

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Karakteristik Sample Penelitian

Eugenol (*4-allyl-2-methoxyphenol*), merupakan komponen yang ditemukan pada tanaman cengkeh (*Syzygium aromaticum*) yang tersebar luas di Indonesia. Kandungan eugenol paling banyak dapat ditemukan pada minyak cengkeh yaitu sekitar 80-90%. Efek farmakologis eugenol yang diantaranya adalah sebagai antiviral, antioksidan, antikanker, dan antimutagenik membuktikan bahwa eugenol memiliki potensi sebagai senyawa antiproliferatif terhadap sel kanker, yang juga telah banyak didukung oleh penelitian-penelitian lain. Namun dibalik potensinya, sifat antikanker dari eugenol ini belum begitu kuat dan efektif dalam membunuh sel kanker itu sendiri, sehingga perlu dilakukan modifikasi terhadap senyawa eugenol secara kimiawi untuk memperkuat potensinya sebagai senyawa antikanker. Modifikasi tersebut ditujukan untuk meningkatkan kemampuan *radical scavenger* dari molekul eugenol. Modifikasi struktur eugenol yang akan dilakukan di dalam penelitian ini ialah dengan melakukan perubahan gugus allil eugenol menjadi gugus karbonil melalui reaksi adisi yang akan menghasilkan senyawa ester eugenol yang diharapkan dapat meningkatkan potensi eugenol sebagai senyawa antikanker. Hasil sintesis eugenol dan ester eugenol dari penelitian ini kemudian diuji pada sel kanker secara *in vitro* untuk mengetahui perbandingan aktivitas antikanker eugenol dan ester eugenol.

Kanker serviks yang juga disebut kanker leher rahim ialah suatu jenis kanker yang 99,7% kausanya ialah *Human Papilloma Virus* (HPV) onkogenik,

yang menginvasi sel pada leher rahim. Di Indonesia sendiri, kanker serviks merupakan penyebab kematian paling tinggi yang disebabkan oleh penyakit kanker. Menurut perkiraan Departemen Kesehatan RI saat ini, jumlah wanita penderita baru kanker serviks berkisar 90-100 kasus per 100.000 penduduk dan setiap tahun terjadi 40 ribu kasus kanker serviks. . Kanker serviks adalah kanker primer dari serviks yang berasal dari metaplasia epitel di daerah sambungan skuamo kolumnar (SSK) yaitu daerah peralihan mukosa vagina dan mukosa kanalis servikalis (Andrijono, 2009). Infeksi persisten oleh HPV tipe onkogenik dipastikan merupakan agen penyebab dari proses prekeganasan dan keganasan pada lesi epitel serviks. Penelitian ini menggunakan kultur sel HeLa, karena sel HeLa kanker serviks memiliki sifat yang analog dengan jaringan kanker serviks yang terinfeksi virus HPV pada tubuh manusia, sehingga pengerjaannya secara *in vitro* menjadi lebih praktis.

Dalam penelitian ini, eugenol dan ester eugenol diuji pada sel HeLa kanker serviks untuk dibandingkan aktivitas antiproliferasinya terhadap sel kanker serviks. Variable bebas dari penelitian ini adalah eugenol dan ester eugenol dengan berbagai konsentrasi, sedangkan variable terikatnya adalah jumlah kematian sel kultur HeLa kanker seviks.

6.2 Perbandingan Aktivitas Antikanker Eugenol dan Ester Eugenol

Sel HeLa kanker serviks yang telah dikultur diberikan delapan jenis perlakuan, yang terdiri dari kelompok kontrol negatif yaitu kultur sel HeLa yang tidak diberi perlakuan, kelompok kontrol pelarut yaitu kultur sel HeLa yang diberikan DMSO, kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 yaitu kultur sel HeLa yang masing-masing diberikan eugenol dengan konsentrasi 0.01%, 0.1%, dan 1%,

dan kelompok perlakuan 4, 5, & 6 yaitu kultur sel HeLa yang masing-masing diberikan ester eugenol dengan konsentrasi 0.01%, 0.1%, dan 1%. Kemudian, sel HeLa yang hidup maupun yang mati dianalisis menggunakan instrumen *flow cytometry* untuk menentukan tingkat apoptosis atau kematian sel kultur.

Berdasarkan grafik pada gambar 5.5, didapatkan nilai LC_{50} dari ester eugenol berada di bawah konsentrasi 0,01% , sedangkan nilai LC_{50} dari eugenol berada di atas konsentrasi 0,01%. Sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa kemampuan ester eugenol dalam apoptosis sel HeLa kanker serviks lebih kuat dibandingkan dengan eugenol.

Untuk menunjukkan hubungan linear antara konsentrasi ester eugenol dengan tingkat apoptosis sel kanker serviks, dibuat grafik berdasarkan persamaan garis lurus dengan persamaan $y=10,259x$. Dari perhitungan berdasarkan persamaan ini, 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%. Maka dapat disimpulkan, dari hasil nilai LC_{50} ester eugenol, senyawa ini memiliki efektifitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan eugenol. Hal ini juga menunjukkan bahwa perubahan gugus vinil (alkena) pada eugenol menjadi gugus ester yang mengandung gugus karbonil memberikan dampak yang signifikan terutama untuk meningkatkan daya apoptosis terhadap sel kanker serviks disamping kemampuannya sebagai *radical scavenger* untuk menghambat perkembangan sel kanker lebih lanjut.

6.3 Sifat Antikanker Eugenol dan Ester Eugenol

Kemampuan antikanker eugenol terletak pada gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatic senyawa ini. Gugus hidroksil merupakan antioksidan yang penting untuk menangkap radikal bebas sebagai penyebab stress oksidatif pada sel. Kemampuan dalam menangkap radikal bebas ini menunjukkan bahwa gugus hidroksil memiliki kemampuan *radical scavenger* (Ali *et al.*, 2013).

Radical scavenger adalah molekul yang memiliki kemampuan untuk bereaksi dengan radikal bebas dengan cara memberikan donor atom sehingga ikatan tersebut menjadi lebih stabil dan tidak bersifat merusak. Produksi radikal bebas dan gangguan pada status redoks dapat memodulasi ekspresi berbagai sistem kekebalan dan molekul inflamasi, sehingga akan menyebabkan proses inflamasi. Kedua hal ini akan memperburuk peradangan dan menyebabkan kerusakan jaringan.

Pada sel kanker, terjadi proses kerusakan biomolekul dan peningkatan produksi radikal bebas sebagai produk metabolisme sel. Tingginya produksi ROS (*reactive oxygen species*) yang tidak sebanding dengan eliminasinya menyebabkan suatu kondisi pada sel yang disebut stress oksidatif yang merupakan salah satu faktor yang terbukti mendorong transformasi seluler. Stres oksidatif dapat menyebabkan kerusakan sel yang serius apabila berlangsung secara masif dan berkepanjangan (Murray *et al.*, 2013) Stres oksidatif selama infeksi virus dapat merupakan hasil dari respon kekebalan terhadap protein virus dan / atau konsekuensi dari ekspresi gen virus. Stres oksidatif menyebabkan kerusakan DNA oksidatif, yang dapat memfasilitasi integrasi DNA HPV (*Human Papilloma Virus*) (Williams *et al.*, 2014).

Radikal bebas yang mengandung ion yang tidak berpasangan akan ditangkap oleh gugus hidroksil sehingga menjadi stabil, kemudian radikal bebas ini akan diperangkap didalam cincin aromatik yang juga dimiliki senyawa eugenol. Kemampuan *radical scavenger* ini akan mencegah kerusakan sel yang lebih lanjut serta akan mencegah dan memperbaiki DNA sel yang mengalami mutasi akibat radikal bebas.

Untuk memperkuat kemampuan *radical scavenger* eugenol, perlu dilakukan modifikasi terhadap ikatan yang terdapat pada senyawa eugenol. Melalui reaksi adisi, gugus alil yang terdapat pada eugenol diubah menjadi gugus karbonil sehingga menghasilkan senyawa ester eugenol. Gugus karbonil merupakan salah satu gugus yang memiliki kemampuan *radical scavenger* yang lebih kuat daripada dengan gugus hidroksil. Dalam menstabilkan radikal bebas, gugus hidroksil harus melepaskan ikatannya yang membutuhkan energi lebih besar dibandingkan dengan gugus karbonil. Adanya kedua gugus hidroksil dan gugus karbonil pada ester eugenol secara sinergis memperkuat kemampuan *radical scavenger* senyawa ester eugenol.

Peran gugus karbonil dari senyawa ester eugenol sebagai *radical scavenger* adalah dengan menangkap ion yang tidak berpasangan dari ROS sehingga terlokalisir pada struktur karbonil agar menjadi molekul yang stabil dan dapat dimetabolisme. Kemampuan gugus karbonil ini akan mencegah kerusakan sel lebih lanjut dan memperbaiki kerusakan DNA sel yang telah mengalami mutasi, dan dengan proses biomolekuler tertentu kemungkinan adanya suatu mekanisme transduksi sinyal intrasel akan terjadi perubahan proses transkripsi DNA untuk menginduksi apoptosis.

6.4 Implikasi Penelitian

Melalui penelitian ini, adanya hasil yang cukup signifikan terhadap kematian atau apoptosis dari sel HeLa kanker serviks setelah pemberian ester eugenol memberikan peluang dan harapan baru bagi bidang kedokteran onkologi dalam pemanfaatan ester eugenol sebagai agen kemoterapi yang cukup poten. Hasil dari penelitian ini juga berpotensi untuk dimanfaatkan pada sel kanker jenis lain selain dari kanker serviks. Untuk itu, diperlukan penelitian lebih lanjut terhadap penerapan senyawa ester eugenol pada jenis-jenis sel kanker yang lain. Namun, perlu juga dilakukan penelitian secara biomolekuler yang lebih teliti agar mekanisme pasti terjadinya apoptosis yang diinduksi oleh gugus hidroksil dan karbonil pada ester eugenol dapat diketahui

Adanya modifikasi terhadap struktur senyawa eugenol menjadi ester eugenol selain memberikan potensi sebagai senyawa antikanker juga memberikan keuntungan secara fisik, yaitu aroma ester eugenol yang lebih harum dan lembut dibandingkan dengan eugenol yang lebih tajam dan pedas.

Bahan dasar ester eugenol ini berbasis bahan alam yang tersebar luas di Indonesia, sehingga penemuan ester eugenol juga dapat memberikan peluang baru bagi bangsa Indonesia dalam memanfaatkan kekayaan alamnya sebagai agen terapi untuk mengatasi salah satu permasalahan penyakit penyebab kematian yang sangat tinggi pula di Indonesia. Sehingga, diharapkan produksi obat kanker dari pemanfaatan senyawa ester eugenol ini dapat mengurangi biaya impor obat dari luar negeri.