

SINTESIS, KARAKTERISASI DAN UJI AKTIVITAS SENYAWA KOMPLEKS Zn(II)-KATEKIN SEBAGAI INHIBITOR ENZIM LIPASE

Antyka Lutfiana Putri, Harsasi Setyawati, Sri Sumarsih*

Departemen Kimia Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Airlangga

*e-mail: sri-sumarsih@fst.unair.ac.id

Received 9 May 2019

Accepted 11 June 2019

ABSTRACT

The purposes of this study were synthesis, characterization and activity testing of Zn(II)-catechin as an inhibitor of *Candida rugosa* lipase enzyme. The complex compound was synthesized from $\text{ZnCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ and catechin (5,7,3',4'-tetrahydroxyflavan-3-ol). The synthesized compound was characterized based on maximum wavelength, functional groups, metal-ligand bond, and melting point. The lipase activity was determined toward *p*-nitrophenyl palmitate as a substrate. The result shows that Zn(II)-catechin could be synthesized from $\text{ZnCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ and catechin with mole ratio of 1:1. The synthesized complex compound showed maximum wavelength of 454 nm, melting point $> 250^\circ\text{C}$, and Zn-O bond at 354.90 and 478.35 cm^{-1} on FTIR spectrum. Complexing of catechin ligand with metal ions Zn^{2+} increased the % inhibition of lipase activity. The complex compounds Zn (II)-catechin 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ inhibited lipase enzyme activity by 53.621%, with mixed inhibition type.

Keyword : Zn(II)-catechin, lipase, inhibitor

Pendahuluan

Obesitas saat ini menjadi salah satu masalah kesehatan yang banyak diderita masyarakat karena dapat menurunkan produktivitas kerja, mengganggu penampilan, dan menyebabkan beberapa penyakit degeneratif seperti diabetes melitus tipe 2, kanker, dan hipertensi (Iswantini dkk, 2010). Obesitas pada hakekatnya merupakan timbunan triasilgliserol berlebih pada jaringan lemak akibat asupan energi berlebih dibanding penggunaannya (Indra, 2006). Obesitas terjadi bila asupan energi melebihi penggunaannya sebagai akibat perubahan genetik maupun lingkungan.

Pada penelitian ini akan digunakan katekin sebagai agen penghambat enzim lipase. Katekin (5,7,3',4'-tetrahydroxyflavan-3-ol) secara umum terdapat pada teh terbukti dapat untuk mempengaruhi metabolisme lipid dalam

sistem pencernaan, melalui mekanisme penghambatan enzim lipase. Teh dan komponen yang berada didalamnya telah dibuktikan memiliki efek antiobesitas dan antidiabetes efek pada manusia (Kao et al, 2006).

Pada penelitian sebelumnya, dengan membentuk senyawa kompleks logam flavonoid, menunjukkan bahwa adanya koordinasi logam dengan ligan bioaktif seperti katekin meningkatkan bioaktivitas senyawa tersebut. Contohnya adalah senyawa Cu(II)-katekin yang mempunyai aktivitas antibakteri lebih besar daripada senyawa katekin itu sendiri (Arakawa et al, 2004).

Berdasarkan latar belakang di atas, pada penelitian ini senyawa katekin dikomplekskan dengan ion logam Zn^{2+} untuk meningkatkan bioaktivitas senyawa katekin sebagai inhibitor enzim

lipase.

Metode Penelitian

Bahan-bahan penelitian

Bahan yang digunakan pada sintesis senyawa kompleks logam flavonoid sengkatekin adalah katekin hidrat (5,7,3',4'-tetrahydroxyflavan-3-ol), etanol, dan $ZnCl_2$ anhidrat, Semua bahan kimia yang digunakan berderajat *pro analysis* (p.a). Sedangkan bahan kimia yang diperlukan untuk menguji efektivitas sengkatekin sebagai senyawa uji inhibitor enzim lipase antara lain: serbuk enzim lipase *Candida rugosa* (sigma), sukrosa, larutan *p*-NP (*para*- Nitrofenol), larutan *p*-NPP (*para*- Nitrofenilpalmitat), natrium monohidrogen fosfat (Na_2HPO_4), natrium dihidrogen fosfat ($Na_2H_2PO_4$), aseton, etanol dan akuades.

Alat- alat penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, mikropipet, kertas saring, *sentrifuge*, *magnetic stirrer*, *hot plate*, corong *Buchner*, *waterbath*, tabung *Eppendorf*, peralatan refluks dan alat gelas yang biasanya dipakai di laboratorium. Penentuan karakteristik senyawa kompleks menggunakan alat *Fisher-John Point Apparatus*, Spektrofotometer UV-Vis, dan Spektrofotometer FTIR.

Sintesis senyawa kompleks Zn(II)-katekin

Sintesis senyawa kompleks Zn(II)-katekin dilakukan dengan cara perbandingan mol logam dan ligan sebesar 1:1 (Mario *et al.*, 2001). Padatan katekin sebesar 0,5805 gram (2 mmol) yang dilarutkan ke dalam 10 mL larutan etanol p.a. Sedangkan padatan $ZnCl_2$ anhidrat sebanyak 0,154 gram (2 mmol) dilarutkan dalam 10 mL etanol p.a. Campuran direfluks selama 2 jam, produk disaring dan direkristalisasi dengan etanol dan akuades dingin. Senyawa kompleks yang

diperoleh dikarakterisasi titik leleh, panjang gelombang maksimum, dan gugus fungsinya, berturut-turut menggunakan alat *Fisher-John Point Apparatus*, Spektrofotometer UV-Vis, dan Spektrofotometer FTIR.

Uji aktivitas enzim lipase dengan adanya senyawa kompleks Zn(II)-katekin

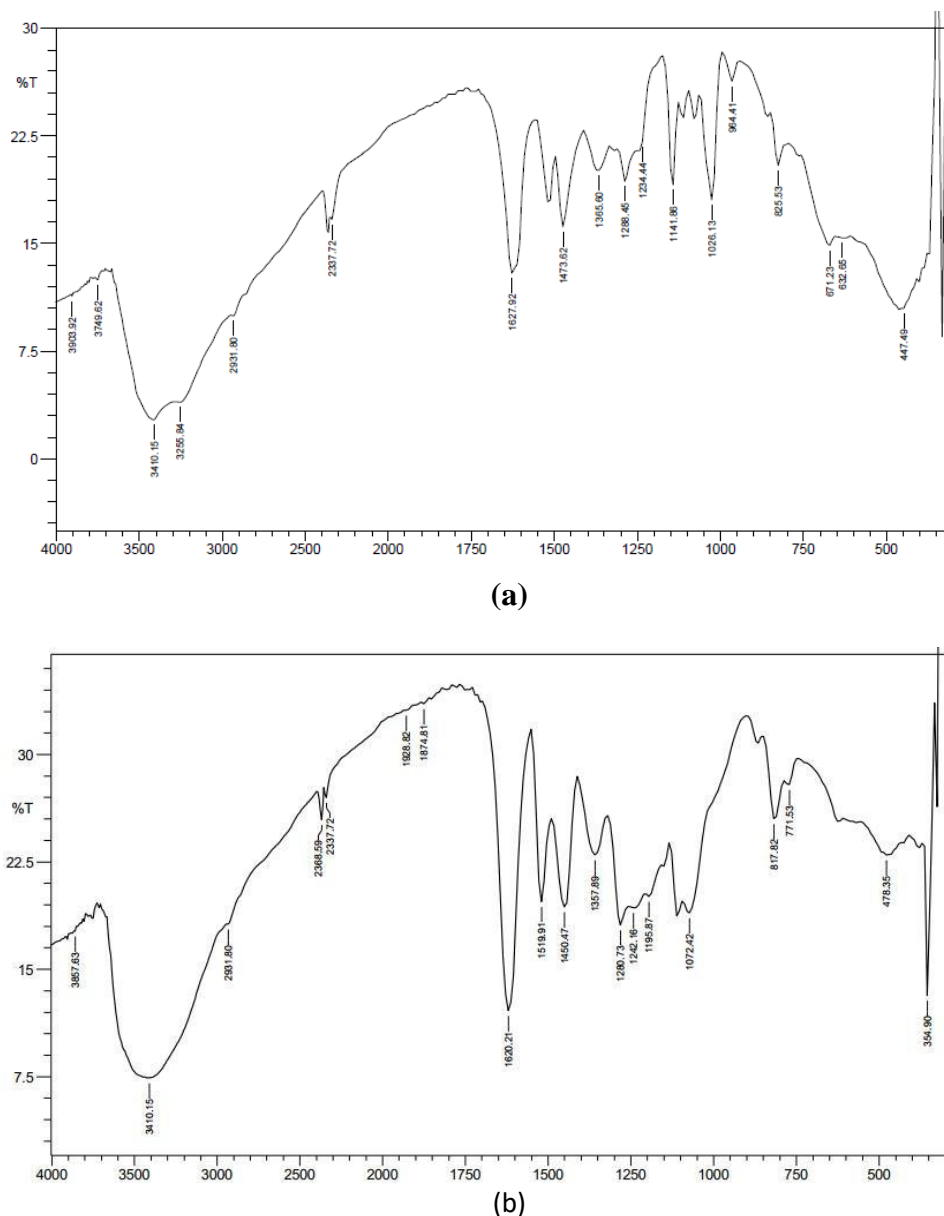
Uji aktivitas senyawa katekin dan senyawa kompleks Zn(II)-katekin sebagai inhibitor enzim lipase, dilakukan secara duplo melalui uji aktivitas enzim lipase dari *Candida rugosa* terhadap substrat *p*-nitrofenilpalmitat (*p*-NPP) dengan adanya senyawa inhibitor. Beberapa tabung *Eppendorf* disiapkan kemudian masing-masing diisi dengan 20 μ L larutan enzim lipase. Setelah itu ditambahkan larutan buffer fosfat pH optimum dan larutan senyawa uji. Senyawa uji dengan variasi konsentrasi 0, 50 dan 100 μ g/mL, kemudian campuran larutan ini didiamkan hingga 5 menit setelah itu ditambahkan 25 μ L larutan *p*-NPP (*p*-nitrofenilpalmitat) 20 mM. Campuran lalu diinkubasi dalam *waterbath* pada suhu 37⁰ C selama 20 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan larutan Na_2CO_3 (Kanwar *et al.*, 2005). Aktivitas enzim lipase dinyatakan dalam Unit/mL. Aktivitas enzim 1 Unit didefinisikan sebagai banyaknya enzim yang menghasikan 1 μ mol *p*-nitrofenol per menit.

Kinetika inhibisi enzim lipase ditentukan melalui uji aktivitas enzim lipase dengan adanya inhibitor (Zn(II)-katekin) pada berbagai konsentrasi substrat (200, 400, 600, 800, dan 1000 μ M)

Hasil dan Pembahasan

Analisis gugus fungsi serta ikatan antara logam dengan ligan dengan menggunakan spektrofotometer FTIR

Hasil analisis gugus fungsi terlihat pada Spektrum FTIR senyawa katekin dan senyawa kompleks Zn(II)-katekin ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Spektrum FTIR katekin (a) dan senyawa kompleks Zn(II)-katekin (b).

Spektrum FTIR senyawa kompleks Zn(II)-katekin pada Gambar 1. menunjukkan adanya vibrasi ikatan antara atom Zn-O dengan bilangan gelombang 354,90 dan 478,35 cm^{-1} . Terdapat puncak ligan katekin pada bilangan gelombang 3410,15 cm^{-1} . Gugus fungsi yang mengalami pergeseran bilangan gelombang yaitu gugus C-O muncul pada 1288,45 cm^{-1} sedangkan pada senyawa kompleks gugus C-O muncul pada 1280,73

cm^{-1} .

Karakterisasi senyawa kompleks Zn(II)-katekin

Larutan senyawa kompleks Zn(II)-katekin, dan katekin diukur serapannya pada rentang panjang gelombang 200-800 nm dan ditentukan titik lelehnya menggunakan *Fischer John melting point Apparatus*. Hasil karakterisasi senyawa kompleks Zn(II)-katekin tercantum pada Tabel 1.

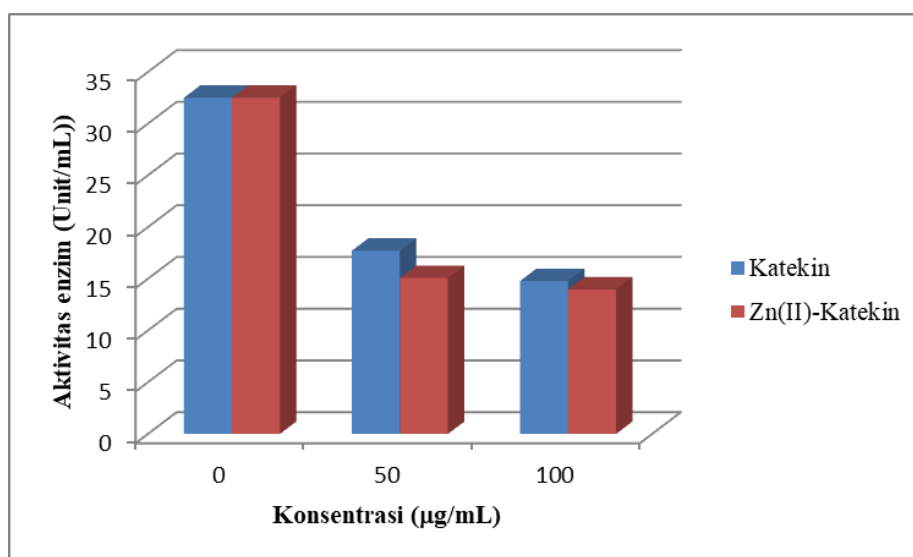
Tabel 1. Hasil karakterisasi senyawa kompleks Zn(II)-katekin

No.	Senyawa	λ_{maks}	Titik leleh ($^{\circ}C$)
1.	Katekin	450	175
2.	ZnCl ₂ 6H ₂ O	281	420
3.	Zn(II)-katekin	454	>250

Uji inhibisi senyawa kompleks Zn(II)-katekin terhadap aktivitas enzim lipase

Uji inhibisi senyawa kompleks Zn(II)-katekin terhadap aktivitas enzim lipase dilakukan melalui uji aktivitas enzim lipase dengan penambahan katekin

dan Zn(II)-katekin dengan variasi konsentrasi 0, 50 dan 100 $\mu\text{g/mL}$. Grafik pengaruh senyawa uji terhadap aktivitas enzim lipase *Candida rugosa* tercantum pada Gambar 2.

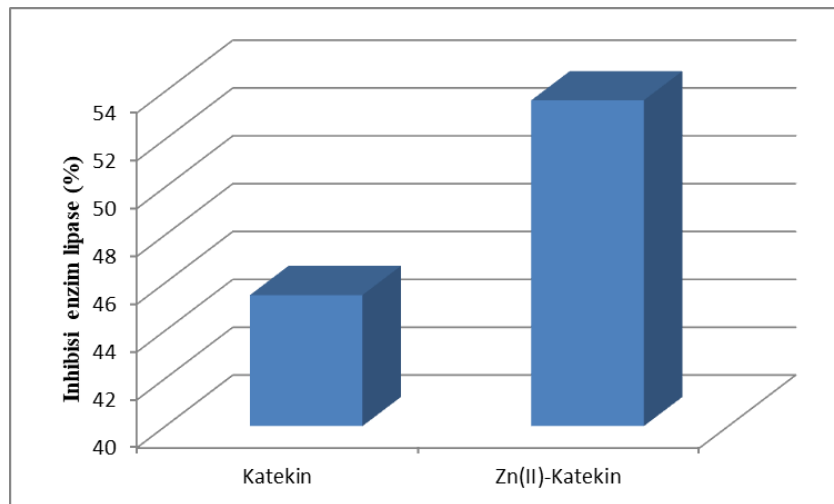


Gambar 2. Grafik pengaruh senyawa katekin dan Zn(II)-katekin terhadap aktivitas enzim lipase *Candida rugosa*

Grafik pada Gambar 2. menunjukkan bahwa senyawa katekin dan Zn(II)-katekin merupakan inhibitor enzim lipase dari *Candida rugosa*. Senyawa katekin dengan konsentrasi 50 dan 100 $\mu\text{g/mL}$ menghambat aktivitas enzim lipase sebesar 45,477% dan 54,526%. Sedangkan senyawa kompleks Zn(II)-katekin menghambat aktivitas enzim lipase sebesar 53,621% dan 57,012%.

Efek penghambatan senyawa kompleks Zn(II)-katekin lebih besar dibandingkan dengan efek penghambatan senyawa ligan

katekin terhadap aktivitas enzim lipase. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa pengompleksan ligan katekin dengan ion logam Zn^{2+} dapat meningkatkan aktivitasnya sebagai inhibitor enzim lipase, sebagaimana ditunjukkan oleh grafik pada Gambar 3. Senyawa kompleks Zn(II)-katekin 50 $\mu\text{g/mL}$ menyebabkan penghambatan aktivitas enzim lipase sebesar 53,621%, sedangkan senyawa katekin 50 $\mu\text{g/mL}$ menyebabkan penghambatan aktivitas enzim lipase sebesar 45,477%.



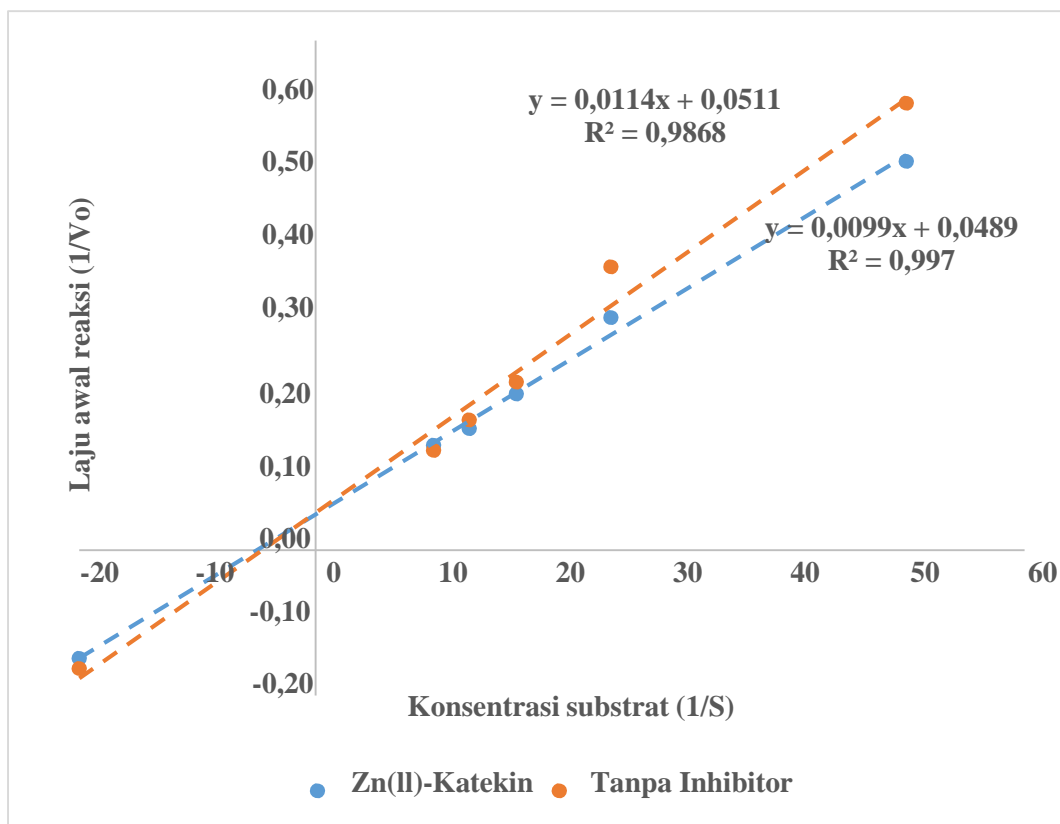
Gambar 3. Grafik pengaruh pengompleksan ligan katekin dengan ion logam Zn^{2+} terhadap % inhibisi aktivitas enzim lipase

Kinetika inhibisi enzim lipase oleh

Kinetika inhibisi enzim lipase dipelajari melalui uji aktivitas enzim lipase terhadap berbagai konsentrasi substrat p-NPP dengan adanya inhibitor senyawa Zn(II)-katekin. Grafik *Lineweaver-Burk* antara

senyawa kompleks Zn(II)-katekin

$1/\text{laju reaksi awal}$ ($1/V_0$) sebagai sumbu y dan $1/\text{konsentrasi substrat}$ ($1/S$) sebagai sumbu x dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Grafik *Lineweaver-Burk* reaksi inhibisi aktivitas enzim lipase oleh senyawa kompleks Zn(II)-katekin

Berdasarkan grafik pada Gambar 4, dapat dihitung Nilai K_M yang diperoleh dari adanya penambahan inhibitor sebesar $0,2024 \mu\text{M}$ dan nilai V_{maks} diperoleh sebesar $20,44 \mu\text{M}/\text{menit}$. Sedangkan nilai K_M enzim lipase tanpa adanya penambahan inhibitor sebesar $0,2231 \mu\text{M}$ dan nilai V_{maks} yang diperoleh sebesar $19,56 \mu\text{M}/\text{menit}$.

Pada grafik *Lineweaver-Burk* nampak bahwa kedua garis saling berpotongan, tetapi tidak memotong sumbu X dan sumbu Y. Berdasarkan harga K_M dan V_{maks} enzim lipase tersebut menunjukkan bahwa K_M dan V_{maks} enzim lipase tanpa inhibitor dan dengan adanya inhibitor mempunyai harga yang berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa reaksi inhibisi senyawa kompleks Zn(II)-katekin terhadap enzim lipase merupakan reaksi inhibisi tipe campuran (*mixed inhibition*). Inhibisi campuran merupakan kombinasi dari inhibisi kompetitif dan inhibisi unkompetitif (Hegyí et al., 2013).

Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Karakteristik senyawa kompleks Zn(II)-katekin hasil sintesis memiliki titik leleh lebih dari 250°C , dengan panjang gelombang maksimum sebesar 454 nm , dan ikatan antara logam dengan ligan terlihat pada puncak serapan bilangan gelombang $478,35 \text{ cm}^{-1}$.
2. Pengompleksan ligan katekin dengan ion logam Zn^{2+} dapat meningkatkan % inhibisi terhadap aktivitas enzim lipase dari *Candida rugosa*
3. Senyawa kompleks Zn(II)-katekin $50 \mu\text{g}/\text{mL}$ menyebabkan penghambatan aktivitas enzim lipase sebesar $53,621\%$, dengan tipe inhibisi campuran (*Mixed inhibition*).

Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, disarankan untuk dilakukan uji inhibisi senyawa kompleks Zn(II)-katekin terhadap enzim lipase pankreas untuk pengembangan lebih lanjut sebagai kandidat antiobesitas.

Daftar Pustaka

- Arakawa H., Maeda M., Okubo S., Shimamura T. 2004, *Role of Hydrogen Peroxide in Bactericidal Action of Catechin*. Biol. Pharm. Bull., 27, 277-281.
- Indra, M. R. 2006. dasar genetik obesitas visceral. Jurnal Kedokteran Brawijaya, Fakultas Kedokteran Unibraw. 22: (1). 1-10 Hal.
- Iswantini, D., Latifah K. Darusman., Ana Fitriyani. 2010. Uji In Vitro ekstrak Air Dan Etanol Dari Buah Asam Gelugur, Rimpang Lengkuas, Dan Kencur Sebagai Inhibitor Aktivitas Lipase Pankreas. Departemen Kimia FMIPA IPB. 1-6 hal.
- Kanwar, S.S., Kaushal, R. K., Jawed, A., Gupta, R., Chimi, S.S. 2005. Methods for inhibition of residual lipase activity in colorimetric assay: A comparative study. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, 42;233-237.
- Kao, Y.H., Chang, H., Lee, M.J., and Chen, C. L. 2006. Tea, Obesity and Diabetes. *Molecular Nutrition and Food Research*, 50: 188-210.
- Hegyí, G., Jozsef kofacs., Andras M.C., Laszlo N., Gabor P., Laszlo R., Attila R., Istvan V. 2013. Introduction to Practical Biochemistry. Eotvos Lorand University.
- Mario E. Bodini, M.A Del Valle, Ricardo Tapia, Federico Leighton and Lorena Gonzalez. 2001, *Study of the iron catechin complexes*

indimethyl sulphoxide, Santiago.
Chille. Facultad de Ciencias
Biologicas, Pontificia Universidad
Catolica de Chille.