dari asam karboksilat ialah keasamannya. Dibandingkan dengan asam mineral seperti HCl dan HNO₃, asam karboksilat adalah asam lemah. Namun asam karboksilat lebih bersifat asam daripada alkohol atau fenol, terutama karena stabilisasi resonansi anion karboksilatnya, RCO₂⁻.

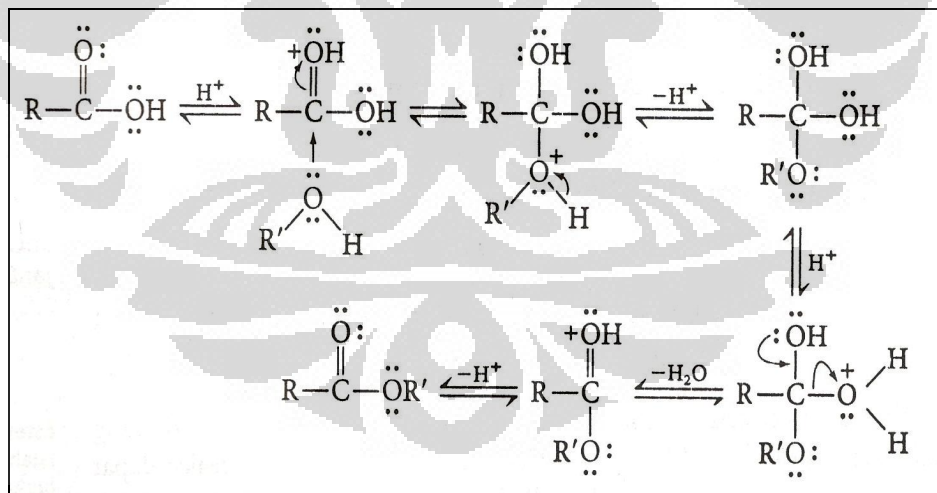


Gambar 2.11. Resonansi anion karboksilat

Nama IUPAC suatu asam karboksilat alifatik adalah nama alkana induknya, dengan akhir . a diubah dengan imbuhan asam . oat. Karbon karboksil diberi no.1, seperti pada aldehida. Untuk lima asam karboksilat pertama, nama trivialnya lebih sering digunakan daripada nama IUPAC, seperti asam format, asam asetat, asam propionat, asam butirat, dan asam valerat. Seperti pada aldehida, huruf Yunani dapat digunakan dalam nama trivial asam karboksilat untuk mengacu pada suatu posisi dalam molekul relatif terhadap gugus karboksil.

2.7 Esterifikasi ^{12,13,14}

Proses pembuatan ester dinamakan esterifikasi. Bila asam karboksilat dan alkohol dipanaskan dengan kehadiran katalis asam, kesetimbangan tercapai dengan ester dan air. Reaksi ini berlangsung bolak-balik/*reversible* dan tanpa kehadiran katalis reaksi akan berlangsung sangat lambat. Reaksi berkesetimbangan, karena pada prosesnya dihasilkan air yang dapat menghidrolisis kembali ester yang telah terbentuk menjadi asam karboksilat pembentuknya. Proses ini disebut esterifikasi Fischer. Meskipun reaksi ini merupakan reaksi kesetimbangan, reaksi dapat digeser ke kanan dengan beberapa cara, salah satunya dapat digunakan alkohol atau asam karboksilat berlebih.



Gambar 2.12. Mekanisme reaksi esterifikasi Fischer¹²

Mekanisme reaksi ini melibatkan proses protonasi dan deprotonasi.

Oksigen karbonil diprotonasi kemudian gugus hidroksi nukleofilik menyerang

karbon yang relatif positif. Transfer proton dan hilangnya molekul air akan menghasilkan ester.

2.8 Gelombang Mikro

2.8.1 Prinsip Umum

Gelombang mikro merupakan gelombang elektromagnet yaitu suatu gelombang yang tidak memerlukan medium perambatan, dengan memiliki kecepatan rambat 3×10^8 m/detik. Gelombang elektromagnet terdiri dari komponen medan listrik (E) dan medan magnet (B) yang saling tegak lurus. Gelombang ini memiliki daerah frekuensi yang sangat besar, yaitu 10^9 - 10^{22} Hz¹⁵. Sebagian besar spektrum gelombang mikro digunakan untuk keperluan telekomunikasi. Gelombang mikro yang digunakan dalam peralatan RADAR berada pada panjang gelombang 0,01-0,25 m. Gelombang mikro yang digunakan untuk industri dan peralatan domestik, diatur frekuensinya baik di tingkat nasional maupun internasional untuk menghindari terjadinya interferensi. Frekuensi yang paling umum digunakan adalah 2,45 ($\pm 0,05$) GHz (hampir semua oven gelombang mikro domestik beroperasi pada frekuensi 2,45 GHz).¹⁷

Tabel 2.2. Frekuensi gelombang mikro dan area operasi¹⁸

| Frekuensi (GHz) | Toleransi (+/-) | Daerah yang diizinkan |
|-----------------|-----------------|--|
| 0,43 | 0,2% | Austria, Belanda, Portugal, Jerman, Swiss |
| 0,896 | 10 MHz | Inggris |
| 0,915 | 13 MHz | Amerika Utara dan Selatan |
| 2,375 | 50 MHz | Albania, Bulgaria, Hongaria, Romania, Replubik Ceko dan Slovakia |
| 2,450 | 50 MHz | Seluruh dunia |
| 3,390 | 0,6% | Belanda |
| 5,800 | 5 MHz | Seluruh Dunia |
| 6,780 | 0,6% | Belanda |
| 24,150 | 25 MHz | Seluruh Dunia |
| 40,680 | 25 MHz | Inggris |

2.8.2 Mekanisme Pemanasan ^{16,19,20}

Sejak lama telah diketahui bahwa suatu materi dapat dipanaskan dengan menggunakan gelombang elektromagnet berfrekuensi tinggi. Pemanasan tersebut ditimbulkan dari interaksi komponen medan listrik gelombang elektromagnet dengan partikel yang memiliki muatan dalam materi sehingga menghasilkan polarisasi dipolar. Selain itu, terdapat faktor konduksi yang juga berperan dalam pemanasan terutama pada suhu tinggi.

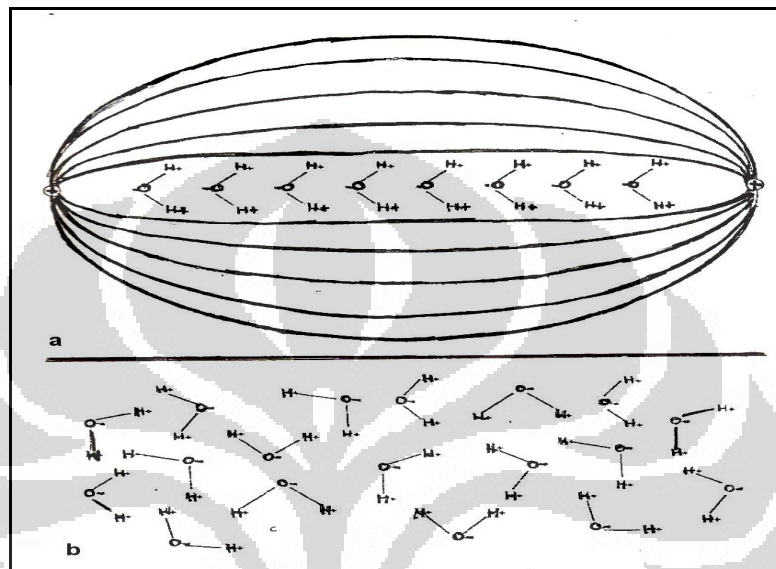
Pemanasan dengan gelombang mikro memiliki tiga karakteristik yang unik dan khas. Pertama, gelombang ini akan dipantulkan oleh logam dan tidak dapat menembus wadah yang terbuat dari logam untuk pemanasan materi. Kedua, gelombang ini dapat menembus bahan nonlogam tanpa memanaskan wadah nonlogam tersebut. Ketiga, gelombang ini diserap oleh air. Pada saat energi gelombang mikro terserap oleh molekul air, maka molekul-molekul tersebut akan terdistribusi dengan cepat hingga bertumbukan satu sama lain.

Gelombang mikro berinteraksi langsung dengan seluruh molekul campuran yang aktif menyerap energi gelombang mikro. Oleh karena itu larutan yang dipanaskan dapat mencapai titik didihnya dengan sangat cepat. Bahkan dapat terjadi fenomena yang sangat menarik dalam pemanasan gelombang mikro ini yaitu pelarut dapat mendidih di atas titik didih normalnya pada tekanan atmosfer. Hal ini karena gelombang mikro berinteraksi dengan seluruh bagian dari volume pelarut. Fenomena ini dikenal dengan *super boiling* atau *super heating*.¹⁸

2.8.3 Rotasi Dipol^{18,20,21}

Rotasi dipol atau polarisasi dipolar merupakan fenomena utama yang menyebabkan terjadinya pemanasan oleh gelombang mikro. Dalam pengaruh medan listrik luar, molekul-molekul yang mempunyai momen dipol permanen akan berotasi untuk menyesuaikan diri dengan medan listrik tersebut.² Rotasi

dipol suatu molekul dalam pengaruh medan listrik digambarkan sebagai berikut :



Gambar 2.13. ¹⁵Skema respon molekul terhadap medan elektromagnet.

- (a) molekul terpolarisasi menyesuaikan diri dengan medan listrik luar
- (b) kekacauan molekul setelah medan dihilangkan

Ketika medan listrik meningkat, molekul-molekul akan terpolarisasi (Gambar 2.13 a). Pada saat medan listrik berkurang, molekul-molekul menjadi tidak teratur (Gambar 2.13 b). Gelombang mikro sendiri merupakan gelombang transversal, yaitu gelombang yang arah getarannya tegak lurus dengan arah rambatannya. Dengan demikian ketika merambat, gelombang mikro mempunyai puncak dan lembah gelombang. Puncak dan lembah gelombang ini mempunyai arah medan listrik yang berlawanan. Ketika puncak gelombang tersebut melewati suatu materi, maka molekul-molekulnya

akan terpolarisasi sedemikian rupa, sehingga kutub negatifnya mengarah ke kutub positif gelombang (puncak gelombang), dan ketika lembah gelombang melewatinya dengan serta merta arah polarisasinya pun berubah. Selama proses perubahan orientasi ini, molekul-molekul saling bergesekan dan bertumbukan sehingga menimbulkan energi panas.²¹ Diketahui bahwa satu panjang gelombang terdiri dari satu lembah dan satu puncak, oleh karena itu untuk frekuensi 2,45 GHz, polarisasi molekul diikuti kembalinya ke keadaan tidak beraturan terjadi sebanyak $4,9 \times 10^9$ kali setiap detik, hal inilah yang menyebabkan proses pemanasan dengan gelombang mikro berlangsung sangat cepat.¹⁵

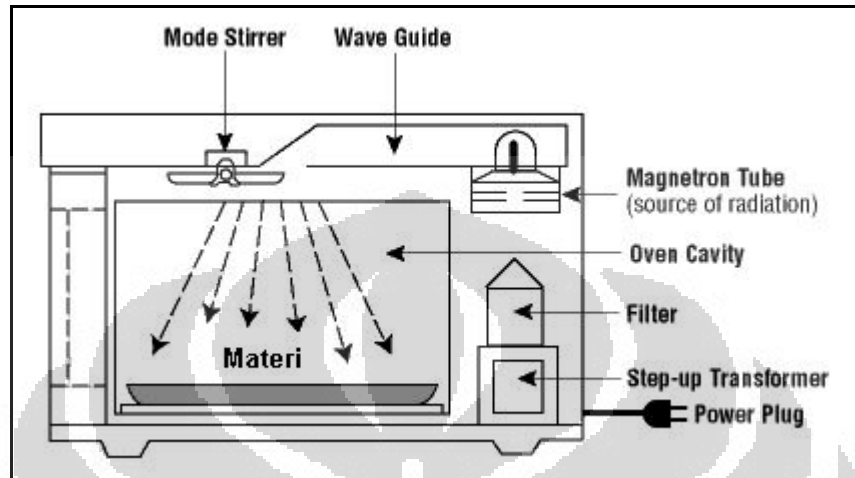
2.8.4 Konduksi Ion¹⁵

Fenomena kedua yang berperan dalam pemanasan dengan gelombang mikro adalah adanya konduksi ion. Dalam pengaruh suatu medan listrik, ion-ion yang terdapat dalam sampel yang dipanaskan akan bergerak dan saling bergesekan sehingga menimbulkan panas. Migrasi ion ini dipengaruhi oleh ukuran muatan dan konduktivitas ion terlarut. Faktor yang mempengaruhi konduksi ion adalah konsentrasi, mobilitas ion, dan temperatur larutan.

2.8.5 Instrumentasi Oven Gelombang Mikro

Instrumen gelombang mikro yang digunakan untuk pemanasan terdiri dari enam komponen utama, yaitu : magnetron yang merupakan generator

gelombang mikro, pengarah gelombang (*wave guide*), *cavity*, *mode stirrer*, sirkulator, dan *turntable*.²²



Gambar 2.14 Skema instrumentasi dalam oven microwave

Cavity adalah tempat dimana sampel akan diiradiasi dengan gelombang mikro. Berdasarkan jenis *cavity*-nya instrumen gelombang mikro terdiri dari dua macam reaktor utama, yaitu reaktor *monomode/single mode* dan *multimode*. Pada reaktor *multimode* banyak gelombang yang melewati pengarah gelombang menuju *cavity*. Oven gelombang mikro domestik, merupakan reaktor multimode. Di dalam setiap oven gelombang mikro terdapat sebuah magnetron. Magnetron adalah tabung hampa elektronik penghasil gelombang mikro.²⁰ Fungsi magnetron adalah memancarkan gelombang mikro ke sebuah kincir yang terbuat dari logam yang disebut *stirrer*. *Stirrer* ini berputar selama magnetron memancarkan gelombang mikro sehingga gelombang tersebut terpancarkan dan terdistribusi secara merata ke dalam ruang pemanasan dari oven gelombang mikro.²³ Selain itu pintu oven juga telah dibuat sedemikian rupa sehingga tidak dapat ditembus oleh

energi pancaran gelombang mikro, bahkan saat ini sudah banyak pintu oven gelombang mikro yang dirancang otomatis menghentikan pancaran gelombang oleh magnetron ketika pintu oven terbuka. Hal ini dilakukan untuk menghindari resiko terbakarnya bagian tubuh yang terkena pancaran gelombang mikro .²³

Saat ini banyak sekali oven domestik yang mulai dimodifikasi terutama dengan tujuan agar terjadinya keseragaman medan yang menyebabkan efisiensi pemanasan merata dan tidak bervariasi secara drastis pada tempat yang berbeda. Salah satu modifikasi yang banyak dilakukan adalah pemasangan sistem *rotation cavity*, yang dapat merotasikan wadah sampel agar mendapatkan paparan medan yang merata.

2.9 Penggunaan Gelombang Mikro dalam Sintesis Kimia Organik^{1,2,3}

Prinsip dasar dari MAOS (*Microwave Assisted Organic Synthesis*) adalah efisiensi dalam memanaskan materi (campuran reaksi) dengan menggunakan efek panas dielektrik gelombang mikro. Reaksi organik dalam fasa cair dapat dilakukan dengan menggunakan oven gelombang mikro domestik dengan menggunakan pelarut. Reaksinya dapat sangat sederhana, reaksi dapat dilakukan dengan menggunakan labu erlenmeyer terbuka dengan iridiasi yang sangat singkat. Reaksi juga dapat dilakukan dengan menggunakan wadah yang tertutup, dengan syarat yang harus dipenuhi adalah salah satu atau beberapa reaktan harus aktif atau dapat berinteraksi dengan gelombang mikro. Keuntungan utama penggunaan gelombang mikro

dalam sintesis kimia organik adalah waktu reaksi yang jauh lebih cepat untuk menghasilkan produk yang diinginkan.

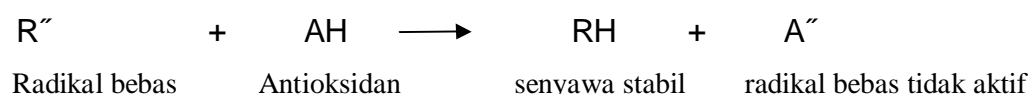
2.10 Antioksidan

Antioksidan didefinisikan sebagai inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tidak reaktif yang relatif stabil. Penghambatan oksidasi oleh antioksidan di dalam tubuh dapat mengurangi terjadinya kerusakan yang ditimbulkan akibat adanya bahan toksik (radikal bebas), atau dengan kata lain, antioksidan merupakan senyawa-senyawa yang melindungi sel dari efek berbahaya radikal bebas oksigen reaktif.²⁴

Antioksidan terbagi menjadi antioksidan enzim dan vitamin. Antioksidan enzim meliputi superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase (GSH.Prx). Superoksida dismutase berperan dalam melawan radikal bebas pada mitokondria, sitoplasma dan bakteri aerob dengan mengurangi bentuk radikal bebas superoksida. SOD murni berupa peptida orgoteina yang disebut agen anti peradangan. Katalase adalah enzim yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Fungsinya adalah menetralkan hidrogen peroksida beracun dan mencegah formasi gelembung CO₂ dalam darah. Antioksidan glutathion peroksidase bekerja dengan cara menggerakkan H₂O₂ dan lipid peroksida dibantu dengan ion logam-logam transisi.²⁵

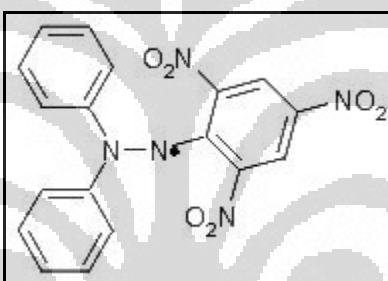
Antioksidan vitamin lebih populer sebagai antioksidan dibandingkan antioksidan enzim. Antioksidan vitamin mencakup alfa tokoferol (vitamin E), beta karoten dan asam askorbat (vitamin C). Vitamin E dipercaya sebagai sumber antioksidan yang kerjanya mencegah lipid peroksidasi dari asam lemak tidak jenuh dalam membran sel dan membantu oksidasi vitamin A serta mempertahankan kesuburan. Sebagai antioksidan, beta karoten adalah sumber utama vitamin A, yang sebagian besar ada dalam tumbuhan. Selain melindungi buah-buahan dan sayuran berwarna kuning atau hijau gelap dari bahaya radiasi matahari, beta karoten juga berperan serupa dalam tubuh manusia. Beta karoten terkandung dalam wortel, brokoli, kentang, dan tomat. Sedangkan asam askorbat mudah dioksidasi menjadi asam dehidroaskorbat. Dengan demikian maka vitamin C juga berperan dalam menghambat reaksi oksidasi yang berlebihan dalam tubuh dengan cara bertindak sebagai antioksidan. Vitamin C terkandung dalam sayuran berwarna hijau dan buah-buahan.²⁵

Di samping penggolongan antioksidan di atas, ada pula senyawa lain yang dapat menggantikan vitamin E, yaitu flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang terdapat pada teh, buah-buahan, sayuran, anggur, dan kecap. Mekanisme reaksi antioksidan dengan radikal bebas dapat digambarkan sebagai berikut :



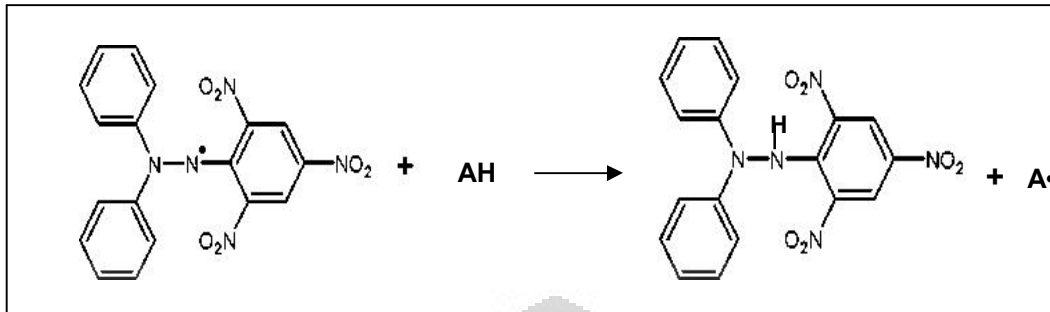
2.11 DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

DPPH digunakan secara luas untuk menguji kemampuan suatu senyawa yang berperan sebagai penghambat radikal bebas atau donor hydrogen. Selain itu DPPH juga acap kali digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan dari senyawa-senyawa ekstrak tanaman. Bahkan beberapa tahun belakangan ini DPPH juga banyak digunakan untuk mengukur adanya antioksidan di dalam sistem biologis yang kompleks.



Gambar 2.15 Struktur radikal DPPH

Elektron asing pada radikal bebas DPPH memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 517nm (warna ungu). Warna ungu DPPH akan berubah menjadi kuning atau coklat terang seiring dengan berkurangnya absorbtivitas molar radikal DPPH pada panjang gelombang 515 nm ketika elektron asing berpasangan dengan atom hidrogen dari senyawa antioksidan membentuk DPPH-H.



Gambar 2.16. Mekanisme reaksi DPPH dengan antioksidan

2.12 Metode Pengukuran Efek Peredaman (*Scavenging*) Radikal Bebas DPPH

Metode pengukuran antioksidan melalui efek peredaman radikal bebas DPPH merupakan metode pengukuran antioksidan yang cepat, sederhana dan tidak membutuhkan reagen seperti halnya uji antioksidan lain. Hasil pengukuran menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum tidak berdasar jenis radikal yang dihambat dan dapat dilakukan pada sampel padat maupun cair.

Pada metode ini DPPH berperan sebagai radikal bebas yang diredam oleh antioksidan dari sampel. DPPH akan bereaksi dengan antioksidan dari sampel membentuk *1,1-difenil-2-pikrilhidrazin*. Reaksi ini menyebabkan terjadinya perubahan warna yang dapat diukur dengan spektrofotometer sinar tampak pada 515 nm, sehingga aktivitas peredaman radikal bebas oleh sampel dapat ditentukan.

2.13 Metode Identifikasi

2.13.1 Kromatografi Lapis Tipis ²⁶

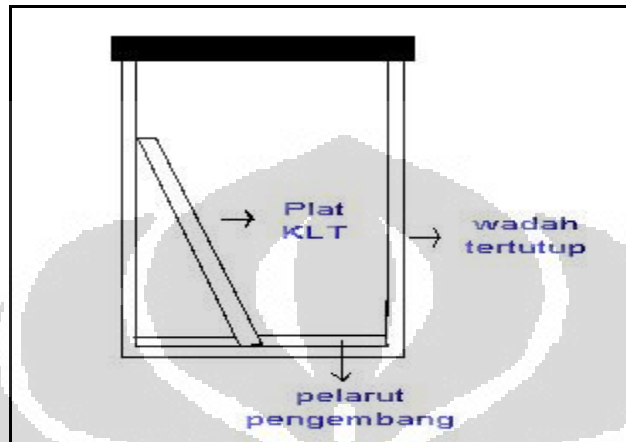
Kromatografi adalah teknik pemisahan berdasarkan perbedaan interaksi komponen-komponen dalam sampel terhadap fasa diam dan fasa gerak. Fase gerak mengalir melalui fase diam dan membawa komponen-komponen yang terdapat dalam campuran. Komponen-komponen yang berbeda bergerak dengan laju yang berbeda.

Kromatografi lapis tipis merupakan teknik kromatografi yang paling sederhana. Pada kromatografi lapis tipis fasa diam kromatografi dibuat dalam bentuk lapisan tipis. Lapisan tipis ini berupa bahan yang sering digunakan sebagai fasa diam yang dilapiskan secara tipis dan merata pada permukaan gelas (kaca), kertas, plastik, atau logam aluminium. Cara ini banyak digunakan karena memiliki beberapa keuntungan, diantaranya ialah :

1. Peralatan yang diperlukan sedikit
2. Pengerjaannya sederhana
3. Waktu analisis cepat
4. Pemisahannya cukup baik

Teknik pengerjaan KLT dilakukan sebagai berikut, fasa diam dilapiskan pada suatu lembaran kaca atau media yang lain sebagai pendukungnya. Zat yang akan dipisahkan ditotolkan pada salah satu ujung lempengan fasa diam tersebut. Lempengan ini diletakkan tegak (agak miring)

di dalam suatu wadah yang diisi dengan sedikit pelarut pengembang (fasa gerak), wadah ini ditutup rapat untuk mengurangi adanya penguapan pelarut.



Gambar 2.17. Bagan kromatografi lapis tipis

Setelah didiamkan beberapa lama, maka campuran zat yang ditotolkan akan terbawa oleh aliran fasa gerak, yang kemudian terpisah sesuai dengan daya adsorpsi fasa diam terhadap masing-masing komponen dalam campuran. Pada lempeng KLT akan terlihat spot (bercak) yang menggambarkan pemisahan komponen pada campuran tersebut. Jarak yang ditempuh masing-masing komponen dirumuskan dengan:

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh komponen}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

2.13.2 Spektroskopi Infra Merah ²⁷

Spektroskopi infra merah merupakan teknik spektroskopi yang berguna untuk mengidentifikasi gugus fungsi. Spektrum infra merah meliputi panjang gelombang antara 2,5-1,6 μm atau setara dengan bilangan gelombang 4000-650 cm^{-1} .

Spektrum infra merah suatu senyawa dapat dengan mudah diperoleh dalam beberapa menit. Sedikit sampel senyawa diletakkan dalam instrumen dengan sumber radiasi inframerah. Spektrometer secara otomatis membaca sejumlah radiasi yang menembus sampel dengan kisaran frekuensi tertentu dan merekam pada kertas berapa persen radiasi yang ditransmisikan. Karena setiap tipe ikatan yang berbeda mempunyai sifat frekuensi vibrasi yang berbeda, dan karena tipe ikatan yang sama dalam dua senyawa yang berbeda terletak dalam lingkungan yang sedikit berbeda, maka tidak ada dua molekul yang berbeda strukturnya akan mempunyai bentuk serapan yang tepat sama. Dengan membandingkan spektra inframerah dari dua senyawa yang diperkirakan identik maka dapat diketahui apakah kedua senyawa tersebut identik atau tidak. Pelacakan tersebut dikenal dengan bentuk sidik jari dari dua spektrum inframerah. Pita-pita serapan di daerah sidik jari pada spektrum inframerah merupakan kekhasan untuk setiap senyawa. Daerah sidik jari berada di daerah frekuensi rendah, yaitu dari 1000 sampai 1300 cm^{-1} . Jika pita spektrum inframerah kedua senyawa tepat sama maka dalam banyak hal dua senyawa tersebut adalah identik.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Metode Penelitian

Dalam penelitian ini, senyawa aromatik vanilin yang memiliki gugus aldehid dioksidasi menjadi asam vanilat menggunakan oksidator Ag_2O dan NaOH berlebih. Asam vanilat hasil oksidasi ini kemudian dimurnikan dengan ekstraksi dan dibandingkan dengan asam vanilat standar melalui pengujian pada kromatografi lapis tipis dan analisa spektroskopi infra merah. Asam vanilat hasil oksidasi yang telah dimurnikan ini kemudian digunakan untuk reaksi esterifikasi dengan fruktosa. Esterifikasi dilakukan menggunakan metode gelombang mikro dengan aseton sebagai pelarut dan katalis H_2SO_4 . Ester Fruktovanilat yang dihasilkan diuji dengan kromatografi lapis tipis dan spektroskopi infra merah. Pada ester fruktovanilat ini juga dilakukan uji aktivitas antioksidan.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: peralatan gelas, spatula, *crusible tong*, kertas saring, plat silika gel (KLT), hot plate, cawan porselen, dan termometer.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: vanili (CV.Setia Guna), NaOH (Merck), AgNO₃ (Merck), D-Fruktosa (Laboratorium Kimia Organik FMIPA-UI), aseton (Harum Kimia), H₂SO₄ pekat (Laboratorium Kimia Organik FMIPA-UI), etil asetat (CV. Setia Guna), petroleum eter (PT Bratachem), NaHCO₃ (Merck), Na₂SO₄ anhidrat (Merck), dan aquadest.

3.3 Instrumentasi

Instrumen pengukuran yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: neraca analitis, oven microwave (JMG EG8021TS-AN), dan FT-IR (Fourier Transform . Infra Red Spectrophotometer).

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Pembuatan asam vanilat

3.4.1.2 Oksidasi vanili

Larutan 3,3787 g AgNO₃ (20 mmol) dicampur dengan larutan dari 0,9241 g NaOH (23 mmol), kemudian diaduk selama 5 menit. Endapan Ag₂O yang terbentuk disaring, kemudian dicuci dengan aquadest. Endapan Ag₂O yang masih basah ditambahkan 30 mL aquadest dan larutan dari 3,9286 g NaOH (97 mmol) sambil diaduk kuat, dipanaskan dalam *waterbath*, kemudian dinaikkan suhunya.

Ketika suhu mencapai 55-60°C sebanyak 3,0507 g vanili (20 mmol) dimasukkan dan diaduk kuat selama kurang lebih 10 menit. Campuran disaring dengan kertas saring dan filtratnya diasamkan dengan asam sulfat pekat sampai terbentuk endapan asam vanilat yang tidak larut lagi. Endapan asam vanilat yang terbentuk difiltrasi, kemudian dicuci dengan aquadest.

3.4.1.3 Ekstraksi asam vanilat

Asam vanilat yang terbentuk dilarutkan dengan etil asetat, dimasukkan ke dalam corong pisah, ditambahkan air dengan perbandingan volume yang sama dengan etil asetat, kemudian dikocok. Dilakukan pencucian dengan etil asetat sebanyak 3 kali. Fasa air dan fasa organik dipisahkan. Produk yang terekstrak dalam fasa organik etil asetat diuapkan sampai pelarutnya habis dan diperoleh kristal asam vanilat yang lebih murni.

3.4.1.4 Uji Kemurnian

Kristal asam vanilat yang diperoleh diuji dengan KLT menggunakan pelarut pengembang petroleum eter : etil asetat, kemudian dianalisa dengan menggunakan instrumen FT-IR.

3.4.2 Esterifikasi asam vanilat dengan fruktosa (komposisi I)

Sebanyak 0,090 g fruktosa (0,5 mmol) dicampur dengan 0,2520 g (1,5 mmol) asam vanilat menggunakan pelarut aseton sebanyak 25 mL dan H_2SO_4 pekat sebanyak 0,5 mL. Campuran ditempatkan dalam labu erlemmeyer pyrex 50 mL yang permukaan luarnya dilapisi dengan *aluminium foil*, kemudian dipanaskan dalam oven gelombang mikro. Waktu pemanasan divariasikan, yaitu setiap 2 menit mulai dari 4 menit sampai 10 menit. Sesaat setelah direaksikan campuran dimonitori dengan KLT dengan menggunakan pelarut pengembang petroleum eter : etil asetat = 2 : 3

Reaksinya :

| D(+)-fruktosa | + 3 asam vanilat | frukto trivanilat |
|---------------|------------------|-------------------|
| 0,090 g | 0,2520 g | 0,2401 g |
| 0,5 mmol | 1,5 mmol | 0,5 mmol |

3.4.2.1 Proses pemurnian produk

Masing-masing campuran yang dihasilkan dari tiap variasi waktu dicuci atau dinetralkan dengan larutan NaHCO_3 jenuh hingga tidak lagi mengeluarkan gas CO_2 . Campuran dimasukkan ke dalam corong pisah yang telah berisi etil asetat lalu dikocok. Campuran dicuci sebanyak 2 kali, kemudian fasa organiknya dipisahkan dari fasa air, ditambahkan Na_2SO_4 anhidrat, lalu disaring. Setelah disaring, pelarutnya diuapkan.

3.4.2.2 Uji kemurnian

Senyawa ester yang dihasilkan masing-masing diuji dengan KLT dan dianalisis dengan instrumentasi FT-IR.

3.4.3 Esterifikasi asam vanilat dengan fruktosa (komposisi II)

Sebanyak 0,090 g fruktosa (0,5 mmol) dicampur dengan 0,4201 g (2,5 mmol) asam vanilat menggunakan pelarut aseton sebanyak 25 mL dan H₂SO₄ pekat sebanyak 0,75 mL , campuran ditempatkan dalam labu erlemmeyer pyrex 50 mL yang permukaan luarnya dilapisi dengan *aluminium foil*, kemudian dipanaskan dalam oven gelombang mikro. Waktu pemanasan divariasikan yaitu setiap 2 menit mulai dari 6 menit sampai 12 menit. Sesaat setelah direaksikan campuran dimonitori dengan KLT dengan menggunakan pelarut pengembang petroleum eter : etil asetat = 2 : 3

Reaksinya :

D(+)-fruktosa + 5 asam vanilat frukto pentavanilat

0,090 g 0,4201 g 0,489 g

0,5 mmol 2,5 mmol 0,5 mmol

3.4.3.1 Proses pemurnian produk

Masing-masing campuran yang dihasilkan dari tiap variasi waktu dicuci atau dinetralkan dengan larutan NaHCO₃ jenuh, hingga tidak lagi mengeluarkan gas CO₂ . Campuran dimasukkan ke dalam

corong pisah yang telah berisi etil asetat lalu dikocok. Campuran dicuci sebanyak 2 kali. Kemudian fasa organiknya dipisahkan dari fasa air, ditambahkan Na_2SO_4 anhidrat, lalu disaring. Setelah disaring, pelarutnya diuapkan.

3.4.3.2 Uji kemurnian

Senyawa ester yang dihasilkan diuji dengan KLT dan dianalisa dengan instrumentasi FT-IR.

3.4.4 Uji aktivitas antioksidan

3.4.4.1 Penyiapan larutan pereaksi dan standar

Membuat larutan 1mmol DPPH dengan menimbang 9,9 mg dalam 25 mL metanol yang dibuat baru dan dijaga pada suhu rendah serta terlindung dari cahaya. Larutan sampel ester fruktovanilat dibuat larutan induk 1000 ppm dalam pelarut metanol (2,1 mg/2,1 mL). Kemudian dibuat variasi konsentrasi sampel 10 . 200 ppm. Untuk standar zat antioksidan digunakan quercetin yang dibuat larutan induk 1000 ppm dalam pelarut metanol (2,4 mg/2,4 mL). Kemudian dibuat variasi konsentrasi sampel 10 . 200 ppm.

3.4.4.2 Pengukuran absorbansi peredaman radikal bebas

DPPH

Masing-masing larutan sampel ester fruktovanilat ditambahkan 1mmol larutan DPPH dalam metanol. Campuran dikocok dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV pada 515 nm.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Oksidasi vanili menjadi asam vanilat

Pada reaksi esterifikasi yang dilakukan dalam penelitian ini digunakan asam vanilat yang diperoleh dari hasil oksidasi vanili dengan menggunakan AgNO_3 (perak nitrat) dan NaOH berlebih yang dapat menghasilkan Ag_2O (Perak (I) oksida) sebagai oksidatornya. Metode tersebut merupakan metode yang dikembangkan oleh Pearl pada tahun 1946²⁹.

Reaksinya: $2 \text{AgNO}_3 + 2 \text{NaOH} \rightarrow \text{Ag}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O} + 2\text{Na}^+ + 2 \text{NO}_3^-$

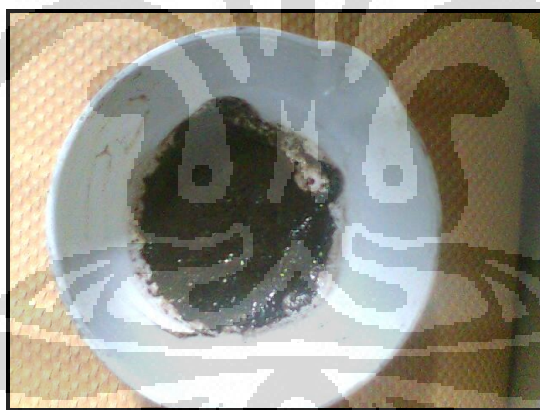
Reaksi ini bersifat basa karena adanya kesetimbangan hidrolisis :



Perak (I) oksida cukup selektif untuk mengoksidasi gugus aldehida, walaupun senyawa ini merupakan oksidator yang tidak terlalu kuat dan cukup mahal. Keselektifan pengoksidasian gugus aldehida oleh perak oksida dapat dilihat dari produk oksidasinya yang memiliki kemurnian cukup tinggi.

Reaksi ini dimulai dengan melarutkan 3,3787 g AgNO_3 (20 mmol) dalam aquadest; serta 0,9241 g NaOH (23 mmol) yang sudah dilarutkan

dengan sedikit aquadest pada dua gelas piala terpisah. Tujuan pelarutan masing-masing senyawa ini sebelum dicampurkan adalah agar kedua senyawa ini dapat tercampur dengan baik. Keduanya dicampurkan sedikit demi sedikit ke dalam satu gelas piala dan diaduk selama kurang lebih 5 menit. Pengadukan ini dilakukan agar reaksi dapat berlangsung sempurna. Pencampuran kedua larutan ini menghasilkan endapan Ag_2O berwarna coklat kehitaman dan warna larutan yang tetap bening. Setelah itu, endapan Ag_2O yang terbentuk disaring dan kemudian dicuci dengan aquadest untuk menghilangkan zat-zat lain yang bersifat sebagai pengotor serta untuk menghilangkan sisa AgNO_3 yang tidak bereaksi.

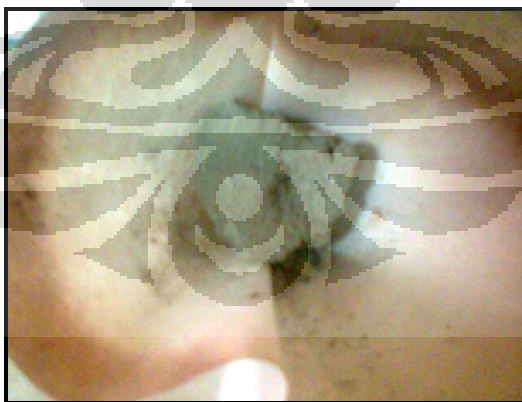


Gambar 4.1. Endapan Ag_2O basah

Setelah pencucian, Ag_2O yang terbentuk dikumpulkan kemudian direaksikan kembali dengan 3,9286 g NaOH (98 mmol) yang dilarutkan dengan sedikit air, dan ditambahkan aquadest sampai volume 40 mL dalam satu gelas piala sambil diaduk kuat. Larutan kemudian dipanaskan

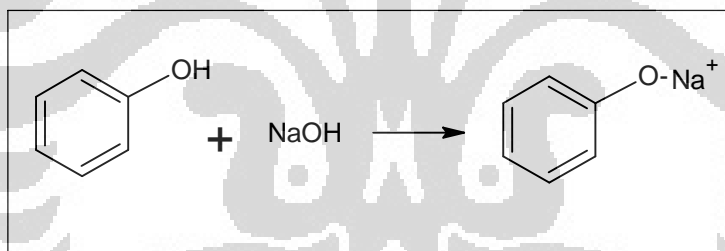
menggunakan sampai suhunya mencapai 55-60°C, dengan tetap dilakukan pengadukan. Pemanasan dengan *water bath* dilakukan agar proses pemanasan dapat berlangsung optimal karena panas yang dihasilkan dapat diterima ke seluruh permukaan larutan. Ketika suhu mencapai 56°C, vanili dimasukkan ke dalamnya. Pengaturan suhu pada 55-60°C adalah dikarenakan reaksi oksidasi vanili menjadi asam vanilat akan berlangsung secara optimal pada rentang suhu tersebut. Pada suhu kurang dari 55°C, reaksi belum berlangsung, sedangkan pada suhu yang lebih tinggi (di atas 65°C) reaksi akan berlangsung terlalu kuat, sehingga dapat menyebabkan perak yang didapat sebagai hasil reduksi Ag_2O akan teroksidasi kembali.²⁸

Reaksi antara Ag_2O dan vanili berlangsung hingga terjadi perubahan warna endapan Ag_2O dari coklat kehitaman menjadi abu-abu keperakan karena telah tereduksi menjadi perak (Ag).



Gambar 4.2. Ag_2O yang telah tereduksi

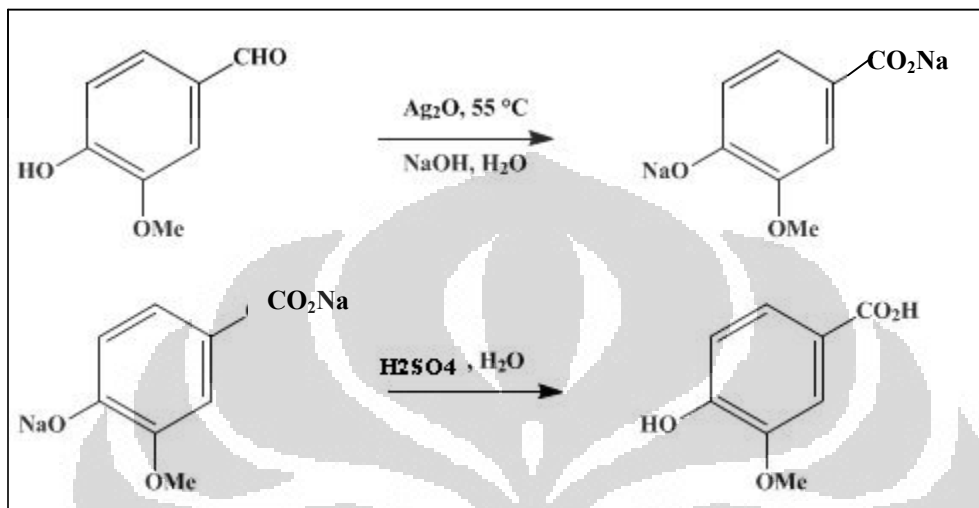
Endapan perak kemudian difiltrasi menggunakan kertas saring dan filtratnya diasamkan dengan H_2SO_4 (asam sulfat) pekat sedikit demi sedikit menggunakan pipet tetes. Filtrat yang terbentuk berwarna kuning kehijauan. Penggunaan asam sulfat dengan keberadaan air bertujuan untuk menghidrolisis garam-garam yang terbentuk akibat penggunaan basa NaOH berlebih. Tujuan penggunaan basa NaOH berlebih, selain agar dapat bereaksi dengan AgNO_3 membentuk Ag_2O , juga dapat bereaksi dengan vanili membentuk natrium vanilat serta senyawa fenolik pada struktur vanili membentuk senyawa garamnya. Dengan hidrolisis menggunakan asam sulfat, maka asam vanilat dapat terbentuk.



Gambar 4.3. Pembentukan garam dari senyawa fenol dengan adanya basa kuat

Reaksi yang berlangsung bersifat sangat eksotermal. Reaksi oksidasi vanili menjadi asam vanilat berlangsung melalui dua tahap reaksi. Tahap pertama adalah oksidasi vanili oleh Ag_2O dengan kehadiran alkali/ basa kuat NaOH yang menghasilkan natrium vanilat dan logam Ag . Tahap kedua

melibatkan perubahan vanili menjadi asam vanilat oleh reaksi dengan Ag dan basa NaOH berlebih.



Gambar 4.4. Keseluruhan reaksi oksidasi vanili oleh AgNO_3

Saat kesetimbangan tercapai, penambahan asam sulfat pekat menghasilkan endapan berwarna putih kekuningan yang tidak dapat larut lagi walaupun dengan pengadukan. Endapan tersebut merupakan endapan asam vanilat. Endapan selanjutnya disaring, dicuci dengan air, kemudian dikeringkan. Pencucian berulang kali juga dapat mencerahkan warna endapan asam vanilat yang diperoleh. Selain itu, warna endapan asam vanilat yang lebih cerah ini juga merupakan pengaruh dari pencucian endapan Ag_2O yang lebih dari satu kali sebelum direaksikan dengan vanilin, karena pencucian endapan Ag_2O yang kurang baik dapat menyebabkan produk asam vanilat yang dihasilkan berwarna kecoklatan, sedangkan warna asli dari asam vanilat adalah putih gading (putih kekuningan).

Endapan ini belum cukup murni dan masih banyak mengandung air. Oleh karena itu masih harus dilakukan proses pemurnian lebih lanjut, yang salah satunya dengan cara melakukan ekstraksi.



Gambar 4.5

Endapan asam vanilat belum murni

4.2 Ekstraksi asam vanilat

Proses pemurnian endapan asam vanilat yang telah terbentuk dilakukan dengan cara ekstraksi. Endapan asam vanilat dilarutkan dengan pelarut organik etil asetat dan dicuci dengan aquadest. Terjadi pemisahan fasa dalam corong pisah. Fasa organik yang berada di lapisan atas dipisahkan dengan fasa airnya yang berada pada lapisan bawah. Fasa organik yang terbentuk berwarna kuning bening dan fasa airnya berwarna kuning kecoklatan (lebih gelap dari warna fasa organik).



Gambar 4.6 Pemisahan fasa dalam corong pisah pada ekstraksi asam vanilat

Dalam fasa air kemungkinan senyawa-senyawa yang terdapat di dalamnya adalah garam dari senyawa fenolik, basa, dan vanili yang tidak teroksidasi, sedangkan dalam fasa organiknya mengandung asam vanilat. Salah satu perbedaan sifat kimia vanili dengan asam vanilat adalah sifat kelarutannya dimana vanili dapat larut dalam air sedangkan asam vanilat hampir tidak larut dalam air, sehingga diharapkan dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut organik ini asam vanilat hasil oksidasi dapat dipisahkan dengan sisa vanili yang tidak teroksidasi.

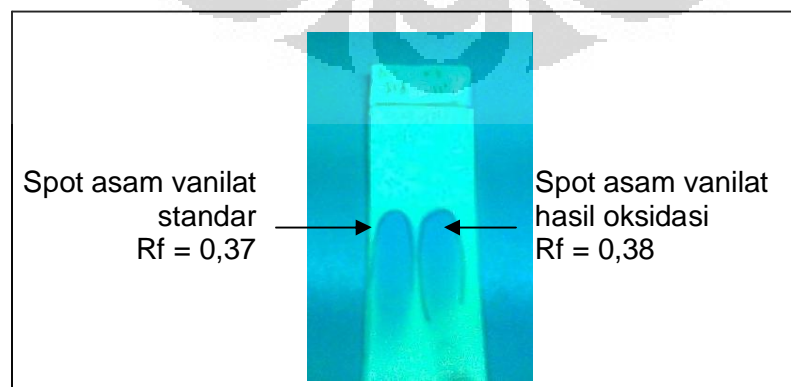
Fasa organik yang telah dipisahkan kemudian diuapkan pelarutnya sehingga diperoleh padatan asam vanilat murni. Padatan yang diperoleh berwarna putih gading dan memiliki aroma yang hampir sama dengan vanili, beratnya sebesar 2,5128 g dengan rendemen sebesar 82,37%mol.



Gambar 4.7 Endapan asam vanilat hasil ekstraksi

4.3 Uji kemurnian

Endapan asam vanilat murni yang sudah cukup kering kemudian diidentifikasi dengan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan pelat silika gel dan pelarut pengembang etil asetat : petroleum eter = 3:2. *Spot* asam vanilat hasil oksidasi percobaan ini dibandingkan dengan *spot* asam vanilat standar. Karena larutan sampel yang ditotolkan pada pelat KLT ini tidak berwarna maka setelah dikembangkan, spot tidak dapat terlihat pada cahaya lampu biasa sehingga perlu penyinaran sinar UV pada panjang gelombang 254 nm agar berpendar. Dibawah sinar UV terlihat *spot* berwarna ungu. Hasilnya adalah sebagai berikut :



Gambar 4.8. Hasil KLT asam vanilat hasil oksidasi vanili

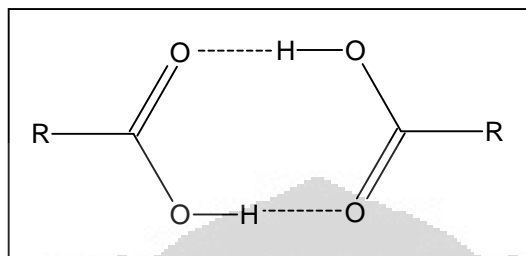
Setelah diamati diketahui bahwa asam vanilat hasil oksidasi memiliki tinggi *spot* yang sama dengan *spot* asam vanilat standar. *Spot* dengan nilai Rf 0,38 adalah asam vanilat hasil oksidasi vanili dengan Ag₂O, sedangkan *spot* dengan nilai Rf 0,37 adalah asam vanilat standar. Hasil KLT menunjukkan bahwa oksidasi yang telah dilakukan dan proses pemurniannya berjalan cukup baik, hal ini dapat dilihat dengan tidak adanya *spot* lain pada daerah *spot* asam vanilat hasil oksidasi karena biasanya untuk asam vanilat yang belum murni masih terdapat *spot* vanilin yang belum teroksidasi.¹⁴

4.4 Analisis FT-IR asam vanilat^{14,15}

Identifikasi lebih lanjut dari asam vanilat hasil oksidasi vanili dilakukan dengan menggunakan instrumen FT-IR (*Fourier Transform Infra Red Spectrophotometer*). Spektra yang dihasilkan kemudian dibandingkan dengan spektra FT-IR asam vanilat standar. Dengan menggunakan FT-IR dapat diketahui gugus fungsi yang terdapat dalam sampel yang dihasilkan, karena spektrum infra merah dari senyawa organik bersifat khas dan memiliki karakter spektrum yang berbeda dengan senyawa lain. Daerah serapan infra merah terletak pada rentang bilangan gelombang 4000-650 cm⁻¹. Spektrum yang dihasilkan berupa pita-pita serapan pada daerah panjang gelombang tertentu.

Asam vanilat merupakan senyawa organik asam karboksilat. Ketika dalam keadaan cairan murni ataupun dalam larutan dengan konsentrasi di atas 0,01 M, asam karboksilat berada dalam bentuk dimer yang berikatan

dengan hidrogen dan bukan dalam bentuk monomernya. Oleh karena itu spektrum infra merah asam karboksilat adalah spektrum dari dimernya.³⁰



Gambar 4.9. Struktur dimer asam karboksilat

Serapan uluran OH dari asam karboksilat pada spektrum infra merah sangat lebar antara $3400\text{-}2500\text{cm}^{-1}$ (melandai ke daerah serapan karbon-hidrogen alifatik) dan intensif. Hal ini disebabkan oleh adanya vibrasi regang . OH dalam asam karboksilat, dimana gugus . OH dari masing-masing molekul membentuk ikatan hidrogen dengan gugus karbonil $\text{C}=\text{O}$. Jika sebagai monomer, biasanya asam karboksilat memberikan pita serapan pada bilangan gelombang 1700 cm^{-1} . Akan tetapi karena dalam keadaan padat maupun dalam bentuk larutan asam karboksilat tidak dalam bentuk monomernya, maka puncak serapan $\text{C}=\text{O}$ menjadi lebih kecil dari 1700 cm^{-1} akibat terbentuknya ikatan hidrogen antara setiap molekul. Identifikasi gugus fungsi dari pita-pita serapan yang terdapat dalam spektrum dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 4.1. Identifikasi beberapa gugus fungsi spektrum FT-IR asam vanilat standar dan asam vanilat hasil oksidasi

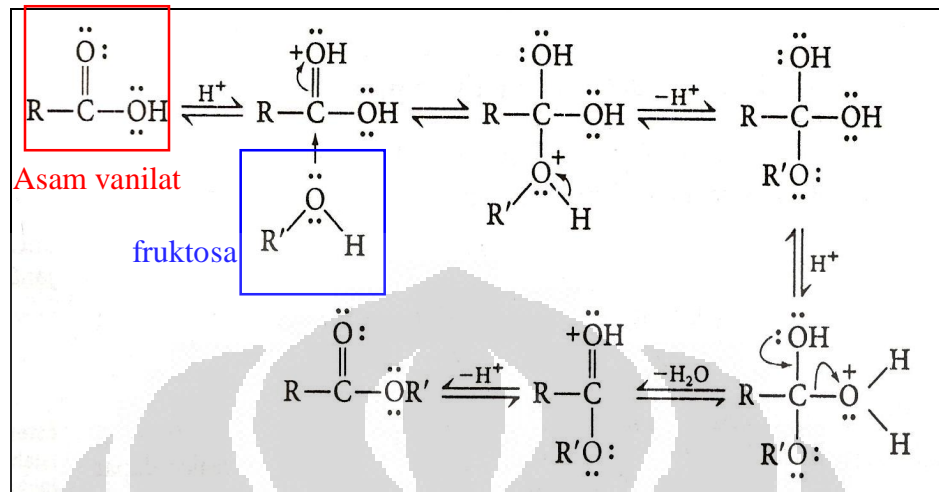
| No | Bilangan gelombang asam vanilat standar (cm ⁻¹) | Bilangan gelombang asam vanilat hasil oksidasi (cm ⁻¹) | Identifikasi gugus fungsi |
|----|---|--|--------------------------------|
| 1 | 3479,58 | 3481,51 | Hidroksi fenolik |
| 2 | 2956,87 | 2956,76 | CH ₃ dari metoksi |
| 3 | 1680,00; 1596,99 | 1680,00 | Karbonil |
| 4 | 1471,59; 1454,33; 1431,78 | 1471,69; 1433,11 | Alkil |
| 5 | 1298,09 | 1300,02 | Karbonil dari asam karboksilat |

Data FT-IR di atas menunjukkan bahwa antara asam vanilat standar dan asam vanilat hasil oksidasi vanili memiliki pita-pita serapan pada bilangan gelombang (ν =cm⁻¹) yang hampir sama, hanya sedikit terjadi pergeseran bilangan gelombang. Hal tersebut dapat terjadi karena perbedaan kondisi pengukuran dengan alat FT-IR. Secara keseluruhan dapat disimpulkan kedua senyawa adalah senyawa yang sama yaitu senyawa asam vanilat. Pada spektrum asam vanilat hasil oksidasi juga dapat dilihat sudah tidak terdapatnya puncak karakteristik dari senyawa aldehid (puncak gugus aldehida terdapat pada bilangan gelombang 2720 cm⁻¹). Hal ini menandakan bahwa pada sampel asam vanilat hasil oksidasi sudah tidak terdapat lagi sisa vanili yang mungkin tidak teroksidasi.

4.5 Esterifikasi asam vanilat dengan fruktosa

Asam vanilat yang terbentuk kemudian direaksikan dengan fruktosa membentuk senyawa ester fruktovanilat. Reaksi berlangsung dalam suasana asam. Asam bertindak sebagai katalis dengan menurunkan energi aktivasi reaksi. Proton menyebabkan atom karbonil asam vanilat lebih positif sehingga lebih mudah diserang oleh nukleofil. Katalis asam juga meningkatkan kemampuan *leaving group*. Tanpa penambahan katalis asam reaksi akan berlangsung sangat lambat, karena OH^- merupakan *leaving group* yang buruk sehingga sulit disingkirkan. Dengan adanya protonasi, bertindak sebagai *leaving group* adalah H_2O yang merupakan *leaving group* yang lebih baik karena kebiasaannya sangat lemah dibandingkan OH^- yang merupakan basa kuat.³⁰

Mekanisme reaksinya adalah sebagai berikut :



Gambar 4.10. Mekanisme reaksi pembuatan ester fruktovanilat

Reaksi esterifikasi fruktovanilat bersifat reversibel. Untuk memperoleh rendemen tinggi dari ester tersebut, maka kesetimbangan harus digeser ke arah sisi ester. Untuk mencapai keadaan ini asam vanilat sebagai salah satu reaktan dapat dipakai berlebih. Penggunaan asam vanilat yang sedikit berlebih juga dimaksudkan agar reaksi esterifikasi berlangsung maksimal.

Dalam percobaan ini dilakukan esterifikasi dengan dua perbandingan mol fruktosa dan asam vanilat yang berbeda. Ester fruktovanilat I menggunakan perbandingan mol fruktosa : asam vanilat = 1:3 yang dibuat dengan mencampurkan fruktosa sebanyak 0,090 g dengan asam vanilat sebanyak 0,2520 g, menggunakan pelarut aseton sebanyak 25 mL dan katalis H₂SO₄ 0,5 mL. Sedangkan ester fruktovanilat II menggunakan perbandingan mol fruktosa : asam vanilat = 1:5 yang dibuat dengan

mencampurkan fruktosa sebanyak 0,090 g dengan asam vanilat sebanyak 0,4201 g, menggunakan pelarut aseton sebanyak 25 mL dan katalis H_2SO_4 0,75 mL. Jumlah asam vanilat dibuat sedikit berlebih agar sebanyak 5 gugus vanilat dapat berikatan dengan fruktosa secara optimal.

Keseluruhan bahan-bahan dicampur dalam labu erlenmeyer. Reaksi dilakukan dengan menggunakan labu erlenmeyer *pyrex* yang memiliki ketahanan sampai suhu 900°C . Penggunaan labu erlenmeyer *pyrex* ini untuk menjaga agar wadah reaksi tidak pecah karena reaksi menggunakan gelombang mikro berlangsung pada temperatur tinggi. Selain itu, gelas *pyrex* terbuat dari kuarsa yang mempunyai faktor dispansi sangat kecil ($\tan \delta = 0,6$ pada 25°C), sehingga transparan terhadap gelombang mikro (tidak mengabsorpsi energi gelombang mikro). Dengan demikian pemanasan berlangsung efektif.

Penggunaan *aluminium foil* pada permukaan luar wadah sampel bertujuan untuk mengurangi resiko kerusakan pada magnetron (generator gelombang mikro) yang diakibatkan dari pantulan sebagian gelombang mikro karena pengaruh *air-gap* dalam wadah reaksi (karena jumlah sampel untuk reaksi esterifikasi ini cukup sedikit).² Selain itu penggunaan *aluminium foil* juga karena pelarut yang digunakan, yaitu aseton, memiliki titik didih yang rendah (titik didih aseton 56°C) sehingga dapat dicapai waktu reaksi yang diinginkan tanpa membuat pelarut terdekomposisi karena pemanasan suhu tinggi oleh gelombang mikro.

Oven gelombang mikro yang digunakan adalah oven JMG EG 8021TS-AN dimana reaktor multimodenya dilengkapi dengan baling-baling atau suatu sirkulator yang dapat merotasikan sampel selama pemanasan sehingga diperoleh pemanasan yang seragam di semua posisi dalam *cavity* dan interferensi gelombang dapat dihindari.



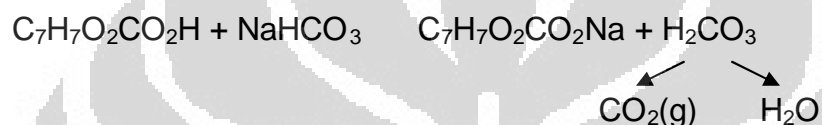
Gambar 4.11. Cavity yang dilengkapi dengan sirkulator untuk merotasikan sampel

4.6 Ekstraksi Ester

Setelah reaksi selesai dilakukan dalam oven gelombang mikro, selanjutnya dilakukan pemurnian. Warna campuran yang dihasilkan adalah kuning bening. Pemurnian produk ester dilakukan menggunakan ekstraksi pelarut, yaitu pemisahan berdasarkan distribusi senyawa dalam pelarut yang tidak bercampur. Ester fruktovanilat sebagai produk hasil reaksi esterifikasi memiliki kelarutan yang sangat kecil dalam air, sementara itu pengotor yang berupa sisa fruktosa larut dalam air. Oleh karena itu ekstraksi pelarut merupakan cara pemurnian yang paling efektif dan efisien. Pelarut organik

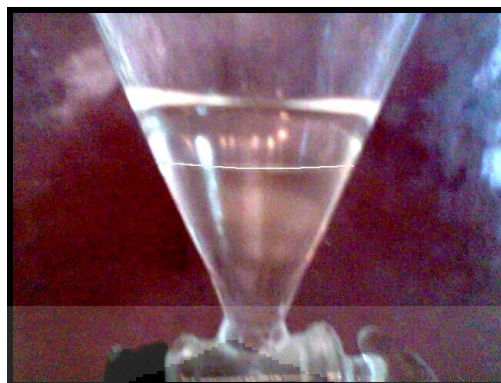
yang digunakan adalah etil asetat yang diharapkan dapat melarutkan ester fruktovanilat dengan baik.

Untuk menghilangkan sisa asam vanilat yang tidak bereaksi dan menetralkan kelebihan asam dari pemakaian katalis H_2SO_4 , ditambahkan larutan NaHCO_3 jenuh ke dalam fasa organik. Selama proses penambahan terbentuk gas. Gas ini merupakan karbondioksida yang terbentuk dari reaksi asam vanilat dan atau H_2SO_4 dengan NaHCO_3 . Reaksi yang terjadi adalah :



Selain itu NaHCO_3 dapat bereaksi dengan asam vanilat membentuk garam natrium vanilat yang larut dalam air sehingga asam vanilat berlebih yang tidak berikatan dengan fruktosa dapat dipisahkan dari senyawa ester yang terbentuk. Kemudian ditambahkan sedikit air agar pelarut aseton dan pengotor lain yang bersifat nonpolar dapat terdistribusi ke dalam fasa air.

Fasa organik yang dihasilkan terlihat bening (sedikit kekuningan). Sekilas warna dari kedua fasa ini (fas organik dan fas air) tampak sama namun jika dilihat lebih dekat lagi akan terlihat jelas batas pemisahan antara keduanya.



Gambar 4.12. Pemisahan fasa produk ester fruktovanilat

Fasa organik diambil kemudian ditambahkan Na_2SO_4 anhidrat sebagai *drying agent* untuk menarik air yang mungkin masih tertinggal dalam fasa organik. Selanjutnya fasa organik yang sudah ditambahkan Na_2SO_4 anhidrat disaring dan filtratnya diuapkan.

Dari hasil ekstraksi yang dilakukan pada masing-masing ester fruktovanilat, terlihat adanya perbedaan bentuk fisik antara hasil ekstraksi ester fruktovanilat I dengan ester fruktovanilat II. Untuk hasil ekstraksi ester fruktovanilat I, setelah pelarutnya diuapkan, terbentuk padatan berwarna putih yang teksturnya sedikit lembab. Sedangkan pada ester fruktovanilat II setelah diekstraksi dan pelarut organiknya diuapkan, terbentuk gel padat berwarna kuning agak kecoklatan dan bukan bentuk padatan seperti halnya hasil ekstraksi ester fruktovanilat I.



Gambar 4.13. Ester fruktovanilat I



Gambar 4.14. Ester fruktovanilat II

4.7 Pengaruh waktu reaksi

Pada percobaan ini selain dilakukan dengan perbandingan mol fruktosa dan asam vanilat yang berbeda, esterifikasi dengan menggunakan gelombang mikro juga dilakukan variasi waktu pemanasan setiap 2 menit dimana ester fruktovanilat I waktu reaksinya divariasikan mulai dari 4 menit sampai dengan 10 menit sedangkan ester fruktovanilat II waktu reaksinya divariasikan mulai dari 6 menit sampai dengan 12 menit.

Reaksi terjadi ketika molekul-molekul reaktan bertumbukan. Molekul yang bergerak memiliki energi kinetik, semakin cepat gerakannya semakin besar pula energi kinetiknya. Ketika molekul bertumbukan sebagian energi kinetik ini berubah menjadi energi vibrasi. Jika energi kinetik awal cukup besar maka tumbukan antarmolekul akan menghasilkan energi vibrasi yang besar pula untuk memutuskan ikatan kimia, sehingga terjadilah reaksi. Energi kinetik dipengaruhi oleh suhu, semakin tinggi suhu maka energi kinetik molekul semakin besar.¹⁵ Pada oven gelombang mikro, suhu akan semakin

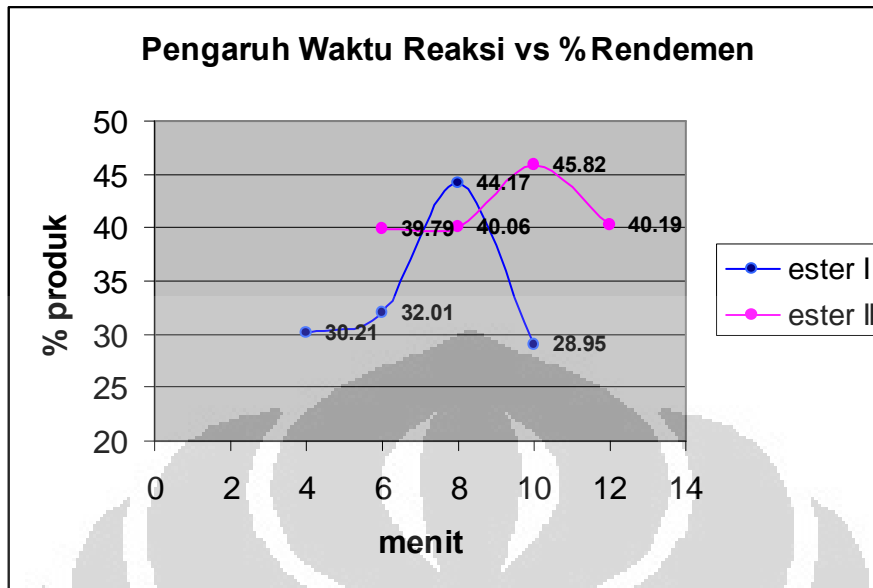
bertambah jika pengaturan waktu pemanasan juga ditambah. Dari sini dapat difahami bahwa semakin lama waktu pemanasan oleh gelombang mikro, dimana suhu juga semakin tinggi, maka rendemen ester akan semakin besar karena semakin banyak molekul yang memiliki energi kinetik cukup besar untuk memulai reaksi. Untuk reaksi esterifikasi ini oven gelombang mikro yang digunakan dilengkapi dengan *digital timer* yang juga dilengkapi dengan *alarm* berhenti otomatis jika waktu yang diatur telah dicapai. Pengaruh waktu reaksi terhadap rendemen ester fruktovanilat diperlihatkan pada tabel berikut.

Tabel 4.2. Pengaruh waktu reaksi terhadap %rendemen produk ester I

| Waktu Reaksi (menit) | Rendemen (%) |
|----------------------|--------------|
| 4 | 30,21 % |
| 6 | 32,01 % |
| 8 | 44,17 % |
| 10 | 28,95 % |

Tabel 4.3. Pengaruh waktu reaksi terhadap %rendemen produk ester II

| Waktu Reaksi (menit) | Rendemen (%) |
|----------------------|--------------|
| 6 | 39,79 % |
| 8 | 40,06 % |
| 10 | 45,82 % |
| 12 | 40,19 % |



Gambar 4.15 Grafik pengaruh waktu reaksi terhadap rendemen

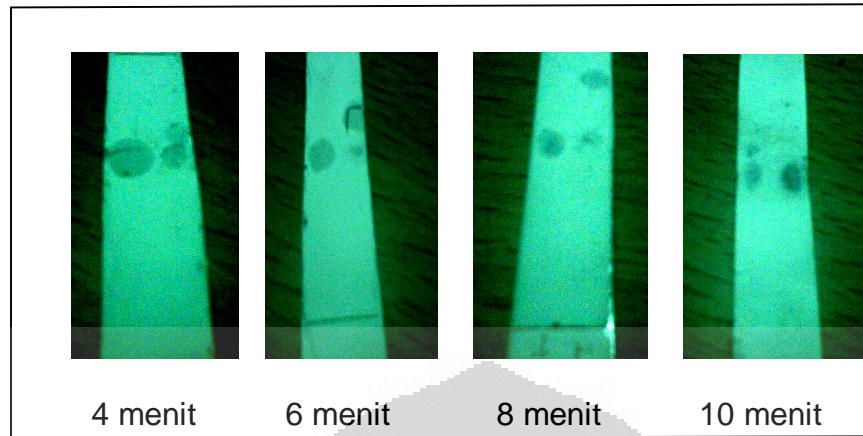
Untuk esterifikasi fruktovanilat I, pada waktu reaksi 4 menit rendemen produk yang dihasilkan tidak terlalu bagus yaitu hanya 38,21%. Hasil yang relatif sama diperoleh melalui waktu reaksi 6 menit yaitu sebesar 39,01%. Hal ini karena reaksi belum berjalan sempurna. Rendemen produk terbesar dicapai melalui waktu reaksi 8 menit yaitu 44,17%, sementara itu pemanasan setelah 8 menit rendemen produk yang diperoleh ternyata menurun. Hal ini karena produk telah mengalami dekomposisi, terlihat dari warna larutan yang berubah menjadi coklat dan tercium bau seperti karamel. Hal yang hampir sama juga terjadi pada ester fruktovanilat II. Pada waktu reaksi 6 menit rendemen produk yang diperoleh tidak terlalu bagus yaitu hanya 39,79% dan hasil yang mendekati diperoleh untuk waktu reaksi 8 menit yaitu sebesar 40,06%. Rendemen produk terbesar dicapai melalui pemanasan 10 menit

yaitu 45,82%, sementara itu pemanasan setelah 10 menit hasil yang diperoleh ternyata menurun. Warna campuran pada waktu reaksi 12 menit berubah menjadi kuning kecoklatan walaupun bau karamel tidak sekuat pada pemanasan 10 menit ester fruktovanilat I.

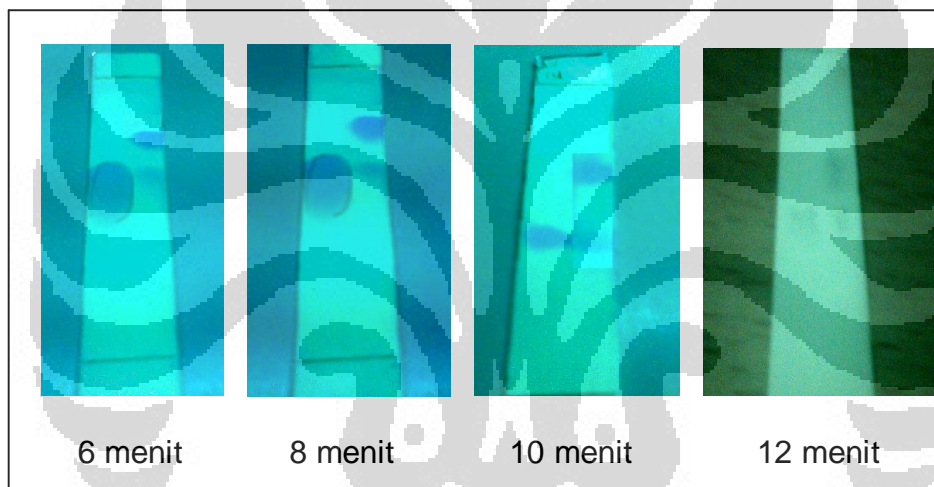
4.8 Identifikasi ester

4.8.1 Identifikasi dengan Kromatografi Lapis Tipis.

Kromatografi lapis tipis digunakan untuk mengidentifikasi dan memonitor jalannya reaksi. Pelarut pengembang yang digunakan adalah campuran petroleum eter dan etil esetat 2:3. Setelah reaksi dilakukan menggunakan oven gelombang mikro, proses jalannya reaksi langsung dimonitor dengan KLT sebelum diekstraksi. Hal ini dilakukan untuk mengetahui kapan ester mulai terbentuk. Sampel ester yang dimonitor ditotolkan pada pelat KLT, dikembangkan dan dibandingkan *spot*nya dengan asam vanilat agar dapat diketahui *spot* ester yang terbentuk dan *spot* asam vanilat yang mungkin masih terdapat dalam sampel. Karena campuran tidak berwarna maka pelat disinari dengan lampu UV pada $\lambda = 254 \text{ nm}$, sehingga berpendar dan menunjukkan adanya *spot*. Perkembangan reaksi yang dimonitor dengan KLT dapat dilihat pada gambar di bawah ini



Gambar 4.16. Hasil KLT ester fruktovanilat I sebelum diekstraksi

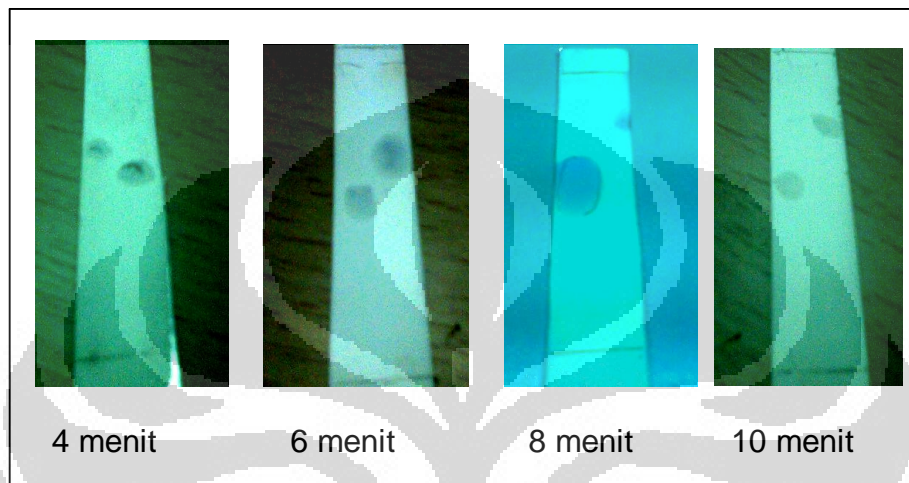


Gambar 4.17. Hasil KLT ester fruktovanilat II sebelum diekstraksi

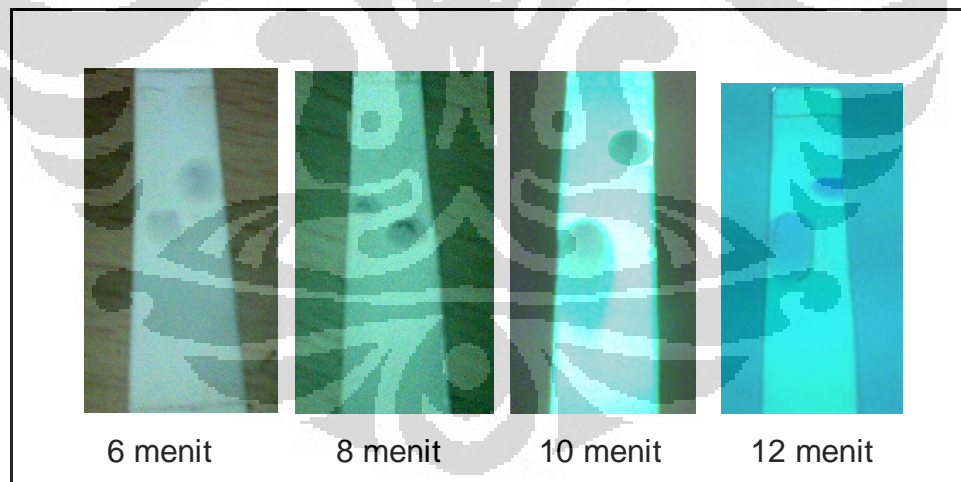
Dari kedua gambar di atas dapat dilihat bahwa pada area spot sampel ester masih terdapat spot asam vanilat yang tipis. Hal ini dikarenakan penggunaan asam vanilat yang sedikit berlebih sehingga setelah direaksikan masih terdapat asam vanilat sisa.

Setelah dilakukan proses pemurnian dilakukan uji KLT kembali untuk mengetahui efektivitas pemurnian produk. Ternyata setelah dimurnikan dengan ekstraksi, spot yang muncul hanya satu yaitu spot ester. Sementara

itu spot asam vanilat menjadi hilang. Hal ini menunjukkan bahwa pemurnian berlangsung efektif sehingga tidak terdapat lagi sisa asam vanilat dalam sampel, dengan kata lain produk ester sudah murni.



Gambar 4.18. Hasil KLT ester fruktovanilat I setelah diekstraksi



Gambar 4.19. Hasil KLT ester fruktovanilat II setelah diekstraksi

Terbentuknya ester fruktovanilat dapat dilihat dengan munculnya spot dengan Rf yang lebih besar dari Rf asam vanilat. Pada ester fruktovanilat I pemunculan spot ester tertinggi diperoleh untuk waktu reaksi 8 menit dengan nilai Rf esternya 0,80 dan Rf asam vanilat 0,37. Sedangkan pada ester fruktovanilat II pemunculan spot ester tertinggi diperoleh untuk waktu reaksi 10 menit dengan nilai Rf esternya 0,83 dan Rf asam vanilat 0,38. Besarnya nilai Rf ester fruktovanilat diatas Rf asam vanilat disebabkan oleh sifat asam vanilat yang lebih polar dibandingkan ester yang dihasilkan, sehingga asam vanilat tertahan pada fasa diam dibandingkan dengan senyawa esternya.

4.8.2 Identifikasi dengan Spektrofotometer Infra Merah

Salah satu teknik untuk identifikasi senyawa adalah dengan spektrofotometer infra merah. Ester-ester dari asam karboksilat biasanya memberikan dua puncak serapan infra merah yang kuat, yaitu puncak serapan vibrasi regang C=O dan puncak serapan vibrasi regang C-O. Pita-pita serapan vibrasi regang kedua ikatan ini berintensitas tinggi disebabkan kedua ikatan tersebut bersifat polar.

Gugus C=O ester asam karboksilat jenuh menyerap pada daerah frekuensi $1735-1750\text{cm}^{-1}$. Ester-ester tidak jenuh yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi dengan C=O akan memberikan puncak serapan C=O pada daerah frekuensi yang lebih rendah yakni antara $1715-1730\text{cm}^{-1}$. Delokalisasi elektron antara C=O dan cincin menaikkan karakter ikatan rangkap dari ikatan yang menghubungkan C=O dengan cincin.³⁰ Hal ini

menyebabkan orde ikatan lebih rendah, sebagai akibatnya akan memperlemah ikatan C=O. Penurunan tetapan gaya menurunkan frekuensi vibrasi ulur sebesar 20-30 cm^{-1} .

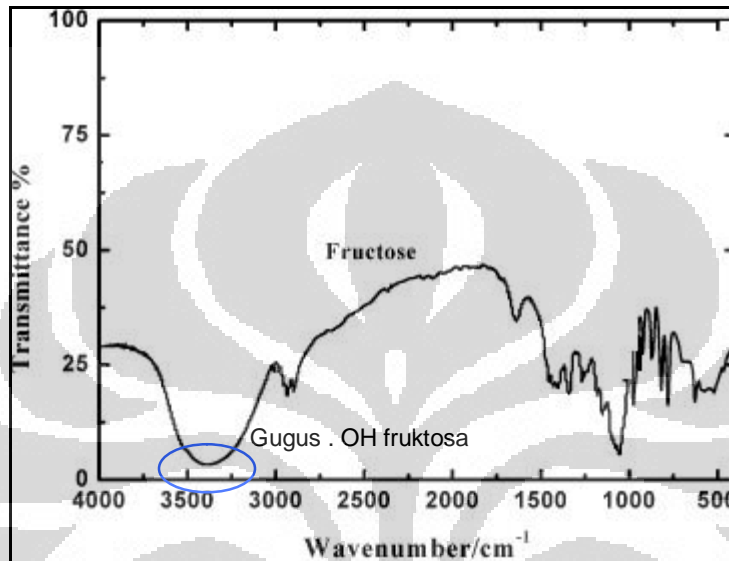
Tabel 4.4. Identifikasi beberapa gugus fungsi spektrum FT-IR ester fruktovanilat I dan fruktovanilat II

| No | Bilangan gelombang ester I (cm^{-1}) | Bilangan gelombang ester II (cm^{-1}) | Identifikasi gugus fungsi |
|----|---|--|---------------------------|
| 1 | 2987,74; 2935,66 | 2962,66; 2929,23 | C-H sp^3 |
| 2 | 1729,18 | 1728,22 | C=O ester |
| 3 | 1251,80; 1068,56 | 1284,59; 1022,27 | C-O ester |

Salah satu ciri suatu ester adalah serapan kuat pada bilangan gelombang $\nu = 1285\text{-}1050 \text{ cm}^{-1}$ yang disebabkan oleh vibrasi ulur C-O. Serapan ini nampak pada spektrum FT-IR produk ester fruktovanilat I pada bilangan gelombang $1284,59 \text{ cm}^{-1}$ dan pada $1069,56 \text{ cm}^{-1}$ dalam serapan ester fruktovanilat II.

Bilangan gelombang $3200\text{-}3500 \text{ cm}^{-1}$ adalah rentang bilangan gelombang bagi gugus hidroksil secara umum. Gugus hidroksil fenol pada struktur asam vanilat juga dapat berada pada rentang tersebut karena serapan yang cukup kuat disekitar 3400 cm^{-1} juga ditemui pada spektrum FT-IR asam vanilat. Pada spektrum FT-IR produk ester fruktovanilat I terdapat serapan pada bilangan gelombang $3310,16 \text{ cm}^{-1}$ dengan bentuk pita serapan

melandai yang merupakan serapan gugus hidroksi dari fruktosa, karena gugus hidroksi dari fruktosa biasa muncul pada bilangan gelombang 3500-3300 cm^{-1} dan spektrumnya melebar.



Gambar 4.20. Spektrum FT-IR dari α -D-Fruktosa

Hal ini menunjukkan bahwa pada struktur ester fruktovanilat I masih terdapat gugus -OH dari fruktosa yang tidak bereaksi dengan gugus karboksilat dari asam vanilat. Sedangkan pada spektrum ester fruktovanilat II terlihat sudah tidak terdapat lagi serapan melebar pada rentang bilangan gelombang 3500-3300 cm^{-1} , hal ini menunjukkan bahwa pada struktur ester fruktovanilat II semua gugus -OH dari fruktosa telah berikatan dengan gugus karboksilat dari asam vanilat.

Melalui hasil analisis spektrum FT-IR ini, maka dapat disimpulkan bahwa ester berhasil terbentuk menggunakan metode gelombang mikro, baik

pada esterifikasi komposisi pertama, maupun pada esterifikasi komposisi kedua.

4.9 Uji aktivitas antioksidan produk ester fruktovanilat

Produk ester fruktovanilat yang telah dihasilkan selanjutnya dilakukan juga uji aktivitas antioksidan. Produk ester yang dipilih untuk diuji adalah yang memiliki %rendemen produk terbesar untuk masing-masing komposisi. Metode yang digunakan adalah metode pengukuran efek peredaman terhadap radikal bebas DPPH. Radikal bebas yang dipakai untuk efek peredaman adalah senyawa DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) karena radikal bebas ini cukup bagus diujikan pada sampel hasil ekstrak bahan alam seperti sampel ester fruktovanilat yang dihasilkan dari asam vanilat yang dibuat dari oksidasi vanilin (ekstrak tumbuhan *vanilla planifolia*). Standar senyawa antioksidan yang digunakan untuk pengujian ini adalah *quercetin*. Penggunaan standar disini adalah sebagai pembandingan untuk mengetahui sejauh mana keaktifan produk ester meredam radikal bebas DPPH. Quercetin merupakan salah satu zat aktif kelas *flavonoid* yang secara biologis amat kuat sebagai zat antioksidan. *Flavonoid* merupakan sekelompok besar antioksidan *polifenol*. Selain itu dilakukan juga uji aktivitas antioksidan terhadap sampel asam vanilat untuk mengetahui sejauh mana perubahan aktivitas antioksidan dari asam vanilat dan bentuk esternya.

Sebelum sampel ester dibuat larutan induk yang selanjutnya akan digunakan untuk uji efek peredaman DPPH, diambil dahulu sedikit cuplikan produk ester kemudian dilarutkan dengan metanol dan ditotolkan agak melebar pada pelat silika. Kemudian pelat yang sudah terdapat bercak larutan sampel ester disemprotkan dengan larutan DPPH dalam metanol (berwarna ungu tua). Setelah disemprotkan, pada pelat silika tersebut terlihat pemunculan warna kuning pada bagian yang tadi ditotolkan sampel ester fruktovanilat. Hal ini merupakan indikasi awal bahwa produk ester fruktovanilat yang dihasilkan memiliki aktivitas antioksidan, sehingga produk ester ini dapat diuji lebih lanjut aktivitas antioksidannya.



Gambar 4.21 Bercak kuning dari produk ester fruktovanilat setelah diberi DPPH

Sampel ester dibuat larutan induk 1000 ppm dengan menimbang sebanyak 2,1 mg dan dilarutkan dengan 2,1 mL metanol, dan dilakukan variasi konsentrasi sampel 10-200 ppm. Perlakuan yang sama juga dilakukan pada standar quercetin dan asam vanilat. Setelah larutan DPPH dalam metanol ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi sampel ester

kemudian dikocok, terlihat adanya perubahan warna larutan dari ungu tua (warna larutan DPPH) menjadi kuning kecoklatan. Hal ini mengindikasikan bahwa sampel ester fruktovanilat bereaksi dengan radikal bebas DPPH (terjadi peredaman radikal bebas DPPH oleh ester fruktovanilat). Campuran diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer pada 515 nm. Berikut adalah data pengukuran absorbansi aktivitas antioksidan quercetin, asam vanilat, dan produk ester fruktovanilat serta nilai %inhibisi yang diperoleh.

Tabel 4.5. Nilai absorbansi serta %inhibisi larutan pada berbagai konsentrasi

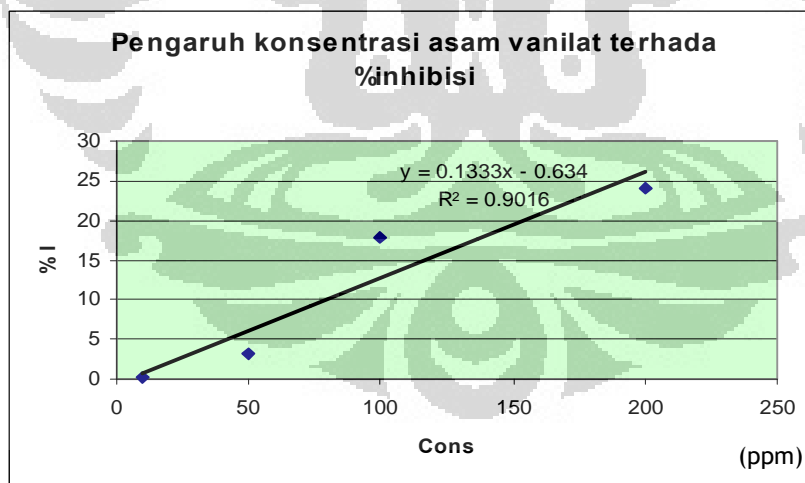
| Larutan | C (ppm) | Absorbansi | % Inhibisi |
|--------------|---------|------------|------------|
| quercetin | 30 | 0,105 | 93,056 |
| | 20 | 0,108 | 92,857 |
| | 10 | 0,13 | 91,402 |
| asam vanilat | 200 | 1,257 | 24,14 |
| | 100 | 1,36 | 17,924 |
| | 50 | 1,604 | 3,199 |
| | 10 | 1,654 | 0,181 |
| ester I | 200 | 0,529 | 65,013 |
| | 100 | 0,634 | 58,069 |
| | 50 | 0,833 | 44,907 |
| | 40 | 1,115 | 26,257 |
| | 30 | 1,159 | 23,347 |
| ester II | 200 | 0,413 | 72,685 |
| | 100 | 0,669 | 55,754 |
| | 50 | 1,304 | 13,757 |
| | 40 | 1,141 | 24,537 |
| | 30 | 1,494 | 72,685 |

Abs blanko (DPPH+methanol) = 1,657

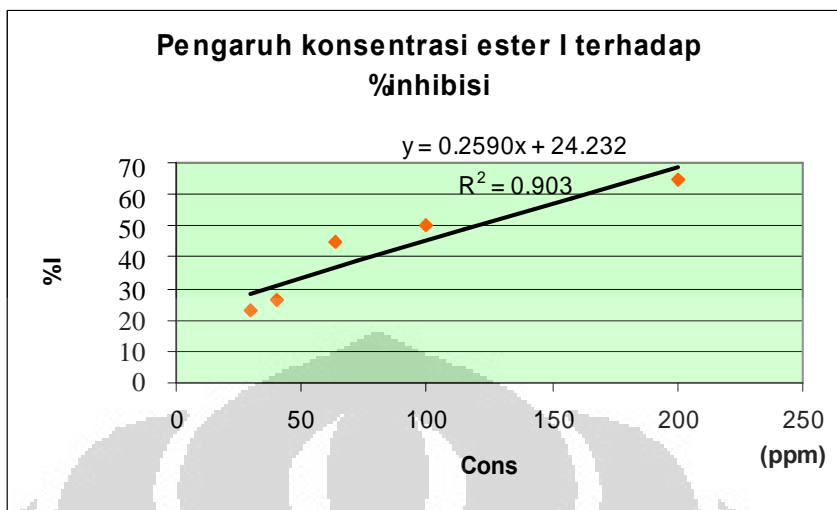
Dari data tersebut diperoleh nilai %inhibisi yang merupakan nilai persentase kemampuan suatu antioksidan menangkal radikal bebas. Nilainya diperoleh dari persamaan :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_{\text{blanko}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{blanko}}} \times 100\%$$

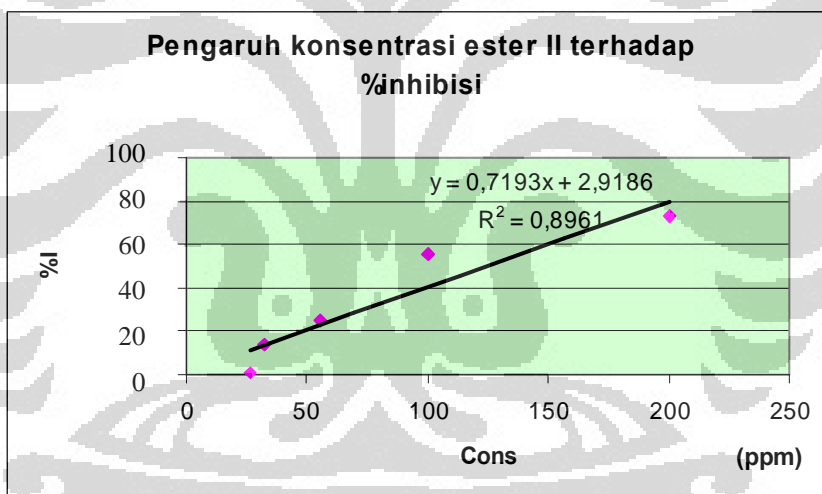
semakin tinggi nilai %inhibisi (di atas 50%) suatu senyawa antioksidan berarti senyawa tersebut memiliki aktivitas yang tinggi pula sebagai antioksidan. Dari data yang diperoleh, diketahui sampel ester fruktovanilat memiliki nilai %inhibisi di atas 50% yang berarti sampel ester tersebut cukup bagus sebagai antioksidan untuk menangkal radikal bebas. Data yang diperoleh selanjutnya diolah untuk mendapatkan grafik linear antara konsentrasi dan %inhibisi hingga didapat persamaan garis lurus $y = a+bx$



Gambar 4.22. Grafik Konsentrasi asam vanilat terhadap %inhibisi



Gambar 4.23. Grafik Konsentrasi sampel ester I terhadap %inhibisi



Gambar 4.24. Grafik Konsentrasi sampel ester II terhadap %inhibisi

Dari masing-masing persamaan garis tersebut dapat diperoleh nilai IC_{50} (*Inhibition of Concentration*). IC_{50} adalah besarnya konsentrasi antioksidan untuk menghambat radikal bebas sebesar 50% atau dalam percobaan ini dapat dikatakan sebagai besarnya konsentrasi larutan ester fruktovanilat yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50%. Harga IC_{50}

umum digunakan untuk menyatakan aktivitas antioksidan suatu senyawa dengan metode peredaman radikal bebas DPPH. Nilai IC_{50} diperoleh dari

$$persamaan : IC_{50} = \frac{50 - a}{b}$$

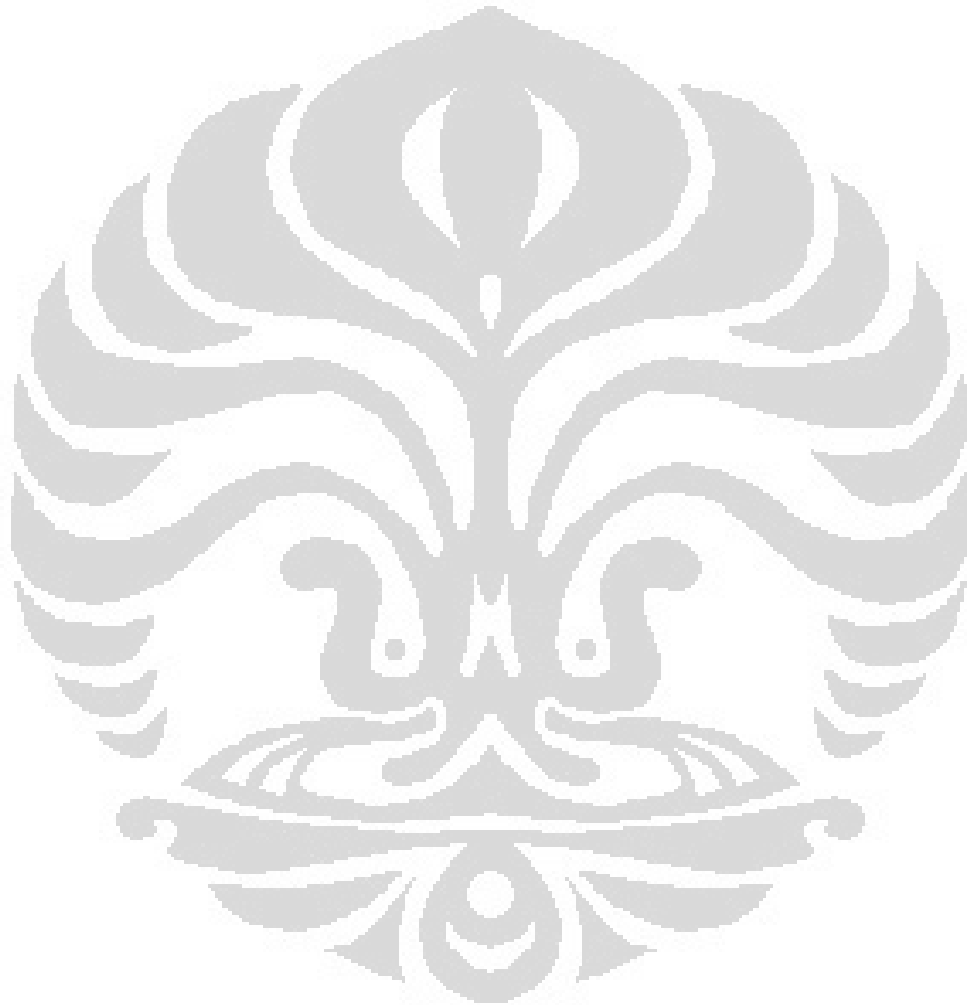
Semakin kecil nilai IC_{50} (di bawah 50) suatu senyawa antioksidan menandakan semakin tinggi aktivitas antioksidannya.

Tabel 4.6. Nilai IC_{50} dan sifat keaktifan suatu senyawa antioksidan

| Nilai IC_{50} (ppm) | Sifat Keaktifan antioksidan |
|-----------------------|-----------------------------|
| < 50 | sangat aktif |
| 50 . 100 | aktif |
| 100 . 1000 | kurang aktif |
| >1000 | tidak aktif |

Dari hasil perhitungan didapat nilai IC_{50} untuk ester fruktovanilat I sebesar 99,48 dan untuk ester fruktovanilat II adalah 65,45. Kedua nilai IC_{50} tersebut masih berada pada rentang 50-100, yang berarti produk ester fruktovanilat yang dihasilkan bersifat aktif sebagai antioksidan. Selain itu, dari data yang diperoleh untuk pengukuran aktivitas antioksidan asam vanilat juga diketahui bahwa produk ester yang dihasilkan memiliki aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan asam vanilat pembentuknya (nilai IC_{50} asam vanilat 379,859). Hal ini sesuai dengan teori yang ada dimana vanili dan asam

vanilat berpotensi sebagai antioksidan karena mempunyai struktur sebagai fenol tersubstitusi dan dapat ditingkatkan aktivitas antioksidannya dengan memperbanyak gugus fenolik melalui reaksi esterifikasi.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan maka dapat disimpulkan:

- a. Oksidasi vanilin dengan AgNO_3 dan basa berlebih merupakan metode yang baik untuk menghasilkan asam vanilat karena oksidatornya bersifat selektif, dan rendemen yang dihasilkannya cukup besar.
- b. Ester fruktovanilat dapat dihasilkan dari reaksi esterifikasi asam vanilat dengan fruktosa dan katalis H_2SO_4 menggunakan metode gelombang mikro dalam waktu reaksi yang singkat.
- c. Waktu optimum pembuatan ester fruktovanilat dengan perbandingan mol fruktosa terhadap asam vanilat 1:3 menggunakan gelombang mikro adalah 8 menit dengan rendemen sebesar 44,17% dan waktu optimum pembuatan ester fruktovanilat dengan perbandingan mol fruktosa terhadap asam vanilat 1:5 adalah 10 menit dengan rendemen sebesar 45,17%.
- d. Produk ester fruktovanilat memiliki %inhibisi (peredaman) efek radikal bebas DPPH >50% , serta nilai IC_{50} sebesar 99,48 untuk ester fruktovanilat I dan 65,45 untuk ester fruktovanilat II

5.2 Saran

Untuk penelitian selanjutnya disarankan :

- a. Melakukan juga esterifikasi dengan metode konvensional seperti melalui metode refluks agar dapat dibandingkan rendemen yang dihasilkan antara metode gelombang mikro dan metode konvensional.
- b. Merubah perbandingan mol antara senyawa alkohol dan asam karboksilat yang akan direaksikan dengan melebihi mol senyawa alkohol agar memudahkan dalam proses pemurnian produk.
- c. Menggunakan senyawa polihidroksi alkohol yang dapat berikatan secara maksimal dengan asam vanilat sehingga memperbanyak gugus fenolik
- d. Melakukan uji identifikasi yang lebih spesifik untuk mengetahui komposisi ester yang berhasil disintesis
- e. Melakukan uji toksisitas terhadap senyawa ester yang terbentuk

DAFTAR PUSTAKA

1. Jacobs, D.2006. *Microwave assisted organic synthesis*.
[http://bama.ua.edu/chem/Group meeting/fall04/jac-meetf04.pdf](http://bama.ua.edu/chem/Group%20meeting/fall04/jac-meetf04.pdf) 28 hlm,
11 Maret 2008 pukul 11.00 wib
2. Liu, C.2002. *Microwave assisted organic synthesis* : 12 hlm.
[http://bama.ua.edu/chem/seminar/student seminar/fall02/liu-semf02.pdf](http://bama.ua.edu/chem/seminar/student_seminar/fall02/liu-semf02.pdf)
11 Maret 2008 pukul 11.15 wib
3. Loupy, A (Ed). 2006. *Microwave assisted organic synthesis*. Wiley-VCH,
Weinheim
<http://www.organic-chemistry.org/books/reviews/3527305149.shtm> 12
Maret 2008 pukul 10.00
4. Williamson, K.L.1999. *Macroscale and microscale organic experiments*.
Houghton Mifflin Companu. Boston: ix= 799 hlm
5. Fessenden, R.J, Fessenden J.S. 1986. *Kimia Organik Jilid 2*. Terj. Dari
Organic chemistry, oleh Pudjaatmaka, A.H. Erlangga :Jakarta: xv + 525
hlm
6. Purba, M.1997. *Ilmu Kimia 2000*. Erlangga, Jakarta : xiii + 184 hlm
7. *Vanillin*, <http://en.wikipedia.or/wiki/Vanillin>, 7 Januari 2008 pukul 11.00 wib
8. *Fructose*,<http://www.dentistry.leeds.ac.uk/fructose/carbohydrates.html> 5
hlm 10 Maret 2008 pukul 13.30

9. *Vanillic acid*. [http://chemicalland21.com/fc/Vanillic acid](http://chemicalland21.com/fc/Vanillic%20acid), 24 Maret 2008 pukul 12.10 wib
10. *Aldehyde*, <http://en.wikipedia.org/wiki/Aldehyde>, 24 Maret 2008 pukul 12.30 wib
11. *Aldehyd*. [http://chemicalland21.com/fc/ Aldehyde](http://chemicalland21.com/fc/Aldehyde), 24 maret 2008 pukul 13.00 wib
12. Hart,H.; Craine, L, E. ;Hart,D,J. 2003. *Kimia Organik : suatu kuliah singkat*. Terjemahan dari *Organic Chemistry* oleh Achmadi Suminar Erlangga : Jakarta
13. Hawa, S.2007. Studi Sintesis Ester Sukrovanilat dari Sukrosa dan Vanilin yang Telah Dioksidasi (Asam Vanilat) .Karya Utama Sarjana Kimia. Departemen Kimia FMIPA UI
14. Nurulita,I. 2007. Sintesis Ester Glukovanilat dari Vanilin. Karya Utama Sarjana Kimia. Departemen Kimia FMIPA UI
15. Gardiana,D.2003. Esterifikasi Metil Benzoat dengan Menggunakan Gelombang Mikro.Karya Utama Sarjana Kimia. Departemen Kimia FMIPA UI
16. Pustekom 2007. *Microwave untuk teknologi pangan* http://iptek.apjii.or.id/artikel/pangan/tips_pangan/TEK10/css/TEK10_1.html - 9k /. 15 hlm
17. Kappe,C. 2003. *Technology High-Througput Screening, Businessbriefing : Future Drug Discover*. vol : 42-44

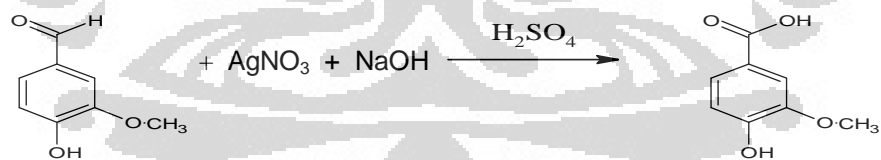
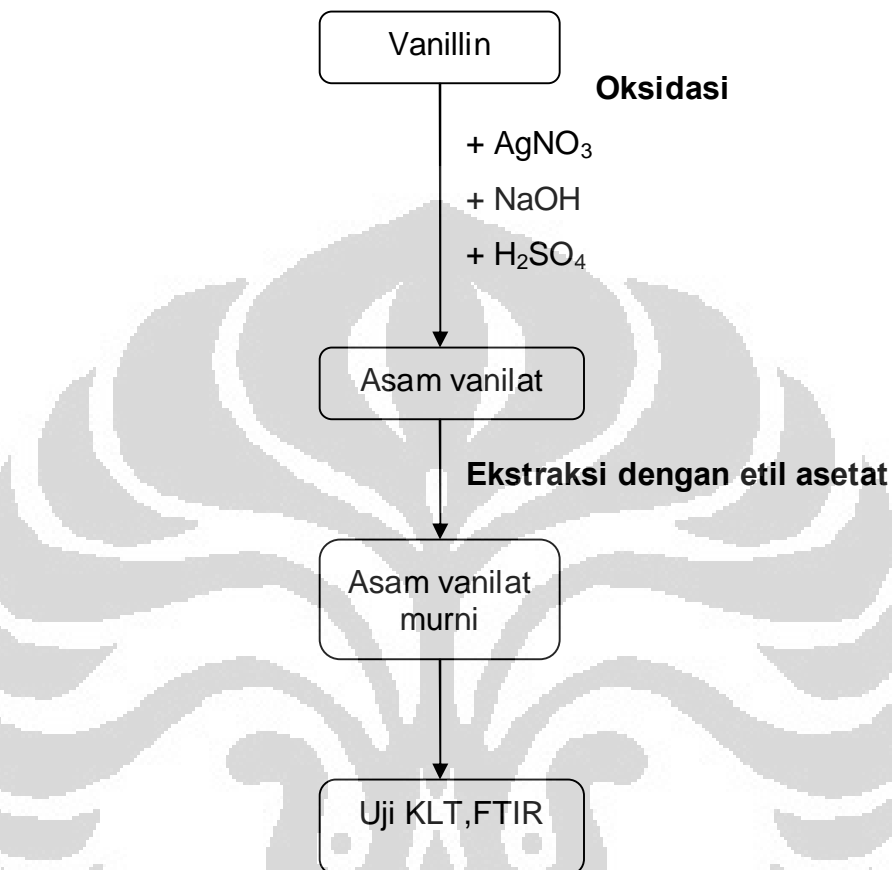
18. Whitaker,G. 1997. *Microwave Heating Mechanisms* ; 10 hlm.
<http://homepages.cd.ac.uk/ah.05>. 24 Maret pukul 11.00 wib
19. Chem-team. 2004 . *Microwaves chemistry*
www.unc.edu/depts/mtcgroup/litmeetings/microwaves.pdf 14 April
2008 pukul 16.00 wib
20. *Microwave chemistry*. <http://microwave-chemistry/heating/wiki/microwave/wikipedia.org> 16 April 2008 pukul
15.00 wib
21. Whitaker, G. 1997. *A basic introduction to microwave chemistry*; 1
hlm. <http://homepages.cd.ac.uk/ah.05>, 17 April 2008, pukul 10.30 wib
22. *Magnetron* . 2006. [http://www.e-
dukasi.net/pengpop/pp_full.php?ppid=273&fname=semua.html](http://www.ependukasi.net/pengpop/pp_full.php?ppid=273&fname=semua.html) : 4
hlm,13 april 2008 pukul 19.00 wib
23. *Radiasi gelombang mikro*. 2007.
<http://www.bursainternet.com/content/view/4/8/> ; 2 hlm, 18 april 2008
pukul 14.00 wib
24. Amin H, M,dkk. 2007. *Metode Efek Peredaman Radikal Bebas*.
Universitas Gajah Mada Press,Yogyakarta.
<http://www.homepages.ugm.edu/pubs-art.pdf> ; 8 hlm, 18 April 2008
pukul 14.00 wib
25. Arief, S. 2004. *Radikal Bebas dan Antioksidan*. SMF-Ilmu Kesehatan
FK UNAIR/RSU.Dr.Soetomo, Surabaya. 6 hlm

26. Padmawinata, K. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Terj. dari *Introduction to Chromatography*, oleh Griffer, R. J; Bobbitt, J, M; Scawarting, A.E. Penerbit ITB, Bandung.
27. Fleming,I., Williams, D.H. 1980. *Spectroscopy Methods in Organic Chemistry*. McGraw-Hill, London: 251 hlm
28. Pearl,I,A. 1946. Reaction of vanillin and its derived compounds. *Contribution from Institue of Paper Chemistry.*, 68:1100
29. Sykes, P. 1985. Penuntun mekanisme reaksi kimia organik. Edisi keenam. Terj. dari *Guidebook to Mechanism in Organic Chemistry*,⁶⁸ oleh Anton J.Hartono,dkk. PT.Gramedia, Jakarta
30. Sudjadi.1983. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Ghalia Indonesia : Jakarta



Lampiran 1

Pembuatan Asam Vanilat



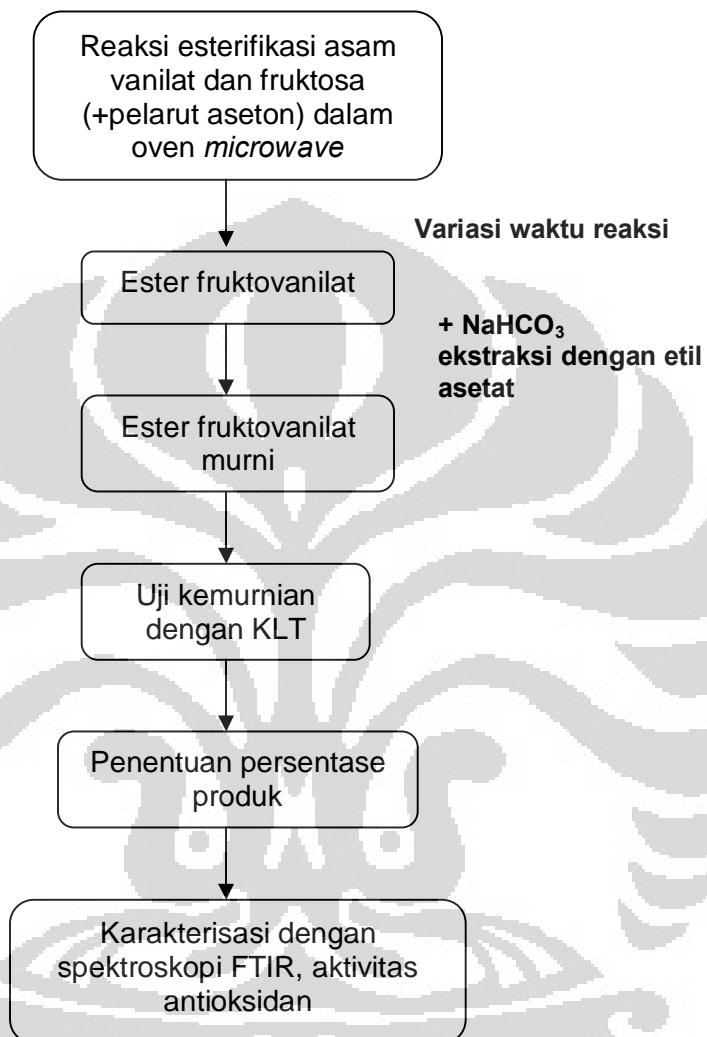
| Vanilin | + AgNO ₃ | + NaOH | H ₂ SO ₄ | asam vanilat |
|----------|---------------------|----------|--------------------------------|--------------|
| 3,0507 g | 3,3787 g | 4,8527 g | | 3,0506 g |
| 20 mmol | 20 mmol | 121 mmol | | 20 mmol |

Berat asam vanilat percobaan = 2,5128 g

mmol asam vanilat percobaan = 16,5 mmol

Rendemen yang diperoleh : $\frac{16,5 \text{ mmol}}{20 \text{ mmol}} \times 100 \% = 82,5 \% \text{mmol}$

Lampiran 2

Pembuatan Ester Fruktovanilat I

| | |
|--------------------------------|-------------------|
| D(+)-fruktosa + 3 asam vanilat | frukto trivanilat |
| 0,090 g | 0,2401 g |
| 0,5 mmol | 0,5 mmol |

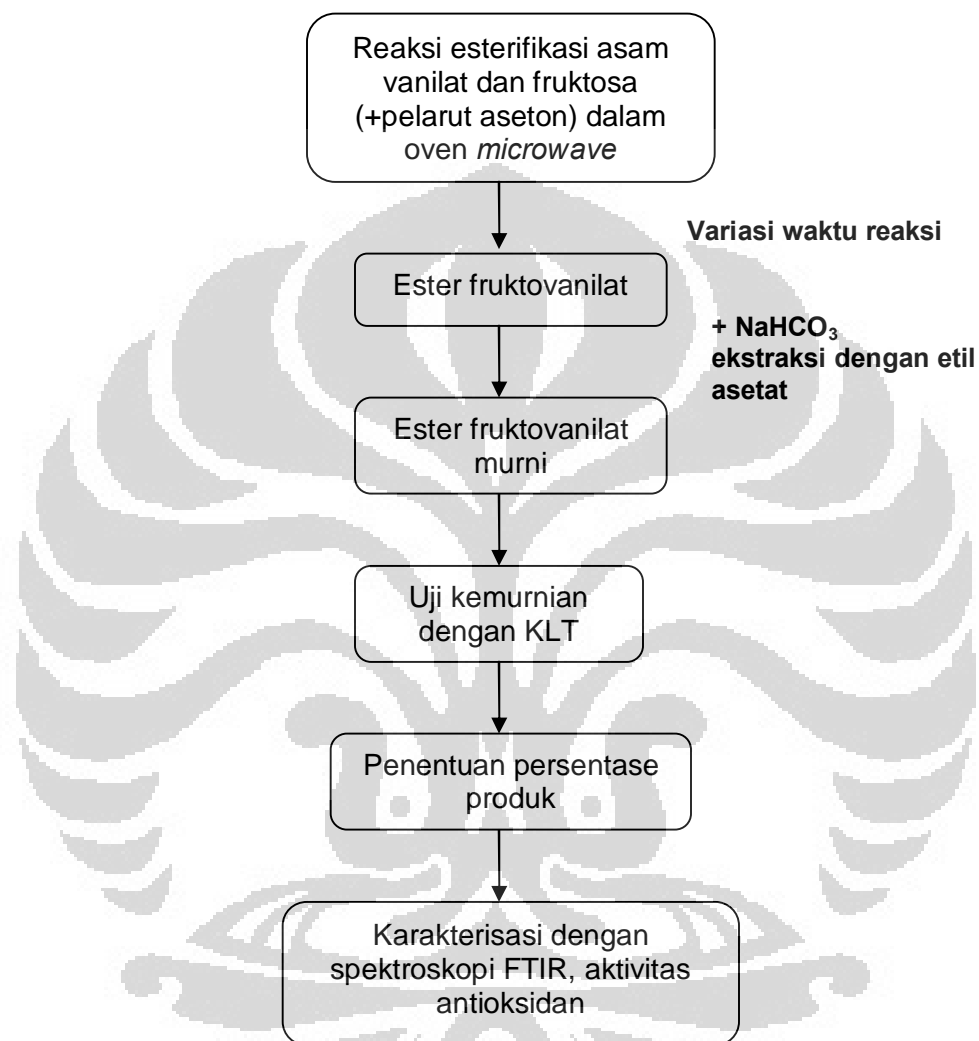
Berat ester percobaan = 0,1061 g (rendemen tertinggi)

mmol ester percobaan = 0,2215 mmol

Rendemen : $\frac{0,2215 \text{ mmol}}{0,5 \text{ mmol}} \times 100 \% = 44,31 \%$

Lampiran 3

Pembuatan Ester Fruktovanilat II



| | |
|--------------------------------|---------------------|
| D(+)-fruktosa + 5 asam vanilat | frukto pentavanilat |
|--------------------------------|---------------------|

| | | |
|---------|----------|----------|
| 0,090 g | 0,4201 g | 0,4890 g |
|---------|----------|----------|

| | | |
|----------|----------|----------|
| 0,5 mmol | 2,5 mmol | 0,5 mmol |
|----------|----------|----------|

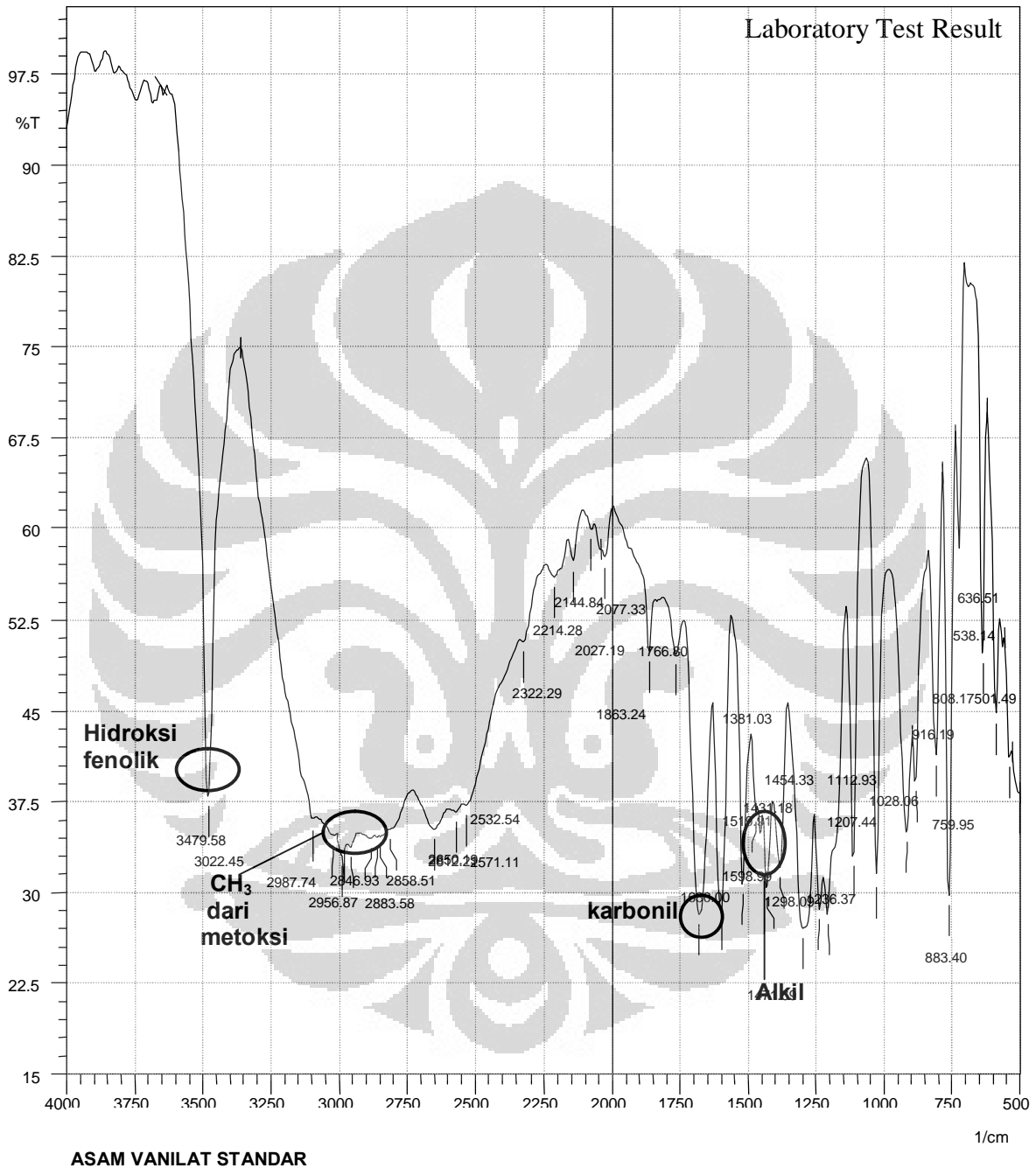
Berat ester percobaan = 0,2241 g

mmol ester percobaan = 0,2306 mmol

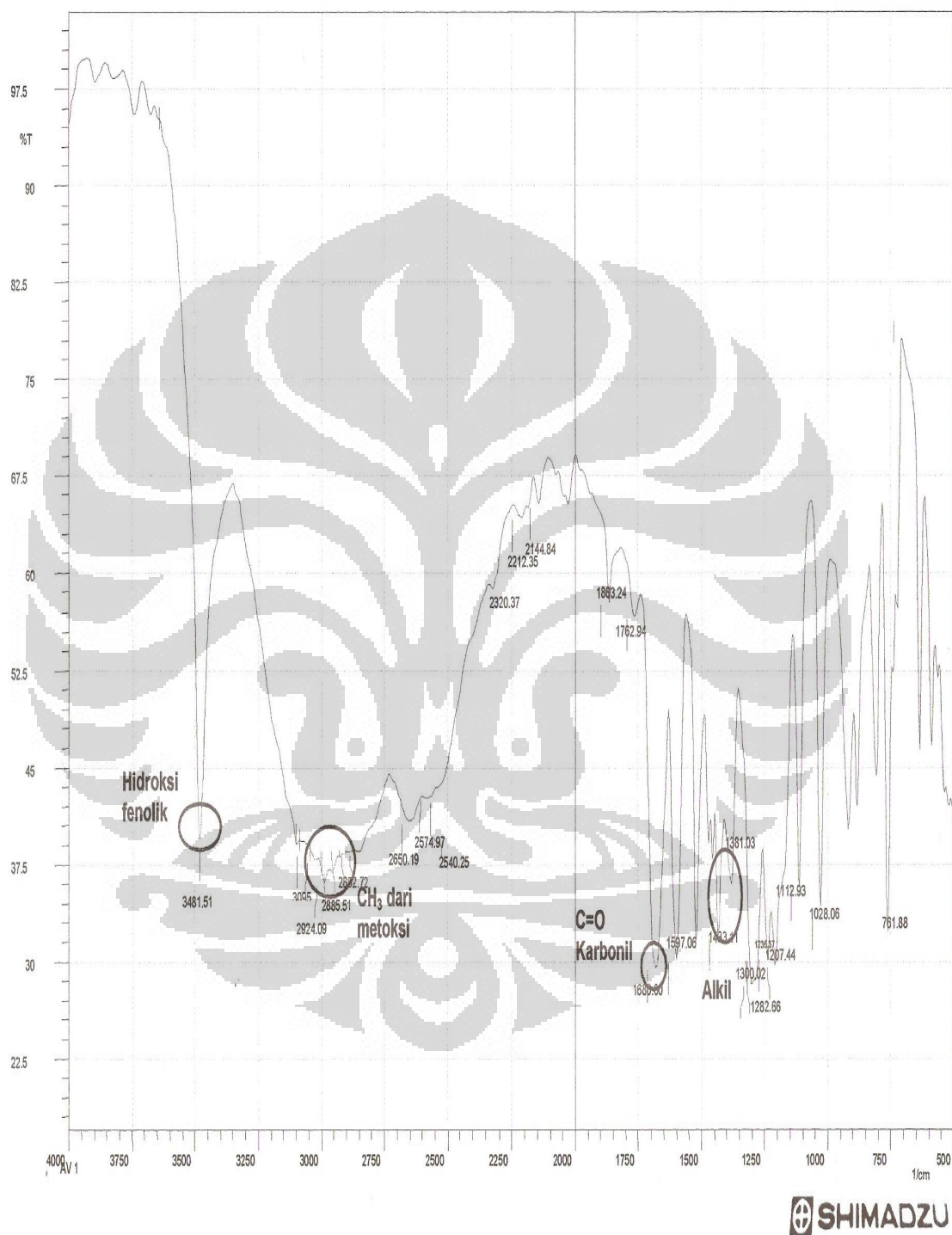
Rendemen : $\frac{0,2306 \text{ mmol}}{0,5 \text{ mmol}} \times 100 \% = 46,12\%$

0,5 mmol

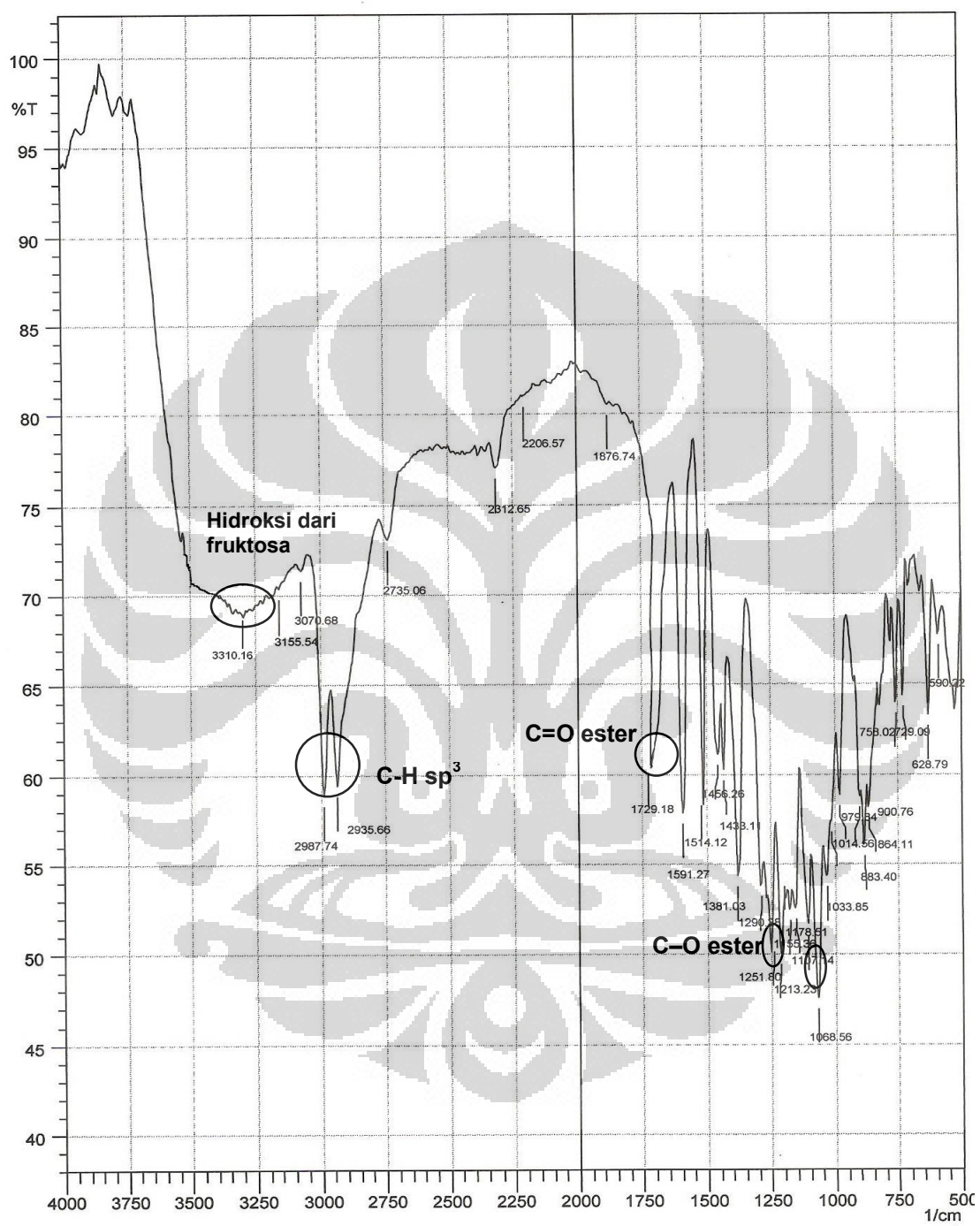
Lampiran 4. Spektrum FT-IR asam vanilat standar



Lampiran 5. Spektrum FT-IR asam vanilat hasil oksidasi.



Lampiran 6. Spektrum FT-IR Ester Fruktovanilat I



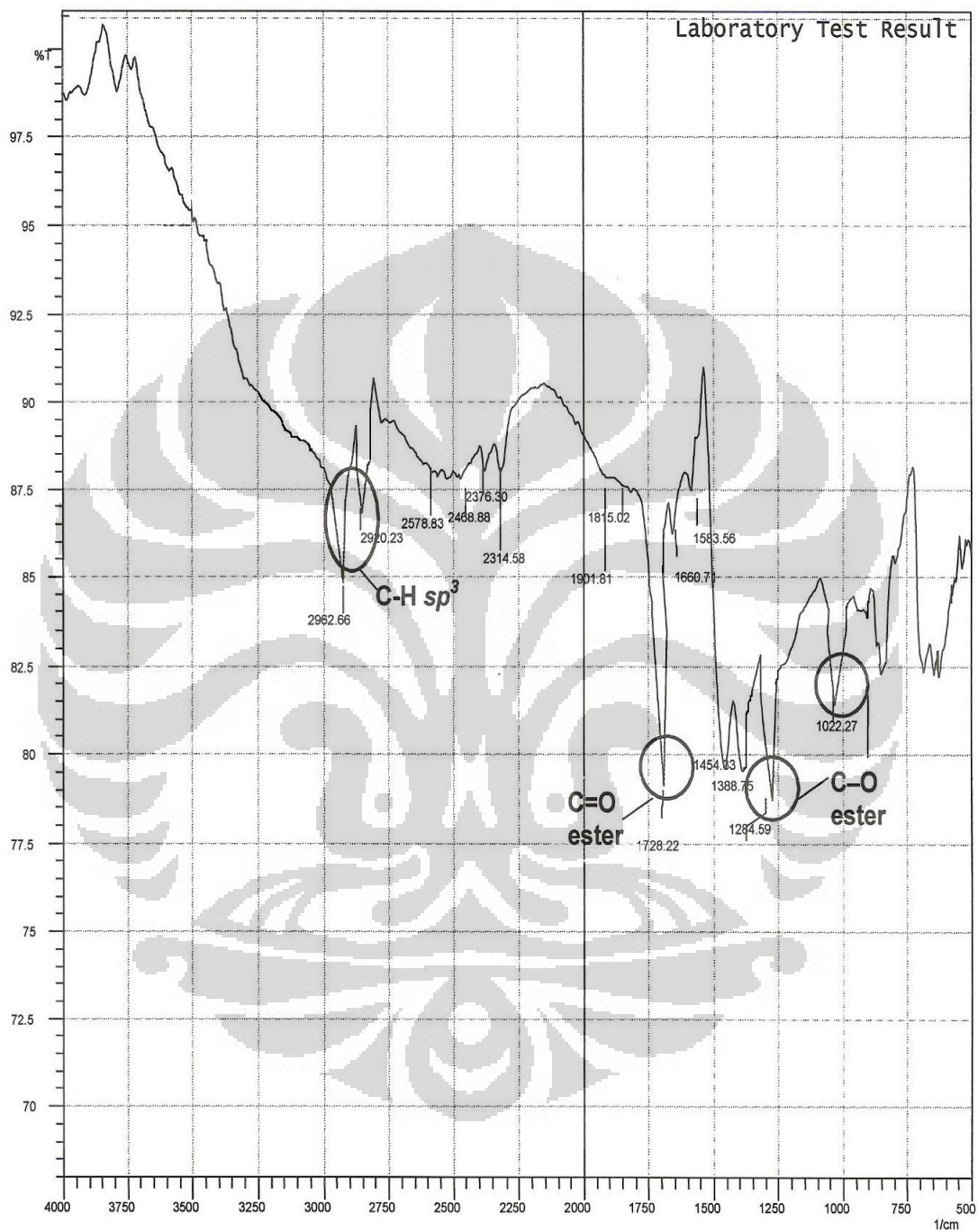
ESTER FRUKTOVANILAT 1:3

Date/Time; 05/29/2008

02:05:25

SHIMADZU

Lampiran7. Spektrum FT-IR Ester Fruktovanilat II



ESTER FRUKTOVANILAT I 1 : 5

Date/Time; 05/29/2008

01:50:25 PM

SHIMADZU