

Ritmaleni, Bondhan Mintariyanti*

Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, Jogjakarta 55281

Email: ritmaleni@gmail.com

Abstrak

Tetrahidropentagamavunon-0 atau THPGV-0 adalah senyawa baru yang disintesis dari hidrogenasi PGV-0. Hasil sintesis THPGV-0 sebelumnya menghasilkan rendemen yang belum optimal yaitu hanya sebesar 25 %. Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan pelarut yang memberikan rendemen lebih tinggi dalam sintesis THPGV-0. Dalam penelitian ini digunakan berbagai jenis pelarut yaitu pelarut polar protik seperti metanol, etanol, dan isopropanol. Hasil sintesis senyawa THPGV-0 dengan pelarut metanol menghasilkan rendemen 44 % kemudian pelarut etanol 30 %, dan pelarut isopropanol 23 %. Semakin polar pelarut protik yang digunakan dalam reaksi, semakin banyak rendemen THPGV-0 yang diperoleh.

Key words: Tetrahidropentagamavunon-0, polar protik, hidrogenasi

PENDAHULUAN

Perkembangan berbagai jenis penyakit yang diderita manusia mendorong dilakukannya pencarian obat-obat baru, tradisional maupun sintetik yang memiliki potensi besar dalam pengobatan di masa mendatang. Saat ini, pencarian obat-obat baru berlangsung di seluruh dunia termasuk negara berkembang seperti Indonesia. Kurkumin merupakan salah satu senyawa alami yang berasal dari tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) sudah lama digunakan sebagai obat tradisional di Indonesia dan memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan menjadi obat baru.

Majeed dkk. (1995) melaporkan bahwa kurkumin mempunyai aktivitas biologis dengan spektra yang luas antara lain sebagai antioksidan, antiinflamasi, antibakteri dan antikanker. Disamping isolasi langsung dari bahan alam, kurkumin juga dapat diperoleh melalui sintesis. Telah dilakukan pula modifikasi struktur terhadap kurkumin untuk mendapatkan senyawa yang lebih poten, stabil, aman, efektif, dan memiliki aktivitas yang lebih spesifik (Robinson dkk., 2003).

Pentagamavunon-0 (PGV-0) merupakan salah satu senyawa analog dari kurkumin. Sardjiman (2000) telah berhasil mensintesis senyawa ini dan menguji aktivitasnya salah satunya sebagai antibakteri. Dengan adanya ikatan rangkap dua pada struktur PGV-0 seperti pada struktur kurkumin, maka senyawa ini juga dapat diturunkan menjadi senyawa baru yaitu Tetrahidropentagamavunon-0 (penggunaan istilah selanjutnya hanya ditulis sebagai THPGV-0 saja dalam dokumen ini). Sebagai turunan dari PGV-0, diharapkan senyawa ini memiliki aktivitas yang lebih baik dari PGV-0 dan THC.

Ritmaleni (2007) berhasil mensintesis THPGV-0 melalui reaksi reduksi PGV-0 dalam pelarut metanol tetapi rendemen yang dihasilkan masih belum optimal yaitu hanya sebesar 25 %. Untuk memperoleh hasil yang lebih optimal perlu dicari metode sintesis yang

terbaik, salah satunya dengan melakukan optimasi kondisi reaksi dengan melakukan variasi pelarut untuk memperoleh rendemen yang terbanyak. Pelarut yang digunakan yaitu pelarut polar protik seperti metanol, etanol, dan isopropanol. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pelarut yang memberikan rendemen lebih tinggi dalam sintesis THPGV-0.

CARA PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

1. Alat

Labu alas bulat 25 mL, pipet tetes, pengaduk magnetik, *hot plate*, cawan porselin, *beker glass*, gas hidrogen, regulator gas, selang, *TLC chamber*, erlenmeyer, flakon, spuit injeksi, balon, karet, parafilm, kolom, tabung reaksi, pompa udara, pipa kapiler, lampu UV, *rotavapor*, Spektrofotometer IR (Perkin Elmer FTIR 100).

2. Bahan

PGV-0, paladium/karbon (Pd/C 10%), gas hidrogen, kloroform, etil asetat, metanol, etanol, isopropanol, lempeng KLT silika gel F254, KMnO₄ *stained*, aseton teknis, kertas saring *Whatman*, akuades, silika gel 60 (0,040-0,063 mm) Merck, *sea sand*.

B. Jalannya Penelitian

Disiapkan tiga buah flakon yang akan digunakan untuk reaksi dengan tiga macam pelarut. Masing-masing flakon dimasukkan senyawa PGV-0 sebanyak 250 mg (0,710 mmol). Pelarut metanol sebanyak 3 mL ditambahkan pada flakon pertama, etanol ditambahkan pada flakon kedua, dan isopropanol ditambahkan pada flakon ketiga dengan volume yang sama. Katalis Pd/C 10% sebanyak 75,6 mg (0,071 mmol) dimasukkan ke dalam masing-masing flakon kemudian dimasukkan *magnetic stirrer* pada tiap flakon. Setelah semua dimasukkan, flakon ditutup dengan tutup karet dan parafil, kemudian dialiri gas hidrogen dari balon yang berisi gas

hidrogen. Rangkaian alat tersebut ditempatkan di atas *hot plate* yang diatur pada kecepatan pengadukan yang sama tanpa disertai pemanasan atau reaksi dilakukan pada suhu kamar. Waktu reaksi dimulai pada saat injeksi ditusukkan ke dalam flakon dan *hot plate* dinyalakan selama dua jam. Setelah dua jam, reaksi dihentikan dengan mematikan *hot plate* dan melepas jarum injeksi dari flakon. Hasil reaksi yang terjadi selanjutnya dianalisis dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dan pemurnian hasil reaksi.

1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Larutan hasil reaksi dari ketiga macam pelarut diambil menggunakan pipa kapiler kemudian ditotolkan pada lempeng silika gel F254. Hasil totalan dibiarkan mengering kemudian dielusi menggunakan fase gerak kloroform-etil asetat dengan perbandingan 5:1 v/v dalam bejana yang sudah jenuh dengan uap fase gerak. Hasil elusi diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan divisualisasi dengan pereaksi warna KMnO_4 .

Hasil reaksi yang sudah dianalisis dengan KLT disaring menggunakan kertas *Whatman* untuk memisahkan antara senyawa hasil reaksi dengan katalis yang digunakan. Hasil penyaringan berupa larutan yang selanjutnya diuapkan pelarutnya sampai kering menggunakan *rotavapor*.

2. Pemurnian Hasil Sintesis (Kromatografi Kolom)

Hasil sintesis berupa campuran senyawa yang sudah kering kemudian dilarutkan dalam sesedikit mungkin fase gerak kloroform-etil asetat (5:1 v/v) sampai larut sempurna. Kolom disiapkan dengan memasukkan silika gel 60 dalam fase gerak kloroform-etil asetat (5:1 v/v) ke dalam kolom sepanjang 20 cm dengan diameter 2 cm. Larutan hasil sintesis dimasukkan dalam kolom melalui bagian atas kolom. Campuran senyawa dielusi dengan fase gerak kloroform-etil asetat (5:1 v/v) dan dibantu dengan pompa udara. Fraksi yang keluar dari kolom ditampung dalam tabung reaksi dan dideteksi menggunakan KLT. Fraksi yang sama dikumpulkan dan diuapkan pelarutnya menggunakan *rotavapor*. Hasil penguapan yang berupa senyawa kering kemudian ditimbang beratnya.

3. Rekristalisasi

Rekristalisasi dilakukan dengan sistem dua pelarut yaitu etanol-akuades. Senyawa THPGV-0 hasil sintesis yang sudah

dipisahkan dengan kromatografi kolom dilarutkan dengan etanol panas sampai tepat larut. Partikel yang tidak larut dipisahkan dengan cara disaring. Filtrat ditambah akuades sedikit demi sedikit sampai terbentuk larutan yang keruh berwarna putih. Larutan didiamkan pada suhu kamar sampai terbentuk kristal kemudian disimpan di almari pendingin untuk menyempurnakan pembentukan kristal. Kristal yang terbentuk disaring menggunakan kertas *Whatman* dan corong Buchner. Kristal dicuci dengan akuades dingin dan dikeringkan di dalam oven pada suhu 40 °C selama 24 jam. Setelah kering, kristal dimasukkan dalam wadah bertutup rapat dan disimpan dalam almari pendingin.

4. Uji Kemurnian

a. Kromatografi Lapis Tipis

Senyawa THPGV-0 hasil rekristalisasi yang sudah kering diuji kemurniannya menggunakan KLT dengan tiga macam fase gerak yaitu kloroform-etil asetat (7:1v/v), kloroform-THF (5:1 v/v), dan kloroform-metanol (9:1 v/v). Fase diam yang digunakan adalah lempeng silika gel F254. Bercak hasil elusi dideteksi menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan pereaksi warna KMnO_4 .

b. Pemeriksaan Jarak Lebur

Pemeriksaan jarak lebur dilakukan menggunakan alat Buchi Melting Point B-540. Senyawa hasil rekristalisasi dimasukkan ke dalam pipa kapiler kemudian ditempatkan pada alat Buchi Melting Point B-540. Alat diatur dengan suhu awal 90 °C dan suhu akhir 150 °C dengan gradien temperatur 3 °C. Diamati rentang suhu pada saat kristal senyawa mulai melebur sampai semua kristal melebur sempurna.

5. Elusidasi Struktur

Elusidasi struktur dilakukan dengan analisis spektra *infrared* (IR) dari kristal yang didapat. Senyawa hasil rekristalisasi berupa kristal digerus dengan KBr pellet kemudian dikempa dan dibaca serapannya dengan alat Spektrofotometer IR (Perkin Elmer FTIR 100).

C. Analisis Hasil

1. Perhitungan Rendemen THPGV-0

Besarnya rendemen dihitung dengan rumus :

$$\text{Rendemen THPGV} - 0 = \frac{\text{Berat senyawa THPGV} - 0 \text{ yang diperoleh}}{\text{Berat senyawa THPGV} - 0 \text{ teoritis}} \times 100 \%$$

a. Pemeriksaan Jarak Lebur

Jarak lebur dicatat sebagai suhu ketika kristal di dalam pipa kapiler mulai mencair hingga semua kristal mencair sempurna.

b. Kromatografi Lapis Tipis

Kemurnian suatu senyawa dilihat dari banyaknya bercak yang dihasilkan dari elusi senyawa tersebut dengan fase gerak yang sesuai. Harga R_f dari bercak yang dihasilkan dihitung dengan rumus :

$$R_f = \frac{\text{Jarak tempuh bercak dari titik awal}}{\text{Jarak tempuh fase gerak dari titik awal}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pentagamavunon-0 atau 2,5-bis(4'-hidroksi-3'-metoksi benzilidin)siklopentanon merupakan senyawa keton tak jenuh. Suatu senyawa keton tidak jenuh dapat menjalani reaksi hidrogenasi katalitik menjadi senyawa keton jenuh. Sintesis THPGV-0 yang dilakukan secara hidrogenasi katalitik PGV-0 mengikuti metode reduksi senyawa keton tak jenuh menghasilkan senyawa keton jenuh.

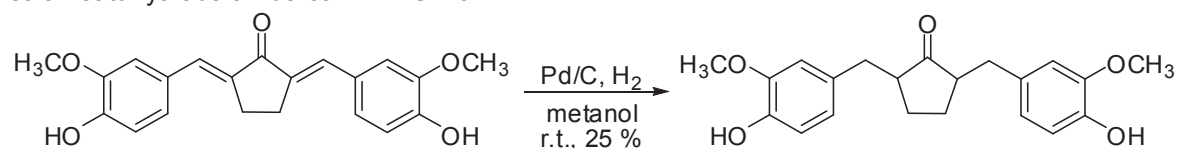
Pelarut yang digunakan dalam reaksi hidrogenasi PGV-0 adalah pelarut metanol, etanol, dan isopropanol. Ketiga pelarut ini termasuk pelarut golongan alkohol dan merupakan pelarut polar protik. Pelarut polar protik menurut Isaac (1998) adalah pelarut yang mempunyai proton yang mudah lepas, mempunyai momen dipol yang besar dan kemampuan untuk membentuk ikatan hidrogen. Pelarut polar protik banyak digunakan dalam reaksi kimia organik termasuk reaksi hidrogenasi.

Reaksi hidrogenasi PGV-0 dengan katalis Pd/C dalam pelarut metanol, etanol, dan isopropanol dalam penelitian ini menggunakan metode sintesis yang sama dengan metode yang sudah dilakukan oleh Ritmaleni (2007) dengan harapan produk hidrogenasi yang dihasilkan sama, dengan demikian akan lebih mudah menentukan optimalisasi pelarut. Reaksi dilakukan selama kurang lebih dua jam dan menghasilkan empat senyawa dalam produk hidrogenasinya. Keempat senyawa tersebut dilihat dari pola bercak pada Kromatografi Lapis Tipis. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Ritmaleni (2007), dari keempat bercak produk hasil hidrogenasi salah satunya adalah bercak THPGV-0.

Deteksi senyawa hasil hidrogenasi dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase diam silika gel 60 F₂₅₄ dan fase gerak kloroform-etil asetat (5:1). Mekanisme yang terjadi pada KLT adalah terjadinya pemisahan keempat senyawa hasil hidrogenasi PGV-0 karena perbedaan interaksi antara senyawa dengan fase diam dan fase gerak. Perbedaan struktur kimia senyawa menyebabkan perbedaan interaksi dengan fase diam dan fase gerak. Mekanisme interaksi antara senyawa dengan fase diam dan fase gerak dapat berupa mekanisme adsorpsi dan partisi. Kekuatan interaksi adsorpsi senyawa pada fase diam mempengaruhi kecepatan pergerakan senyawa. Interaksi partisi juga mempengaruhi kecenderungan senyawa untuk mengikuti pergerakan fase gerak atau tertahan dalam fase diam. Karena perbedaan kekuatan interaksi adsorpsi dan partisi antara senyawa tersebut maka senyawa dapat terpisah.

Bercak senyawa hasil hidrogenasi pada lempeng KLT divisualisasi dengan sinar UV 254 karena pada sinar tampak tidak terlihat bercaknya. Di bawah sinar UV 254 terjadi peristiwa pemadaman yaitu bercak senyawa menutupi lempeng KLT dan terlihat sebagai bercak gelap sedangkan bagian yang tidak tertutupi senyawa berpendar. Penampakan bercak hasil reaksi pada KLT juga dilakukan menggunakan pereaksi warna KMnO₄. KMnO₄ merupakan senyawa oksidator yang kuat dan dapat digunakan sebagai penampak bercak pada KLT. KMnO₄ dapat mengoksidasi senyawa dengan gugus alkohol, ikatan rangkap, metilen, fenol menghasilkan warna kuning dengan latar belakang merah muda-ungu pada KLT.

Nilai R_f dari masing-masing bercak dirangkum dalam tabel I. Senyawa THPGV-0 yang telah diidentifikasi pada penelitian Ritmaleni (2007) mempunyai R_f 0,63. Berdasarkan tabel di atas, produk hidrogenasi katalitik PGV-0 adalah sama untuk masing-masing pelarut yang digunakan. Ketiga pelarut menghasilkan THPGV-0 yaitu bercak ke 2. PGV-0 dengan nilai R_f 0,56 digunakan sebagai pembanding untuk menunjukkan bahwa di dalam campuran hasil reaksi sudah tidak mengandung PGV-0.



Gambar 1. Reaksi hidrogenasi PGV-0 (Ritmaleni, 2007)

Tabel I. Data nilai Rf bercak hasil reaksi dari masing-masing pelarut

Pelarut	Nilai Rf			
	Bercak 1	Bercak 2	Bercak 3	Bercak 4
Metanol	0,76	0,66	0,42	0,34
Etanol	0,76	0,66	0,44	0,36
Isopropanol	0,76	0,66	0,46	0,36

1. Kromatografi Kolom

Berdasarkan analisis dengan KLT, hasil reaksi hidrogenasi PGV-0 dalam penelitian ini menghasilkan empat senyawa sebagai produknya. Kromatografi kolom dilakukan untuk memisahkan senyawa dari campuran hasil reaksi untuk mendapatkan senyawa target (THPGV-0) yang murni.

Untuk memisahkan senyawa hasil reaksi, digunakan kolom dengan panjang kolom 30 cm dengan diameter 2,5 cm. Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 (0,040-0,063 mm) Merck. Fase diam yang digunakan berdiameter kurang dari 0,063 mm sehingga fase gerak akan lama turun dari kolom sehingga perlu ditekan atau dihisap. Fase gerak yang digunakan adalah kloroform-etil asetat (5:1) sesuai dengan fase gerak yang digunakan dalam kromatografi lapis tipis. Penggunaan fase diam dan fase gerak pada kromatografi kolom yang sama dengan sistem pada KLT adalah untuk menghasilkan pola pemisahan yang sama dengan pola pemisahan pada KLT. Selain itu, untuk mendeteksi fraksi yang keluar dari kolom juga digunakan KLT dengan demikian dapat diketahui fraksi yang mengandung senyawa THPGV-0 dan fraksi yang mengandung senyawa lain. Fraksi yang mengandung senyawa THPGV-0 selanjutnya dikumpulkan dan diuapkan pelarutnya dengan Rotary Vacuum Evaporator sehingga diperoleh senyawa kering THPGV-0.

2. Rekristalisasi

Rekristalisasi dilakukan untuk memperoleh senyawa THPGV-0 yang murni dengan bentuk kristal yang baik. Senyawa THPGV-0 hasil kromatografi kolom kemungkinan masih mengandung sejumlah kecil/tapak-tapak pengotor sehingga untuk menghilangkannya dilakukan rekristalisasi. Prinsip dari rekristalisasi adalah pembentukan kembali kristal senyawa dari larutan sehingga dapat dipisahkan dari pengotor yang masih tertinggal dalam larutan yang tidak ikut mengkristal. Rekristalisasi dengan sistem dua pelarut dilakukan untuk mengefektifkan proses pembentukan kristal. Hasil rekristalisasi senyawa THPGV-0 menghasilkan kristal berwarna putih.

3. Perhitungan Rendemen THPGV-0

Senyawa THPGV-0 murni yang diperoleh dari hasil kromatografi kolom ditimbang beratnya dan dinyatakan sebagai berat THPGV-0 terhadap berat total produk hasil sintesis. Dari hasil penelitian diperoleh data rendemen THPGV-0 (Tabel 2).

Tabel II. Data rendemen THPGV-0 dari masing-masing pelarut

Pelarut	Konstanta Dielektrik (Erowid, 2009)	Rendemen THPGV-0 (%)
Metanol	32,6	44
Etanol	24,6	30
Isopropanol	18,3	23

Pada pelarut polar protik, semakin polar pelarut yang digunakan maka senyawa THPGV-0 yang dihasilkan semakin besar. Tingkat kepolaran pelarut merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi aktifitas dan selektifitas katalis. Dalam penelitian ini, pelarut protik yang lebih polar menyebabkan katalis yang digunakan menjadi lebih aktif dan selektif dalam mereduksi ikatan rangkap dua pada PGV-0. Katalis ini bisa tidak selektif yaitu mereduksi bagian lain dalam struktur PGV-0 sehingga menghasilkan produk samping selain THPGV-0 misalnya terjadi reduksi pada gugus karbonil keton yang menghasilkan senyawa alkohol sekunder. Semakin tinggi selektifitas katalis dalam mereduksi PGV-0, maka produk THPGV-0 yang dihasilkan akan lebih besar dan rendemen yang dihasilkan juga lebih besar.

4. Uji Kemurnian

a. Kromatografi Lapis Tipis

Senyawa hasil rekristalisasi diuji dengan KLT untuk mengetahui tingkat kemurniannya. Tingkat kemurnian senyawa dapat mempengaruhi hasil pada analisis senyawa tersebut seperti pada pemeriksaan jarak lebur dan elusidasi struktur. Sistem pada KLT yang digunakan adalah sama seperti sistem KLT dalam mendeteksi senyawa hasil reaksi yaitu dengan fase diam silika gel 60 F_{254} dan fase gerak kloroform-etil asetat (5:1). Kemurnian suatu senyawa dilihat dari banyaknya bercak yang dihasilkan dari elusi senyawa tersebut.

Hasil yang didapat dalam penelitian ini adalah diperoleh satu bercak dengan nilai R_f

0,66 dari analisis dengan KLT. Dapat dikatakan bahwa senyawa THPGV-0 hasil rekristalisasi sudah cukup murni.

b. Pemeriksaan Jarak Lebur

Jarak lebur suatu senyawa padat merupakan kisaran temperatur dimana senyawa padatan tersebut mulai berubah menjadi cairan di bawah tekanan satu atmosfer. Jarak lebur dapat digunakan untuk identifikasi dan parameter kemurnian suatu senyawa.

Data jarak lebur senyawa THPGV-0 dalam penelitian ini menunjukkan rentang jarak lebur maksimal yang dapat diamati adalah 2 °C, sehingga dapat disimpulkan senyawa THPGV-0 sudah cukup murni. Pada pelarut etanol, bentuk kristalnya berbeda dengan pelarut yang lain. Perbedaan ini disebabkan karena proses pembentukan kristal pada saat rekristalisasi berbeda dari pelarut yang lain. Pembentukan kristal pada pelarut etanol berlangsung cukup lama dan kristal yang terbentuk berupa kristal seperti jarum. Pada kedua pelarut yang lain kristal yang diperoleh berbentuk seperti serbuk halus. Perbedaan bentuk kristal ini mempengaruhi nilai jarak lebunya.

Tabel III. Data jarak lebur senyawa THPGV-0

Pelarut	Jarak Lebur
Metanol	123-125 °C
Etanol	118 °C
Isopropanol	123-125 °C

5. Elusidasi Struktur

Elusidasi struktur dalam penelitian ini dilakukan dengan Spektrofotometer *Infra Red* (IR). Dari hasil spektrum inframerah THPGV-0 menunjukkan adanya serapan pada 3400,2 cm^{-1} (O-H ulur fenolik); 2929,4 cm^{-1} (C-H ulur aromatik); 2853,2 cm^{-1} (C-H ulur alifatik); 1732,2 cm^{-1} (C=O ulur, siklopentanon); 1610,5 dan 1516,9 cm^{-1} (C=C ulur, aromatik); 1237,3 cm^{-1} (C-O alkohol dan eter).

Secara keseluruhan berdasarkan analisis dan interpretasi hasil uji jarak lebur, kromatografi lapis tipis, spektrum inframerah, dan dibandingkan juga dengan hasil penelitian Ritmaleni (2007) dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil sintesis mempunyai struktur kimia sesuai dengan yang diperkirakan.

KESIMPULAN

Pelarut protik yang lebih polar menghasilkan rendemen THPGV-0 yang lebih banyak dibandingkan dengan pelarut protik yang kurang polar dengan nilai rendemen dari pelarut metanol, etanol, dan isopropanol berturut-turut adalah 44 %, 30 %, dan 23 %.

UCAPAN TERIMAKASIH

Hibah Utama Fakultas Farmasi UGM, 2009

Daftar Pustaka

- Erowid, 2009, Common Organic Solvents: Table of Properties, http://organicdivision.org/organic_solvents.html, 22 Juli 2009
- Isaac, N.S., 1998, *Physical Organic Chemistry*, 2nd ed., 193-207, 369-370, Longman group, United Kingdom.
- Majeed, M., Badmaev, V., Shivakumar, U., & Rajendran, R., 1995, *Curcuminoids: Antioxidant Phytonutrients*, 1-78, Nutri-Science Publishers, Inc., Piscataway, New Jersey.
- Ritmaleni, 2007, Sintesis Tetrahidropentagamavunon-0, *Laporan Penelitian*, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Robinson, T.P., Ehlers, T., Hubbard, I.R., Bai, X., Arbiser, J.L., Goldsmith, D.J., & Bowen, J.P., 2003, Design, Synthesis and Biological Evaluation of Angio-genesis Inhibitor: Aromatic Enon and Dienon Analogues of Curcumin, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **13**, 115-117.
- Sardjiman, 2000, Synthesis of Some New Series of Curcumin Analogues, Antioxidative, Antiinflammatory, Antibacterial Activities, and Qualitative Structure Activity Relationship, *Diser-tasi*, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

TANYA JAWAB

Penanya : FS. Nugraheni S

Pertanyaan :

- 1). Bagaimana proses kristalisasinya?
- 2). Apa keuntungan dan kerugian dengan menggunakan berbagai pelarut polar protik?

Jawaban :

- 1). Kristalisasi dilakukan dengan sistem 2 pelarut yaitu etanol-akuades. Dimana senyawa THPGV-O larut dalam etanol dingin dan tidak larut dalam akuades. Prosesnya adalah THPGV-O dilarutkan dalam etanol panas, kemudian disaring, larutan jernih didesak dengan akuades (memicu terbentuknya kristal), diasamkan sampai pembentukan kristal sempurna.
- 2). Keuntungan : mengetahui pelarut yang paling baik dalam sintesis (rendemen yang lebih tinggi), salah satu usaha optimasi kondisi reaksi

Kerugian: lebih banyak bahan yang diperlukan (starting material, katalis, proses isolasinya).