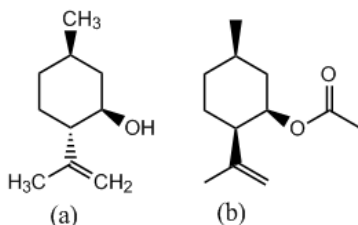


BAB II TINJAUAN PUSTAKA

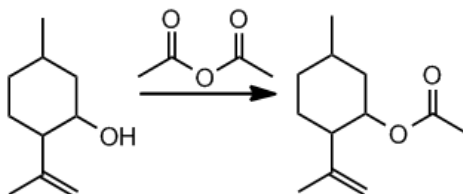
2.1 Isopulegил Asetat sebagai Senyawa Turunan dari Isopulegил

Isopulegил adalah isolat dari reaksi siklisasi senyawa sitronelal. Selain itu isopulegил berperan sebagai senyawa *intermediet* dalam pembentukan mentol[19]. Isopulegил dapat ditemukan pada tumbuhan beraroma seperti *Corymbia citriodora Hook*, *Eucalyptus citriodora Hook*, *Zanthoxylum schinifolium*. Senyawa isopulegил termasuk dalam kelompok monoterpen *p*-mentana-3-ol yang memiliki sifat fisik dan komponen yang sangat penting di alam. Senyawa ini bermanfaat sebagai parfum, bahan aditif makanan, sabun, bahan kosmetik, zat pendingin dan untuk keperluan farmasi[20].



Gambar 2.1 Struktur (-)-isopulegил(a) dan (-)-isopulegил asetat(b)[5]

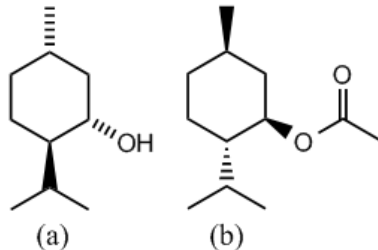
Menurut Cahyono, dkk (2009)[13] menyatakan bahwa Isopulegил asetat dapat disintesis melalui satu tahap yaitu siklisasi-asetilasi sitronelal menjadi isopulegил asetat atau dua tahap yang meliputi reaksi siklisasi sitronelal menjadi isopulegил dan asetilasi isopulegил menjadi isopulegил asetat.



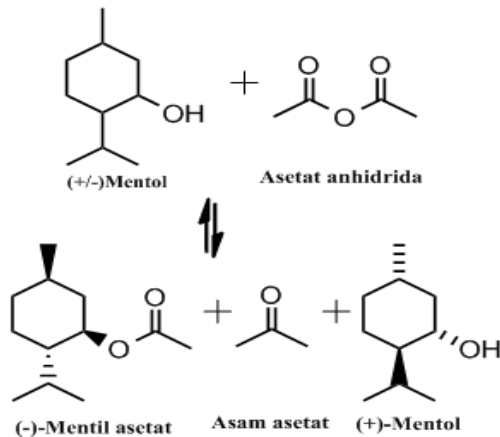
Gambar 2.2 Sintesis reaksi asilasi isopulegил menjadi isopulegил asetat [8].

2.2 Mentil Asetat sebagai Senyawa Turunan dari Mentol

Mentol (2-isopropil-5-metilsikloheksanol) adalah senyawa alkohol monotropen siklik yang mempunyai 8 isomer aktif dan dapat ditemukan dalam daun *Mentha canadensis L* dan *M. x piperita L*[22]. Mentol bermanfaat sebagai bahan penyedap (flavour) dan juga sebagai bahan untuk mengurangi iritasi, khususnya pada tenggorokan. Mentol dapat dihasilkan dari proses ekstraksi tanaman mint. Selain itu dapat diperoleh melalui proses siklisasi sitronelal disertai hidrogenasi[23].



Gambar 2.3 Struktur mentol(a) dan mentil asetat(b)[24]

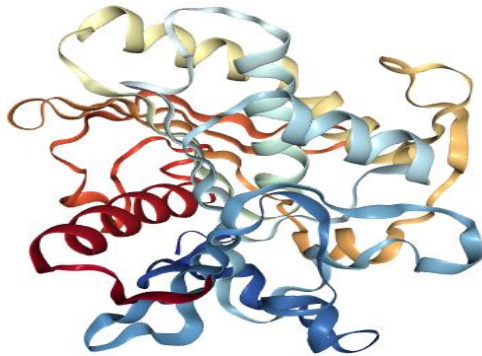


Gambar 2. 4 Sintesis reaksi asilasi mentol menjadi mentil asetat [8].

2.3 Enzim Lipase dari *Rhizomucor miehei*

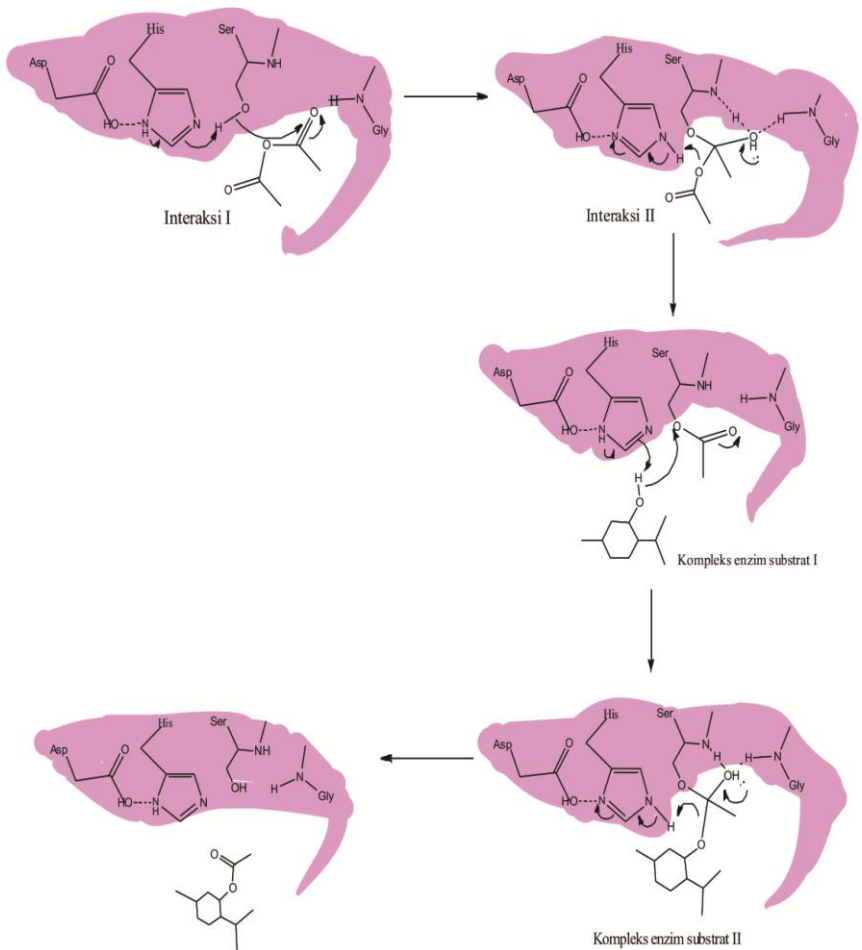
Lipase (EC 3.1.1.3) *triacylglycerol hydrolase* merupakan enzim yang memiliki peran penting dalam bioteknologi modern. Lipase terkenal memiliki aktivitas yang tinggi dalam reaksi hidrolisis dan dalam kimia sintesis. Lipase dapat berperan sebagai biokatalis untuk reaksi-reaksi hidrolisis, esterifikasi, alkoholisis, asidolisis, dan aminolisis[25]. *Reaksi* yang dikatalisis oleh *lipase* berlangsung pada sisi aktif enzim. Sisi aktif lipase terdiri dari serin, histidin dan aspartat.

Lipase dari *Rhizomucor miehei* merupakan enzim yang dapat diamobilisasi dan dapat larut untuk membantu proses reaksi dengan aktivitas yang tinggi dan kestabilan yang baik untuk kondisi eksperimental misalnya pada penggunaan pelarut organik anhidrat, cairan superkritikal,dll[26]. *Rhizomucor miehei* merupakan jenis jamur termofilik yang dapat berkembang secara optimal pada suhu 50°C[27]. Kerja lipase *Rhizomucor miehei* teramobil pada bahan liposomal nanosphere terletak pada range 27°C-80°C. Temperatur optimum dari penelitian tersebut terletak pada suhu 37°C dengan hasil rendemen sebesar 93%[28].



Gambar 2.5 Struktur enzim lipase dari *Rhizomucor miehei* (RCSB Protein Data Bank)

Mekanisme reaksi esterifikasi menggunakan katalis lipase dari *Rhizomucor miehei* ditunjukkan pada **gambar 2.6**[29]:



Gambar 2. 6 Mekanisme reaksi esterifikasi isopulegol menggunakan katalis lipase dari *Rhizomucor miehei*[29].

Dalam mekanisme tersebut terlihat bahwa reaksi dimulai dengan terjadinya interaksi antara asam asetat anhidrat dengan serin pada asam amino. Interaksi ini terlihat pada **interaksi I**. hasil interaksi I menghasilkan **kompleks enzim substrat I** antara asam

asetat anhidrat dengan enzim lipase. Kompleks enzim substrat melepaskan ion asetat sebagai hasil sampingnya. Kemudian, gugus alkoholl dari isopulegol menyerang kompleks enzim-substrat seperti yang terlihat pada **interaksi II**. Hasil dari **interaksi II** ini menghasilkan **kompleks enzim substrat II** dan lebih lanjut menghasilkan produk ester berupa isopulegil asetat.

2.4 Docking Molekul Ligan

Molecular docking adalah metode komputasi yang digunakan untuk menggambarkan interaksi antara ligan dengan reseptor atau protein yang menjadi targetnya pada uji in vitro. Interaksi antara ligan dengan sisi aktif proteinnya bersifat spesifik sehingga hanya dapat terjadi apabila terdapat kesesuaian bentuk dan volume diantara keduanya. Selain itu gugus fungsional yang penting pada ligan harus berada pada posisi yang sesuai dengan situs aktif atau situsambat dimana enzim dibuat rigid sedangkan ligan dibiarkan berotasi atau berkonformasi sehingga proses docking akan berjalan seperti mekanisme *lock and key*[30]. Pengubahan konformasi akan menghasilkan sejumlah energi gibbs penambatan ($\Delta G_{binding}$).

Interaksi ligan (L) dengan reseptor (R) pada umumnya dinyatakan dalam persamaan reaksi sebagai berikut [31].



Reaksi ke arah kanan dinyatakan sebagai reaksi asosiasi dengan konstanta keseimbangan K_A dan reaksi ke arah kiri adalah reaksi disosiasi dengan konstanta kesetimbangan K_d , dengan asumsi bahwa reaksi pengikatan ligan dengan reseptor bersifat homogen, maka kesetimbangan dapat dinyatakan sesuai dengan persamaan berikut ini [32].

$$\frac{[R][L]}{[R-L]} = K = K_d \quad (2.2)$$

K_d adalah ukuran dari kecenderungan terdisosiasinya kompleks R - L. Semakin besar nilai K_d maka kompleks R - L semakin cenderung terpisah menjadi molekul L dan R. $\Delta G_{binding}$ menggambarkan kekuatan ikatan antara enzim dengan ligan. Interaksi enzim-ligan dengan nilai energi *gibss* yang rendah memiliki ikatan kuat nilai energi *gibss* (ΔG^0) yang rendah memiliki ikatan yang kuat. Hal tersebut didasarkan pada persamaan[33].

$$\Delta G = -RT \ln K_d \quad (2.3)$$

$$K_A = K_i^{-1} = \frac{[EI]}{[E][I]} \quad (2.4)$$

Pada persamaan terlihat hubungan antara K_i dan $\Delta G_{binding}$ dimana semakin turun nilai K_i maka nilai ΔG turun. Nilai K_i yang kecil menunjukkan ikatan pada interaksi enzim-ligan yang kuat. Nilai K_i diperoleh dari hasil docking dan berpengaruh terhadap kekuatan ikatan. Nilai docking antara ikatan yang terjadi pada ligan dengan reseptor meliputi pengaruh energi elektrostatik, Van der Waals dan energi solvasi[34].

2.5 Pemodelan Interaksi Ligan-Reseptor secara *In Silico*

Interaksi antara ligan dengan reseptor dapat dilakukan dengan penambatan molekuler menggunakan simulasi komputer. Dua unsur tersebut akan diikat secara *in silico* dengan beberapa perangkat lunak tertentu[34].

Hyperchem adalah perangkat lunak yang digunakan untuk optimasi struktur geometri melalui minimisasi energi struktur sehingga mendapatkan konformasi struktur ligan paling stabil. Perhitungan mekanika kuantum yang digunakan seperti *Extended Huckel*, CNDO, MINDO, AM1, PM3, ZINDO/I dan ZINDO/S[35].

Open babel adalah suatu program yang digunakan untuk mengubah format berkas kimia yang digunakan dalam memproses data kimia komputasi, dinamika molekuler, penambatan molekuler, dan lain-lain. Selain itu perangkat ini digunakan untuk penambahan hidrogen, membuat struktur 3 dimensi, mengkalkulasi muatan parsial serta pemisahan duplikasi senyawa dari suatu sel data[36].

Open babel mendukung 111 format berkas kimia yang dapat membaca 82 format dan menulis 85 format. Open babel mencakup dua komponen yaitu command-line dan C++ library. Command-line digunakan untuk mengubah format antara beberapa format file kimia. C++ library mencakup semua kode untuk mengubah format file-file tersebut sehingga memungkinkan penggunaannya pada berbagai sistem operasi (Windows, MacOS X, Linux) dan platform (32-bit, 64-bit)[37].

Struktur molekul, urutan, data refleksi X-ray, script dan data lainnya dilihat dan diedit melalui *Discovery Studio*. Aplikasi ini digunakan pada windows dan linux dan terintegrasi dengan dekstop

yang menyediakan akses ke fitur sistem operasi standar seperti sistem berkas, *clipboard* dan percetakan[38].

iGEMDOCK merupakan program *docking/screening* otomatis. *iGEMDOCK* memiliki dua menu utama yaitu menu *docking/screening* dan menu *post-analyzing*. *Docking/ screening* digunakan sebagai rancangan untuk memprediksikan bagaimana ligan berikatan dengan reseptor. Prediksi ikatan ligan-reseptor ini dapat dimodelkan melalui *post-analyzing*[39]. Melalui *iGEMDOCK*, dapat diketahui profil protein-ligan, interaksi farmakologi dan kelompok senyawa. Selain itu juga dapat diidentifikasi inhibitor baru dan sisi aktif baru untuk beberapa target molekul[40].

2.6 Hipotesis

Selektivitas reaksi asilasi campuran isopulegol dan mentol menggunakan enzim lipase dari *Rhizomucor miehei* dipengaruhi oleh waktu reaksi, perbandingan mol substrat dengan enzim dan struktur substrat yang akan bereaksi dengan lipase.