

A Comparative Study of Synthesis 3-(4-Methoxyfenil)propanehydrazide by Conventional Heating and Microwave Irradiation

Studi Perbandingan Sintesis 3-(4-Metoksifenil)propanhidrazida dengan Pemanasan Konvensional dan Iradiasi Gelombang Mikro

Melanny Ika Sulistyowaty^{1,2}*, Ratna Nusandari³), Marcellino Rudyanto¹), Juni Ekowati¹)

¹Department of Pharmaceutical Science, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

²Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Hoshi University, Japan

³Study Program of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

*Corresponding author

E-mail: melanny-i-s@ff.unair.ac.id

Article History:

Received: March, 20 2024; Revised: June 19, 2024; Accepted: June 28, 2024; Online: June 30, 2024

ABSTRACT

Previous studies had shown that ethyl *p*-methoxycinnamate (EPMS) had various bioactivities, such as analgesic and anti-inflammatory through COX inhibition. Due to its unique structure, this compound was modified into a selective COX-2 inhibitor. In this research, EPMS was isolated from *Kaempferia galanga* L. and used as a starting material to be reacted with hydrazine hydrate to obtain 3-(4-methoxyfenil)propanehydrazide. This synthesis was carried out using conventional heating and microwave irradiation. The microwave irradiation was chosen because of its potential to reduce reaction time and increase yield. Next, the crude product was purified using column chromatography to produce a pure product, where characterization and structural analyses of the compound were carried out using the TLC test, melting point test, IR, ¹H-NMR, and UV spectroscopy. The results showed that the product produced was 3-(4-methoxyphenyl)propanehydrazide with a yield of 0,76% by conventional thermal heating and 7,90% by microwave irradiation.

Keywords: EPMC, Hydrazine Hydrate, 3-(4-Metoxifenil)propanehydrazide, Conventional Heating, Microwave Irradiation

ABSTRAK

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa etil *p*-metoksisinamat (EPMS) memiliki beragam bioaktivitas, seperti analgesik dan anti inflamasi melalui penghambatan COX. Senyawa tersebut dimodifikasi sebagai inhibitor selektif COX-2 berdasarkan strukturnya yang khas. Dalam penelitian ini EPMS diisolasi dari *Kaempferia galanga* L. dan dijadikan bahan awal untuk direaksikan dengan hidrazin hidrat sehingga diperoleh *p*-metoksi sinamoil hidrazida. Sintesis ini dilakukan dengan menggunakan pemanasan termal konvensional dan iradiasi gelombang mikro, yang dipilih karena potensinya dalam mengurangi waktu reaksi dan meningkatkan rendemen. Produk dimurnikan dengan kromatografi kolom sehingga menghasilkan produk murni. Uji karakteristik dan analisis struktur dilakukan menggunakan uji KLT, uji titik leleh, IR, ¹H-NMR, dan spektroskopi UV. Hasil penelitian menunjukkan bahwa produk yang dihasilkan 3-(4-metoksifenil) propanahidrazida dengan rendemen 0,76% pada pemanasan termal konvensional dan 7,90% pada iradiasi gelombang mikro.

Kata kunci: EPMC, Hidrazin Hidrat, 3-(4-metoksifenil)propanahidrazida, Pemanasan Konvensional, Iradiasi Helombang Mikro

PENDAHULUAN

Prostaglandin (PG) dan Tromboksan A2 (TXA₂) atau yang disebut prostanoid merupakan zat yang dibentuk ketika asam arakidonat dilepas dari membran plasma oleh enzim fosfolipase dan dimetabolisme oleh enzim siklooksigenase (COX) dan beberapa enzim lain. Produksi PG yang dikenal sebagai salah satu mediator inflamasi tergantung pada aktivitas dua isoform COX,

yaitu COX-1 dan COX-2. COX-1 menghasilkan prostanoid yang berperan dalam fungsi penjagaan, sementara COX-2 aktif terutama dalam kondisi inflamasi dan penyakit keganasan (Ricciotti & FitzGerald, 2011). COX merupakan target dari obat anti inflamasi seperti golongan Non-Steroid Anti-Inflammatory Drug (NSAID), yang bertindak sebagai inhibitor kompetitif pada *active site* COX (Ricciotti & FitzGerald, 2011). Namun, efek samping obat golongan NSAID akibat

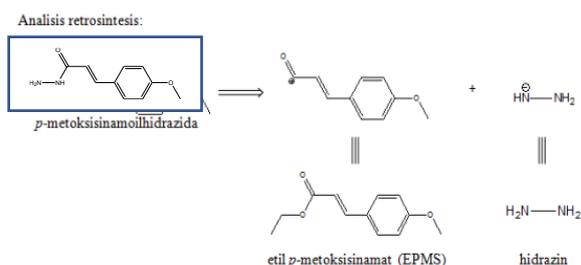
Cite this as Sulistyowaty, M.I., Nusandari, R., Rudyanto, M., & Ekowati, J. (2024) 'A Comparative Study of Synthesis 3-(4-Methoxyfenil)propanehydrazide by Conventional Heating and Microwave Irradiation', *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 11(1), pp. 12-19 doi: 10.20473/bikfar.v11i1.56153.



hambatan pada COX-1 sangat besar pada saluran cerna. Maka dari itu, penelitian ini bertujuan mengembangkan inhibitor selektif pada COX-2 untuk mengurangi efek samping tersebut (Michaux *et al.*, 2006).

Pengembangan inhibitor selektif COX-2 dilakukan melalui sintesis senyawa *p*-metoksi sinamoil hidrazida. EPMS digunakan sebagai bahan awal dalam sintesis senyawa ini. Bahan awal ini didapat dengan mengisolasi EPMS dari rimpang kencur karena tanaman ini mudah diperoleh di Indonesia (Winingsih *et al.*, 2021). EPMS dipilih karena telah terbukti memiliki aktivitas analgesik dan anti-inflamasi melalui penghambatan COX-1 dan COX-2 (Ekowati & Diyah, 2013). Selain itu, EPMS menunjukkan aktivitas hambatan proliferasi sel tumor pada percobaan *in vitro* (Nurani *et al.*, 2020).

Target senyawa pada penelitian ini yang sebenarnya adalah senyawa *p*-metoksisinamoilhidrazida dengan analisis retrosintetik pada dapat dilihat pada (Gambar 1), menggunakan senyawa awal EPMS. Metode sintesis yang digunakan yaitu pemanasan konvensional dan iradiasi gelombang mikro. Jika membandingkan kedua metode tersebut, metode iradiasi gelombang mikro dipilih karena dapat meminimalisasi penggunaan pelarut, memerlukan waktu reaksi yang lebih singkat, dan pada beberapa penelitian dapat meningkatkan persentase hasil sintesis (Belwal, 2013). Selain itu, panas yang dihasilkan dari iradiasi gelombang mikro tersebar secara serentak dan merata ke seluruh sistem, sehingga hasil reaksi lebih banyak bila dibandingkan dengan pemanasan konvensional yang seringkali terjadi *over heating* dan mengakibatkan lebih banyak produk maupun reagen yang terdegradasi (Kappe *et al.*, 2009). Senyawa target sintesis ini, diharapkan dapat diteliti sehingga mengalami modifikasi struktur lanjutan terutama untuk memenuhi keberadaan gugus farmakofor inhibitor COX-2.



Gambar 1. Analisis retrosintetis senyawa target, *p*-metoksisinamoilhidrazida

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yakni Neraca Sartorius BL-600, spektrofotometer FTIR Shimadzu 8400S, spektrofotometer UV-Vis Lambda EZ 201 Perkin Elmer, spektrometer NMR JEOL ECS 400 MHz, Mel-Temp electrothermal melting point apparatus, lampu UV-254 nm, rotavapor (*Rotary Vacuum Evaporation*) Heidolph Laborata 4000, oven, dan *microwave oven low Watt* 400 W Sanyo EM-S26125 220V- 50Hz.

Bahan

Rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) yang telah dideterminasi oleh Balai Materia Medika Batu-Jawa Timur digunakan sebagai bahan baku. Selain itu bahan lain yakni hidrazin hidrat *p.a* (Merck), etanol 96% *p.a* (Merck), etanol teknis, kloroform *p.a* (Merck), aseton *p.a* (Merck), metanol *p.a* (Merck), *n*-heksana *p.a* (Merck), etil asetat *p.a* (Merck), silika gel 60 (Merck), dan lempeng KLT silika gel F₂₅₄.

Pengambilan Sampel

Rimpang kencur sebanyak 5 kg dicuci, dipotong tipis, lalu dikeringkan tanpa sinar matahari langsung sekitar enam hari dan dihaluskan menjadi serbuk. Langkah selanjutnya, serbuk tersebut diperkolasi dengan etanol dan didiamkan selama sekitar 24 jam. Perkolat yang berwarna cokelat diteteskan pada wadah penampung dan diulang hingga diperoleh perkolat tidak berwarna (Ekowati, 2012).

Perkolat yang diperoleh kemudian dipekatkan pada suhu 40°C menggunakan rotavapor, lalu disimpan untuk membentuk padatan kuning. Padatan disaring dengan corong Buchner dan dilarutkan dalam etanol 70% yang dipanaskan dengan penambahan norit. Larutan disaring dalam keadaan panas, filtrat didinginkan hingga membentuk kristal putih, lalu disaring dan dikeringkan di lemari asam. Isolat diuji kemurniannya menggunakan KLT dengan tiga macam fase gerak serta dilakukan penentuan jarak lebur.

Sintesis senyawa target dengan Metode Pemanasan Konvensional

Sebanyak 1,5 mmol (310 mg) kristal EPMS dimasukkan ke dalam labu alas bulat, lalu ditambahkan 3 ml etanol 96% dan 7,5 mmol (0,36 ml) hidrazin hidrat. Campuran tersebut direfluks pada suhu antara 78-80°C sekitar 6,5 jam. Pengujian kesempurnaan reaksi digunakan uji KLT dengan fase gerak aseton : kloroform (3:4) dan lempeng KLT silika gel F₂₅₄, sebagai pembanding digunakan EPMS. Hasil reaksi diuapkan pelarutnya, kemudian dilakukan pemisahan dan pemurnian menggunakan kromatografi kolom.

Sintesis senyawa target dengan Metode Iradiasi Gelombang Mikro

Sebanyak 1,5 mmol (310 mg) kristal EPMS dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer, kemudian ditambahkan 3 ml etanol 96% dan 7,5 mmol (0,36 ml) hidrazin hidrat. Campuran dimasukkan ke dalam *microwave* dan diradiasi dengan gelombang mikro (daya 120 W) selama 25 menit. Kesempurnaan reaksi diamati menggunakan KLT dengan fase gerak aseton : kloroform (3:4) dan lempeng KLT silika gel F₂₅₄, serta sebagai pembanding digunakan EPMS. Hasil reaksi diuapkan pelarutnya, kemudian dilakukan pemisahan dan pemurnian menggunakan kromatografi kolom.

Uji Pemantauan Hasil Reaksi dengan KLT

Pengujian dilakukan menggunakan fase diam lempeng KLT silika gel F₂₅₄. Selanjutnya bahan awal EPMS dan hidrazin hidrat digunakan sebagai pembanding. Larutan yang akan diuji dan pembanding ditotolkan pada lempeng KLT dan dimasukkan ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan fase gerak aseton : kloroform (3:4). Eluasi dihentikan ketika

fase gerak sudah mencapai garis batas atas. Kemudian dilakukan pengamatan di bawah sinar UV 254 nm (Ekowati, 2012).

Pemisahan dan Pemurnian dengan Kromatografi Kolom

Pemurnian dan pemisahan hasil reaksi dilakukan menggunakan kromatografi kolom. Alat kromatografi kolom disiapkan dengan menambahkan kapas di bagian bawahnya. Pembuatan bubuk silika gel 60 sebanyak 20 g menggunakan fase gerak campuran aseton : kloroform (3:4). Bubur tersebut dituang perlahan ke dalam kolom, diikuti dengan fase gerak yang ditampung dalam labu erlenmeyer. Setelah itu, pelarut yang diuapkan dari hasil reaksi dicampur dengan sedikit fase gerak, kemudian dimasukkan perlahan ke dalam kolom. Fase gerak dituang secara terus-menerus dalam kolom, dan eluat yang keluar ditampung dalam vial. Satu noda dengan nilai Rf yang sama dari seluruh vial dikumpulkan dalam pengujian kemurnian menggunakan kromatografi lempeng tipis dengan eluen aseton: kloroform (3:4) (Ekowati, 2010).

Penentuan Jarak Lebur pada Uji Kemurnian Senyawa

Sejumlah kecil kristal senyawa yang akan ditentukan jarak leburnya digerus dan dimasukkan ke dalam pipa kapiler dengan cara menekan-nekan pipa kapiler yang salah satu ujungnya tertutup pada serbuk yang telah dihaluskan sampai pipa terisi sekitar 2-3 mm. Pipa kapiler dimasukkan ke dalam alat *MelTemp Electrothermal Melting Point Apparatus* untuk penentuan jarak leburnya dengan minimal dua kali replikasi (Ekowati, 2012).

Uji Kemurnian Senyawa dengan KLT

Senyawa dilarutkan dalam etanol serta ditotolkan pada lempeng silika gel F₂₅₄ dan dieluasi dengan fase gerak yang berbeda, yakni aseton : kloroform (3:4), etil asetat : metanol (5:4), dan *n*-heksana : etil asetat (4:1) (untuk EPMS). Sementara pengujian kemurnian senyawa hasil sintesis digunakan fase gerak aseton : kloroform (3:4), etil asetat : metanol (70:1), dan *n*-heksana : etil asetat : metanol (1:3:2). Hasil eluasi diamati dengan sinar UV-254 nm. Kemunculan noda tunggal pada tiga lempeng yang telah dieluasi dengan tiga sistem fase gerak berbeda menunjukkan bahwa senyawa tersebut murni (Ekowati, 2012).

Identifikasi Senyawa Hasil Reaksi dengan Spektrofotometri IR

Sampel senyawa 0,5 – 1,0 mg yang telah murni, dicampur dengan serbuk kering kalium bromida (KBr) sebanyak 100 mg. Campuran digerus dalam mortir hingga homogen, kemudian dimasukkan ke dalam alat pembuat pelet dan ditekan menggunakan alat penekan hidrolik di bawah tekanan sebesar 10.000 – 15.000 Psi sampai diperoleh pelet yang transparan. Pelet yang

dihasilkan diletakkan pada *sample holder* dari alat spektrofotometri inframerah untuk direkam dan dilakukan analisis data (Silverstein *et al.*, 2005).

Identifikasi Senyawa Hasil Reaksi dengan Spektrometri ¹H-NMR

Sebanyak 0,1 mg sampel dilarutkan dalam 0,4 ml CDCl₃ kemudian ditambahkan TMS di dalam *glass tube* berdiameter 5 mm, serta diletakkan dalam *probe*. Spektrum resonansi magnet proton diamati pada daerah pergeseran kimia 0-15 ppm (Silverstein *et al.*, 2005).

Identifikasi Senyawa Hasil Reaksi dengan Spektrofotometri UV

Sejumlah sampel dilarutkan dalam etanol *p.a.* lalu serapannya diukur pada daerah UV dengan panjang gelombang 200-400 nm, dan diamati panjang gelombang maksimumnya (Ekowati, 2012).

Perhitungan Berat Senyawa Hasil Sintesis

Perhitungan berat hasil sintesis senyawa target dapat dilihat pada [Tabel 1](#) dengan rumus:

$$\text{Presentase Hasil} = \frac{A}{B} \times 100\%$$

Keterangan:

A = Berat senyawa hasil reaksi

B = Berat senyawa hasil perhitungan teoritis

Mol senyawa bereaksi x BM = 1,5 mmol x 188 = 282 mg Berdasarkan perhitungan di atas, maka pada penelitian ini diharapkan akan memperoleh senyawa target sebanyak 282 mg, jika bereaksi sempurna.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi EPMS

Isolasi EPMS dari 5 kg rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) yang telah dikeringkan dan dihaluskan menjadi 800 g serbuk kencur, menggunakan metode 4.4.1, diperoleh rendemen sebesar 2,17% (EPMS sebanyak 17,328 g. Uji organoleptis terhadap isolat, menunjukkan bahwa isolat berbentuk kristal jarum, berwarna putih, serta memiliki aroma aromatik (Sriarumtias *et al.*, 2010).

Penentuan Kemurnian Isolat Rimpang Kencur dengan KLT

Isolat rimpang kencur diuji kemurniannya menggunakan KLT dengan tiga jenis eluen. [Tabel 2](#) menunjukkan uji kemurnian isolat dengan KLT hanya tampak satu noda, yang mengindikasikan adanya satu senyawa pada isolat tersebut.

Tabel 1. Perhitungan Persentase Hasil Senyawa Target Secara Teoritis

Nama Zat	BM (g/mol)	Jumlah yang digunakan	Jumlah mol awal (mmol)	Jumlah mol yang bereaksi (mmol)	Jumlah mol yang tersisa (mmol)
EPMS	206,24	310,00 mg	1,5	1,5	0,0
Hidrazin hidrat	50,06	0,36 ml	7,5	1,5	6,0
<i>p</i> -metoksi sinamoil hidrazida	188,00			1,5	1,5

Tabel 2. Harga Rf Isolat Rimpang Kencur pada Tiga Macam Eluen

Eluen	Replikasi 1		Replikasi 2		Replikasi 3	
	Jumlah Noda	Rf	Jumlah Noda	Rf	Jumlah Noda	Rf
Etil Asetat: Metanol (5:4)	Satu	0,81	Satu	0,81	Satu	0,81
Aseton: Kloroform (3:4)	Satu	0,72	Satu	0,72	Satu	0,72
<i>n</i> -Heksana: Etil Asetat (4:1)	Satu	0,42	Satu	0,42	Satu	0,42

Pengukuran Jarak Lebur Isolat Rimpang Kencur

Penentuan jarak lebur isolat rimpang kencur dengan hasil pengamatan dapat dilihat pada [Tabel 3](#). Pengukuran jarak lebur kristal EPMS menunjukkan jarak lebur rata-rata antara 47 - 49,3°C. Hasil ini mengindikasikan bahwa isolat cukup murni. Menurut LeFevre (1997), senyawa murni umumnya memiliki rentang lebur 1-2°C, sedangkan penelitian Nurani (2020) melaporkan bahwa EPMS yang diisolasi dari rimpang kencur memiliki jarak lebur antara 48 - 49°C.

Hasil Identifikasi Struktur Isolat Rimpang Kencur Dengan Spektrofotometri IR

Hasil identifikasi menggunakan metode spektrofotometri IR tersaji dalam [Tabel 4](#). Hasil interpretasi spektrum IR menunjukkan adanya gugus C=O, yang ditandai dengan pita serapan pada 1700 cm⁻¹ dan gugus C=O ester ditunjukkan dengan adanya serapan

Tabel 3. Jarak Lebur Isolat Rimpang Kencur

Replikasi	Jarak Lebur Isolat (°C)	Rata-rata Jarak Lebur Isolat	Jarak lebur EPMS (°C)
1	47-50	47 - 49,3	48 - 49
2	47-49		
3	47-49		

pada 1707 cm⁻¹. Gugus C=C alkena yang teridentifikasi melalui pita serapan pada 1602 cm⁻¹, dan 829 cm⁻¹, memberikan informasi bahwa pada isolat rimpang kencur tersebut terdapat cincin aromatik tersubstitusi pada posisi *para*.

Identifikasi Struktur Isolat Rimpang Kencur dengan Spektrometri ¹H-NMR

Spektrum ¹H-NMR isolat rimpang kencur menunjukkan adanya tujuh puncak dengan pergeseran kimia yang berbeda. Informasi dari pola ini sesuai dengan keberadaan gugus etoksi yang terikat pada suatu atom C karbonil, sedangkan puncak serapan singlet dengan

Tabel 4. Interpretasi Spektrum IR Isolat Rimpang Kencur

Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)		
	Pustaka ^a	Isolat	EPMS ^b
C-O (ester, eter) C=O (ester)	1300-1000	1173	1174
	1750-1730	1707	1707
C-H (aromatik,ulur)	3150-3050	3007	3007
C=C (alkena)	1680-1600	1602	1604
C-H (alifatik,ulur)	3000-2850	2978	2936
Cincin aromatik Tersubstitusi <i>para</i>	850-800	829	830

Keterangan:

^a: bilangan gelombang yang diambil dari pustaka sebagai referensi untuk identifikasi gugus fungsi.

^b: spektrum infra merah EPMS (Etil p-metoksisinamat), yang digunakan sebagai pembanding untuk isolat yang dianalisis

geseran kimia 3,82 ppm sesuai dengan keberadaan proton pada gugus metoksi. Pergeseran kimia proton 6,29 dan 7,62 ppm sama-sama membentuk puncak doublet dengan tetapan kopling yang sama, yakni 16,0 Hz. Menurut Silverstein *et al.* (2005), rentang nilai tetapan kopling antara 12-17 Hz adalah ciri khas ikatan -C=C- dengan konfigurasi trans. Oleh karena itu, hasil tersebut sesuai dengan struktur EPMS yang telah diketahui memiliki ikatan -C=C- dengan konfigurasi trans (Luger *et al.*, 1996). Tetapan kopling ini menunjukkan bahwa masing-masing proton terletak pada posisi orto, sehingga inti aromatik yang dimaksud mempunyai dua substituen pada posisi *para*. Dari hasil identifikasi tersebut diketahui bahwa isolat rimpang kencur dalam penelitian ini identik dengan struktur senyawa EPMS yang sesuai dengan pustaka (Ekowati, 2012).

Identifikasi Struktur Isolat Rimpang Kencur dengan Spektrofotometri UV

Identifikasi dengan metode spektrofotometri UV spektrum UV isolat rimpang kencur menunjukkan adanya dua puncak, yakni pada 284,5 nm dan 221,5 nm. Berdasarkan hal tersebut diketahui bahwa λ_{maks} isolat tersebut adalah 284,5 nm.

Optimasi Sintesis senyawa target menggunakan Metode Pemanasan Konvensional

Metode pemanasan konvensional pada optimasi sintesis senyawa target menunjukkan bahwa hingga reaksi berlangsung selama 6 jam noda EPMS masih terlihat, dan noda EPMS yang digunakan sebagai pembanding tidak lagi tampak (habis) pada sampel yang diambil saat reaksi telah berlangsung selama 6,5 jam. Dari hasil optimasi yang telah dilakukan, waktu reaksi adalah 6,5 jam pada suhu 78-80°C (titik didih etanol). Proses transfer energi ke dalam sistem ini terjadi perlahan dan kurang efisien, karena temperatur labu alas bulat atau wadah akan lebih tinggi dibandingkan dengan temperatur yang mencapai campuran reaksi. Akibatnya campuran reaksi yang letaknya lebih dekat dengan wadah akan mengalami pemanasan berlebih dan menyebabkan terjadinya dekomposisi produk atau pun reagen.

Optimasi Sintesis senyawa target menggunakan Metode Iradiasi Gelombang Mikro

Metode iradiasi gelombang mikro pada optimasi sintesis senyawa target menggunakan bahan awal 1,5 mmol EPMS dan 7,5 mmol hidrazin hidrat dengan daya 40, 80, dan 120 W. Pada setiap daya yang berbeda diambil sampel setiap sepuluh menit untuk mengetahui kesempurnaan hasil reaksi (waktu reaksi). Daya gelombang mikro yang dipilih yakni 120 W dan waktu reaksi terpilih adalah 25 menit. Sebagai hasilnya, campuran reaksi akan terdistribusi secara serentak dan merata. Panas ini berasal dari interaksi antara gelombang mikro dengan komponen-komponen dalam campuran

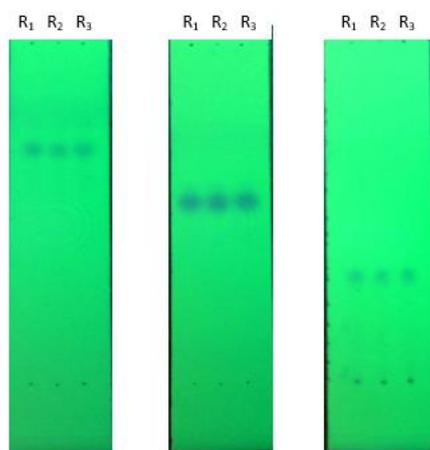
Tabel 5. Interpretasi Spektrum IR Senyawa Hasil Sintesis

Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	
	Pustaka*	Isolat
C-N (amida)	1550	1512
N-H (ulur)	3500-3100	3316
C=O (amida)	1680-1630	1674
C-H (aromatik, ulur)	3150-3050	3100
C-O (eter)	1300-1000	1246
C-H (alifatik, ulur)	3000-2850	2930
Cincin aromatik tersubstitusi <i>para</i>	850-800	824

reaksi. Dengan panas yang lebih efisien, diharapkan sintesis menggunakan metode ini membutuhkan waktu yang lebih singkat dengan persentase hasil reaksi lebih besar dibanding menggunakan metode pemanasan konvensional, karena tidak terjadi pemanasan berlebih/overheating yang menyebabkan degradasi produk atau pun reagen (Kappe *et al.*, 2009).

Pemisahan Komponen dalam Campuran Hasil Sintesis dengan Kromatografi Kolom

Uji KLT mengindikasikan lebih dari satu noda sehingga pemurnian dan pemisahan hasil reaksi dilakukan melalui kromatografi kolom dan menandakan keberadaan beberapa senyawa dalam hasil sintesis. Nilai Rf yang sama dalam fase gerak kromatografi kolom dikumpulkan untuk uji kemurnian dengan penentuan jarak lebur dan uji KLT. Pada kedua fraksi hasil sintesis uji KLT menggunakan metode pemanasan konvensional dan iradiasi gelombang mikro menunjukkan nilai Rf yang identik (0,66) dan berbeda dengan Rf EPMS bahan awal. Penentuan jarak lebur campuran fraksi menghasilkan rata-rata 71-74,5°C, mendekati jarak lebur fraksi tunggal metode iradiasi gelombang mikro (71,3-74°C). Perbedaan yang tidak signifikan memperkuat asumsi bahwa kedua fraksi tersebut sama. [Gambar 2](#) menunjukkan hasil uji kemurnian dengan KLT menggunakan tiga campuran eluen berbeda, mengindikasikan adanya satu noda pada setiap replikasi, menandakan kemurnian senyawa hasil



Gambar 2. Uji kemurnian senyawa hasil sintesis

Sistem Eluen:

R1= *n*-Heksana : Etil asetat : Metanol (1:3:2)

R2= Aseton : Kloroform (3:4)

R3= Etil asetat : Metanol (70:1)

sintesis. Dengan demikian, dapat ditarik kesimpulan bahwa senyawa yang dihasilkan dari sintesis adalah baru dan memiliki perbedaan dengan bahan awal.

Identifikasi Struktur Senyawa Hasil Sintesis

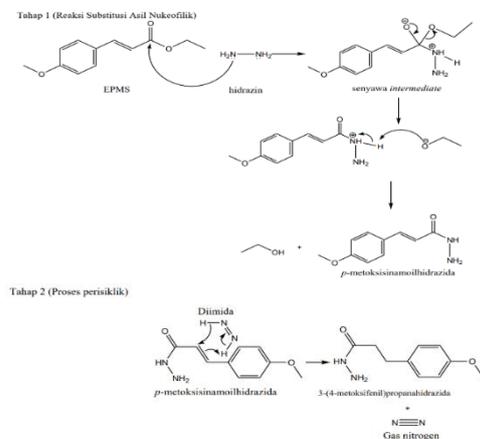
Selanjutnya, analisis dilakukan terhadap senyawa hasil sintesis menggunakan spektrofotometri IR, spektrofotometri UV, dan spektrometri ¹H-NMR. Hasil interpretasi spektrum IR senyawa hasil sintesis dibandingkan dengan spektrum IR EPMS, dan hasilnya tercantum pada [Tabel 5](#). Pembawa yang digunakan adalah pellet KBr. Senyawa target sintesis adalah *p*-metoksi sinamoil hidrazida dan pada spektrum IR senyawa hasil reaksi menunjukkan adanya gugus C-N (amida), N-H, C=O (amida), C-O, dan cincin aromatik tersubstitusi *para*. Semua gugus fungsi hadir pada senyawa *p*-metoksi sinamoil hidrazida, namun gugus -C=C- alkena tidak terlihat pada spektrum IR dari senyawa hasil sintesis. Oleh karena itu diduga bahwa struktur senyawa hasil sintesis bukanlah struktur senyawa target, melainkan identik dengan struktur senyawa target yang kehilangan ikatan rangkap (C=C) nya.

Hasil analisis menggunakan spektrofotometri UV menunjukkan bahwa adanya pergeseran ke arah hipsokromik (panjang gelombang yang lebih pendek), yang disebabkan berkurangnya gugus kromofor berupa ikatan rangkap (-C=C-). Namun, proton gugus N-H (amida) dan -NH₂ tidak muncul pada spektrum tersebut. Menurut Field *et al.* (2008), fenomena ini disebabkan oleh sifat labil dari proton, di mana pergeseran kimianya sangat dipengaruhi oleh pelarut, konsentrasi, dan suhu, selain itu sifat labil dari proton tidak menunjukkan ciri khas berupa rentang pergeseran kimia.

Dari hasil analisis dengan spektrofotometri IR yang menunjukkan ketiadaan gugus -C=C- alkena pada senyawa hasil sintesis, serta pergeseran yang sesuai untuk proton-proton pada -CH₂-CH₂-. Menurut Silverstein *et al.* (2005), pada uji dengan menggunakan spectrometer NMR, struktur -C=C- dengan konfigurasi *trans* seperti EPMS serta senyawa target memiliki tetapan kopling 12-17 Hz, namun pada [Tabel 6](#) diketahui spektrum senyawa hasil sintesis tidak ada puncak dengan tetapan kopling tersebut. Dengan demikian, disimpulkan bahwa senyawa yang dihasilkan bukanlah senyawa target, *p*-metoksisinamoilhidrazida, melainkan 3-(4-metoksifenil)propanahidrazida.

Hal tersebut dimungkinkan dapat terjadi karena adanya pembentukan diimida. Menurut Roberts & Caserio (1997) hidrazin dapat mengalami dehidrogenasi menjadi diimida (HN=NH). Diimida dapat digunakan untuk hidrogenasi ikatan rangkap, namun pada temperatur normal (suhu ruang), diimida hanya dapat dijumpai sebagai senyawa antara yang tidak dapat diisolasi. Sehingga salah satu cara yang paling sederhana untuk menghasilkan diimida adalah dengan mendehidrogenasi hidrazin menggunakan oksidator (misalnya H₂O₂ atau O₂). Ada dua kemungkinan mekanisme reaksi pembentukan senyawa 3-(4-metoksifenil)propanahidrazida yang merupakan senyawa hasil sintesis ini. Kemungkinan pertama adalah reaksi antara EPMS dan hidrazin hidrat menghasilkan *p*-metoksisinamoilhidrazida yang kemudian ikatan rangkap (C=C alifatik) pada senyawa ini mengalami reduksi karena adanya hidrazin hidrat, sehingga hasil sintesisnya berupa senyawa 3-(4-

metoksifenil)propanahidrazida. Kemungkinan kedua, sebelum bereaksi dengan hidrazin hidrat, ikatan rangkap (C=C alifatik) pada EPMS telah lebih dulu mengalami reduksi menjadi senyawa Etil 3-(4-metoksifenil)propanoat, barulah kemudian bereaksi dengan hidrazin hidrat dan menghasilkan senyawa 3-(4-metoksifenil)propanahidrazida. Mekanisme reaksi pembentukan senyawa hasil sintesis tersebut dapat dilihat pada [Gambar 3](#).



Gambar 3. Mekanisme reaksi pembentukan senyawa hasil sintesis

Tabel 6. Interpretasi Spektrum ¹H-NMR Senyawa Hasil Sintesis

Geseran Kimia (ppm)	Multiplisitas	Tetapan Kopling (Hz)	Jumlah Proton
2,35	Triplet	7,9	2
2,84	Triplet	7,9	2
3,70	Singlet	-	3
6,75	Doblet	8,4	2
7,03	Doblet	8,4	2

Tabel 7. Persentase Senyawa Hasil Sintesis menggunakan Metode Pemanasan Konvensional

Bahan Awal		Senyawa Hasil Sintesis	
EPMS (g)	Hidrazin hidrat (ml)	Massa (g)	(%)
0,3100	0,36	0,0022	0,76

Tabel 8. Persentase Senyawa Hasil Sintesis menggunakan Metode Iradiasi Gelombang Mikro

Bahan Awal		Senyawa Hasil Sintesis	
EPMS (g)	Hidrazin hidrat (ml)	Massa (g)	(%)
0,3100	0,36	0,0230	7,90

Persentase Hasil Sintesis

Berdasarkan persentase hasil sintesis pada [Tabel 7](#) dan [Tabel 8](#), dapat disimpulkan bahwa baik menggunakan metode pemanasan konvensional (refluks 78-80°C, 6,5 jam) maupun iradiasi gelombang mikro (120 W, 25 menit), reaksi antara EPMS dengan hidrazin hidrat (5 ekuivalen) tidak menghasilkan senyawa target yang diinginkan, melainkan senyawa 3-(4-metoksifenil)propanahidrazida. Metode pemanasan konvensional memberikan senyawa hasil sintesis sebesar 0,76%, sedangkan metode iradiasi gelombang mikro sebesar 7,90%. Sintesis menggunakan metode iradiasi gelombang mikro juga membutuhkan waktu reaksi yang

lebih singkat (25 menit) jika dibandingkan dengan sintesis menggunakan metode pemanasan konvensional, yang memerlukan waktu reaksi 6,5 jam. Oleh karena itu, sesuai dengan hipotesis bahwa dalam sintesis senyawa organik, khususnya senyawa 3-(4-metoksifenil)propanahidrazida penggunaan metode iradiasi gelombang mikro lebih efisien dibandingkan dengan pemanasan konvensional.

KESIMPULAN

Senyawa p-metoksisinamoilhidrazida tidak dapat dihasilkan dari reaksi antara EPMS dan hidrazin hidrat menggunakan metode konvensional dan iradiasi gelombang mikro. Sintesis menggunakan metode iradiasi gelombang mikro dengan bahan awal EPMS dan hidrazin hidrat memerlukan waktu lebih singkat dan menghasilkan persentase senyawa hasil sintesis (3-(4-metoksifenil)propanahidrazida) yang lebih besar dibandingkan dengan sintesis menggunakan metode pemanasan konvensional.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian (2007) 'Varietas unggul kencur', *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, 29(2), pp. 1-3.
- Belwal, S. (2013) 'Green revolution in chemistry by microwave assisted synthesis: A review', *Modern Chemistry*, I, pp. 22-25.
- Burke, S.D. and Danheiser, R.L. (1999) '*Oxidizing and Reducing Agents*' Chincester: John Wiley & Sons Ltd., pp. 5, 170-173.
- Deinstrop, E.H. (2007) '*Applied Thin-Layer Chromatography*' Eckental: Wiley-VCH, p. 2.
- Departemen Kesehatan RI (2000) *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, pp. 10-12.
- Departemen Kesehatan RI (2008) *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, pp. 54-56.
- Carvalho, S.A. et al. (2012) 'Design and synthesis of new (E)-cinnamic N-acylhydrazones as potent antitrypanosomal agents', *European Journal of Medicinal Chemistry*, 54, pp. 512-521.
- Clayden, J., Greeves, N., Warren, S. and Wothers, P. (2001) *Organic Chemistry*. Oxford: Oxford University Press, pp. 135-136.
- Ekowati, J. (2012) 'Sintesis turunan p-metoksisinamoilhidrazida dari etil p-metoksisinamat isolat Kaempferia galanga dalam usaha meningkatkan aktivitas kemopreventif kanker melalui hambatan cyclooxygenase-2'. Disertasi. Program Studi MIPA Universitas Airlangga, Surabaya, pp. 74-78.

- Ekowati, J. and Diyah, N.W. (2013) 'Aktivitas antinosiseptif dan uji in silico terhadap cyclooxygenase dari asam p-metoksisinamat dan asam m-metoksisinamat', *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 2(1), pp. 32-39.
- Ekowati, J., Rudyanto, M., Sasaki, S., Budiati, T., Sukardiman, Hermawan, A., & Meiyanto, E.. (2010) 'Structure modification of ethyl p-methoxycinnamate isolated from *Kaempferia galanga* L. and citotoxicity assay of the Products on WiDr cells', *Indonesian Journal of Cancer Chemopreventive*, 1(1), pp. 12-18.
- Ekowati, J. (2012) 'Structure modification of ethyl p-methoxycinnamate and their bioassay as chemopreventive agent against mice's fibrosarcoma', *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(Suppl 3), pp. 528-532.
- Fessenden, R.J. and Fessenden, J.S. (1997) *Kimia Organik*, Edisi Ketiga, jilid satu. Diterjemahkan oleh A. Handyana Pudjatmaja. Jakarta: Erlangga, pp. 175-176.
- Fried, B. and Sherma, J. (1999) *Thin-Layer Chromatography*. 4th edn. New York: Marckel Dekker, Inc., pp. 9-25, 93.
- Furniss, B.S., Hannaford, A.J., Smith, P.W.G. and Tatchell, A.R. (1989) *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*. London: Longman Scientific & Technical, p. 236.
- Kappe, C.O., Dallinger, D. and Murphee, S.S. (2009) *Practical Microwave Synthesis for Organic Chemists*. Weinheim: Wiley-VCH, pp. 1-2, 11-20.
- Katzung, B.G., Trevor, A.J. and Masters, S.B. (2009) *Basic and Clinical Pharmacology*. 11th edn. New York: McGraw-Hill Medical Publishing Division, pp. 1218-1220.
- Kemp, W. (1986) *NMR in Chemistry: A Multinuclear Introduction*. London: MacMillan Education, Ltd., p. 75.
- LeFevre, J.W. (1997) 'Measuring the melting points of the compounds and mixtures', *Chemical Education Resources*, 7, pp. 1-12.
- Luger, P., Weber, M., Dung, N.X. and Tuyet, N.T.B. (1996) 'Ethyl p-methoxycinnamate from *Kaempferia galanga* L. in Vietnam', *Acta Crystallographica Section C*, 52, pp. 1255-1257.
- Menges, N. and Balci, M. (2014) 'Catalyst-Free Hydrogenation of Alkenes and Alkynes with Hydrazine in the Presence of Oxygen', *Synlett*, 25(5), pp. 671-676.
- Merck Research Laboratories (2006) *The Merck Index*. 14th edn. Merck Research Laboratories, p. 369, 670, 1065.
- Michaux, C. (2006) 'Structure-based pharmacophore of COX-2 selective inhibitors and identification of original lead compounds from 3D database searching method', *European Journal of Medicinal Chemistry*, 41, pp. 1446-1455.
- Mulja, M. and Suharman (1995) *Analisis Instrumental*. Surabaya: Airlangga University Press, pp. 26-28.
- Nurani, L., Asahi, A. and Susanti, H. (2020) 'Determination of epms content and anti-inflammatory test rhizome extract *Kaempferia galanga*, L by inhibition of protein denaturation method', *Pharmaciana*, 10(3), pp. 381-390.
- Patrick, G.L. (1995) *An Introduction to Medicinal Chemistry*. New York: Oxford University Press Inc., pp. 82-110.
- Pavia, D.L., Lampman, G.M., Kriz, G.S. and Engel, R.G. (2002) *Microscale and Macroscale Techniques in the Organic Laboratory*. 1st edn. Belmont: Brooks/Cole, pp. 116-120, 289-290.
- Pavia, D.L., Lampman, G.M., Kriz, G.S. and Vyvyan, J.R. (2009) *Introduction to Spectroscopy*. 4th edn. Belmont: Brooks/Cole, pp. 26-54, 70-72, 388-389.
- Ricciotti, E. and FitzGerald, G.A. (2011) 'Prostaglandins and Inflammation', *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 31(5), pp. 986-1000.
- Robert, J.D. and Caserio, M.C. (1977) *Basic Principle of Organic Chemistry*. 2nd edn. Menlo Park, CA: W.A. Benjamin, Inc., pp. 418-419.
- Rouessac, F. and Rouessac, A. (2007) *Chemical Analysis: Modern Instrumentation Methods and Techniques*. 2nd edn. London: John Wiley & Sons, Ltd., pp. 117-122.
- Schoffstall, A.M., Gaddis, B.A. and Druelinger, M.L. (2000) *Microscale and Miniscale Organic Chemistry Laboratory Experiments*. The McGraw-Hill Companies, Inc., pp. 37-45.
- Silverstein, R.M., Webster, F.X. and Kiemle, D.J. (2005) *Spectroscopy Identification of Organic Compounds*. 7th edn. New York: John Wiley & Sons, Inc., pp. 79-81, 198-200.
- Sirisangtragul, W. and Sripaidkulchai, B. (2011) 'Effects of *Kaempferia galanga* L. and ethyl-p-methoxycinnamate (EPMC) on hepatic microsomal cytochrome P450s enzyme activities in mice', *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 33(4), pp. 411-417.

- Sriarumtias, F.F., Syamsudin, R.A.M.R. and Abdillah, F.F. (2022) 'Formulasi dan Karakterisasi Mikroemulgel Etil p-Metoksisinamat (EPMS) dari Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* Linn)', *Jurnal Kefarmasian Akfarindo*, pp. 8-14.
- Stabile, R.G. and Dicks, A.P. (2004) 'Two-Step Semi-Microscale Preparation of Cinnamate Ester Sunscreen Analog', *Journal of Chemical Education*, 81(10), p. 1488.
- Tewtrakul, S. (2005) 'Chemical components and biological activities of volatile oil of *Kaempferia galanga*