

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Isolasi Eugenol

Isolasi eugenol dari minyak cengkeh dilakukan dengan 2 cara yaitu : (1) Ekstraksi Asam Basa, dan (2) Distilasi Fraksinasi. Hal ini bertujuan untuk membandingkan hasil bahan eugenol (sebagai *starting material* sintesis) dengan tingkat kemurnian yang lebih tinggi yang dibutuhkan dalam sintesis ester eugenol. Hasil yang diperoleh dari 2 cara tersebut adalah sebagai berikut, dengan sifat-sifat yang dibandingkan dengan standar eugenol :

Tabel 5.1 Perbandingan antara eugenol hasil ekstraksi asam basa dengan distilasi fraksinasi

No	Parameter Fisik	Eugenol hasil ekstraksi asam basa	Eugenol hasil distilasi fraksinasi	Eugenol standard
1	Warna	Kuning Jernih	Tak berwarna	Tak berwarna
2	Bau	Pedas	Pedas	Pedas
3	Berat Jenis	1,060	1,065	1.064 -1.066
4	Indeks bias	1,535	1,541	1,541
5	Jumlah yang didapatkan	12 mL	106 mL	-

Hasil isolasi eugenol menggunakan distilasi fraksinasi menunjukkan tingkat kemurnian tinggi berdasarkan hasil analisis dengan GC-MS (kromatogram dan spektra massanya dapat dilihat di lampiran 2). Puncak pada waktu retensi (t_R) 17,96 menit adalah eugenol dengan konsentrasi 100%. Data dukung dari spektra massa menunjukkan berat molekul 164 g/mol yang sesuai dengan berat molekul eugenol. Hal ini didukung dengan

data spektra Infrared dari eugenol hasil distilasi fraksinasi yang menunjukkan serapan serapan gugus –OH pada daerah 3617,92 cm⁻¹ dan serapan gugus aromatik di sekitar daerah 3076 dan 1637 cm⁻¹ serta gugus alkeneterminal pada daerah *finger print* 914,20 cm⁻¹ menunjukkan bahwa secara kualitatif senyawa tersebut adalah eugenol, yang sesuai dengan spektra eugenol standar sebagai pembanding (lampiran 3).

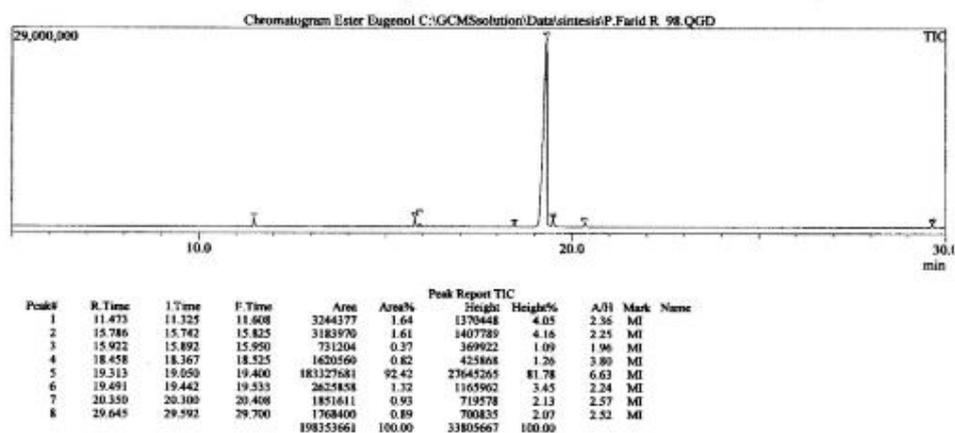
5.2 Hasil Sintesis Ester Eugenol

Sintesis ester eugenol dilaksanakan dengan cara melakukan reaksi antara eugenol hasil isolasi distilasi fraksinasi dengan asam format dengan perbandingan mol eugenol : asam format = 1 : 27 dan lama reaksi 11 jam. Dalam hal ini, selain sebagai reaktan, asam format juga berfungsi sebagai katalis penghasil proton dan pelarut sekaligus sehingga diperlukan jumlah mol yang cukup besar. Analisis terhadap hasil sintesis menunjukkan sifat fisik yang berbeda antara eugenol dan produk sintesis (ester eugenol) sebagai berikut :

Tabel 5.2 Perbedaan Eugenol hasil isolasi dengan Ester eugenol hasil sintesis

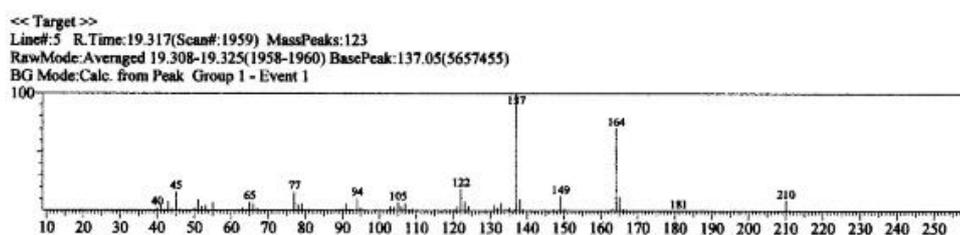
No	Parameter Fisik	Eugenol	Ester Eugenol Hasil Sintesis
1	Warna	Jernih tak berwarna	Coklat Pekat
2	Bau	Pedas	Aroma Wangi
3	Berat Jenis	1.065 g/mL	1.26 g/mL
4	Jumlah yang didapatkan	32.80 g (30.83 mL)	42.42 g (33.6 mL)

Setelah itu Ester eugenol di cek dengan GC-MS yang menunjukkan tingkat kemurnian, berdasarkan hasil kromatogram menunjukkan tingkat kemurnian sebesar 92.42%.



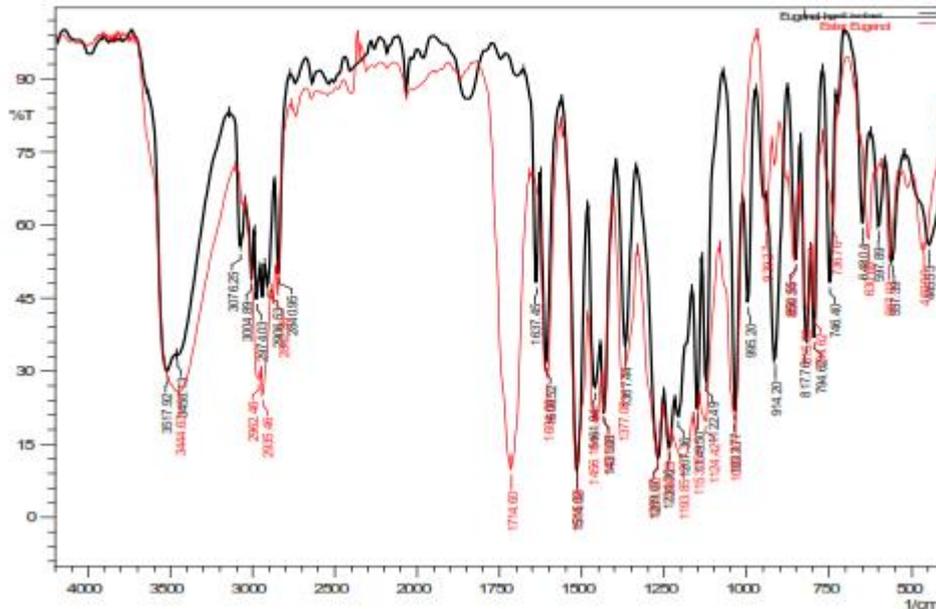
Gambar 5.1 Hasil GCMS Kromatogram Ester eugenol hasil sintesis.

Pada Puncak dengan tR 19,31 menit didapatkan tingkat kemurnian 92,42% merupakan senyawa ester eugenol. Hal ini didasarkan pada data spektra massa pada puncak tR 19,31 menit menunjukkan ion molekul pada m/z 210 yang bersesuaian dengan berat molekul ester eugenol.



Gambar 5.2 Spektra massa senyawa dengan tR 19,31 menit

Terbentuknya ester eugenol didukung oleh data spektra UV-Vis (Lampiran 5) yang menunjukkan adanya gugus karbonil ($C=O$) dengan adanya serapan pada λ_{maks} 290,40 nm. Hal ini diperkuat data spektra Infrared dari senyawa hasil sintesis (Lampiran 6) yang menunjukkan adanya gugus karbonil dengan serapan kuat pada daerah 1714 cm^{-1} dan serapan C-O-C ester pada daerah 1193 cm^{-1} yang mencirikan terbentuknya ester eugenol. Hal ini juga diperkuat dengan hilangnya serapan pada daerah $914,20\text{ cm}^{-1}$ yang berasal dari serapan keluar bidang dari alkena terminal dalam gugus eugenol (gambar 5.3).



Gambar 5.3 Overlay spektra Infrared dari eugenol (warna hitam) dan ester eugenol (warna merah)

5.3 Uji Antiproliferatif dan Efektivitas Ester Eugenol terhadap Sel HeLa kanker Serviks

Uji antiproliferatif senyawa ester eugenol terhadap sel kanker serviks dilaksanakan dengan terlebih dahulu menyiapkan kultur media sel HeLa dalam selang waktu tertentu. Berikut ini hasil-hasil pengamatan pertumbuhan sel HeLa yang sudah dilakukan (gambar 5.4 dan gambar 5.5):

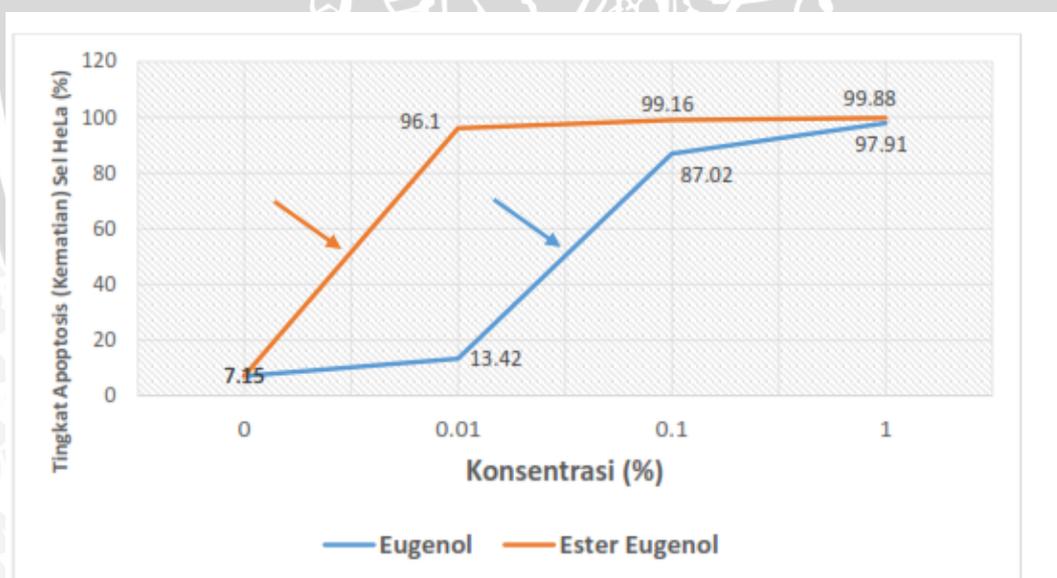


Gambar 5.4 Pertumbuhan sel HeLa mencapai 30%



Gambar 5.5 Pertumbuhan sel HeLa mencapai 70%

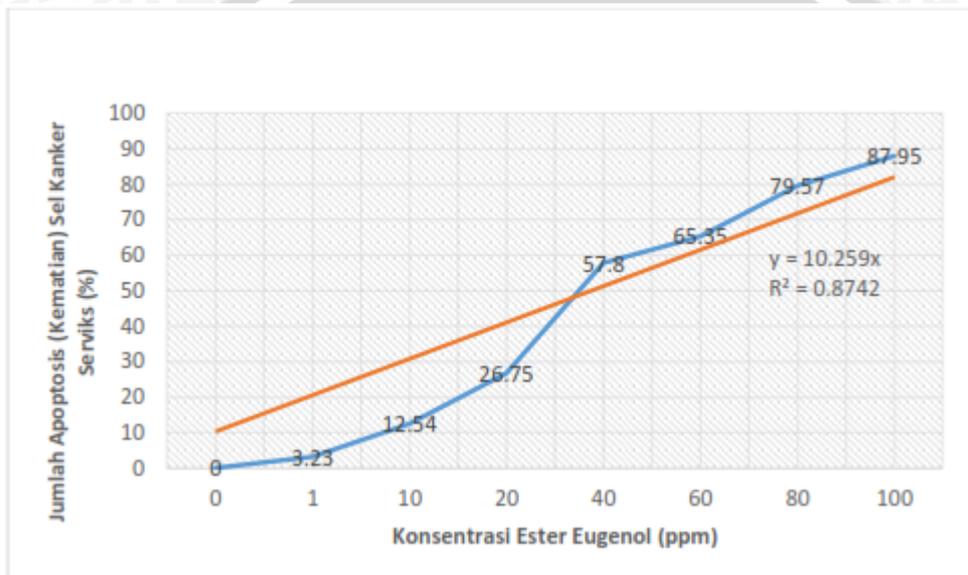
Penentuan efektifitas penghambatan dilihat dari nilai IC50 atau *lethal concentration* (LC50) senyawa ester eugenol terhadap sel kanker serviks dibandingkan dengan eugenol dapat dilihat dari grafik di bawah ini :



Gambar 5.6 Perbandingan konsentrasi eugenol dan ester eugenol dalam hal kemampuannya dalam apoptosis sel HeLa kanker serviks.

Dari grafik gambar 5.6 terlihat dari bahwa nilai LC50 dari ester eugenol berada di bawah konsentrasi 0,01% (ditunjukkan tanda panah oranye), sedangkan nilai

LC50 dari eugenol berada di atas konsentrasi 0,01% (ditunjukkan tanda panah biru). Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan ester eugenol dalam apoptosis sel HeLa kanker serviks lebih kuat dibandingkan dengan eugenol. Hasil uji lanjutan sebagai penentu nilai LC50 senyawa ester eugenol terhadap sel kanker serviks pada konsentrasi di bawah 0,01% (setelah dibandingkan dengan kontrol dan pengaruh pelarut) dapat dilihat pada grafik di bawah ini :



Gambar 5.7 Hubungan konsentrasi ester eugenol dengan kematian sel HeLa kanker serviks.

Grafik pada gambar 5.7 menunjukkan hubungan linear antara konsentrasi ester eugenol dengan tingkat apoptosis sel kanker serviks. Berdasarkan persamaan garis lurus dengan persamaan $y = 10,259x$ maka dapat ditentukan nilai LC 50 dari ester eugenol berada pada konsentrasi 48,73 ppm, hal ini menunjukkan bahwa kemampuan ester eugenol dalam apoptosis sel HeLa kanker serviks sangat kuat karena hanya dengan konsentrasi di bawah 50 ppm, ester eugenol mampu menginduksi apoptosis sel HeLa kanker serviks hingga 50%.