

repository.ub.ac.id

UJI EFEKTIVITAS ESTER EUGENOL DARI MINYAK CENGKEH (*Syzygium aromaticum*) SEBAGAI ANTIPROLIFERATIF SEL KANKER SERVIX YANG DIUJI SECARA IN VITRO

¹Norman Alexander T, ²Moh Farid Rahman

¹Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

²Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

ABSTRAK

Telah dilakukan sintesis ester eugenol, dan uji aktivitasnya sebagai antikanker serviks. Starting material dalam sintesis adalah eugenol yang diisolasi dari minyak cengkeh perdagangan melalui dua cara yaitu ekstraksi asam basa dan distilasi fraksinasi. Hasil eugenol dari cara distilasi fraksinasi memberikan hasil yang lebih tinggi dengan kemurnian 100% dan rendemen 70,66%. Sintesis ester eugenol dilakukan dengan prinsip reaksi adisi-esterifikasi melalui reaksi antara eugenol hasil isolasi dengan asam format dengan perbandingan mol 1:27 dan lama reaksi 11 jam. Analisis data GC-MS terhadap hasil sintesis menunjukkan ester eugenol dihasilkan dengan kemurnian 92,42% dengan persen yield sebesar 93,34%. Data spektra UV dari ester eugenol menunjukkan pembentukan gugus karbonil yang ditunjukkan oleh serapan pada $\lambda_{maks} = 290$ nm serta data spektra Infrared pada daerah $1714,60$ cm^{-1} (gugus karbonil), $1193,65$ cm^{-1} (gugus C-O-C ester) dan hilangnya serapan pada daerah $914,20$ cm^{-1} dan $995,20$ cm^{-1} yang menunjukkan hilangnya ikatan rangkap gugus vinil dalam struktur eugenol. Spektra massa menunjukkan ion molekul pada m/z 210 sesuai dengan berat molekul ester eugenol. Selanjutnya dilakukan penyiapan penanaman media kultur sel HeLa untuk uji antiproliferatif kanker serviks. Konsentrasi pelarut DMSO yang sesuai dengan senyawa aktif maupun sel kultur adalah 1%. Hasil pengamatan cytogram menunjukkan nilai LC_{50} dari ester eugenol berada di bawah 0,01% sedangkan eugenol di atas 0,01% yang menunjukkan kemampuan apoptosis ester eugenol lebih tinggi daripada eugenol terhadap sel kanker serviks. Nilai LC_{50} ester eugenol didapatkan pada konsentrasi 48, 73 ppm yang menunjukkan potensinya dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat kanker serviks berbasis bahan alam.

Kata Kunci : Ester eugenol, antikanker serviks.

ABSTRACT

It has been synthesized of eugenol ester, and its activity test as an anti-cervical cancer agent. Starting material in this synthesis process is eugenol that is isolated from traded clove oil through two ways, namely acid-base extraction and fractional distillation. Eugenol that are resulted from the fractional distillation process give better result with a purity of 100% and a yield of 70.66%. Eugenol ester synthesis is performed with the principle of an addition-esterified reaction by reaction between eugenol with formic acid at a mole ratio of 1:27 in 11 hours reaction time. GC-MS data analysis of the results shows that the eugenol ester is produced with a purity of 92.42% with a yield of 93.34%. UV spectral data of eugenol ester showed the formation of ester carbonyl group represented by λ_{max} 290 nm as well as Infrared spectral data on the area 1714.60 cm^{-1} (carbonyl group), 1193.65 cm^{-1} (C-O-C ester group) and loss absorption areas at 914.20 cm^{-1} and 995.20 cm^{-1} indicating the loss of the double bond in the vinyl group eugenol structure. Mass spectra showed the molecular ion at m/z 210 in accordance with the molecular weight of eugenol ester. Furthermore, there is preparation planting HeLa cell culture media for anti-proliferative test for cervical cancer. The concentration of the solvent DMSO corresponding to the active compound or cultured cells is 1%. Observations of flowcytogram indicate LC50 values of eugenol ester is under 0.01%, while eugenol above 0.01% which demonstrates the ability of apoptosis from ester eugenol is higher than eugenol against the cervical cancer cells. The LC50 value of eugenol ester is obtained at concentrations of 48,73 ppm, which indicates its potential to be used as medicine for cervical cancer based on natural products.

Key words : Ester eugenol, anti-cervical cancer

PENDAHULUAN

Kanker serviks atau disebut juga kanker leher rahim adalah sejenis kanker yang 99,7% disebabkan oleh *human papilloma virus* (HPV) onkogenik, yang menyerang leher Rahim¹. Kanker serviks merupakan penyakit dengan tingkat kematian terbanyak kedua di dunia. Hingga saat ini kanker serviks merupakan penyebab kematian paling tinggi yang disebabkan penyakit kanker di Indonesia. Diperkirakan setiap tahun didapatkan sekitar 500.000 penderita baru di seluruh dunia dan umumnya ditemui di negara berkembang². Pada tahun 2013, penyakit kanker serviks merupakan penyakit kanker dengan tingkat prevalensi tertinggi di Indonesia yaitu 0,8% dengan jumlah penderita mencapai 98.692 orang³. Dalam beberapa tahun terakhir berbagai upaya telah dilakukan untuk mengobati penyakit kanker dengan cara kemoterapi, operatif, dan imunologik. Namun sampai saat ini metode pengobatan tersebut belum memberikan hasil yang efektif, baik yang

diberikan dalam terapi tunggal maupun kombinasi. Umumnya terapi yang diberikan pada penderita kanker adalah metode *sequential*, yaitu setelah pemberian terapi akan diikuti dengan metode terapi lainnya dan seringkali beberapa metode terapi diberikan dalam waktu yang bersamaan. Pemberian terapi baik operasi, radioterapi dan kemoterapi dapat menyebabkan kerugian pada penderita kanker yaitu penurunan imunitas tubuh dan biaya pengobatan sangat mahal disebabkan bahan obat yang masih impor. Oleh karena itu diperlukan langkah baru dalam penyediaan obat-obatan di Indonesia dengan memanfaatkan bahan alam yang tersebar sangat banyak dan telah terbukti memiliki kemampuan antiproliferatif terhadap sel kanker. Proliferasi adalah pertumbuhan sel kanker yang tak terkendali sehingga berhasil membentuk jaringan. Salah satu senyawa yang mempunyai kemampuan antiproliferatif dan mudah didapatkan adalah senyawa 4-allil-2-metoksifemol atau disebut juga eugenol yang menjadi senyawa utama

dalam minyak cengkeh dengan 80-90%⁸. Eugenol terbukti dapat menghambat pertumbuhan sel tumor sebesar 24,35% dengan dosis 100 ppm⁴. Eugenol juga memperlihatkan pengaruhnya yang signifikan terhadap pertumbuhan sel kanker hati. Sel HCT 15 dan HT 29 ditekan oleh eugenol dengan nilai IC₅₀ berturut-turut 300 µM dan 500 µM⁵. Kemampuan antiproliferatif eugenol terhadap sel kanker berhubungan dengan cincin aromatik yang ada dalam struktur eugenol. Yi dkk pada tahun 2015 telah membuktikan kemampuan eugenol termetilasi dalam hal penghambatan terhadap kanker serviks⁶. Kemampuan tersebut dapat ditingkatkan dengan cara memodifikasi gugus allil yang terikat dalam struktur cincin aromatik eugenol. Modifikasi tersebut ditujukan untuk meningkatkan kemampuan *radical scavenger* dari molekul eugenol. Gugus allil eugenol dapat diubah ke gugus yang lain melalui reaksi adisi terhadap ikatan rangkapnya. Sintesis ester eugenol dilakukan melalui reaksi antara eugenol dengan senyawa asam format yang mempunyai sifat nukleofilitas yang sangat kuat sehingga mampu mengadisi ikatan rangkap allil dalam struktur eugenol. Reaksi tersebut diawali dengan pemutusan ikatan π dari gugus allil karena penyerangan proton asam format dan dilanjutkan dengan terikatnya ion karboksil untuk menghasilkan senyawa ester eugenol.

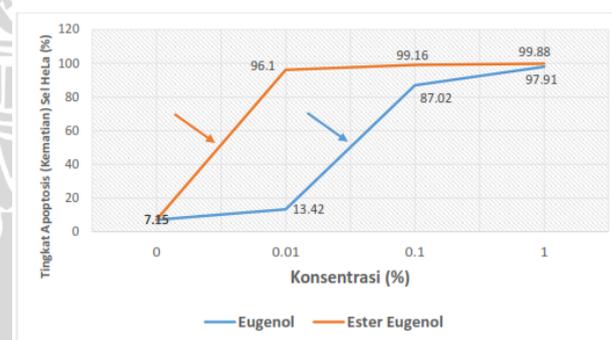
METODE

Penelitian ini dirancang menggunakan metode *true eksperimental Post Test Only, Control Group Design*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ester eugenol terhadap daya bunuh sel kanker servix pada kultur sel HeLa. Metode Sintesis eugenol didasarkan pada metode milik Rahman pada tahun 2002⁷. Metode uji efektivitas antikanker berdasarkan metode milik Ola et al pada tahun 2008⁹. Sampel yang digunakan adalah Kultur sel HeLa kanker servix. Kultur dibagi dalam 8 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (tanpa perlakuan), kelompok kontrol positif (pemberian DMSO), kelompok perlakuan 1 yang diberi Eugenol dengan konsentrasi

0.01%, Kelompok perlakuan 2 yang diberi Eugenol dengan konsentrasi 0.1%, kelompok perlakuan 3 yang diberi Eugenol dengan konsentrasi 1%, kelompok perlakuan 4 yang diberi Ester Eugenol dengan konsentrasi 0.01%. kelompok perlakuan 5 yang diberi Ester Eugenol dengan konsentrasi 0.1%, dan Kelompok perlakuan 6 yang kelompok perlakuan 5 yang diberi Ester Eugenol dengan konsentrasi 1%. Setelah itu untuk mengetahui efektivitas Ester eugenol dilakukan dengan cara membandingkan efektivitas ester eugenol dengan eugenol dan pengukuran LC₅₀ ester eugenol.

HASIL

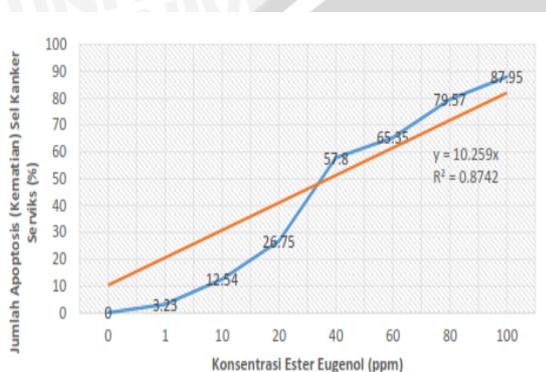
Uji antiproliferatif senyawa ester eugenol terhadap sel kanker serviks dilaksanakan dengan terlebih dahulu menyiapkan kultur media sel HeLa dalam selang waktu tertentu. Penentuan efektivitas penghambatan dilihat dari nilai IC₅₀ atau *lethal concentration* (LC₅₀) senyawa ester eugenol terhadap sel kanker serviks dibandingkan dengan eugenol dapat dilihat dari grafik di bawah ini :



Gambar 1 . Grafik konsentrasi eugenol dan ester eugenol dalam hal kemampuannya dalam apoptosis sel HeLa kanker serviks

Dari grafik gambar 1 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 2. Hubungan konsentrasi ester eugenol dengan kematian sel HeLa kanker serviks.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kemampuan ester eugenol dalam apoptosis sel HeLa kanker serviks lebih kuat dibandingkan dengan eugenol. Hal ini dikarenakan gugus karbonil yang terdapat pada ester eugenol memiliki sifat *Radical Scavenger* sehingga ester eugenol dapat mengikat radikal bebas yang disebabkan oleh proliferasi sel kanker yang abnormal¹⁰. Setelah itu untuk mengetahui efektivitas antiproliferatif dari ester eugenol dilakukan pencarian nilai LC50 senyawa ester eugenol terhadap sel kanker serviks pada konsentrasi di bawah 0,01% (setelah dibandingkan dengan kontrol dan pengaruh pelarut) LC50 berfungsi untuk mengukur konsentrasi yang diperlukan untuk membunuh 50% dari populasi sel. Berdasarkan persamaan garis lurus dengan persamaan $y = 10,259x$ maka

dapat ditentukan nilai LC50 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%.

Implikasi penelitian ini terhadap bidang kedokteran, Ester eugenol merupakan kandidat terapi kanker servix dengan prosedur yang mudah dan biaya yang murah dan diharapkan ester eugenol dapat menjadi terapi pendamping pada pengobatan kanker servix terutama pengobatan secara *chemotherapy*. Diharapkan penelitian ini dapat dijadikan referensi metode penelitian selanjutnya sehingga dapat meningkatkan minat penelitian tentang terapi kanker servix di Indonesia. Keterbatasan penelitian ini terdapat pada senyawa ester eugenol yang belum bisa diimplikasikan langsung sebagai terapi kanker servix Karena diperlukan uji secara *in vivo* menggunakan hewan coba dan pengukuran toksisitas yang lain seperti IC50, LD50, dan lain lain.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

- Ester Eugenol hasil sintesis menunjukkan tingkat antiproliferatif terhadap sel kanker serviks yang lebih tinggi dibandingkan dengan eugenol dengan nilai LC50 pada konsentrasi 48,73 ppm.

SARAN

- Perlu dilaksanakan penelitian untuk mempelajari sintesis ester eugenol dalam hal lama reaksi dan perbandingan mol yang ideal antara eugenol dan asam format sehingga menghasilkan kondisi yang lebih efisien.
- Uji antiproliferatif dapat dilanjutkan di tingkat *in vivo*

DAFTAR PUSTAKA

1. Zarchi, M. K., Behtash, N., Chiti, Z., & Kargar, S. 2009. Cervical cancer and HPV vaccines in developing countries. *Asian Pacific J Cancer*, 10, 969-974.
2. Ibeanu, O. A. 2011. Molecular pathogenesis of cervical cancer. *Cancer biology & therapy*, 11(3), 295-306.
3. Kemenkes.2015. *Situasi Penyakit Kanker*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
4. Jaganathan, S. K., Mazumdar, A., Mondhe, D., & Mandal, M. 2011. Apoptotic effect of eugenol in human colon cancer cell lines. *Cell biology international*, 35(6), 607-615.
5. Jaganathan, S. K., Mondhe, D., Wani, Z. A., Pal, H. C., & Mandal, M. 2010. Effect of honey and eugenol on ehrlich ascites and solid carcinoma. *BioMed Research International*, 2010.
6. Yi, J. L., Shi, S., Shen, Y. L., Wang, L., Chen, H. Y., Zhu, J., & Ding, Y. 2015. Myricetin and methyl eugenol combination enhances the anticancer activity, cell cycle arrest and apoptosis induction of cis-platin against HeLa cervical cancer cell lines. *International journal of clinical and experimental pathology*, 8(2), 1116.
7. Rahman, M.F., 2002, "Sintesis N-[1-metil-2-(3,4-dimetoksifenil)etil]asetamida", *Natural*, 6 (2), 3-7.
8. Prianto,Henny, Rurini Retnowati, dan Unggul P Juswono .2013. Isolasi dan Karakterisasi dari Minyak Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Kering Hasil Distilasi Uap. *Jurnal Ilmu Kimia Universitas Brawijaya*;1(2):pp-269.
9. Ola, A. R., Ikawati, Z., Meye, E. D., & Tawo, B. D. (2008). Molecular identification and anticancer activity of alkylphenol from cashew nut shell oil (*Anacardium occidentale*) grown In Timor Island. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 137-144.
10. Mesías, M., Navarro, M., Martínez-Saez, N., Ullate, M., del Castillo, M. D., & Morales, F. J. (2014). Antiglycative and carbonyl trapping properties of the water soluble fraction of coffee silverskin. *Food Research International*, 62, 1120-1126.