

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Kegiatan : Pengembangan Senyawa Kompleks Kromium (III) Dengan Asam Amino Dan Uji Aktivitasnya Sebagai Kandidat Suplemen Antidiabetes

Peneliti / Pelaksana

Nama Lengkap : KUN SRI BUDIASIH M.Si.

NIDN : 0002027213

Jabatan Fungsional : Lektor

Program Studi : Pendidikan Ilmu Pengetahuan Alam

Nomor HP : 081238791606

Surel (e-mail) : ks_budiasih@yahoo.co.uk

Institusi Mitra (jika ada)

Nama Institusi Mitra :

Alamat :

Penanggung Jawab :

Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari 1 tahun

Biaya Tahun Berjalan : Rp. 45.000.000,00

Biaya Keseluruhan : Rp. 45.000.000,00



Mengetahui

(Dr. HARTONO)

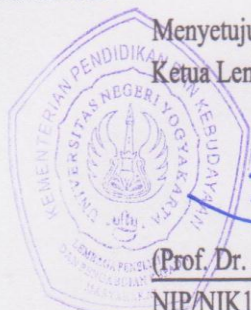
NIP/NIK196202291987021002

Yogyakarta, 27 - 11 - 2013,

Ketua Peneliti,

(KUN SRI BUDIASIH M.Si.)

NIP/NIK197202022005012001



Menyetujui,

Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat,

(Prof. Dr. ANIK GHUFRON)

NIP/NIK196211111988031001

PENGEMBANGAN SENYAWA KOMPLEKS KROMIUM (III) DENGAN ASAM AMINO DAN UJI AKTIVITASNYA SEBAGAI KANDIDAT SUPLEMEN ANTIDIABETES.

**Kun Sri Budiasih, M.Si
NIDN 0002027213**

Abstrak

Salah satu upaya pengelolaan kesehatan bagi penyandang diabetes mellitus tipe 2 adalah konsumsi suplemen yang mengandung kromium trivalen, Cr(III). Dalam penelitian ini telah disintesis beberapa kompleks dari Cr(III) dengan asam amino : L-asam glutamat, glisin dan L-sistein, dengan metode refluks. Randemen produk berkisar antara 40.08-87.50%. Karakterisasi yang telah dilakukan adalah dengan Spektrofotometri Inframerah (FTIR) Spektrofotometri Uv-Vis, dan Elemental Analysis. struktur molekul dari kompleks yang dihasilkan adalah $[\text{Cr}(\text{glu})_2(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot x\text{H}_2\text{O}$, $\text{Cr}(\text{gly})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ and $\text{Cr}(\text{cys})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$. Keeempat sampel kompleks telah diinvestigasi secara in vivo pada tikus putih (*Rattus novergicus*) galur Wistar yang diinduksi diabetes mellitus dengan nicotinamide-streptozotocin secara intraperitoneal. Subyek uji diberi perlakuan suplemen per-oral dengan dosis 100-400 μg per hari, dengan kontrol positif Cr-Pic dan kontrol negatif plasebo (Na-cmc).. Sampai pekan ke 9, terjadi penurunan kadar gula darah yang signifikan hingga angka kadar gula darah normal. Aktivitas antihiperglikemia dinyatakan dalam %GL (*glucose lowering*). Hasil penelitian menunjukkan %GL dalam penelitian ini mencapai 44.44 sampai 57.56%. Seluruh sampel perlakuan menunjukkan perbedaan penurunan kadar gula darah yang signifikan ($p < 0.05$) dengan kelompok kontrol.

Kata kunci : Kompleks, Cr(III)-asam amino, induksi Stz-nicotinamide, antihiperglikemia, % *glucose lowering*.

Abstract

The management of type 2 diabetes mellitus involved the consumption of Cr(III) nutraceutical/food supplement. Some Chromium (III) complexes were synthesized with three amino acids: L Glutamic Acid, Glycine, and L-cysteine as the ligands, The complexes have been prepared by refluxing a mixture of Chromium(III) chloride in aqueous solution with L-glutamic acid, Glycine, and L-cysteine. These complexes were characterized by Infrared and Uv-Vis spectrophotometer and Elemental analyzer. The product yields of four products were 40.08- 87.50 %. The predicted structure of the complexes are $[\text{Cr}(\text{glu})_2(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot x\text{H}_2\text{O}$, $\text{Cr}(\text{gly})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ and $\text{Cr}(\text{cys})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$., respectively.

Investigation of an in vivo application of all chromium- amino acid complexes was conducted on nicotinamide-streptozotocin induced diabetic Wistar rats. The subject were treated by these foemula by 100-400 μg / orally. The positive control was Cr-Pic and the placebo negative control was Na-cmc. 9 In 9 weeks, the blood glucose level were decreased significantly to the normal glucose level. The antihyperglycemic activity were stated by %GL (*glucose lowering*). The study showed that % GL were 44-44% -57.56%. All formulas gave significant effect in lowering glucose level compared to diabetic rats control group ($p < 0.05$).

Kata kunci : complexes, Cr(III)-amino acids, Stz-nicotinamide induction, antihyperglycemia, % *glucose lowering*.

PRAKATA

Laporan Akhir Penelitian Hibah Disertasi Doktor, berjudul **Pengembangan Senyawa Kompleks Kromium (III) Dengan Asam Amino Dan Uji Aktivitasnya Sebagai Kandidat Suplemen Antidiabetes** ini, disusun sebagai kewajiban dari peneliti sesuai penugasan dalam surat kontrak penelitian No. 04/PDD-Multitahun/UN 34.21/2013. Setelah serangkaian proses penelitian yang meliputi perencanaan, pelaksanaan dan Monitoring-evaluasi, keseluruhan laporan ini dapat dipresentasikan.

Ada sejumlah kendala dalam pelaksanaan penelitian ini antara lain selisih waktu yang cukup lama, dari jadwal rencana penelitian dengan waktu pencairan dana. Hal ini akan mempengaruhi proses pengadaan bahan-bahan penelitian. Dalam kasus penelitian bidang Kimia, banyak bahan yang harus dipesan dalam jangka waktu tertentu (1-3 bulan). Ketersediaan dana dalam waktu yang tepat akan sangat mendukung kelancaran penelitian.

Dari penelitian ini telah dihasilkan tiga luaran yaitu produk berupa beberapa senyawa kompleks Kromium(III)-asam amino, dan dua artikel ilmiah. Keduanya masing –masing dipublikasikan dalam Seminar Internasional (*International Conference on Chemistry*, ICC 2013, Istanbul, Turki) dan telah diterima (accepted) di *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, dengan nomor manuscript JCPR 2986.

Demikian laporan penelitian ini disusun dengan sebaik-baiknya dan diharapkan dapat memenuhi persyaratan penugasan sesuai peraturan yang berlaku.

Yogyakarta, 27 November 2013

Penyusun/ Ketua Peneliti

Kun Sri Budiasih M.Si
NIP.0202722005012001

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	1
HALAMAN PENGESAHAN	2
RINGKASAN	3
PRAKATA	4
DAFTAR ISI	5
DAFTAR GAMBAR	6
DAFTAR TABEL	7
DAFTAR LAMPIRAN	8
BAB I. PENDAHULUAN	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	11
BAB 3 TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	19
BAB 4 . METODE PENELITIAN	20
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN	24
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	
Personalia dan CV	
Publikasi	

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Desain Percobaan Uji aktivitas antihiperglikemia senyawa Cr(III)-AA	22
Tabel 4.2	Time Schedule	23
Tabel 4.3	Luaran	23
Tabel 5.1	Produk hasil Sintesis	25
Tabel 5.2	Pita karakteristik spektra IR	29
Tabel 5.3	Hasil Elemental Analysis	31
Tabel 5.4	Hasil Uji aktivitas Antihiperglikemia, %GL	34
Tabel 5.5	Data berat badan tikus percobaan	35

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Ilustrasi proses metabolisme glukosa	12
Gambar 2.2	Mekanisme kerja kromium (III) sebagai penguat reseptor insulin	14
Gambar 2.3	Perkiraan mekanisme transport dari kromium di dalam tubuh.	15
Gambar 2.4	Asam pikolinat dan kromium pikolinat	15
Gambar 4.1	Cara Kerja Sintesis Kompleks kromium-asam amino.	22
Gambar 5.1	Asam amino	25
Gambar 5.2	Senyawa hasil sintesis (Cr-Glutamato)	26
Gambar 5.3	Spektra inframerah kompleks Cr-Glutamat dengan perbandingan 1:3 dan 1:2	27
Gambar 5.4	Spektra IR Cr-Glu dengan pengaruh waktu refluks	28
Gambar 5.5	Spektra IR Cr-Glu dengan pengaruh suhu	28
Gambar 5.6	Spektra IR Cr-Glu dengan pengaruh pH	29
Gambar 5.7	Spektra IR Cr-Glisin	30
Gambar 5.8	Spektra inframerah kompleks Cr-Sistein (Cys)	31
Gambar 5.9	Spektra UV Vis keempat kompleks	32
Gambar 5.10	Difraktogram 4 kompleks Cr-Asam amino (Cr-Glu 1:3; Cr-Glu 1:2, Cr-Gly dan Cr-Cys)	
Gambar 5.11	Pengaruh variasi produk kompleks terhadap kadar gula darah tikus percobaan	31
Gambar 5.12	Pengaruh variasi dosis formula A terhadap kadar gula darah tikus percobaan	35

DAFTAR LAMPIRAN

Personalia

Biodata

Publikasi I : Synthesis and Characterization of Chromium (III) Complexes with L-Glutamic Acid, Glycine and L-Cysteine

Publikasi II : Antihyperglycemic Activity of some Chromium(III)- amino acid Complexes in –Nicotinamide-Streptozotocin Induced Diabetic Wistar Rats.

Salinan/copy surat kontrak

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Studi spesiasi kimia adalah studi distribusi suatu unsur sebagai spesies kimia dalam suatu sistem. Spesies yang berbeda akan menunjukkan kelakuan dan fungsi yang berbeda. Sebagai contoh adalah spesies kromium. Cr(VI) bersifat toksik karena dapat menyebabkan iritasi, gangguan nafas, dan iritasi membran hidung/paru. Sementara itu, Cr(III) dapat menjadi bahan suplemen aktivasi insulin untuk penyandang diabetes. Studi tentang nutraceutical (bahan nutrisi dengan fungsi medis) dari kromium masih perlu dikembangkan.

Sejumlah penelitian terkini menunjukkan pentingnya spesies kromium dalam dunia kesehatan, khususnya pengelolaan penyakit kasus diabetes mellitus. Sejumlah riset membuktikan adanya peranan spesies kromium(III) dalam membantu proses metabolisme glukosa. Cr(III) berperan meningkatkan sensitifitas insulin untuk berinteraksi dengan reseptornya sehingga dapat membuka aliran insulin bersama glukosa memasuki membran sel. Dengan fungsi ini, distribusi glukosa menjadi lancar dan segera dapat diubah menjadi energi. Bagi diabetesi, seseorang yang mengalami hambatan metabolisme glukosa, sangat membutuhkan Cr(III) sebagai mikronutrien (Krejpcio, 2001; Vincent, 2007).

Pada produk komersial, Cr tersedia sebagai Kromium pikolinat (CrPic), sebuah bentuk garam dari asam pikolinat (HPic = asam pikolinat = asam piridin-2-karboksilat) (Anderson, 2000). Suplemen ini ditambahkan pada susu atau biskuit yang ditujukan untuk makanan fungsional bagi diabetesi. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa CrPic dalam metabolismenya melibatkan kerusakan DNA (Bagchi, et al., 2002; Hepburn et al., 2003). Penambahan kromium pikolinat, kromium klorida dan kromium nikotinat pada kultur sel hamster menunjukkan bahwa kromium pikolinat (CrPic) yang dapat merusak material genetik dari sel hamster. Suplemen CrCl₃ kurang direkomendasikan karena absorpsinya kurang baik. Sementara itu, Nedim et al. (2003) telah melakukan penelitian terhadap kompleks kromium(III) askorbat.

Cr(III) dengan asam amino mengerjakan fungsinya sebagai GTF (Glucose Tolerance Factor). GTF berfungsi mengaktifkan reseptor insulin sehingga meningkatkan aktivitas metabolisme glukosa menjadi energi (Cooper, 1984). Asam amino yang dilaporkan berkait dengan GTF adalah glisin, sistein, dan asam glutamat (Ochiai, 2008). Berdasarkan fakta tersebut, pemanfaatan Cr dengan asam amino secara bersamaan dalam bentuk senyawa baru merupakan peluang yang potensial untuk aplikasi ini.

1.2.. Batasan dan Rumusan Masalah

Dalam metabolismenya sebagai agen pengendalian kadar glukosa, Cr berinteraksidengan asam amino antara lain glisin, sistein, asam glutamat.

1. Bagaimana melakukan sintesis dan karakterisasi kompleks Cr(III) dengan ligan asam amino (Asam glutamat, glisin dan sistein)?
2. Bagaimana pengujian aktifitas antihiperglikemia produk kompleks tersebut sehingga bisa menjadi kandidat suplemen antidiabetes?

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Diabetes Mellitus

Menurut definisi dari WHO, diabetes mellitus (DM) merupakan gangguan metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia kronis dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein yang dihasilkan dari tidak sempurnanya kerja insulin, sekresi insulin atau keduanya. WHO memprediksi kenaikan jumlah penyandang DM di Indonesia dari 8,4 juta pada tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030. Senada dengan WHO, *International Diabetes Federation* (IDF) pada tahun 2009, memprediksi kenaikan jumlah penyandang DM dari 7,0 juta pada tahun 2009 menjadi 12,0 juta pada tahun 2030. Meskipun terdapat perbedaan angka prevalensi, laporan keduanya menunjukkan adanya peningkatan jumlah penyandang DM sebanyak 2-3 kali lipat pada tahun 2030 (Pranoto dkk, 2011). Prevalensi penderita diabetes di Indonesia mencapai 5.7%.

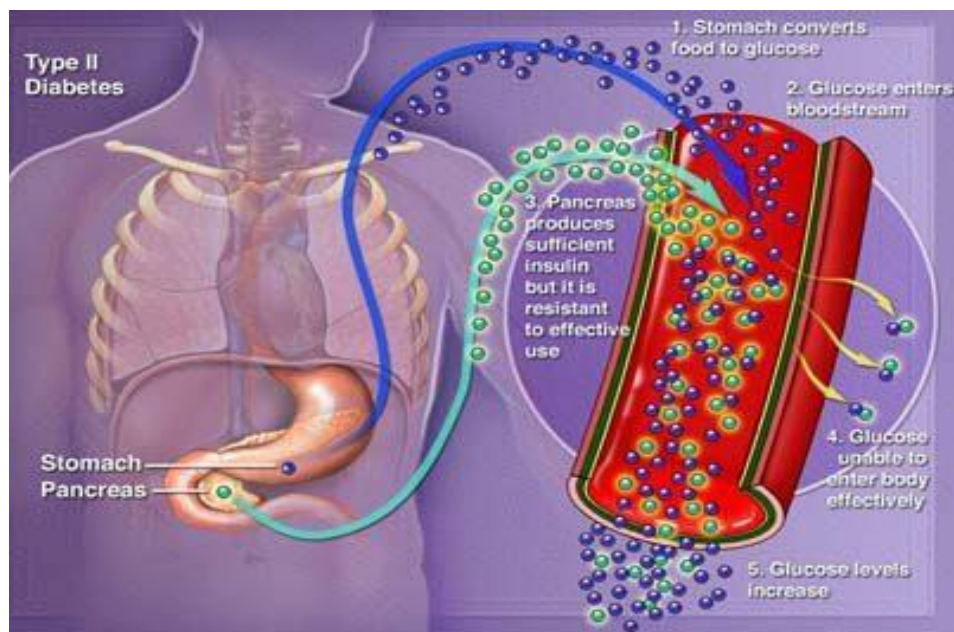
Efek dari diabetes mellitus meliputi kerusakan jangka panjang, disfungsi dan kegagalan berbagai organ. Diabetes mellitus dapat muncul dengan gejala karakteristik seperti rasa haus, poliuria (banyak buang air kecil), pandangan kabur, dan penurunan berat badan. Pada kondisi yang lebih parah, dapat menyebabkan koma dan jika tidak ada pengobatan yang efektif akan menyebabkan kematian (WHO, 1999).

Seringkali gejala diabetes tidak terlihat secara jelas, dan atau tidak ada, dan efek patologis dari hiperglikemi baru diketahui setelah waktu yang lama hingga akhirnya muncul diagnosis DM. Efek jangka panjang diabetes mellitus adalah potensi kebutaan, nefropati yang dapat menyebabkan gagal ginjal, dan /atau neuropati dengan risiko luka yang sukar disembuhkan hingga berisiko amputasi, kerusakan sendi dan disfungsi seksual. Orang dengan diabetes yang disebut diabetisi, memiliki peningkatan risiko penyakit kardiovaskuler.

Penyakit diabetes mellitus, dalam bahasa awam disebut penyakit gula atau kencing manis. Pada kondisi kerja insulin yang tidak baik, sel tubuh tak mampu menyerap glukosa dan mengubahnya menjadi energi. Pada tahap selanjutnya, glukosa menumpuk di dalam darah. Ketika darah kaya glukosa ini melewati sistem ginjal yang bertugas membersihkan darah, ginjal tak mampu menyerap kelebihan glukosa tersebut. Glukosa terbawa ke dalam urine yang membuat penderita diabetes sering membuang air kecil, merasa haus untuk menggantikan jumlah air yang keluar, dan lapar karena kehilangan glukosa. Seorang disebut menderita diabetes mellitus jika kadar gula pasca puasa mencapai 126mg/dL (7mmol/dL). Kadar gula puasa pada keadaan normal adalah sekitar 70-110mg/dL.

Diabetes mellitus merupakan penyakit kronis yang membutuhkan perawatan medis secara kontinu dan kelanjutan manajemen pribadi pasien, edukasi dan support untuk mencegah komplikasi akut dan mengurangi risiko komplikasi kronis. Pengelolaan diabetes adalah kompleks dan menuntut banyak hal.

Ada dua tipe diabetes, disebut sebagai tipe 1 dan tipe 2. Dalam diabetes mellitus tipe 1, tubuh tidak memproduksi insulin atau memproduksi hanya dalam jumlah sangat sedikit. Diabetes mellitus tipe 2, merupakan penurunan fungsi pankreas dan insulinnya. DM tipe 2 umumnya terjadi pada usia dewasa, lebih dari 45 tahun, walaupun dalam perkembangannya ada insiden terjadinya pada usia lebih rendah. Sekitar 90 % kejadian Diabetes mellitus adalah DM tipe 2. Diabetes disandang oleh lebih dari 10 juta orang di Amerika dan sebagian besar tidak menyadarinya. Di Eropa, kematian akibat diabetes rata-rata mencapai 2-6 %. Dalam bentuk diabetes tipe 2, pankreas sebenarnya masih memproduksi insulin, namun insulin tersebut tidak efektif bekerja sehingga muncul beberapa gejala seperti hiperglikemia, glikosuria dan penurunan sensitifitas insulin (Krejpcio, 2001).



Gambar 2.1. Ilustrasi proses metabolisme glukosa

Sumber : www.healthline.com

2.2. Pengelolaan DM

Manajemen terhadap diabetes meliputi diet, olahraga, suplemen atau nutraceutical, obat hipoglikemia dan insulin endogen bagi yang memerlukan. Nutraceutical (kadang disebut sebagai *functional food*) adalah bahan-bahan tertentu yang memiliki kemampuan untuk meningkatkan kualitas kesehatan, mencegah sakit atau bersifat obat [4].

Nutraceutical menurut ensiklopedia adalah istilah yang merupakan kombinasi antara *nutrition* (nutrisi) dan *pharmaceutical* (farmasetika) yaitu makanan atau produk makanan yang mendukung kesehatan dan memberikan keunggulan dalam bidang medis, termasuk mencegah dan mengatasi penyakit. Produk yang termasuk nutraceutical bisa berupa zat gizi yang diisolasi, suplemen makanan, dan makanan yang didesain khusus untuk diet, produk herbal, dan makanan olahan seperti sereal, sup, dan berbagai jenis minuman (Kalra, 2003).

Nutraceutical adalah terapi biologis non spesifik yang digunakan untuk meningkatkan kualitas kesehatan, mencegah ganasnya penyakit dan mengontrol gejala penyakit (Dureja et al., 2003). Nutraceutical merupakan istilah dari *Nutrition* (gizi) dan *Pharmaceutical* (Farmasi) yang diciptakan pada tahun 1989 oleh Stephen DeFelice, MD. Nutraceutical adalah makanan dengan manfaat medis-kesehatan termasuk pencegahan dan pengobatan penyakit. Salah satu makanan untuk satu konsumen dapat bertindak sebagai nutraceutical untuk konsumen lain. Contoh Nutraceutical, termasuk produk susu yang diperkaya kalsium untuk orang defisiensi dan buah jeruk untuk vitamin C.

Senyawa kompleks dari unsur-unsur transisi juga digunakan secara luas dalam berbagai aplikasi kesehatan. Revolusi besar penerapan senyawa kompleks dalam bidang kesehatan adalah penggunaan senyawa cis platin (cis dimetil dikloro platina) dalam pengobatan kanker, sejak tahun(pustaka). Pengobatan secara kimia ini hingga kini dikenal luas dengan sebutan pengobatan secara kemoterapi. Aplikasi lain adalah penggunaan berbagai senyawa kompleks untuk pemenuhan kebutuhan akan suplemen yang menyuplai beberapa unsur kimia yang diperlukan tubuh, seperti Kalsium, Zink, Magnesium, Kromium dan lainnya [Dureja, 2003]

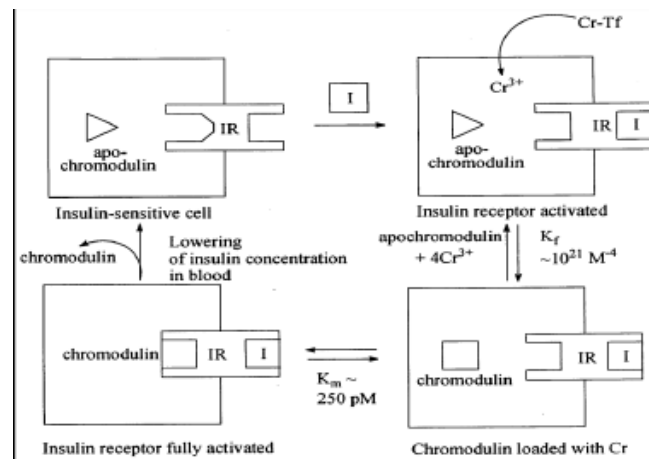
Nutraceutical tidak hanya harus melengkapi diet tetapi juga harus membantu dalam pencegahan dan atau mengobati penyakit dan atau gangguan kesehatan. Nutraceutical yang berkaitan dengan penyakit tertentu bekerja sesuai kebutuhan/ gejala penyakit tersebut. Sebagai contoh, dalam pengendalian diabetes mellitus ada beberapa fenomena kerja nutraceutical seperti : melambatkan absorpsi glukosa, menghambat absorpsi lemak, aktivasi AMPK : *AMP-activated kinase* dan penggunaan *protective mineral*, seperti : kromium, magnesium dan kalsium (McCarty, 2005).

2.3. Suplementasi Kromium

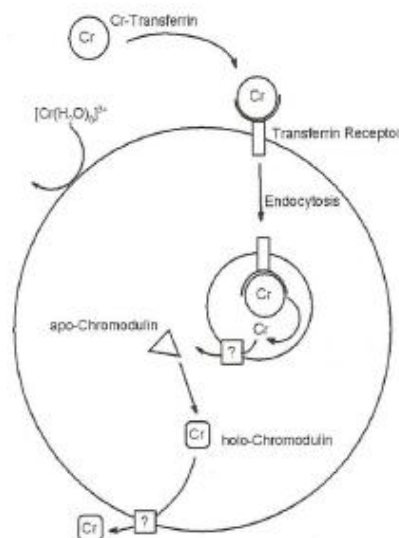
Untuk penyakit diabetes mellitus, diperlukan nutraceutical yang mengandung kromium trivalen sebagai mineral yang membantu metabolisme glukosa. Kromium(III) bekerja dengan mengaktifkan hormon insulin pada step pertama ketika gula memasuki sel dan memfasilitasi

interaksi insulin dengan reseptor pada permukaan sel. Penelitian peran Cr(III) dalam metabolisme karbohidrat, protein dan lemak terus berkembang sejak tahun 1960 an. Dalam tubuh, Cr(III) ditransformasikan menjadi bentuk aktif biologis yang disebut *Glucose Tolerance Factor* (GTF). Kompleks ini memfasilitasi interaksi insulin dengan reseptornya. Aktivitas ini akan memberi kontribusi pada peningkatan efektivitas kerja insulin (Anderson, 2000 ; Krejpcio, 2001).

Studi tentang respon insulin menggunakan tikus menunjukkan potensi fungsi biologis suatu biomolekul yang mengandung Cr, yaitu LMWCr (*Low Molecular Weight-Chromium binding substance*), yang disebut kromodulin. Kromodulin tersusun oleh oligopeptida dari glisin, sistein, aspartat dan glutamat dan Cr. Mekanismenya meliputi aktivasi reseptor insulin kinase oleh kromodulin, disajikan pada gambar 2.2. dan 2.3 (Vincent, 2007).



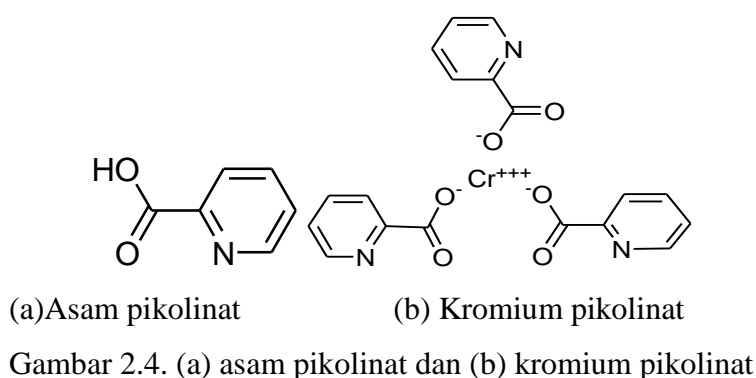
Gambar 2.2 Mekanisme kerja kromium (III) sebagai penguat reseptor insulin



Gambar 2.3. Perkiraan mekanisme transport dari kromium di dalam tubuh.

Seperti ditunjukkan oleh gambar 2.3. perkiraan mekanisme transport dari kromium di dalam tubuh adalah sebagai berikut : Kromium disimpan di dalam darah yang diikat pada transferin kemudian kompleks kromium-transferin terhubung dengan transferin reseptor dan masuk ke dalam sel, yang menjadi tempat terikatnya Cr ke apo –kromodulin.

Secara komersial, kromium telah ditambahkan dalam produk seperti susu dalam bentuk kromium pikolinat (CrPic). Kromium pikolinat saat ini dianggap sebagai bentuk Cr yang paling cocok untuk sistem hidup (*bioavailable*) dan banyak dipasarkan. Kromium pikolinat adalah garam kromium dari asam pikolinat (HPic) [HPic = asam pikolinat = asam piridin-2-karboksilat]. Struktur asam pikolinat dan kromium pikolinat adalah sebagai berikut.



Namun demikian riset terakhir melaporkan ada indikasi bahwa ligan pikolinat dapat menggeser potensial redoks dari Cr dalam kompleks tersebut sedemikian rupa sehingga ia dapat tereduksi oleh reduktor biologis dan menghasilkan radikal hidrogen. Radikal ini dapat menyebabkan mutasi dan kerusakan DNA (*DNA damage*). Peneliti menambahkan kromium pikolinat, kromium klorida dan kromium nikotinat pada kultur sel hamster dan menemukan hanya CrPic yang dapat merusak material genetik dari sel hamster. Sejak itu banyak penelitian yang melaporkan adanya efek stress oksidatif dan perusakan DNA dari CrPic. Umumnya publikasi tidak melaporkan mekanisme bagaimana spesies Cr menginduksi kerusakan DNA pada tingkat molekuler (Bagchi et al, 2002).

Alternatif garam yang lain adalah garam askorbat . Aktivitas kromium askorbat terhadap mitokondria sel manusia dan DNA genom telah dipelajari dengan elektroforesis gel agarosa. Ditemukan hubungan langsung antara muatan kompleks dan reaktivitasnya terhadap DNA. Kompleks bermuatan positif menunjukkan sifat perusakan DNA yang paling kuat, sementara kompleks netral dan bermuatan negatif relatif inert. Hasil ini sesuai dengan mekanisme bahwa muatan positif berinteraksi secara elektrostatis dengan muatan negatif dari gugus fosfat pada polimer DNA, dan kemudian menginisiasi pemecahan DNA. Namun, ada beberapa faktor yang mengakibatkan mekanisme perusakan secara riil. Keluasan dan tipe kerusakan sangat

tergantung kondisi eksperimen. Kelanjutan riset dalam topik ini masih diperlukan untuk menemukan jalan mekanismenya secara in vivo (Nedim et al., 2003).

Produk Kromium askorbat belum tersedia pada produsen bahan kimia yang beredar di Indonesia (contoh : Sygma, Merck, Aldrich atau Kalbe). Produk kromium askorbat yang ada berupa campuran beberapa mineral dan askorbat, dari Holland & Barret (USA), telah dikarakterisasi dengan spektrofotometer infra merah dan spektrofotometer serapan atom. Dari data spektrofotometer inframerah dari sampel kromium askorbat yang menunjukkan adanya perbedaan penting dengan spektra asam askorbat (H-A). Perbedaan itu terletak pada tidak adanya ikatan H-A (O-H dari ujung karboksilat asam askorbat). Hal ini yang berarti anion askorbat tidak lagi terikat dengan atom H, melainkan dengan Cr. Adanya Cr diperiksa dengan spektrofotometer serapan Atom (SSA) dan diketahui berada dalam konsentrasi sekitar 0,4-0,8 ppm (mg/L) (Budiasih, 2007).

Guindy et al., (2000) telah mempelajari kinetika reaksi kromium(III) dengan beberapa asam amino. Reaksi substitusi heksaakuokromium(III) dengan beberapa ligan itu terjadi dengan mekanisme asosiatif dan disosiatif. Jari-jari ion Cr(III) bebas adalah 68-69 pm yang membutuhkan sifat asosiatif untuk reaksi $\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})^{+3}$. Kinetika pembentukan kompleks antara kromium dan asam amino telah dipelajari secara spektrometri.

Kompleks Cr(III) dengan ligan asam amino fenilalanin telah dilakukan oleh Yang et al. (2005). Produk ini berpotensi positif terhadap pengendalian gula pada tikus. Penelitian lain tentang kompleks Cr dengan asam amino telah dilaporkan oleh Aliyu & Na'aliya (2010). Riset ini menentukan konstanta disosiasi beberapa kompleks yaitu Cr(III) dengan alanin, arginin, asparagin, histidin, lisin, methionin, fenilalanin, dan valin. Rata rata kompleks mereka bersifat stabil.

2.4. Uji aktivitas antihiperglikemia

Sebagai pembuktian dari fungsi persenyawaan kompleks yang dihasilkan, perlu pengujian untuk melihat aktifitasnya terhadap kadar gula darah. Metode farmakologi in vitro (uji di luar tubuh dengan reaksi simulasi) menjadi pilihan yang lebih mudah untuk menguji aktivitas suatu bahan obat dengan cepat. Namun demikian, uji in vitro tidak memperhitungkan nasib obat uji di dalam tubuh makhluk hidup.

Penentuan kadar gula darah (glukosa) in vitro dapat dilakukan dengan beberapa cara antara lain: Metode Kondensasi Gugus Amin, Metode Enzimatik, Metode Reduksi dan Metode Pemisahan Glukosa (Soemardji, 2004).

Keadaan yang sebenarnya hanya dapat teramati jika dilakukan pengujian secara *in vivo*. Penelitian pengaruh suatu zat terhadap kadar gula darah dapat dilakukan dengan mengukur kadar gula darah hewan coba mencit, tikus atau kelinci. Hewan dapat didesain diabetes dengan sengaja menggunakan zat kimia tertentu, seperti aloksan dan streptozotocin.

Agen yang banyak digunakan untuk menginduksi diabetes adalah aloksan. Induksi aloksan (Alloxan) diberikan dengan dosis sebanyak 120 mg/kg BB secara *intraperitoneal* menggunakan *syringe* selama 7 hari diikuti dengan pemberian pakan 15 gram/tikus dan minum larutan glukosa 10% sebanyak 100 ml. Masa induksi terjadi antara 5-7 hari (Astiandani, 2010)

Aloksan diduga merusak secara fatal terhadap pankreas sehingga tidak memenuhi kriteria untuk menyerupai kejadian diabetes tipe 2. Induktor lain antara lain adalah asam urat (uric acid), dan Streptozotocin²⁶. Cara induksinya diduga merusak sel beta dari Langerhans, sehingga menyebabkan DM tipe 1 (Selcuk, 2012)

Streptozotocin menginduksi diabetes dengan pembangkitan radikal bebas, yang menyebabkan penurunan yang masif dari beta sel untuk sekresi insulin di Langerhans, menyebabkan penurunan pelepasan insulin endogen. Kerusakan dan destruksi dari beta sel dapat terjadi melalui stress oksidatif (Ibrahim, 2008).

Induksi DM tipe 2 tikus percobaan juga dilakukan dengan paduan streptozotocin-nicotinamide oleh Ruskar (2010). Induksi dilakukan pada tikus berumur 8 minggu dengan berat badan sekitar 280 gram. Induksi awal adalah dengan nicotinamide dalam PBS (Phosphate Buffered Saline) dengan dosis 240 µg/kg bb dengan suntikan intraperitoneal. Lima belas menit berikutnya diberikan Streptozotocin (Stz) dalam buffer sitrat dengan dosis 100 mg/kg bb. Wahyuni (2011) juga melaporkan induksi Stz bersifat sitotoksik terhadap sel beta pancreas. Penggabungan nicotinamide dalam induksi DM ditujukan untuk mencegah kerusakan sel beta. Hal ini mengingat keadaan yang dituju adalah DM tipe 2 yang berciri resistensi insulin (keadaan insulin yg malas/ tidak aktif) dan bukan defisiensi/ kekurangan insulin. Hal ini juga dijelaskan oleh Sharma (2011). Pengaruh Stz dapat menyebabkan kerusakan sel dan menurunkan jumlah glukose transporter dalam sel.

Injeksi intravena dari STZ dengan dosis 60mg/kg dalam tikus dewasa, membuat pancreas mengembang dan membuat kerusakan dalam sel beta dan menginduksi DM dalam 2-4 hari. Induksi pada tikus berumur sekitar 75-90 hari dengan berat badan sekitar 250 gram, dengan dosis 60 mg/kg bb dilakukan dengan STZ yang diinjeksi intravena. Injeksi STZ dapat dilakukan secara intraperitoneal (Thomson et al., 2004). Sampel kandidat obat disediakan dalam karboksi

metil selulosa(CMC) secara oral dengan dosis 0.60 mmol/ kg. Kelompok kontrol diberi suspensi CMC saja.

Induksi DM tipe 2 dapat juga dilakukan dengan injeksi STZ (45 mg/kg bb) yang diikuti injeksi nicotinamide (200 mg/kg bb) 15 menit berikutnya (Chen & Chengy 2006; Sharma et al., 2011). Nicotinamide dan STZ disiapkan dalam larutan NaCl 0.9 b/v. Teknis yang terbalik oleh Rustar (2010), dilakukan pada tikus berumur 8 minggu dengan berat badan sekitar 280 gram. Induksi awal adalah dengan nicotinamide dalam PBS (Phosphate Buffered Saline) dengan dosis 240 µg/ kg bb dengan suntikan intraperitoneal. Lima belas menit berikutnya diberikan Streptozotocin (STZ) dalam buffer sitrat dengan dosis 100 mg/kg bb.

Uji in vivo perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian kompleks Cr dan Mo terhadap kadar gula darah /tikus yang diinduksi DM dengan paduan stz-nicotinamida. Desain percobaan berupa variasi 3 dosis produk, dan perbandingan terhadap kontrol tanpa perlakuan. Waktu pengamatan berlangsung selama 8 minggu. Desain riset mengacu pada penelitian Thomson et al., (2004), dan beberapa penelitian terkait(Are 2011; Rustar (2010);Sharma et al., 2011).

Untuk penentuan kadar gula darah dilakukan dengan alat personal kit yang praktis. Alat ini biasa digunakan oleh pasien diabetes, dengan pengukuran kadar darah sederhana yang sering digunakan di klinis, dilengkapi dengan ‘kit’ pereaksi pada lembaran kertas, yang memerlukan sampel darah dalam jumlah sedikit. Selain metode glucose Kit, penentuan kadar gulad arah juga dapat dintentukan dengan metode spektrometri, dengan alat spektronik 20.

Alat semacam ini dapat diterapkan dalam penentuan kadar gula darah tikus melalui sampel darah dari ekornya atau vena mata. Darah yang diperlukan sangat sedikit dan hasilnya dapat diperoleh dalam waktu sekitar 15 detik. Pengolahan data secara statistik menunjukkan bahwa ketelitian metode ini dapat diterima dalam percobaan skrining efek antidiabetes in vivo pada tikus (Astiyandani, 2010).

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

A..Tujuan Penelitian

1. Melakukan sintesis dan karakterisasi senyawa kompleks Cr(III) – asam amino (glisin, sistein, asam glutamat)
2. Melakukan uji aktivitas in vivo sebagai kandidat anti diabetes : uji penurunan kadar glukosa (antihiperglikemia) pada tikus percobaan terinduksi diabetes tipe 2.

B. Manfaat Penelitian

1. Dengan dihasilkannya senyawa baru dari Cr(III)-asam amino yang telah diuji, dapat diproyeksikan sebagai kandidat suplemen antidiabetes. Untuk selanjutnya hasil ini diharapkan dapat memberi kontribusi pada pengembangan produksi nutraceutical.
2. Secara umum, penelitian ini merupakan bagian dari pengembangan riset di budang Kimia Bioanorganik.

BAB IV METODE PENELITIAN

A. Ringkasan Metode

1. Penelitian pendahuluan : Penentuan kurva konsentrasi optimum Cr(III) vs pH
2. Sintesis kompleks dengan metode refluks.
3. Karakterisasi: SSA, FTIR, Uv Vis, Elemental Analysis, XRD powder
4. Uji aktivitas produk:
Eksperimen in vivo pada tikus percobaan terinduksi diabetes tipe 2.

B. Persiapan

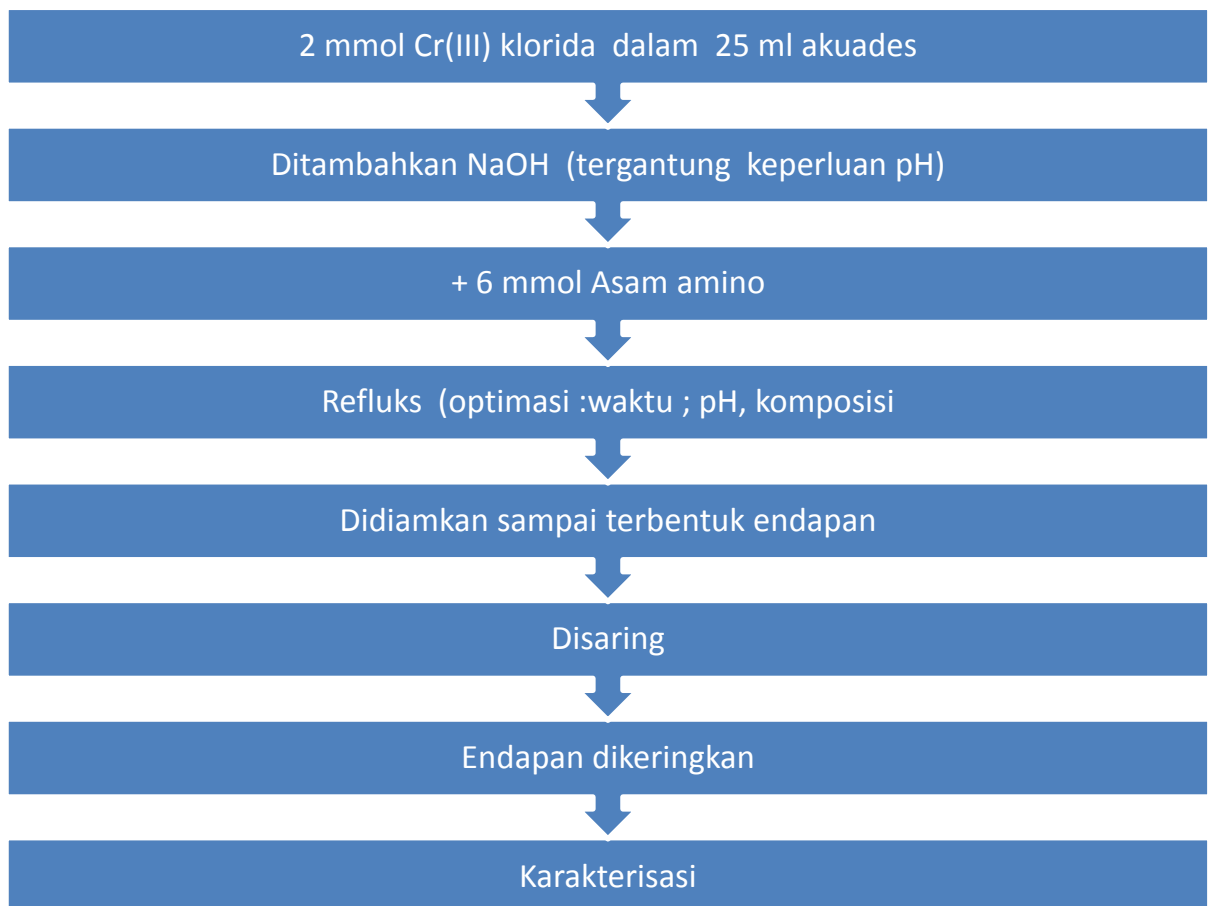
Persiapan yang telah dilakukan agar penelitian ini bisa berjalan dengan baik:

1. Penelusuran literatur dengan sejumlah jurnal.
2. Penyediaan bahan kimia dan alat gelas untuk preparasi.
3. Penyusunan rancangan percobaan (rancob) yang terperinci.
4. Beberapa percobaan pendahuluan untuk optimasi kondisi percobaan.

B. Pelaksanaan Kegiatan

Pelaksanaan penelitian dilakukan sesuai langkah-langkah yang didisain sebelumnya.

1. Penelitian pendahuluan :
Penentuan kurva konsentrasi optimum Cr(III) vs pH
2. Sintesis kompleks dengan metode refluks.



Gambar 4.1. Cara Kerja Sintesis Kompleks kromium-asam amino.

3. Eksperimen in vivo pada tikus percobaan terinduksi diabetes tipe 2.

- (a) Tikus yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, galur Wistar, sehat dan mempunyai aktivitas normal, umur sekitar 3 bulan, BB : ± 200 gram. Jumlah sampel 28 ekor untuk 7 kelompok.
- (b) Induksi Diabetes : Injeksi secara intraperitoneal (IP) dengan Streptozotocin (Stz) dan Nicotinamide.
- (c) Informasi status positif diabetes diperoleh pada hari ke 7.
- (d) Setelah positif Diabetes, tikus kelompok uji diberi perlakuan harian per oral (p.o) formula Cr-AA, dengan dosis 100, 200, dan 400 $\mu\text{g/hari}$. Untuk kelompok kontrol diberikan larutan cmc-Na dan kontrol positif Cr-Pic dari Diabetasol.
- (e) Perlakuan dan pengamatan dilakukan selama 9 pekan
- (f) Setelah perlakuan, tikus-tikus tersebut diukur kadar gula darahnya, dicatat dalam satuan mg/dl.

- (a) Perhitungan aktifitas antihiperglikemia/anti diabetes atas sampel/produk dibandingkan dengan kontrol yaitu data dari tikus tanpa perlakuan produk untuk hari yang sama. Hasilnya ditetapkan sebagai penurunan kadar glukosa darah vs waktu .

Tabel 4.1. Desain Percobaan Uji aktivitas antihiperglikemia senyawa Cr(III)-AA

No	Kelompok	Keterangan
1	Sampel tikus DM dengan asupan suplemen yang mengandung Cr-Pic sesuai takaran anjuran/per kg BB	Induksi DM dengan injeksi i.p. streptozocin dan nicotinamide
2	Kelompok 2. Sampel tikus DM dengan pemberian produk (kompleks Cr)- Glutamat dosis I	Dosis I 100 µg/hari. (Cr) Produk diberikan dalam suspensi CMC (karboksi metil selulosa)
3	Kelompok 3. Sampel tikus DM dengan pemberian produk (kompleks Cr- Glutamat , Dosis II	dosis II, 200 µg/hari (Cr)
5	Kelompok 5. Sampel tikus DM dengan pemberian produk (kompleks Cr)- Glutamat dosis III.	Dosis III, 400 µg/hari (Cr)
6	Kelompok 6. Sampel tikus DM dengan pemberian produk (kompleks Cr- glisin dosis II.	dosis II, 200 µg/hari (Cr)
7	Kelompok 7. Sampel tikus DM dengan pemberian produk (kompleks Cr - sistein dosis II.	dosis II, 200 µg/hari (Cr)
8	Kelompok kontrol Tikus DM tanpa perlakuan	Hanya diberi cmc-Na
9	Kelompok Kontrol non DM /tanpa perlakuan	Hanya diberi cmc-Na

Tabel 4.2. Time Schedule

No	Uraian	Bulan							
		Mar	Apr	Mei	Jun	Jul	Agt	Sep	Okt
1	Persiapan	+							
2	Optimasi pH prekursor	+							
3	Analisis SSA	+							
4	Sintesis variasi t	++							
5	Sintesis variasi pH		++						
6	Sintesis Variasi mol		++						
7	Sintesis variasi T		+						
8	Karakterisasi IR		++++						
9	Karakterisasi Uv Vis		++	++					
10	Karakterisasi EA			++++					
11	Pembuatan paper I		++++						
12	Seminar internal Lab			++	++				
13	Seminar Internasional Istanbul Turki, ICC 2013 diterbitkan di Waset Jurnal 78:2013				++				
14	Uji aktivitas secara in vivo					++++	++++	++++	
15	Lap kemajuan						++		
16	Olah data lanjutan							++	
17	Pembuatan Paper II								
18	Laporan kemajuan								++
19	Revisi paper dan submit jurnal								++++
20	Laporan akhir								+

Tabel 4.3. Luaran

Luaran	Ketercapaian	Hasil	Ket
Seminar Internasional	100 %	Telah dilaksanakan di International Conference on Chemistry, ICC 2013 Istanbul Turki, 20-21 Juni 2013	Dimuat di Waset Journal, Issue 78:2013
Jurnal Internasional	90%	Journal of Chemical and Pharmaceutical Research	Accepted No.manuscript JCPR 2986

BAB V

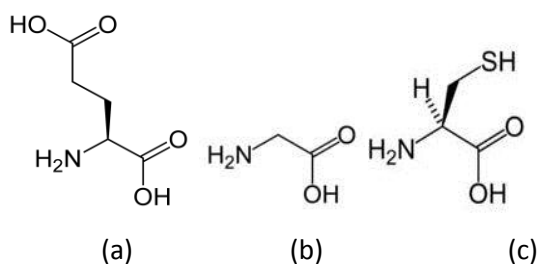
HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Sintesis dan Karakterisasi Cr(III) –asam amino

Pada penelitian ini kompleks kromium dengan asam amino disintesis dengan metode refluks untuk mendapatkan produk padatan yang stabil dan konsisten. Sintesis sangat dipengaruhi oleh adanya spesies Cr(III) dalam prekursor yang berupa larutan air. Konsentrasi ion logam dalam air sangat ditentukan oleh distribusi spesiesnya sebagai fungsi pH.

Dalam proses reaksinya, sebagaimana umumnya sebuah reaksi kimia, ada sejumlah faktor lain yang juga mempengaruhi, yaitu suhu reaksi, lama waktu reaksi dan mekanisme terjadinya reaksi antara pereaksi-pereaksinya. Bahan prekursor meliputi kromium (III) klorida heksa hidrat, $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dan asam amino L- asam glutamat, glisin dan L-sistein.

Struktur dari L-asam glutamat, glisin dan L-Sistein ditunjukkan pada gambar 5.2



Gambar. 5.1. Asam amino: (a) asam glutamat, (b) glisin, (c) sistein.

Beberapa penelitian melaporkan hasil yang berbeda dari bahan prekursor yang sama. Faktor yang mempengaruhi hal tersebut antara lain kemungkinan banyak produk, baik karena air kristal, hidroksida dan sebagainya [Rasuljan, 1989; Calafat, 1990; Park, 1999] atau kondisi reaksi [Guindy, 2000], adanya serta adanya isomer geometri. Kesulitan banyak ditemukan dalam sintesis kompleks Cr(III) dengan glisin dan sistein. [El Shahawi, 1995; Ewakita, 2011]

Salah satu hal yang dikembangkan di sini adalah metode yang diacu dari Yang [2005]. Metode yang diajukan adalah pencampuran sederhana dari $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dan D-phenylalanine dalam akuades dan direfluks pada 80°C selama 4 jam dalam pembentukan Cr-phenylalanine. Namun demikian penerapan metode ini tidak menghasilkan produk padatan. Oleh karena itu perlu dilakukan modifikasi dalam kondisi reaksi.

Reaksi dilakukan dalam medium air. Ada dua metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu:

1. Melalui pelarutan senyawa prekursor masing masing terlebih dahulu, mengatur pH nya dengan penetesan NaOH 0,1 M bertetes tetes hingga tercapai pH yang direncanakan. Setelah pH tercapai kedua bahan dicampurkan lalu direfluks pada suhu 80°C (atau sesuai variasi) selama 1 jam (atau sesuai variasi waktu). Metode ini merupakan modifikasi dari prosedur yang diacu dari Yang (2005) dengan memperhatikan faktor pH. Prosedur ini berhasil dilakukan untuk kompleks Cr(III) dengan asam glutamat.

2. Reaksi melalui pencampuran masing masing bahan yaitu $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, asam amino dan NaOH dengan rasio 1:3;3. Garam kromium klorida dan asam amino berada dalam kondisi padat sementara NaOH merupakan larutan 0.1M dengan jumlah mol yang disesuaikan. Metode ini mengacu pada prosedur Bryan (1971) yang diikuti oleh beberapa literatur berikutnya (Wallace, 1982). Prosedur ini dilakukan untuk asam amino glisin dan sistein, karena sulit dicapai dengan metode 1.

Hasil penelitian berupa padatan/ powder sebagai berikut:



Gambar 5.2. Senyawa hasil sintesis (Cr-Glu)

TABEL 5.1. HASIL PROSES SINTESIS

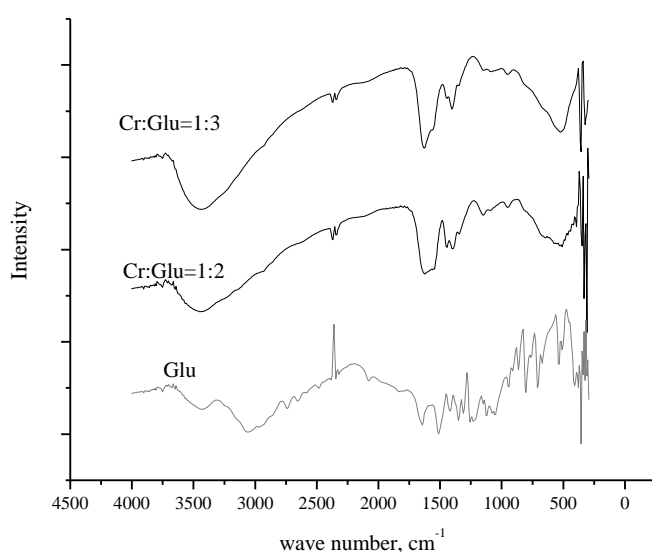
Kompleks	M:L ratio	Hasildan sifat fisik	
		warna	randemen (%)
Cr(III) – asam glutamat	1:3	ungu	87.50
Cr(III) – asam glutamat	1:2	ungu	56.76
Cr(III) – glisin	1:3	Ungu kebiruan	46.70
Cr(III) – sistein	1:3	Ungu tua	40.08

5.2.Karakterisasi

Senyawa hasil sintesis diarakterisasi dengan spektrofotometer inframerah, spektrofotometer Uv Vis, Elemental Analysis dan Difraksi sinar X (XRD). Hasilnya dibahas dalam sub bab ini.

Spektra Inframerah produk kompleks dibandingkan dengan spektra inframerah ligan bebasnya. Untuk komplkes Cr-glutamat spektra Inframerah disajikan pada gambar 5.3.

Sebagaimana tampak pada gambar 5.3 spektra IR pada kompleks telah menunjukkan perbedaan signifikan dengan spektr ligan bebasnya (Glu). Terdapat pita pada 1563cm^{-1} yang menunjukkan vibrasi m C-O dan m N-H (3535 cm^{-1}) dan pita tersebut bergeser masing masing sekitar $30\text{-}40\text{cm}^{-1}$. Pita dengan ketajaman sedang dari ligan bebas ($3000\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$) bergeser ke sekitar 600 cm^{-1} dimungkinkan berkaitan dengan reorganisasi intramolekuler dari ikatan hidrogen setelah terbentuknya khelat. Pita absorpsi abaru dalam area IR jauh sekitar $385\text{--}410\text{ cm}^{-1}$, $324\text{--}337\text{ cm}^{-1}$, and $447.49\text{ cm}^{-1} - 424.34\text{ cm}^{-1}$ dapat diartikan sebagai vibrasi ikatan Cr–O dan Cr–N. Hal ini besesuaian dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan adanya pita pita ini pada 390 cm^{-1} , 330 cm^{-1} , and $542\text{--}525\text{ cm}^{-1}$ [Barth, 2000].

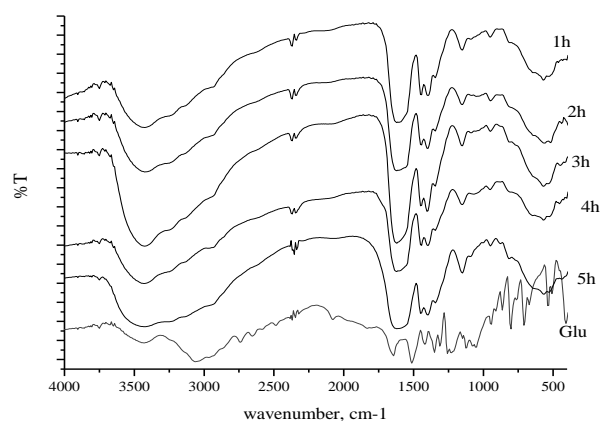


Gambar 5.3. Spektra inframerah kompleks Cr-Glutamat dengan perbandingan 1:3 dan 1:2

Pita tajam pada 1643.35 cm^{-1} pada ligan dari vibrasi ikatan C=O juga bergeser ke arah frekuensi yang lebih rendah ($1620.21\text{--}1604.77$) pada kompleks yang terbentuk, Selain itu, kemunculan pita lemah dari daerah $401\text{--}447$ dan $540.07\text{--}532.35\text{ cm}^{-1}$ yang masing –masing berhubungan dengan $\nu_{(\text{Cr-O})}$ dan $\nu_{(\text{Cr-N})}$, mengkonfirmasi terjadinya kompleksasi. Ikatan koordinasi dalam kompleks Cr-glu diprediksi terjadi melalui gugus COOH. Hal ini ditandai dari hilangnya pita pada 1660 cm^{-1} dari asam glutamat [Rasuljan,14].

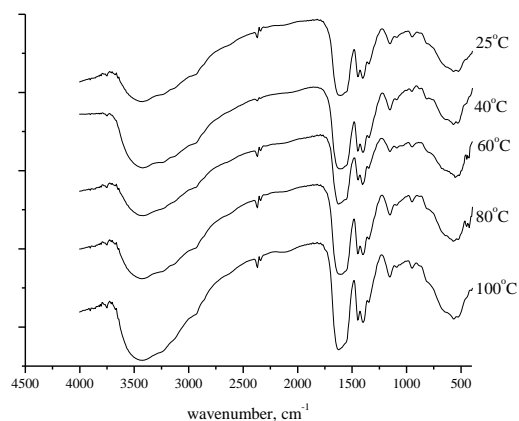
Ada beberapa faktor yang dipelajari dalam pembentukan kompleks ini, yaitu paengaruh waktu refluks, pengaruh suhu dan pengaruh pH. Hasilnya disajikan pada gambar 5.4-5.6.

Pengaruh waktu



Gambar 5.4. Spektra IR Cr-Glu dengan pengaruh waktu refluks

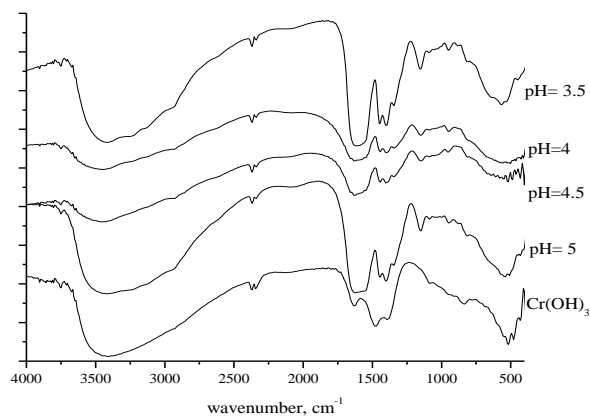
Pengaruh suhu



Gambar 5.5 Spektra inframerah Cr-Glu dengan pengaruh suhu

Dilihat dari spektra IR tidak terdapat perbedaan signifikan antara hasil refluks pada 1 jam hingga 5 jam. Oleh karena itu selanjutnya digunakan waktu refluks 1 jam untuk alasan efisiensi.

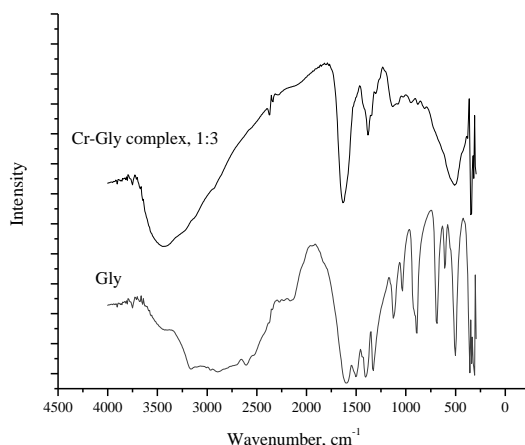
Pengaruh pH



Gambar 5.6. Spektra inframerah kompleks Cr Glu dengan pengaruh pH

Keberadaan ion Cr(III) dalam larutan air sangat dipengaruhi oleh pH. Oleh karena itu sintesis dilakukan dalam beberapa kondisi pH. Spektra IR dari kondisi ini ditunjukkan dalam gambar 5.6. Dalam hal ini spektra kompleks dibandingkan dengan spektra dari Cr(OH)₃.

Spektra Inframerah kompleksasi Cr(III) dengan glisin ditunjukkan pada gambar 7.



Gambar 5.7. Spektra inframerah kompleks Cr-Glisin

Dari spektra tampak adanya perbedaan signifikan antara pola dari kompleks Cr – Gly dengan asam amino bebasnya. Ada pergeseran ke bilangan gelombang yang lebih rendah dari 1404.18cm⁻¹ (Gly) ke 1381.03cm⁻¹ (kompleks Cr-Gly) yang berkaitan dengan vibrasi simetri dari COO⁻. Referensi terdahulu menyebutkan adanya pergeseran dari pembentukan kompleks Cr(Gly)₃ pada daerah 1400-1370 cm⁻¹ [El- Shahawi, 1995]. Publikasi lain juga melaporkan bahwa vibrasi stretching N-H pada 3109cm⁻¹ pada glisin bergeser ke arah frekuensi yang lebih tinggi (3333-3428 cm⁻¹) pada kompleks yang menunjukkan bahwa koordiansi dari ion logam adalah melalui atom nitrogen atom.. Adanya pergeseran stretching C-N dari 1127 ke (1210-1236 cm⁻¹) juga mendukung argumentasi tersebut (Alieyabola, 2012). Dalam penelitian ini vibrasi stretching N-H bergeser dari 3109.25cm⁻¹ ke 3425.58 cm⁻¹ dan vibrasi stretching C-N bergeser dari 1126.43 cm⁻¹ ke 1303.88 cm⁻¹.

Spektra inframerah dari kompleks sistein menunjukkan beberapa pita yang penting. Pita dari stretching asimetri dari COO⁻ bergeser ke bilangan gelombang yang lebih tinggi dari 1589 ke 1620cm⁻¹, menunjukkan adanya gugus karboksilat yang terlibat dalam koordiansi. Referensi sebelumnya juga melaporkan adanya pergeseran yang serupa, sebesar 20-70 cm⁻¹, dari 1590 ke 1640 cm⁻¹ [El Shahawi, 1996].

Stretching asimetri dari NH₂ bergeser ke arah bilangan gelombang yang lebih rendah setelah pembentukan ikatan koordinasi dengan Cr. Vibrasi ini bergeser masing-masing dari 1543 dan 1064 cm⁻¹ ke 1620 dan 1381cm⁻¹. Berdasar laporan dari El-Shahawi[1996], hal ini

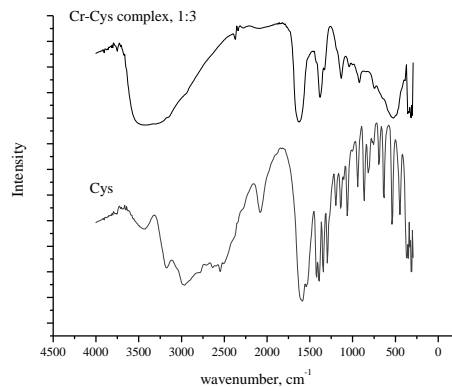
mengkonfirmasi adanya partisipasi atom nitrogen dari gugus amino pada sistein dalam koordinasi dengan Cr. Partisipasi tersebut terlihat dari pergeseran dari 1505-1540 cm^{-1} dan 1120 cm^{-1} ke 1570-1580 cm^{-1} dan 1200 cm^{-1} .

Spektra yang dihasilkandari kompleks dengan ketiga ligan menunjukkan pola yang jelas yang menunjukkan perbedaan antara kompleks yang dihasilkan dengan ligan bebaasnya. Serapan karakteristik dalam spektra IR, disajikan dalam tabel 5. 2. Spektra Inframerah dari kompleks Cr dengan sistein ditunjukkan pada gambar 5.8

Tabel 5.2. Vibrasi karakteristik kompleks Cr- AA dan ligan pembanding

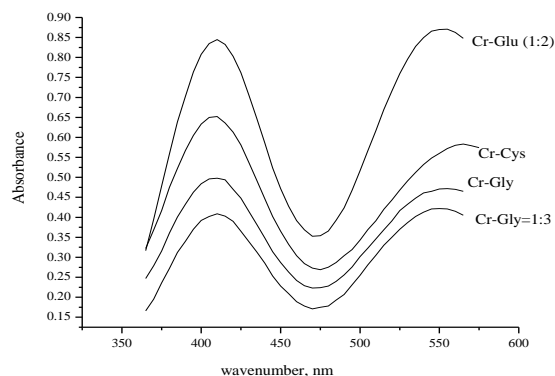
Vibrasi	Cr-Glu (I)	Cr-Glu (II)	Glu	Cr-Gly	Gly	Cr-Cys	Cys	Ref
$\nu \text{C=O}$	1604.77	1620.21	1643.35	1635.64	1604.77	1620.21	1589.34	[21]
$\nu_{\text{as}} \text{COO}^-$	-	1558.48	1512.19		1504.48		1543.05	
$\nu_{\text{s}} \text{COO}^-$	1404.18	1396.46	1419,61	1361.03	1404.18	1381.03	1420.05	
δCOH	-		1257,59				1296.16	
$\nu \text{C-O}$	1149.57	1149.57	1126.73; 1257.59 [1150]		1126.43	1134.14	1141.86 1195.87	
δCH_2	1442.75; 1450.47	1442.75	1419,61 [1440]	-	[1441- 1446]		[1424- 1432]	[21]
$\delta \text{C-H}$	1342.46	1342.46	1311.59 1125		[1333- 1337]		[1341]	[21]
$\nu \text{N-C}$	-	-	1257.59					
$\Upsilon_{\text{t}} \text{CH}_2$,	-	-	1226.73		[1310- 1315]		[1303 1297]	[21]
$\nu \text{C-C}$	1087.85; 1049.28	1095.57	1075 1056.99	1134.14	1033.85	1134.14	1064.71	
$\nu \text{N-H}$	3425.48	3448.72	3062.96	3425.58 [3333- 3428]	3109.25 [3119]	3302.13	3170.91	[23]
$\nu \text{S-H}$	-	-	-	-	-	-	[2551]	[20]
Cr-O_s	540.07	509.21	-		-		-	
Cr-O strech	347.19 [337, 393]	347.19			-		-	
Cr-O	424.34 [413] [442]	-			-		-	16]
Cr-N	478.35	509.21	-		-	[1064] [1381]		

ν = stretching (ulur); ν_{s} = ulur simetris ; ν_{as} =ulur asimetris; w = weak (lemah) ; Υ_{t} = gunting (twisting) ; Υ_{w} = goyang (wagging) ; Υ_{r} = rocking. sumber : [19]-[22].



Gambar 5.8. Spektra inframerah kompleks Cr-Sistein (Cys)

Pengukuran absorpsi maksimum ke empat kompleks pada spektrometer Uv Vis memberikan hasil sebagai berikut.



Gambar.5.9. Spektra UV Vis keempat kompleks

Koordinasi dari logam ke ligan menyebabkan perubahan tertentu dari konfigurasi elektronik pada orbital d. Kompleks dari logam transisi dengan menunjukkan absorpsi pada daerah sinar tampak (380-700 nm). Pembentukan kompleks berkaitan dengan perubahan warna, sehubungan dengan perubahan konfigurasi electron (Subramanian, 1989). Dalam kasus Cr(III), semua sampel menunjukkan perubahan warna dari larutan ion logam dan ligannya menjadi warna yang baru setelah terjadi kompleks. Hal ini berkaitan dengan konfigurasi elektronik d^3 dari Cr^{3+} . Peningkatan absorpsi Uv-Visibel di daerah 350-570 nm ditemui pada semua sampel kompleks Cr dalam penelitian ini. Serapan maksimum karakteristik terjadi pada panjang gelombang 410nm dan 560nm.

Penelitian terdahulu melaporkan adanya serapan maksimum dari $[Cr(gly)_2]^-$ pada $\lambda_1 = 548$ nm dan $\lambda_2 = 420$ nm [Han, 2010]. Kompleks $Cr(Gly)_3$ menunjukkan dua puncak pada masing-masing 386nm dan 510 nm, sementara untuk $[Cr(gly)_2(OH)]_2$ memiliki serapan maksimum pada 403nm dan 535 nm [Aileyabola, 2012].

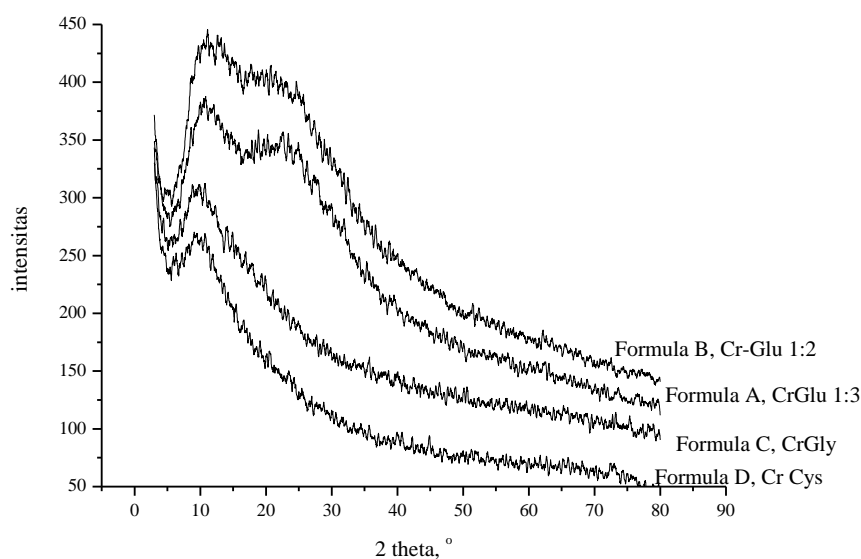
Hasil Elemental Analysis adalah sebagai berikut :

Tabel 5.3. Hasil Elemental Analysis

Compleks	%C	%H	%N
Cr(III) – asam glutamat, 1:3	19.695	7.542	7.303
Cr(III) – asam glutamat; 1;2	20.965	6.602	6.478
Cr(III) – glisin, 1:3	11.047	5.493	5.704
Cr(III) – L sistein, 1:3	12.385	6.492	5.637

Perhitungan dari hasil analisis ini memberikan prediksi rasio setiap unsur (CHON) dalam kompleks. Jumlah oksigen dihitung dari total 100% konsituen. Dua kompleks dari glutamat memiliki rasio yang serupa. Kelebihan hidrogen dan oksigen menunjukkan adanya molekul air di dalam kompleks.

Analisis dengan difraksi sinar X (XRD).



Gambar 5. 10. Difraktogram 4 kompleks Cr-Asam amino (Cr-Glu 1:3; Cr-Glu 1;2, Cr-Gly dan Cr-Cys)

Keempat difraktogram menunjukkan bahwa ke empat senyawa yang dianalisis bersifat amorf. Dengan demikian, tidak memungkinkan untuk dilakukan analisis dengan difraksi sinar X kristal tunggal, untuk menentukan struktur molekulnya. Namun demikian, dari difraktogram di atas dapat diambil pengertian bahwa tidak ada logam bebas baik sebagai pengotor maupun ion Cr^{3+} yang tereduksi. Dengan demikian semua kromium berada dalam bentuk ion yaitu dalam senyawa kompleks.

Ada beberapa kemungkinan formula (struktur molekul) dari kompleks Cr-L asam glutamat, Cr-Glisin dan Cr-sistein. Menurut Rasuljan[14], kompleks tris-glutamat disintesis dari Cr(III) nitrat pada pH 6-7. Produk yang dihasilkan adalah $\text{Cr}(\text{glu})_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (pink) dan $\text{Cr}(\text{glu})_2\text{OH} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (pink). Reaksi pada pH 7.5 dari komposisi rasio 1:2 antara logam dan ligan. Senyawa ini mengandung satu gugus hidroksil dan dua molekul asam glutamat. Senyawa yang dihasilkan adalah $\text{Cr}(\text{glu})_2\text{OH} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (biru) dan $\text{Cr}(\text{glu})_2\text{OH} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (ungu). Empat formula yang lainnya adalah $[\text{Cr}(\text{glu})(\text{OH})_2]_2$, pink; $[\text{Cr}(\text{glu})(\text{OH})_2]\text{H}_2\text{O}$, biru keabuan; $[\text{Cr}(\text{glu})(\text{OH})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, biru keabuan, dan $[\text{Cr}(\text{glu})(\text{OH})_2]3\text{H}_2\text{O}$, biru. Senyawa-senyawa ini mengandung 2 gugus hidroksi; dan 1 asam glutamat dan dibuat dengan rasio logam: ligan 1:1, pada pH=8.

Semua produk tersebut disintesis pada pH tinggi (6-8). Pada kondisi ini kompleks terbentuk pada kondisi ini mengandung gugus hidroksil karena konsentrasi OH^- yang tinggi dalam sistem. Dalam kondisi ini kemungkinan besar terjadi endapan $\text{Cr}(\text{OH})_3$. Yang juga memberikan sinyal O-H dalam spektra inframerah.

Namun demikian, semua kompleks yang disintesis pada penelitian ini dikerjakan pada pH antara 4-4.5 pada kondisi konsentrasi OH^- relatif rendah. Oleh karena itu, diduga hasil produk kompleksnya tidak sama dengan produk yang dilaporkan dari Rasuljan tersebut (14).

El-Megharbel [25] melaporkan struktur 3 kompleks ion logam (Mn^{II} , Cr^{III} , and Fe^{III})-dengan methionin. Tidak ada puncak signifikan pada daerah 3450cm^{-1} maka tidak ada molekul air sebagai air yang terkoordinasi maupun sebagai air kristal. Struktur yang paling mungkin adalah ML_2 untuk Mn dan ML_3 untuk Cr dan Fe. Dua puncak lemah pada 3422cm^{-1} dan 3419cm^{-1} pada masing-masing Cr(III) dan Fe(III) adalah merupakan pita dari vibrasi O-H dari kelembaban pada sampel.

Percobaan tambahan dilakukan terhadap dua Chromium(III)-asam glutamat. dilakukan untuk menentukan keberadaan air. Setelah dipanaskan pada 80°C terjadi perubahan warna dari ungu menjadi abu-abu, berkaitan dengan kehilangan air. Kedua kompleks dari perbandingan 1:3 dan 1:2 (Cr:Glu) menunjukkan fenomena yang sama. Dengan demikian struktur keduanya diduga identik. $[\text{Cr}(\text{glu})_2(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot x\text{H}_2\text{O}$ adalah struktur yang mungkin dari kedua senyawa, dengan molekul air berada sebagai struktur koordinasi. Kemungkinan lain adalah $\text{Cr}(\text{Glu})_3$ jika kehilangan air adalah berasal dari air kristal atau kelembaban berdasarkan kompleks yang serupa dari Cr(III) dengan methionin pada penelitian El-Megharbel. Prediksi Struktur bagi masing masing kompleks Cr(III) dengan glisin dan L-sistein adalah $(\text{gly})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ and $\text{Cr}(\text{cys})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$.

Semua formula yang dihasilkan adalah kompleks Cr(III)- asam amino yang hanya mengandung spesies kromium trivalen. Hal ini dapat dibuktikan dengan uji difenil karbazid. Pengujian dengan reagen ini menghasilkan larutan berwarna lembayung jika mengandung

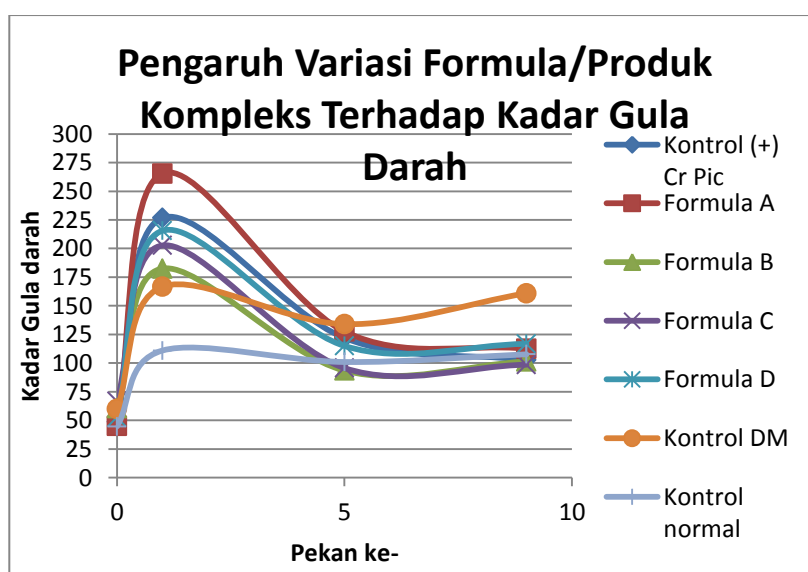
spesies kromium heksavalen, Cr(VI). Semua sampel uji negatif dengan pengujian ini. Artinya tidak ada spesies Cr(VI) baik dari prekursor maupun hasil oksidasi Cr(III). Dengan demikian, tidak ada risiko toksisitas akibat keberadaan Cr(VI).

5.3. Uji aktivitas antihiperglikemia

Eksperimen in vivo pada tikus percobaan terinduksi diabetes tipe 2 meliputi:.

- Penyiapan 36 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, galur Wistar, sehat dan mempunyai aktivitas normal, umur sekitar 3 bulan, BB : ± 200 gram.
- Induksi Diabetes : Injeksi secara intraperitoneal (i.p) dengan Streptozotocin (Stz) dan Nicotinamide. Informasi status positif diabetes diperoleh pada hari ke 7.
- Setelah positif Diabetes, tikus kelompok uji diberi perlakuan harian per oral (p.o) formula Cr-AA, dengan dosis 100, 200, dan 400 $\mu\text{g}/\text{hari}$. Untuk kelompok kontrol diberikan larutan cmc-Na. Kelompok kontrol positif diberi asupan Cr-Pic (Diabetasol)
- Pengamatan dilakukan selama 9 pekan. Setelah perlakuan, tikus-tikus tersebut diukur kadar gula darahnya, dicatat dalam satuan mg/dl.
- Perhitungan aktivitas antihiperglikemia/anti diabetes atas sampel/produk dibandingkan dengan kontrol yaitu data dari tikus tanpa perlakuan. Hasilnya ditetapkan sebagai penurunan kadar gula (glukosa) darah vs waktu .

Bahan yang digunakan adalah produk sintesis yang merupakan hasil penelitian tahap sebelumnya Formula A adalah bahan suplemen Cr-glutamat (perbandingan 1:3); Formula B adalah Cr-glutamat (perbandingan 1:2); Formula C adalah Cr-gliisin (1:3) dan formula D adalah Cr-Sistein (1: 3). Dosis yang diberikan adalah 200 $\mu\text{g}/\text{hari}$. Pengaruh variasi formula terhadap penurunan kadar gula darah disajikan pada gambar 5.11



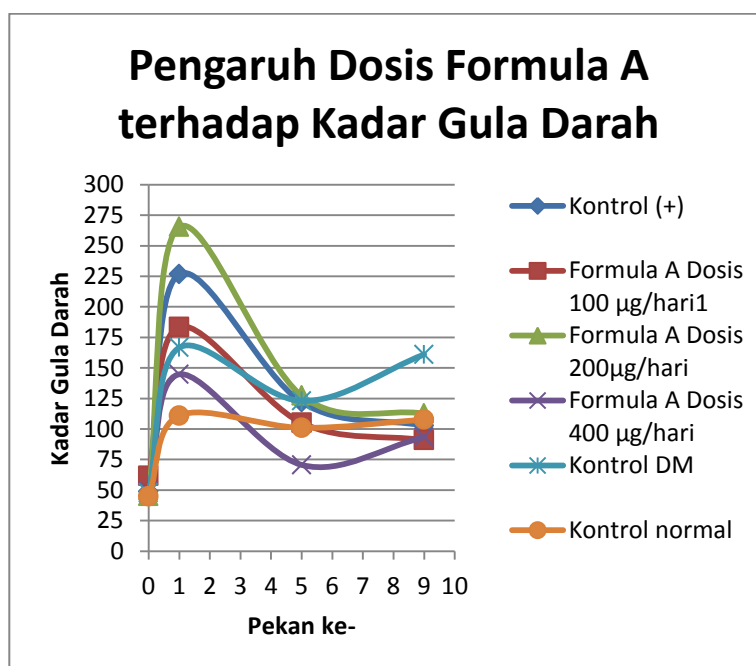
Gambar 5.11. Pengaruh variasi produk kompleks terhadap kadar gula darah tikus percobaan.

Dari gambar 5.11 terlihat bahwa setelah 7 hari induksi diabetes kadar glukosa dari semua kelompok perlakuan telah melewati batas ambang diabetes, 126 mg/dl. Perlakuan selama 35 hari telah menunjukkan penurunan kadar gula darah ke tingkat normal. Lanjutan perlakuan hingga 9 pekan menunjukkan bahwa kadar gula terjaga di daerah normal, di bawah 126 mg/dl. Aktivitas antihiperglikemia ditunjukkan dengan persen penurunan kadar gula (%GL). Hasilnya disajikan pada tabel 5.4

Tabel 5.4. Hasil uji aktivitas antihiperglikemia dalam (%GL)

Formula	Kadar gula sebelum	Kadar gula sesudah	(X-Y)	%GL
A	265.4344	112.6334	152.801	57.566
B	182.5	101.4	81.1	44.438
C	202.7	96.6334	104.0666	52.327
D	215.5667	116.8	98.7667	45.817

Set kedua dari percobaan untuk menentukan pengaruh dosis formula A terhadap kadar gula darah. Hasilnya disajikan dalam gambar 5.12.



Gambar 5.12. Pengaruh dosis formula A terhadap kadar gula darah

Gambar 5.12 menunjukkan bahwa penurunan kadar gula darah terjadi pada semua sampel. Perlakuan dengan formula A dengan dosis 200µg/ hari menghasilkan penurunan kadar gula yang tertinggi menuju nilai kadar gula darah normal dibandingkan dengan kelompok kontrol. Secara statistik semua sampel terdistribusi normal ($p=0.05$) Perbandingan antara kelompok dihitung dengan analisis variansi (ANOVA)

Berat badan keseluruhan subyek uji ditampilkan pada tabel 5.5.

Tabel 5.5.Data berat badan tikus percobaan

Kelompok	BB awal	BB pekan 5	BB pekan 9
1	272.35± 14.97	311±14.14	335.67±15.04
2	257.9±9.63	261.75±7.07	298±26.87
3	263.28±26.30	233.75±24.67	253.5±79.68
4	264.85±24.95	259±41.89	266.75±62.44
5	254.08±28.69	249.5±44.85	298.25±61.73
6	244.95±9.83	249.67±18.23	298.5±13.43
7	245.58±21.65	261.75±12.55	298±17.08
8	221.28±35.39	278±9.84	254.75±62.29
9	229.73±33.81	267±25.86	284±35.08

Di awal eksperimen berat badan tikus ditimbang dan berada antara rata-rata 221.28 – 272.35 gram. Perlakuan Cr-Asam amino tidak menunjukkan perbedaan dalam kenaikan berat badan ($p \geq 0.05$). Perlakuan dengan Cr-Pic (Chromium picolinat) sebagai kontrol positif menghasilkan kenaikan berat badan dari semua sampel kelompok ini. Hal ini terjadi karena sampel diberikan dalam susu khusus diabetesi yaitu (Diabetasol[®]).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Senyawa kompleks kromium(III)-asam amino dengan ligan asam glutamat, glisin dan sistein telah berhasil disintesis menggunakan metode refluks. Hasilnya adalah kompleks dengan rendemen antara 40.08 – 87.50%
2. Uji aktivitas sebagai kandidat antidiabetes diukur dengan parameter antihiperglikemia, dengan eksperimen in vivo pada tikus Wistar. Hasilnya menunjukkan persen penurunan kadar gula darah hingga 57,56 %. Perlakuan dengan semua formula menunjukkan penurunan kadar gula darah yang berbeda secara signifikan dengan kelompok kontrol ($p=0.05$).

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang formulasi senyawa kompleks yang dihasilkan menjadi bentukan suplemen yang mudah dikonsumsi.
2. Perlu dilakukan uji klinis untuk aplikasi suplemen dari produk kompleks ini kepada manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- [1.] Anderson R.A., 2000, Chromium and the Prevention and Control Of Diabetes *Diabetes & Metabolism*, vol.26, p. 22-27.
- [2.] Allenzi FQ., Effect of Nicotinamide on Experimental Induced Diabetes, *Iran J. Allergy Asthma Immunol*, 2009;8 (1):11-18.
- [3.] Astiyandani, PG., Gd. Angga Permana A. W., Putu Diah Vedayanti, Cok. Istri Devi Larayanthi,
- [4.] Made Prani Windasari dan I.A. Ika Wahyuniari, 2010, Uji Klinis In Vivo Pengaruh Konsumsi Daluman (*Cycllea Barbata*) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Pada Tikus Wistar Jantan Dengan Diabetes Mellitus Tipe 2, *IPTEKMA*, Volume 2 No.1, 01-04, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Indonesia.
- [5.] Are, PC., Adidala,RR., Puchchakayala,G.,hypoglycemic and Antidiabetic Activity of Glucidion velutinum on streptozotocin-nicotinamide Induced Type2 Diabetic rats, *Eur. J. Biol.Sci*, 2011, 3(4); 126-130.
- [6.] Bryan, RF., Greene P.T., Stokely, P.F., Wilson, E.W., 1971, *J. Inorg. Chem*, vol.10, no.7, 1468-1473.
- [7.] Boghchi, D., Stohs, SJ., Downs, BW., 2002, Cytotoxicity and Oxidative Mechanism of Different Forms of Chromium, *Toxicology*, No. 180 (1), p. 5-22.
- [8.] Calafat, A.M., Fiol , J.J., Terron, A., Moreno, V., Goodgame,D.M.L., Hussain,I., 1990, Ternary Chromium (III) –Nucleotide-Amino Acid Complexes: l-Methionine, L-Serine and Glycine Derivatives, *Inorg. Chim. Acta*, 169, 133-139.
- [9.] Dureja, H., Kaushik, D., Kumar, V., Development In Nutraceuticals, *Indian Journal Of Pharmacology*, 2003., 35: 363-372
- [10.] Etuk, EU., Animals Models for studying Diabetes mellitus, *Agric. Bio. J. of N. Am.*, 2010:1 (2), 130-134.
- [11.] Guindy NM., Abou Gamra Z.M., Abdel Messih M.F., 2000, Kinetic Studies on the Complexation of Chromium(III) with some Amino Acids in Aqueous Acidic Medium, *Monatshefte fur Chemie*, 131,857-866.
- [12.] Hepburn, D.D , Burney, JM., Woski,K., Vincent ' J.B , 2003, The Nutritional Supplement Chromium Picolinate Generates Oxidative DNA Damage And Peroxidized Lipids In Vivo,*Polyhedron*, Vol. 22, Issue 3, pp.455-463
- [13.] Ibrahim, SS., Rizk, SF., Nicotinamide, A Cytoprotectant against streptozotocin induced diabetic damage in wistar rats brains, *Afr.J. Biochem.Res*, 2008, 2 (8), pp.174-180.
- [14.] Krejpcio, Z., 2001, Essentiality of Chromium for Human Nutrition and Health, *Polish Journal of Environmental Studies* Vol. 10, No. 6 (2001), 399-404.
- [15.] Kun S. Budiasih, C.Anwar, S.J.Santosa, H.Ismail, Synthesis and Characterization of Chromium (III) Complexes with L-Glutamic Acid, Glycine and L-Cysteine, *World Academy of Science Engineering & Technology (Waset) Journal*, 2013: 78, pp 1095-1909.
- [16.] Krejpcio, Z., 2001, Essentiality of Chromium for Human Nutrition and Health, *Polish J. of Environ. Studies* Vol. 10, No. 6 (2001), 399-404.
- [17.] Malone, Rosette M. Roat, 2002, Metals In Medicine, *Bioinorganic Chemistry: A Short Course*. John Wiley & Sons, Inc., ISBN: 0-471-15976-X.

- [18.] Nedim, AA., Karan BZ., Öner R., Ünaleroğlu, C., Öner, C., 2003, Effects of Neutral, Cationic, and Anionic Chromium Ascorbate Complexes on Isolated Human Mitochondrial and Genomic DNA, *J. of Biochem. and Mol. Biol.* Vol. 36, No. 4, pp. 403-408.
- [19.] Ochiai, 2008, Bioinorganic Chemistry, John Willey & Sons, New York.
- [20.] Park, S.J., Choi Y.K., Han S.S., Lee, K.W., 1999, Sharp Line Electronic Spectroscopy And Ligand Analysis Of Cr(III) Complexes With Amino Acid Ligands, *Bull Korean Chem Soc. Bull. Korean Chem. Soc.*, Vol. 20, No. 12, 1475-1478.
- [21.] Pranoto, A., Sutjahjo, A., Tjokroprawiro, A., Murtiwi, S., Wibisono, S., 2011, Konsensus Pengelolaan Dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Di Indonesia 2011, LPPM, Universitas Airlangga, Surabaya
- [22.] Rasuljan, M., & Al.Rashid, H., 1989, Preparation And Infrared Studies Of Hydroxyl Bridged Chromium (III) Complexes Of L Glutamic Acid, *Jour. Chem, Soc. Pak*, vol. 11, no1.
- [23.] Selcuk MY., Aygen B., Dogukan A., Tuzcu Z., Akdemir F., Komorowski J., Atalay M., Sahin K., 2012, Chromium Picolinate and Chromium Histidinate Protects Against Renal Dysfunction By Modulation Of NF- κ B pathway in high-fat diet fed and Streptozotocin-induced diabetic rats, *Nutrition & Metabolism*, Vol 9:30.
- [24.] Sharma, M. Siddique, M.W., Shamim, A.M., Gyanesh, ., and K.K. Pillai, 2011., Evaluation of Antidiabetic and Antioxidant Effects of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) in Streptozotocin-Nicotinamide Induced Diabetic Rats, *The Open Conference Proceedings Journal*, 2, 53-58.
- [25.] Shirwaikar, A., Rajendran K., Kumar C.D., Bodla R., 2004, Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Annona squamosa* in streptozotocin-nicotinamide type 2 diabetic rats, *J. Of. Ethnopharmacology* : 91 : 171-175.
- [26.] Subramaniam, V., Hoggard, P.E., 1989, Meridional Coordination of Diethylenetriamine to Chromium(III), *Inorg. Chim. Acta*, 155, 161-163.
- [27.] Vincent ., J.B., (ed), 2007, A history of Chromium Studies (1955–1995), The Nutritional Biochemistry of Chromium(III) , Elsevier, New York .
- [28.] WHO, Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications,, *Report of a WHO Consultation* World Health Organization, Department of Non communicable Disease Surveillance, 1999, Geneva.
- [29.] Yang, X.P., Kamalakannan P., Allyn C. Ontko, M.N.A. Rao, Cindy, X.F., Rena, J., Sreejayan, N., 2005, A Newly Synthetic Chromium Complex Chromium(Phenylalanine)₃ improves Insulin Responsiveness and Reduces Whole Body Glucose Tolerance, *FEBS Letters* 579, p.1458–1464.

LAMPIRAN

1. Personalia
2. CV
3. Publikasi (preview)

PERSONALIA

NAMA	Kun Sri Budiasih, M.Si
Bidang Keahlian	Kimia Anorganik
Institusi	Universitas Negeri Yogyakarta

Biodata

A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap	Kun Sri Budiasih, M.Si	P
2	Jabatan Fungsional	Lektor	
3	Jabatan Struktural	-	
4	NIP	19720202200501 2001	
5	NIDN	0002027213	
6	Tempat, Tanggal lahir	Klaten, 02 Februari 1972	
7	Alamat rumah	Jl.Kapten P. Tendean 12 Yogyakarta	
8	Telepon /Fax	081328791606	
9	Alamat Kantor	Kampus UNY Karangmalang Yogyakarta, 55281	
10	Telp/fax	0274-586168 psw 217	
11	Alamat Email	ks_budiasih@yahoo.co.uk	
12	Lulusan yang telah dihasilkan	S1: 20	
13	Mata Kuliah yang diampu	1. Kimia Anorganik 1 2. Praktikum Kimia Anorganik I/II/III 3. Kristalografi dan Mineralogi	

B. Riwayat Pendidikan

	S1	S2	S3
Nama PT	UGM	ITB	UGM
Bidang Ilmu	Kimia	Kimia	Kimia
Tahun Masuk - Lulus	1990-1995	1996-1998	2009-

Pengalaman Penelitian Dalam 5 Tahun Terakhir

No	Tahun	Judul	Pendanaan	
			Sumber	Jumlah (juta Rp)
1	2007	Karakterisasi Kromium (III) Askorbat Produk Industri sebagai Upaya Mendapatkan Data Pembandingan bagi Produk Sintesis,	DIPA FMIPA UNY	3
2	2008-2009	Pengolahan Limbah Industri Yang Mengandung Logam Berat Menggunakan Ragi <i>Yarrowia Lipolytica</i> ,	Penelitian Fundamental, DP2M Dikti.(anggota)	30
3	2008	Pengembangan Geopolimer Dari Abu Sekam Padi Untuk Pengolahan Limbah Kromium (VI),	DIPA UNY.	8
4	2008	Penerapan Praktikum Berorientasi Aplikasi (<i>Applied Oriented</i>) Untuk Pembelajaran <i>Life Skill</i> Pada Mata Kuliah Praktikum Kimia Anorganik I Dan II.	PHK A-2, UNY	20
5	2008	Penerapan Model CAE (<i>Communicative Academic English</i>) Pada Kolaborasi Mata Kuliah Bahasa Inggris Dan Kimia Anorganik 1 Untuk Peningkatan Kualitas	PHK A-2, UNY.	30

		Proses Dan Hasil Belajar Kimia Sebagai Suatu Strategi Perintisan <i>World Class University</i> ,		
6	2009	Aplikasi proses Geopolimerisasi untuk Pengolahan Limbah Abu Layang dan Bahan Organik dari Pabrik Gula di Yogyakarta,	DIPA UNY.	8
7	2009,	Penentuan Efisiensi Immobilisasi Kromium (VI) Dalam Geopolimer Abu Sekam Padi	DIPA FMIPA UNY	4
8	2010	Pengaruh Ion Logam Transisi Terhadap Efektivitas Biosorpsi Ion Pb ²⁺ Oleh Ragi <i>Yarrowia Lipolytica.</i> , (anggota)	P. Fundamental, DP2M Dikti.	30
9	2012	Pengembangan Senyawa Kompleks Kromium (III) Dan Asam Amino Serta Uji Aplikasinya Sebagai Suplemen Antidiabetes.	P. Hibah Disertasi Doktor, Dikti.	45

Pengalaman Pengabdian Pada Masyarakat dalam 5 tahun terakhir

No	Tahun	Judul	Pendanaan	
			Sumber	Jumlah (juta Rp)
1	2007,	Mengenal dan Memanfaatkan Susu, Pembuatan Susu Kedelai untuk pemenuhan gizi keluarga	DIPA FMIPA UNY	3
2	2008	Strategi Mengelola Kelompok Ilmiah Remaja Untuk Membangun Budaya Ilmiah Generasi Muda, 2008	PPM Reguler LPM UNY	10
3	2009	Pemanfaatan Ektrak Daun Nimba (<i>Azadirachta Indica</i>) Sebagai Anti Jamur Alami Untuk Kerajinan Kulit Salak	DIPA FMIPA UNY	3
4	2009	Pemilahan Sampah,	LPM UNY	10
5	2010	Pengawetan Serat Eceng Gondok Dengan Bahan Pengawet Alami Ekstrak Daun Nimba, IbPE Industri Kerajinan eceng gondok (Tahun 1).	IbPE DP2M Dikti	98
6	2010	Pembuatan MP-ASI Berbasis Rumah Untuk Kesehatan Bayi & Balita,	LPM UNY	5
7	2010	Budidaya Rosella (<i>Hibiscus Sabdariffa</i> L) dalam Pelatihan Pembuatan Minuman Berbahan Kelopak bunga Rosella,	LPM UNY	10
8	2011	Proses Pemutihan Serat Yang Aman Bagi Lingkungan: IbPE Industri Kerajinan Eceng Gondok (Tahun Ke2),	IbPE DP2M Dikti	98
9	2012	Pengelolaan limbah industri kerajinan serat eceng gondok dan serat lainnya. IbPE Industri Kerajinan Eceng Gondok (Tahun Ke3)	IbPE , Dikti	98

Pengalaman Penulisan Artikel Ilmiah dalam Jurnal 5 tahun terakhir

No	Judul Artikel Ilmiah	Volume/No/Tahun	Nama Jurnal
1	Pemisahan Cr(III) melalui Membran Cair Emulsi dengan Carrier Tri Butil Fosfat,	Vo1.2, No 2, Oktober 2007. ISSN 1412-3991.	Jurnal Penelitian SAINTEK, Lemlit UNY,
2	Penentuan Efisiensi Immobilisasi Kromium (VI) Dalam Geopolimer Abu Sekam Padi dengan Uji TCLP (<i>Toxicity Characteristic Leaching Procedure</i>)	Vol. 12 No.1, Februari 2011, ISSN 1411-1047	Jurnal Penelitian EKSAKTA, Universitas Islam Indonesia
3	Antihyperglycemic Activity of some Chromium(III)- amino acid Complexes in –Nicotinamide-Streptozotocin Induced Diabetic Wistar Rats	Accepted, Oct 2013 No. JCPR 2986	Journal of Chemical and Pharmaceutical Research

Pengalaman Penyampaian Makalah Secara Oral pada Pertemuan / Seminar Ilmiah dalam 5 Tahun Terakhir

No	Nama Pertemuan Ilmiah /Seminar	Judul Artikel Ilmiah	Waktu dan Tempat
1	Seminar Nasional Penelitian dan Penerapan MIPA ,	Penggunaan Kromium (III) Askorbat Sebagai Nutrisi Tambahan bagi Diabetesi dan Gangguan Lambung,	UNY, Yogyakarta, Agustus 2007.
2	Seminar Nasional FMIPA UNY 2008.	Pemanfaatan AIPs (Aluminosilicate Inorganic Polymers) Sebagai Semen Alternatif dan Agen Immobilisasi Limbah Cair,	Yogyakarta, Mei 2008
3	Seminar Nasional Kimia 2009	Karakterisasi Kromium (III) Askorbat Produk Industri sebagai Upaya Mendapatkan Data Pembanding bagi Produk Sintesis,	Yogyakarta, Oktober 2009
4	Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan, & Penerapan MIPA,.	Studi Bioanorganik: Mineral Runutan Dalam dalam.Metabolisme Tubuh”,	UNY Yogyakarta, 16 Mei, 2009
5	International Chemistry Seminar.	Preparation and Characterization of Rice Husk Ash based Geopolymer,	UGM, Yogyakarta, 2009
6	Pure and Applied Chemistry Conference,(PACCON	Immobilization of Cr(VI) in Rice Husk Ash based Geopolymer, ,	Ubon Ratcathani, Thailand, 23 Januari 2010.
7	Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA,	Interferensi ion Cd(II) dan Hg(II) terhadap Biofungsi Persenyawaan Zn pada Tubuh Manusia,	FMIPA UNY,Yogyakarta, 14 Mei 2011.
8	DAAD <i>Regional Workshop in South East Asia , Gadjah Mada University.</i>	Application of Geopolymerization in Treatment of Fly ash and Waste Water of “Madukismo” Sugar Plant Yogyakarta,	UGM, Yogyakarta, April 2011
9	Seminar Nasional Kimia, 2011	Besi (II) dan Besi (III) Askorbat, Sintesis dan Prospek Biofungsi Sebagai Suplemen Anti Anemia	UNY, Yogyakarta, 26 November 2011

	Conference of Indonesian Chemical Society, 2012	Studies of Chromium (III) – Glutamic Acid Complexes, Antidiabetic Supplement Candidates	September 2012
11	ICC 2013 Istanbul Turkey	Synthesis and Characterization of Chromium (III) Complexes with L-Glutamic Acid, Glycine and L-Cysteine	Istanbul, 20-21 Juni 2013
12	International Conference of Indonesian Chemical Society, 2013	Molybdenum Complexes with Amino Acids as Antihyperglycemic Agent : Preparation and Spectroscopic Studies.	Yogyakarta, 22 Oktober 2013.

Pengalaman Penulisan Buku dalam 5 Tahun Terakhir

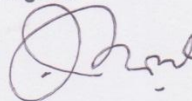
No	Judul Buku	Tahun	Jumlah Halaman	Penerbit
1	Handbook Ibu Menyusui (ISBN 978-979-16922-1-2)	2008	178	Salamadani Pustaka, Bandung

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya bersedia menerima risikonya.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan pengajuan Penelitian Hibah Disertasi Doktor.

Yogyakarta, 20 November 2013

Pengusul



Kun Sri Budiasih, M.Si
NIP.19720202 2005012001

Synthesis and Characterization of Chromium (III) Complexes with L-Glutamic Acid, Glycine and L-Cysteine

Kun Sri Budiasih, Chairil Anwar, Sri Juari Santosa, and Hilda Ismail

Abstract—Some Chromium (III) complexes were synthesized with three amino acids: L-Glutamic Acid, Glycine, and L-cysteine as the ligands, in order to provide a new supplement containing Cr(III) for patients with type 2 diabetes mellitus. The complexes have been prepared by refluxing a mixture of Chromium(III) chloride in aqueous solution with L-glutamic acid, Glycine, and L-cysteine after pH adjustment by sodium hydroxide. These complexes were characterized by Infrared and UV-Vis spectrophotometer and Elemental analyzer. The product yields of four products were 87.50 and 56.76% for Cr-Glu complexes, 46.70% for Cr-Gly complex and 40.08% for Cr-Cys complex respectively. The predicted structure of the complexes are $[Cr(glu)_2(H_2O)_2] \cdot xH_2O$, $Cr(gly)_3 \cdot xH_2O$ and $Cr(cys)_3 \cdot xH_2O$, respectively.

Keywords—Cr(III), L-Cysteine L-glutamic Acid, Glycine, complexation.

I. INTRODUCTION

CHROMIUM(III) is a trace mineral which is needed as supplement in management of diabetes mellitus. It has an important role in glucose metabolism.

Biological function of chromium is not fully known yet. The diabetes relevant interaction of Cr (III) is with the hormone insulin and its receptors. This suggests that Cr (III) acts with insulin on the first step in the metabolism of sugar entry into the cell, and facilitates the interaction of insulin with its receptor and the cell surface [1], [2]. Chromium increases insulin binding to cells, insulin receptor number and activates insulin receptor kinase leading to increased insulin sensitivity [3].

The most popular chromium supplement is Chromium picolinate, $Cr(pic)_3$, a relatively well absorbed form of chromium (III). The disadvantage of $Cr(pic)_3$ is the effect of this compound in DNA damage[4]. Comparative studies of chromium(III) picolinate and niacin-bound chromium(III), two popular dietary supplements, reveal that chromium(III) picolinate produces significantly more oxidative stress and

DNA damage. Administration of the supplement to rats has demonstrated for the first time that it can give rise to oxidative DNA damage in whole animals [5]. The search for compounds with novel properties to deal with the disease condition is still in progress.

Another form of Cr(III) supplement is Chromium ascorbate complex [6]. There is a direct relationship between the charge of the Cr(III) species and their reactivity with DNA. The positively-charged complexes displayed ultimate DNA-breaking properties, while the neutral and negatively-charged complexes were almost inert. Yang [7] proposed D-phenylalanine, an amino acid, as a novel ligand for Chromium (III) complex. The product was $Cr(pa)_3$. Unlike chromium picolinate, $Cr(pa)_3$ does not cleave DNA under physiological conditions.

Some amino acids with Cr(III) have been reported as a part of GTF (*Glucose Tolerance Factor*), a molecule, that is, involved in the function of insulin in the processing of glucose into energy. It is an oligopeptide of molecular weight about 1438, and composed of glycine, cysteine, aspartate and glutamate with the acidic amino acid comprising more than half. One mole of this compound binds four molecule of Cr(III) very tightly. This manifests as the hormonal action of insulin. Natural GTF is a fraction isolated from brewer's yeast which plays a biological activity in glucose metabolism [8]. The similar study also published that a solution which contains chromium (III), glycine, glutamic acid and cysteine mimics the biological activity of the naturally occurring GTF [9]. Another study reported the relationship between chromium(III) -amino acids complexes with GTF activity using a yeast assay[10].

Unfortunately, the research on the synthesis of chromium complexes with amino acids is not well developed. Some problems found from these research on this topic. Several works in this topic reported rarely from the 70's to 90's and did not be continued and did not related to one another. The subsequent report appeared in the 2000s.

One of the commonly cited for the synthesis of complexes of Chromium with amino acid ligands is the procedure of Bryan [11]. However, Wallace [12] reported that the synthesis methods are not reproducible. Many trials are needed to get a consistent product from a particular procedure.

Some works also reported different products from the same raw materials. The reasons are due to differences in the reaction conditions [13], the possibility of many products [14]-[16] and formation of geometric isomers [17]. The difficulties

Kun Sri Budiasih is with the Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Yogyakarta State University, Indonesia (e-mail: ks_budiasih@yahoo.co.uk).

Chairil Anwar is with the Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia (e-mail: irilwar@yahoo.com).

Sri Juari Santosa is with the Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia (e-mail: sjuari@yahoo.com).

Hilda Ismail is with the Faculty of Pharmacy, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia (e-mail: Hld_ismail@yahoo.com).

Antihyperglycemic Activity of some Chromium(III)- amino acid Complexes in –Nicotinamide-Streptozotocin Induced Diabetic Wistar Rats

Kun Sri Budiasih^{1*}, Chairil Anwar², Sri Juari Santosa³, Hilda Ismail⁴, Ika Puspita Sari⁵

1) Chemistry Education Dept, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Yogyakarta State University, Indonesia (e-mail: ks_budiasih@yahoo.co.uk).

2,3) Chemistry Dept, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

4,5) Faculty of Pharmacy, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

Abstract

Investigation of an in vivo application of chromium- amino acid complexes was conducted on nicotinamide-streptozotocin induced diabetic Wistar rats. The rats were divided into 9 groups each consist of 4 animals. Three groups are control (+) with chromium picolinate (CrPic), control (-) diabetic group (DM) and control non diabetic (non DM). Furthermore, three groups were examined on the effect of Formula A (Cr-glutamate by 1:3 ratio) at dose (100, 200 and 400 µg/day). In addition, the last 3 groups were studied on the effect of different formula of Cr (III)-glutamate made of Cr-glutamate by ratio 1:2 (200 µg/day), Cr-glycine (1:3) and Cr-cysteine (1:3) complexes. The blood glucose levels were measured before and after treatment. All formulas gave significant effect in lowering glucose level (p 0.05) compared to diabetic rats control group.

Keywords— Antihyperglycemic, amino acid, chromium, complexes, nicotinamide-streptozotocin diabetic.

Introduction

Diabetes is a metabolic disease which characterized by hyperglycemia and glycosuria resulting from the defect of the secretion or the action of insulin, or both of them. Prediction of the World Health Organization (WHO) explained that the amount of diabetic patients in Indonesia will increase from 8.4 million at 2000 to 21.3 million in 2030. *International Diabetes Federation (IDF)* also predicted the similar condition. Prevalence of diabetes mellitus in Indonesia is 5.7% at 2010 [1,2]. Diabetes currently affects more than 194 million people worldwide and is expected to reach 333 million by 2025, with the maximum burdens falling upon developing countries [3].

Diet, exercise, supplement or nutraceutical, oral hypoglycemic agents and insulin are the particular management of diabetes. Nutraceuticals (often referred to functional foods) are natural bioactive or chemical compounds that have health promoting, disease preventing or medicinal properties [4]. Some natural product were used as antidiabetic or hypoglycemic agent, for example *Raphanus Sativus L. Leaves* [5], *Allium Cepa, L.* [6] and *Cocos nucifera I* [7].

Most nutraceutical usually come from organic compounds. The research on inorganic nutraceutical is less popular. Inorganic compound or metal-containing medicinal product may contain one of these probabilities: (a) chemical elements essential to life forms, for example, iron for anemia (b) non essential / toxic elements that carry out specific medicinal purposes, for example platinum as antitumor agents [8].

Some metal complexes or organo-metallic compounds have been used in medicine for centuries. Metal complexes play essential role in pharmaceutical industry and in agriculture. The metallo-elements present in trace quantities play vital roles at the molecular level in living system. In diabetes, intake of chromium metal complex shown considerable reduction in the glucose level [9].

Supplement contains trivalent Chromium is needed for a person with type 2 diabetes mellitus, according to it's important role in glucose metabolism. Cr (III) interact with the insulin and its receptors on the first step in the metabolism of glucose entry into the cell, and facilitates the interaction of insulin with its receptor on the cell surface [10][11]. Chromium increases insulin binding to cells, insulin receptor number as well as activates insulin receptor kinase leading to increase sensitivity of insulin receptor. Additional studies are urgently needed to elucidate the mechanism of the action of chromium and its role in the prevention and control of diabetes [12].

The amount of Cr(III) intake is about 200µgCr/ day. The well known chromium supplement

