

Isolasi dan karakterisasi lipase rhizopus stolonifer UICC 137 serta aplikasinya untuk resolusi (R,S)-ibuprofen metil ester

Sri Sumarsih, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=72455&lokasi=lokal>

Abstrak

Aktivitas biologi, toksisitas, disposisi dan metabolisme obat sangat berbeda untuk masing-masing enansiomer obat khiral. Banyak senyawa khiral yang aktivitas biologinya semata-mata terletak pada salah satu enansiomer, sedangkan enansiomer pasangannya bersifat kurang potensial untuk pengobatan, tidak aktif, bersifat toksik atau bahkan bereaksi berlawanan dengan efek yang diinginkan.

Penelitian ini bertujuan melakukan isolasi dan karakterisasi lipase R stolonifer UICC 137 serta aplikasinya sebagai biokatalis untuk hidrolisis (R,S)-ibuprofen metil ester.

Lipase diisolasi dari enzim kasar dengan metode pengendapan bertahap menggunakan amonium sulfat. Aktivitas lipolitik lipase ditentukan terhadap substrat minyak zaitun dengan metode titrimetrik. Resolusi (R,S)-ibuprofen metil ester dengan biokatalis lipase dilakukan dengan metode hidrolisis di dalam buffer pH 7,0 dan temperatur 40-42°C. Sebagai pembanding, dilakukan resolusi (R,S)-ibuprofen metil ester dengan biokatalis lipase *Candida rugosa* (Sigma). Analisis produk resolusi dilakukan dengan spektrofotometer IR, polarimeter dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yang dilengkapi dengan kolom khiral Cyclobond I 2000.

Kondisi optimum untuk penentuan aktivitas lipolitik adalah pH 7-7,5 dan temperatur 37°C. Enzim kasar R. stolonifer UICC 137 mempunyai aktivitas spesifik 20,20 Unit/ mg protein, nilai V_{maks} = 15,15 μ mol/menit dan KM = 12,5 mg/ ml. Enzim kasar dapat mempertahankan aktivitas lipolitiknya sebesar 79,90 %, 68,04 % dan 52,62 % setelah diinkubasi selama 90 menit pada temperatur 40, 50 dan 60°C. Diantara 4 fraksi lipase yang diperoleh, lipase fraksi 30 - 60 % mempunyai aktivitas spesifik yang lebih tinggi yaitu 47,70 -Unit/mg protein. Resolusi (R,S)-ibuprofen metil ester dengan biokatalis lipase fraksi 30 - 60 % menghasilkan produk ibuprofen (43,1456 %) dengan kelebihan enansiomer-S (enantiomeric excess = ees) = 19,334 %.

<hr>

Isolation and Characterization of *Rhizopus stolonifer* UICC 137 Lipase and Its Application for Resolution of (R,S)-Ibuprofen Methyl Ester The biological activity, toxicity, drug disposition and metabolism can be dramatically different for the enantiomers of a chiral drug. There are numerous chiral compounds in which the desired biological activity solely resides in one enantiomer of chiral drug, with the other isomers being less potent, inactive, toxic, or even acting with cross-purpose effect.

The aim of this study was to isolate and characterize the crude lipase of *Rhizopus stolonifer* UICC 137. Characterization of lipase was focused on the specific ability of lipase to hydrolyze (R,S)-ibuprofen methyl ester.

The lipase was isolated from the crude enzyme by ammonium sulfate precipitation method. The lipolytic activity was determined by titrimetric method toward olive oil - arabic gum emulsion as a substrate. The lipase-catalyzed resolution of (R,S)-ibuprofen methyl ester were carried out at 40-42° C in phosphate buffer pH 7,0. The resolution products were analyzed by IR Spectrophotometer, polarimeter and HPLC system equipped with a chiral column of CyclobondI 2000. A resolution of (R,S)-ibuprofen methyl ester using *C rugosa* lipase (Sigma), was used as a reference.

The optimum condition for lipolytic activity measurement were pH of 7,5 and temperature of 37° C. The crude enzyme has a specific activity of 20,20 Unit/ mg protein, the V_{max} was 15,15 $\mu\text{mol}/\text{min}$ and K_m was 12,5 mg/ ml. The crude enzyme retained 79,90 %, 68,04 % and 52,62 % of its lipolytic activity, when incubated for 90 minutes at temperature of 40, 50 and 60 ° C respectively. Among four lipase fraction, the 30 - 60 % lipase fraction has a higher specific activity of 47,70 Unit/ mg protein. The resolution of (R,S)-ibuprofen methyl ester by the 30 - 60 % lipase fraction produced an enantioenriched S(+)-ibuprofen with an enantiomeric excess of 19,334 %.