

PEMANFAATAN BAHAN ALAMI EUGENOL SEBAGAI ZAT ANTIOKSIDAN

Susy Yunita Prabawati¹, Arini Fauzia Agustina²

¹Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.

²Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.

Intisari

Penelitian telah dilakukan untuk mensintesis senyawa 1,4-bis [(2 hidroksi-3-metoksi-5-(2-propenil)fenil)-metil]piperazin dengan menggunakan eugenol sebagai bahan awal. Hal yang menarik yaitu ingin diketahui kemampuan senyawa ini sebagai antioksidan menggunakan radikal DPPH (2,2-diphenil-1-pikrilhidrazil). Sintesis senyawa dilakukan melalui reaksi Mannich dan karakterisasinya dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer FTIR dan ¹H-NMR.

Produk sintesis berupa padatan berwarna putih dengan titik lebur 155-157 °C dan rendemen 37,63 %. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan bahwa senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-(2-propenil) fenil)-metil] piperazin memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ yaitu 0,199 mM.

Kata kunci: eugenol, 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-(2-propenil) fenil)-metil] piperazin, reaksi Mannich, antioksidan.

Abstract

A study has been conducted to synthesize 1,4-bis[(2-hydroxy-3-methoxy-5-(2-propenyl) phenyl)-methyl]piperazine using *eugenol* as a starting material. It was of interest to investigate the capability of that compound, as an antioxidant with DPPH method. The synthesis was carried out through Mannich reaction and the product was characterized by FTIR and ¹H NMR spectrophotometry.

The product was obtained as a white solid, melting point 155-157 °C with a yield of 37,63 %. The test of antioxidant activity with DPPH method showed that 1,4-bis[(2-hydroxy-3-methoxy-5-(2-propenyl)phenyl)-methyl]-piperazine had antioxidant activity with IC₅₀ values was 0.199 nM.

Keywords: *eugenol*, 1,4-bis[(2-hydroxy-3-methoxy-5-(2-propenyl)phenyl)-methyl]piperazine, Mannich reaction, antioxidant.

A. PENDAHULUAN

Paparan radiasi sinar UV terhadap kulit manusia akibat menipisnya lapisan ozon serta pola hidup yang tidak sehat merupakan sumber utama meningkatnya jumlah radikal bebas di dalam tubuh. Pada dasarnya tubuh memiliki mekanisme pertahanan terhadap radikal bebas yaitu berupa enzim dan nutrisi antioksidan yang dapat menangkal sifat radikal bebas yang merusak tubuh (Youngson, 2005). Namun demikian, tubuh tetap memerlukan nutrisi antioksidan tambahan yang dapat membantu melindungi tubuh dari efek negatif yang disebabkan oleh radikal bebas.

Berbagai macam penelitian terkait antioksidan telah banyak dikembangkan, mulai dari antioksidan alami hingga antioksidan sintetik (Khalil *et al.*, 2007; Bondet *et al.*, 1997). Beberapa senyawa antioksidan sintetik diketahui memiliki efek karsinogenik (Gharavi *et al.* 2007). Hal ini memberikan peluang untuk dikembangkannya senyawa antioksidan baru yang diharapkan memiliki aktivitas yang tinggi dan tidak memiliki efek samping yang berbahaya. Salah satunya adalah dengan mensintesis senyawa berbahan dasar senyawa fenolik yang terdapat di alam.

Sebagaimana diketahui, Islam sebagai agama rahmatan lil `alamin telah mengatur segala aspek dalam kehidupan manusia. Bahan-bahan yang berasal dari alam relatif lebih aman untuk dikonsumsi dan cenderung tidak memberikan efek samping bagi tubuh. Dalam Al-Quran banyak sekali disebut ayat-ayat yang membahas tentang makanan diantaranya disebutkan dalam Q.S. Al-Maidah ayat 88 dan Q.S. Al Baqarah ayat 168.

وَكُلُوا مِمَّا رَزَقَكُمُ اللَّهُ حَلَالًا طَيِّبًا وَاتَّقُوا اللَّهَ
الَّذِي أَنْتُمْ بِهِ مُؤْمِنُونَ (٨٨)

“Dan makanlah makanan yang halal lagi baik dari apa yang telah Allah rezekikan kepadamu, dan bertaqwalah kepada Allah yang kamu beriman

kepada-Nya.” (Q.S. Al-Maidah: 88).

يَا أَيُّهَا النَّاسُ كُلُوا مِمَّا فِي الْأَرْضِ حَلَالًا طَيِّبًا
وَلَا تَتَّبِعُوا خُطْوَاتِ الشَّيْطَانِ إِنَّهُ لَكُمْ عَدُوٌّ
مُبِينٌ (١٦٨)

“Hai sekalian manusia makanlah yang halal lagi baik dari apa yang terdapat di bumi, dan janganlah kamu mengikuti langkah-langkah syaitan, karena sesungguhnya syaitan itu adalah musuh yang nyata bagimu” (Q.S. Al Baqarah: 168).

Ayat-ayat di atas menekankan pada manusia agar memperhatikan apa-apa yang dikonsumsi yaitu makanan selain halal maka harus baik dari segi kesehatan, gizi, dan lainnya.

Senyawa-senyawa fenolik yang terdapat dalam berbagai tanaman dianggap sebagai metabolit sekunder yang berperan dalam aktivitas antioksidan (Khalil *et al.*, 2007). Segala sesuatu yang menjadi ciptaan-Nya tidak ada yang sia-sia. Apabila kita sebagai khalifah di muka bumi ini berusaha mencari informasi sebanyak-banyaknya tentulah akan mendapatkan pengetahuan yang luas sebagaimana firman Allah dalam Q.S. Ali Imraan : 190-191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ
وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ (١٩٠)

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ
وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا
مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ
النَّارِ (١٩١)

“Sesungguhnya pada penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang, terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah bagi kaum yang berakal.

yaitu orang-orang yang mengingat Allah dalam keadaan berdiri, duduk, dan (bahkan) berbaring. Mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan

bumi seraya berkata, "yaa Tuhan kami, tidaklah Kau ciptakan ini semua sia-sia, maka peliharalah kami dari azab neraka." (Q.S. Ali Imraan: 190-191).

Salah satu bahan alam yang sangat potensial untuk dikembangkan adalah eugenol. Eugenol merupakan senyawa utama penyusun minyak cengkeh dengan kandungan sekitar 75-90 % (Dewick, 2009). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa eugenol memiliki berbagai aktivitas biologi, seperti: antifungi, antikanker, dan antiinflamasi (Carrasco *et al.*, 2008; Cheng *et al.*, 2008; Thakur dan Pitre, 2009). Pemanfaatan lain dari eugenol yaitu dapat digunakan sebagai zat antioksidan. Akan tetapi aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh eugenol masih relatif rendah. Hasil penelitian Ogata *et al.* (2000) menunjukkan bahwa eugenol hanya memiliki nilai $IC_{50} \sim 0,8$ mM.

Aktivitas antioksidan senyawa golongan fenolik, termasuk eugenol dipengaruhi oleh jumlah gugus hidroksi yang mampu mendonorkan hidrogen untuk menetralkan radikal bebas (Aini *et al.*, 2007). Oleh karena itu, perlu dikembangkan suatu senyawa turunan eugenol yang dapat meningkatkan aktivitasnya sebagai zat antioksidan. Hal ini dapat dilakukan dengan menambah jumlah gugus hidroksi dalam molekulnya atau menambahkan suatu gugus pendonor elektron sehingga eugenol menjadi lebih mudah melepas atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas (Aini *et al.*, 2007).

Pada penelitian ini, telah disintesis senyawa turunan eugenol dengan menambahkan piperazin sebagai gugus pendonor elektron sehingga diperoleh senyawa 1,4-bis[(2-hidroksi-3-metoksi-5-(2-propenil)fenil)-metil]piperazin. Piperazin dipilih sebagai gugus pendonor elektron karena molekul ini dapat mengikat dua molekul eugenol sehingga jumlah dua gugus hidroksi pada senyawa target menjadi lebih banyak. Dengan demikian, diharapkan produk turunan eugenol ini dapat memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi.

B. METODE PENELITIAN

1. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah seperangkat alat refluks, pemanas listrik, pipa kapiler, lampu UV, neraca analitik, alat-alat gelas pada umumnya, spectronic 20 Visible, alat penentu titik lebur (elektrotermal 9100), spektrofotometer infra merah (FTIR, Shimadzu 8201 PC), spektrometer resonansi magnet inti ($^1\text{H-NMR}$, 60 MHz (JNM-MY 60 JEOL).

Bahan-bahan yang digunakan dalam sintesis adalah piperazin (Merck), paraformaldehid (Merck), eugenol 99% (sigma-aldrich), benzena (Merck), metanol teknis, etanol, dan plat Silika gel 60 F₂₅₄ TLC Aluminium. Bahan yang digunakan dalam uji aktivitas antioksidan adalah DPPH (2,2-diphenil-1-pikrilhidrazil) dan kloroform.

2. Prosedur Penelitian

- a. Sintesis senyawa 1,4-bis[(2-hidroksi-3-metoksi-5-(2-propenil)fenil)-metil]piperazin

Sebanyak 2,46 gram eugenol (15 mmol) dan 0,45 gram paraformaldehid (15 mmol) dilarutkan dalam 50 mL benzena kemudian ditambahkan 0,65 gram piperazin (7,5 mmol) ke dalam larutan. Campuran direfluks selama 20 jam. Hasil refluks dididamkan dalam pendingin selama 24 jam. Endapan yang terbentuk dipisahkan dengan penyaringan menggunakan kertas saring Whatman 42. Residu yang didapatkan kemudian direkristalisasi dengan kloroform-metanol. Endapan diuji kemurniannya dengan pengukuran titik lebur dan karakterisasi senyawa dilakukan dengan spektrofotometer inframerah spektrometer $^1\text{H-NMR}$.

- b. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Radikal DPPH

Pereaksi DPPH dibuat dengan cara melarutkan 2 mg DPPH dalam

50 mL kloroform sehingga dihasilkan larutan stok DPPH dengan konsentrasi 0,1 mM.

Larutan induk dari hasil sintesis dibuat dengan konsentrasi 2 mM kemudian diencerkan hingga mendapatkan variasi konsentrasi 0,2; 0,4; 0,6; dan 1 mM. Masing-masing konsentrasi diambil 0,5 mL untuk ditambahkan pada larutan DPPH hingga total larutan adalah 5 mL. Selanjutnya, larutan divortek selama 30 detik dan diinkubasi pada suhu kamar selama 21 jam. Setelah 21 jam, absorbansi larutan diukur dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 530 nm. Perlakuan yang sama juga dilakukan pada larutan kontrol (0,5 mL kloroform dalam 4,5 mL larutan DPPH).

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan melalui perhitungan nilai IC_{50} (*inhibitory concentration 50%*) yaitu nilai yang menggambarkan besarnya konsentrasi sampel yang dapat menghambat radikal bebas sebesar 50% yang diperoleh melalui persamaan regresi linier antara konsentrasi sampel (X) dengan persen inhibisi (Y).

Persen (%) inhibisi =

$$\frac{(\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel})}{\text{Abs kontrol}} \times 100\%$$

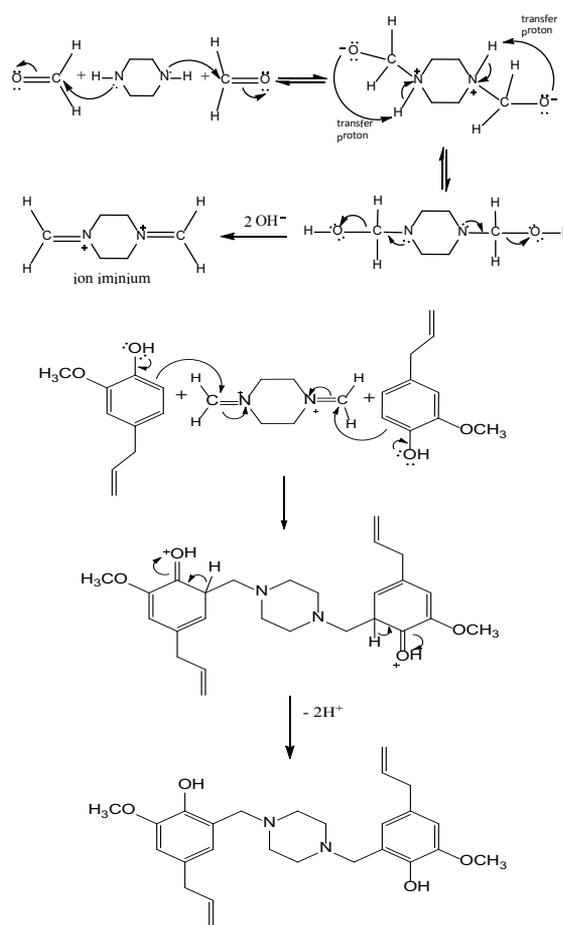
C. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Sintesis Senyawa 1,4-bis[(2-hidroksi-3-metoksi-5-(2-propenil)fenil)-metil]piperazin

Senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-(2-propenil)fenil)-metil] piperazin disintesis menggunakan bahan dasar piperazin, paraformaldehid, dan eugenol dengan perbandingan mol masing-masing adalah 1:2:2.

Untuk meningkatkan aktivitas suatu senyawa sebagai antioksidan dapat dilakukan dengan menambahkan suatu gugus pendonor elektron pada posisi *orto* dan *para* dari gugus hidroksi pada cincin benzena (Prawono, 2000). Dengan adanya gugus pendonor elektron, maka stabilisasi resonansi dari radikal fenoksi yang terbentuk menjadi lebih banyak sehingga akan menjadi lebih stabil. Dengan demikian diharapkan aktivitasnya sebagai antioksidan juga dapat menjadi lebih tinggi.

Pada penelitian ini digunakan molekul piperazin sebagai gugus pendonor elektron. Reaksi pembentukan senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-(2-propenil)fenil)-metil]piperazin diawali dengan pembentukan ion iminium oleh piperazin dan formaldehida. Mekanisme reaksi sebagaimana terlihat pada Gambar 1 berikut:



1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-(2-propenil)fenil)-metil] piperazin

Gambar 1 Mekanisme reaksi pembentukan senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-(2-propenil)fenil)-metil]piperazin

Eugenol memiliki tiga gugus pengaktivasi yaitu gugus hidroksi (-OH), gugus metoksi (-OCH₃), dan gugus propena (-C₃H₅). Gugus-gugus tersebut merupakan gugus pengarah *orto* dan *para* saat terjadi reaksi substitusi aromatik elektrofilik. Akan tetapi gugus OH merupakan gugus peng-aktivasi yang lebih kuat daripada gugus -OCH₃ dan gugus -C₃H₅, sehingga gugus OH akan lebih dominan mempengaruhi produk dari reaksi substitusi aromatik elektrofilik yang terjadi pada eugenol (Fessenden dan Fessenden, 1986).

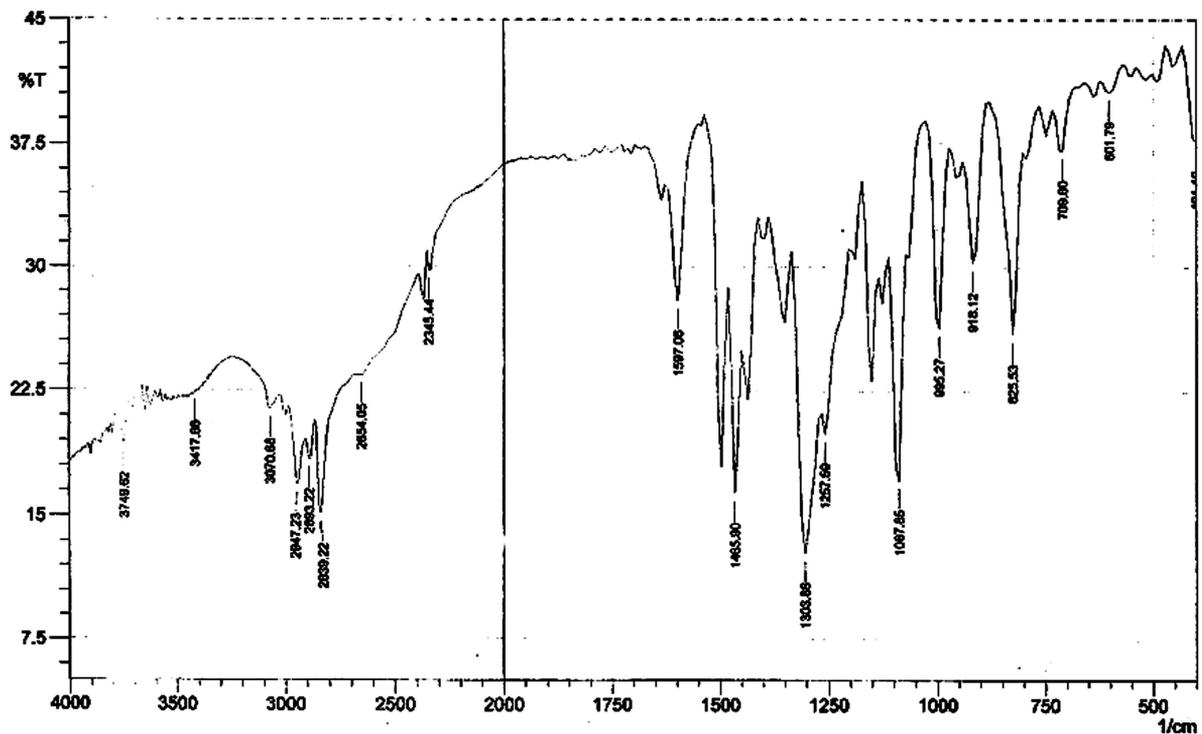
Substitusi elektrofilik yang terjadi pada eugenol akan terjadi pada posisi *orto* atau atom karbon nomor dua dari OH yang terdapat pada eugenol. Hal ini disebabkan pada posisi *orto* dan *para* lainnya telah terikat dengan suatu gugus propenil dan gugus metoksi.

Senyawa hasil sintesis ini berupa padatan berwarna putih dengan rendemen 37,63 % dan titik lebur 155-157 °C. Identifikasi produk menggunakan spektrofotometer FTIR, sebagaimana terlihat pada Gambar 2.

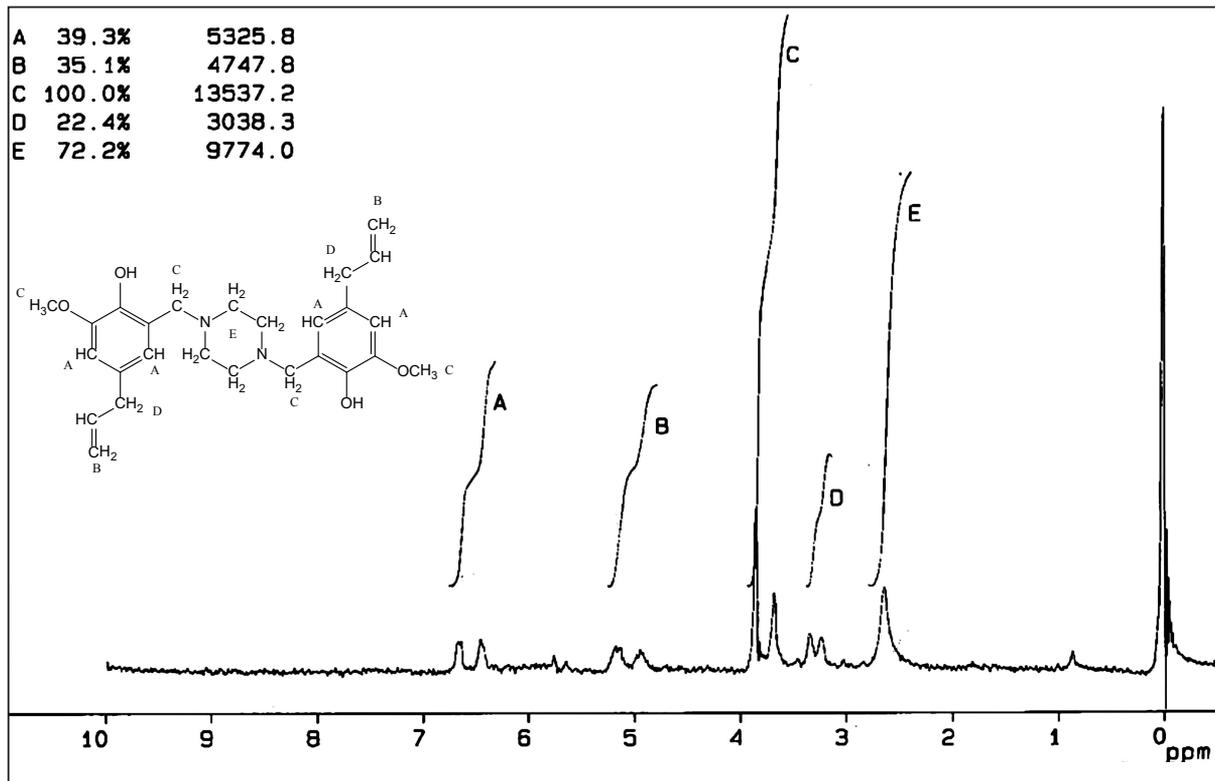
Serapan melebar pada daerah sekitar 3417,86 cm⁻¹ karakteristik untuk rentangan gugus hidroksi (-O-H). Serapan C-H aromatik muncul pada bilangan gelombang 3070,68 cm⁻¹ dan didukung oleh adanya serapan C=C aromatik pada bilangan gelombang 1597,06 cm⁻¹. Keberadaan gugus C=C alkena dapat teridentifikasi dengan munculnya serapan C-H alkena pada daerah 995,27 cm⁻¹. Sementara itu, serapan pada 1087,85 cm⁻¹ merupakan serapan C-O eter yang didukung oleh serapan C-H pada 2893,22 cm⁻¹. Serapan gugus C-N ditunjukkan pada daerah 1303,88 cm⁻¹.

Identifikasi lebih lanjut dilakukan menggunakan spektroskopi ¹H-NMR. Spektrum ¹H-NMR dari produk hasil sintesis ditunjukkan pada Gambar 3.

Spektra hasil analisis spektrometri ¹H-NMR menunjukkan terdapat 5 lingkungan proton. Proton A menunjukkan peak singlet pada pergeseran kimia 6,4-6,6 ppm yang setara dengan 4 hidrogen menunjukkan proton dari benzena. Proton B dengan pergeseran kimia



Gambar 2 Spektrum FTIR dari Senyawa Hasil Sintesis

Gambar 3 Spektrum ¹H-NMR senyawa hasil sintesis

4,9-5,1 ppm merupakan proton dari vinil terminal ($-C=CH_2$) dengan jumlah hidrogen sebanyak 4. Proton C merupakan proton gabungan dari metoksi ($O-CH_3$) dan jembatan metilen (CH_2-N) dengan pergeseran kimia 3,6-3,9 ppm yang mewakili 10 hidrogen. Proton D dengan pergeseran kimia 3,2-3,4 ppm dan hasil integrasi setara dengan 4 hidrogen yang merupakan proton dari $C=C-CH_2$. Proton E merupakan peak dari proton piperazin dengan jumlah hidrogen sebanyak 8 terdapat pada pergeseran kimia 2,5–2,7 ppm.

Berdasarkan interpretasi di atas maka dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil sintesis merupakan senyawa target yang diharapkan yaitu 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-(2-propenil)fenil)-metil]piperazin

2. Hasil Uji Aktifitas sebagai Antioksidan

Hasil uji aktivitas antioksidan senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-(2-propenil)fenil)-metil]piperazin memberikan nilai persen

inhibisi sebagaimana disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 Persen inhibisi dari eugenol dan senyawa hasil sintesis

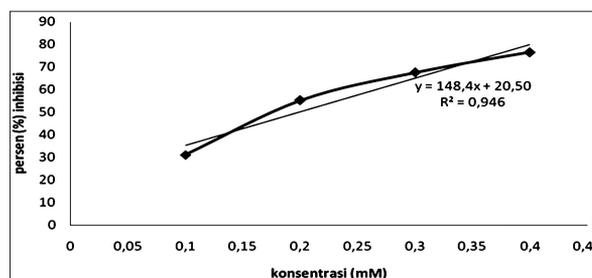
No	Konsentrasi (mM)	Persen (%) inhibisi	
		eugenol	senyawa hasil sintesis
1.	0,1	21,43	31,09
2.	0,2	46,05	55,29
3.	0,3	64,37	67,56
4.	0,4	76,30	76,47

Dari data pada Tabel 1 terlihat bahwa kemampuan senyawa 1,4-bis[(2-hidroksi-3-metoksi-5-(2-propenil)fenil)-metil]piperazin dalam menghambat DPPH lebih baik daripada senyawa induknya yaitu eugenol. Pada konsentrasi yang relatif kecil, yaitu 0,1 mM, senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-(2-propenil)fenil)-metil]piperazin sudah mampu menghambat DPPH hingga 31,09 % sedangkan eugenol hanya mampu menghambat 21,43 %. Begitu juga pada variasi konsentrasi

yang lain, senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-(2-propenil) fenil)-metil]piperazin mampu menghambat DPPH dengan lebih baik daripada eugenol.

Gambar 4 menunjukkan kurva antara konsentrasi dan persen penghambatan dari 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-(2-propenil) fenil)-metil]-piperazin.

Berdasarkan kurva pada Gambar 4, dapat diperoleh nilai IC_{50} senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-(2-propenil) fenil)-metil]piperazin adalah 0,199 mM sementara nilai IC_{50} dari eugenol adalah 0,234 mM Hal ini berarti senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-(2-propenil) fenil)-metil]-piperazin memiliki aktivitas antioksidan yang cukup baik yaitu pada konsentrasi 0,199 mM, dapat menghambat radikal sebesar 50 %.



Gambar 4 Kurva Konsentrasi vs % Inhibisi dari senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-(2-propenil) fenil)-metil]-piperazin yang diuji dengan radikal DPPH.

D. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat disimpulkan bahwa senyawa turunan eugenol yaitu 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-(2-propenil) fenil)-metil]piperazin dapat disintesis menggunakan bahan dasar eugenol, piperazin, dan paraformaldehid melalui reaksi Mannich dengan rendemen 37,63 % %. Hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan bahwa senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-(2-propenil) fenil)-metil] piperazin memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} yaitu 0,199 mM.

E. DAFTAR PUSTAKA

- Aini, N., Purwono, B., Tahir, I. 2007. Structure–antioxidant activities relationship analysis of isoeugenol, eugenol, vanilin and their derivatives. *Indo. J. Chem*, 2007, 7 (1), 61-66.
- Bondet, V., Brand-Williams W., dan Berset C., 1997, Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH • Free Radical Method, *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 30, 609–615.
- Carrasco H., Espinoza L., Cardile V., Gallardo C., Cardona W., Lombardo L., Catalán K., Cuellar M., dan Russo A., 2008, Eugenol and its Synthetic Analogues Inhibit Cell Growth of Human Cancer Cells (Part I), *J. Braz. Chem. Soc.*, 19 (3), 543-548.
- Cheng, S.S., Liu, J.Y., Chang, E.H., Chang, S.H., 2008, Antifungal activity of cinnamaldehyde and eugenol congeners against wood-rot fungi, *Bioresource Technology* 99, 5145–5149.
- Dewick, M.P., 2009, *Medicinal Natural Products A Biosynthetic Approach*, 3rd Edition, John Wiley & Sons Ltd, West Sussex.
- Fessenden, R.J., dan Fessenden J.S., 1986, *Kimia Organik*, Jilid 1, Edisi Ketiga, Terjemahan Aloysius Hadyana Pudjaatmaka, Erlangga, Jakarta.
- Gharavi, N., Susan, H., dan Ayman, O.S., 2007, Chemoprotective and Carcinogenic Effects of tert-Butylhydroquinone and Its Metabolites, *Current Drug Metabolism*, 8, 1-7.
- Khalil, M.Y., Moustafa, A.A., dan Naguib, N.Y., 2007, Growth, Phenolic Compounds, and Antioxidant Activity of Some Medical Plants Grown under Organic Farming Condition, *World Journal of Agricultural Sciences*, 3(4): 451-457.

- Ogata, M., Hoshi, M., Urano, S., dan Endo, T., 2000, Antioxidant Activity of Eugenol and Related Monomeric and Dimeric Compounds, *Chem. Pharm. Bull.*, 48 (10), 1467—1469.
- Thakur, K. dan Pitre, K.S., 2009, Anti-inflammatory Activity of Extracted Eugenol from *Ocimum sanctum* L. Leaves, *Rasayan J.Chem*, 2 (2), 472-474.
- Youngson, Robert, 2005, *Antioksidan: manfaat Vitamin C & E bagi Kesehatan*. Terjemahan Susi Purwoko, Arcan, Jakarta.