

## RINGKASAN

### STUDI FISIKO-KIMIA MEKANISME PEMBEBASAN BESI(III) DALAM KOMPLEKS BESI(III)-AZOTOBACTINE $\delta$

**Handoko Darmokoesoemo, 2005, 43 Halaman**

Unsur Fe adalah suatu unsur yang penting (essensial), yang dibutuhkan dalam beberapa sistem biologis, sebagai contoh : unsur tersebut berperan sebagai katalis dalam proses transfer elektron dalam suatu sistem baik biologis maupun kimia, juga berperanan sebagai transport oksigen (dalam hemoglobin, myoglobin), terlibat dalam metabolisme enzimatik hidrogen (hidrogenase) atau peroksidase, katalase serta nitrogenase.

Unsur Fe juga didapatkan dalam beberapa senyawa flavoprotein dan sulfur protein. Walaupun unsur Fe ada dalam jumlah yang cukup berlimpah dalam kerak bumi, tetapi kebutuhan dalam bentuk ion Fe(III) yang terlarut sangat terbatas, dikarenakan daya larut bentuk polihidroksidanya  $[\text{Fe}(\text{OOH})_n]$  pada kondisi pH fisiologis sangat rendah ( $K_{sp} = 2 \times 10^{-38}$ ).

Untuk keperluan hidupnya, mikroorganisme (bakteri atau jamur) memerlukan juga unsur Fe tersebut, tetapi dalam bentuk terlarut (ion  $\text{Fe}^{3+}$ ), yang selanjutnya ditransportasikan dalam sistem membran selnya. Untuk melangsungkan dan memperlancar sistem metabolisme Fe dalam sistem membran selnya, mikroorganisme dipaksa untuk mensintesis secara biologis (biosintesis) suatu zat yang memiliki massa molekul relatif sekitar 500-2000 Dalton yang dikenal dengan nama siderophores, yang merupakan ligan khelat yang amat kuat untuk mengikat ion Fe(III) dan memiliki kemampuan untuk melarutkan, mengassimilasi serta mentransportasikan ion Fe tersebut ke dalam jaringan sel mikroorganisme tersebut. Secara umum berdasarkan gugus khelat bidentat yang dimilikinya, siderophores digolongkan menjadi tiga golongan, yaitu :

- siderophores trikatekolat.
- siderophores trihidroksamat.
- siderophores campuran yang mengandung gugus khelat bidentat : katekolat, hidroksamat dan asam  $\alpha$ -hidroksi karboksilat.

Masalah yang paling utama, dalam mempelajari mekanisme transpor Fe melalui sistem membran sel mikroorganisme tersebut, adalah : bagaimana cara untuk membebaskan kelebihan unsur Fe yang terikat kuat dalam bentuk kompleks Fe(III)-siderophore pada jaringan sel membran bagian dalam (interior), sesudah tahap asimilasi Fe tersebut.

Kelebihan unsur Fe tersebut haruslah dibebaskan, dikarenakan dapat mengakibatkan degenerasi dan kerusakan pada jaringan sel membran tersebut. Secara umum telah diusulkan mekanisme pembebasan kelebihan unsur Fe tersebut, melalui dua tahap mekanisme yang berbeda, yaitu : 1. Mekanisme pertukaran ligan, antara ligan siderophore dengan ligan biologis lainnya, sehingga terbentuk kompleks Fe(III)-ligan biologis yang memiliki kestabilan jauh lebih rendah daripada kestabilan kompleks Fe(III)-siderophore, sehingga memudahkan untuk proses pembebasan unsur Fe yang terikat tersebut (ligan biologis yang digunakan, adalah EDTA yang merupakan model perwakilan ligan biologis) ; 2. Mekanisme reduksi Fe(III)-siderophore yang stabil, menjadi kompleks Fe(II)-siderophore yang memiliki kestabilan jauh lebih rendah, sehingga memudahkan untuk proses pembebasan unsur Fe yang terikat tersebut.

Dalam penelitian ini, dilakukan isolasi dan pemurnian suatu jenis "siderophore" yang dikenal dengan nama "Azotobactine  $\delta$ ", suatu siderophore yang dibiosintesis oleh bakteri "Azotobacter vinelandii (Strain D)", dan dipelajari dalam skala laboratorium (secara *in vitro*) mekanisme pembebasan Fe yang terikat dalam bentuk kompleks Fe(III)-Azotobactine  $\delta$ , melalui jalur mekanisme reduksi elektrokimia dengan metoda voltameter siklis reversibel, dan mekanisme pertukaran ligan dengan metoda spektrofotometri UV-VIS.

Dari hasil studi mekanisme pembebasan Fe yang terikat dalam kompleks Fe(III)-Azotobactine  $\delta$  lewat mekanisme pertukaran ligan antara ligan Azotobactine  $\delta$  dengan ligan EDTA pada variasi pH antara 3,644 dan 5,183 ,

diperoleh harga  $k_{obs}$  (tetapan laju reaksi pertukaran ligan total) sebesar  $3,263 \times 10^{-4}$  detik<sup>-1</sup> pada pH = 3,644 dan  $7,293 \times 10^{-5}$  detik<sup>-1</sup> pada pH = 5,183 , dengan 3 tahapan mekanisme, sebagai berikut :

- Tahap 1 : tahap kesetimbangan protonasi kompleks Fe(III)-Azotobactine  $\delta$  yang berlangsung cepat.
- Tahap 2 : reaksi bimolekuler dengan EDTA, membentuk kompleks terner (kompleks intermediet) yang berlangsung cepat.
- Tahap 3 : disosiasi kompleks terner yang terbentuk menjadi ligan bebas Azotobactine  $\delta$ .

Sedangkan dari hasil studi mekanisme pembebasan Fe dalam kompleks Fe(III)-Azotobactine  $\delta$  lewat jalur mekanisme reduksi elektrokimia, menghasilkan harga potensial oksido-reduksi kompleks Fe(III)/Fe(II)-Azotobactine  $\delta$  sebesar  $\pm (389 \pm 10)$  mvolt dan harga tetapan kestabilan pembentukan kompleks Fe(II)-Azotobactine  $\delta$  sebesar  $\log K_{Fe(II)-Azotobactine \delta} = 8,456$ .

(L.P. : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Unair 729/JO3.2/PG/2005, 15 Juli 2005)

## SUMMARY

### STUDY ON PHYSICAL-CHEMICAL MECHANISM OF IRON REMOVAL FROM THE FERRIC COMPLEXE OF AZOTOBACTINE $\delta$ IN VITRO WAY

**Handoko Darmokoesoemo, 2005, 43 pages**

Iron is an essential element in many biological systems. It catalyzes electron transfer in reactions as crucial and as different as those which occur in the transport or the storage of oxygen (hemoglobin, myoglobin), in the metabolism of hydrogen (hydrogenases), or of oxygen (peroxydase, catalase) or in that of nitrogen (nitrogenases). It is also present in a number of flavoproteins and sulfur proteins. In spite of the abundance of iron (5 % of the earth crust), its availability is dramatically limited by the very high insolubility of iron(III) at physiological pH ( $K_{sp} = 2 \times 10^{-38}$ ). Iron metabolism in the microorganisms necessitates the biosynthesis of low molecular weight substances (500-2000 Dalton) called siderophores. These molecules, generally excreted into the culture medium, chelate very strongly iron(III), solubilize it, and transport it then into the cells using a high affinity transport system.

These molecules present a great diversity in their structures. One can classify arbitrarily the siderophores into three large groups of compounds as a function of these chelating bidentate group :

- the tricatecholate siderophores.
- the trihydroxamate siderophores.
- and the mixed siderophores which can contain catecholates, hydroxamates,  $\alpha$ -hydroxyacids, or any other bidentate chelating groups.

The main subject in the study of iron transport mechanism through cell membrane system of microorganisms, is : how the way to release or removal abundance of iron element very strongly bonded in the form of ferric complex of siderophore on the interior of cell membrane tissue.

The iron element that very strongly bonded in the form of ferric complex of siderophore must be released intracellularly after assimilation step of iron, because it can provoke degeneration and destruction (damage) on cell membrane tissue of microorganism.

Generally, it has proposed two mechanisms to release iron element that very strongly bonded in the complex of Fe(III)-siderophore through two methods. First method is ligand exchange reaction between siderophore ligand with another biological ligand (we used commonly EDTA ligand as a model representative of biological ligand) to form complex of Fe(III)-EDTA that has stability lower than stability of ferric complex of siderophore, so that process of iron removal from this complex becomes easier. Second method is electrochemical reduction of ferric complex of siderophore to form its ferrous complex that has stability constant lower than ferric complex, so that release of iron element from this complex becomes easier.

In this research, has been isolated and purification of siderophore called "Azotobactine  $\delta$ " that produced biosynthesically by *Azotobacter vinelandii* bacteria, and studied in vitro the mechanism of iron removal from ferric complex of Azotobactine  $\delta$  by two methods i.e. : ligand exchange reaction and electrochemical reduction.

From the result of the study of iron removal mechanism that very strongly bonded in the ferric complex of Azotobactine  $\delta$  with EDTA at pH region between 3.644 and 5.183 obtained the values of  $k_{obs}$  (total ligand exchange reaction constant) were  $3,263 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  at pH 3.644 and  $7,293 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$  at pH 5.183 at the room temperature, and from  $k_{obs}$  values, ligand exchange reaction showed pseudo first order dependence on the concentration of the iron complex of Azotobactine  $\delta$  and also hydrogen ion, at high constant EDTA ligand concentration ( $3.0 \times 10^{-2} \text{ M}$ ).

The results were interpreted in terms of three-step mechanism, involving: (1) protonation of the ferric complex of Azotobactine  $\delta$  and (2) subsequent bimolecular reaction with EDTA, finally (3) dissociation of a ternary complex formed with EDTA to produce free ligand siderophore (Azotobactine  $\delta$ ).

The result of the study of iron removal mechanism in the ferric complex of Azotobactine  $\delta$  through mechanism of electrochemical reduction to give value of oxidation-reduction potential i.e. :  $\pm (389 \pm 10)$  mvolt and value of formation stability constant of complex Fe(II)-Azotobactine  $\delta$  was :  $\log K_{\text{Fe(II)-Azotobactine } \delta} = 8.456$ .

(Rest. Inst. Faculty of Mathematics and Natural Sciences Airlangga University 729/JO3.2/PG/2005, July 15, 2005).

