PREDIKSI SIFAT FISIKOKIMIA DAN SPEKTRUM KUERSETIN, ANDROGRAFOLID DAN GLUKOSAMIN MENGGUNAKAN METODE AB INITIO, SEMIEMPIRIS DAN MEKANIKA MOLEKUL

Predicting Physicochemical Properties and Spectrum of Quercetin, Andrographolide and Glucosamine Using Ab Initio, Semiempiricaland Molecular Mechanics Methods

SANDRA MEGANTARA
PT. Combiphar
email korespondensi: s_megantara@yahoo.co.id

Abstrak

Terdapat dua metode pendekatan dalam menyelesaikan permasalahan kimia secara komputasi yaitu kimia komputasi kuantum dan kimia komputasi non-kuantum. Kimia komputasi kuantum diantaranya adalah metode ab initio dan semiempiris, dan yang termasuk kedalam kimia komputasi non-kuantum adalah metode mekanika molekul. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan metode kimia komputasi kuantum dan kimia komputasi non-kuantum tersebut, dengan cara menerapkan metode ab initio, semiempiris dan mekanika molekul untuk memprediksi sifat fisikokimia (Log P, titik leleh) dan spektrum (ultraviolet-visible, 1H-NMR, 13C-NMR) kuersetin, glukosamin dan andrografolid sebagai representasi senyawa bioaktif dari alam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa energi terkecil untuk optimasi geometri diberikan oleh metode ab initio, sedangkan waktu tercepat untuk optimasi geometri diberikan oleh metode mekanika molekul. Nilai prediksi Log P ketiga metode tersebut tidak dipengaruhi oleh hasil optimasi geometri, yaitu dengan tingkat kesalahan: MAD 0,271; MSE 0,204; MFE 0,255 dan MAPE 9,66%, artinya akurasinya baik. Nilai prediksi titik leleh ketiga metode tersebut tidak dipengaruhi oleh hasil optimasi geometri dengan tingkat kesalahan: MAD 190,96; MSE 55.434,78; MFE -190,96 dan MAPE 70,82%, artinya akurasi kurang baik. Prediksi spektrum ultraviolet-visible dipengaruhi oleh hasil optimasi geometri. Metode ab initio memberikan hasil prediksi λ maksimum yang paling baik dengan tingkat kesalahan: MAD 2,78; MSE 7,90; MFE 2,78 dan MAPE 1,15%. Tingkat kesalahan metode semiempiris: MAD 6,46; MSE 42,06; MFE 6,46 dan MAPE 2,73%. Tingkat kesalahan metode mekanika molekul: MAD 30,93; MSE 958,65; MFE 30,93 dan MAPE 12,94%. Hasil prediksi spektrum 1H-NMR dan 13C-NMR tidak dipengaruhi oleh hasil optimasi geometri dan puncak-puncak geseran kimia pada spektrum sesuai dengan teori NMR.

Kata kunci: ab initio, semiempiris, mekanika molekul, kuersetin, glukosamin, andrografolid

Abstract

There are two methods of approach in solving computational chemistry problems which are computational quantum chemistry and computational non-quantum chemistry. Computational quantum chemistry methods are e.g. ab initio and semiempirical, whilst the non-computational quantum chemistry method is molecular mechanics. This study was aimed to find the difference of computational quantum chemistry and non-computational quantum chemistry methods by applying ab initio, semiempirical and molecular mechanics methods to predict the physicochemical properties (Log P, melting point) and spectrum (ultraviolet-visible, 1H-NMR, 13C-NMR) of quercetin, glucosamine and andrographolide as a representation of natural bioactive compounds. Results showed that the minimum energy of geometry optimization provided by ab initio methods, while the fastest time for geometry optimization given by molecular mechanics method. Log P prediction was not influenced by the geometry optimization, with error rate: MAD 0.271; MSE 0.204; MFE 0.255 and MAPE 9.66%, meaning the accuracy was good. Melting point prediction was not influenced by the geometry optimization, with error rate: MAD 190.96; MSE 55434.78; MFE -190.96 and MAPE 70.82%, meaning the accuracy was not good. Ultraviolet-visible spectrum prediction was affected by the geometry optimization. Ab initio method was the best for predicted λ maximum with error rate: MAD 2.78; MSE 7.90; MFE 2.78 and MAPE 1.15%. The error rate of semiempirical method: MAD 6.46; MSE 42.06; MFE 6.46 and MAPE 2.73%. The error rate of molecular mechanics method: MAD 30.93; MSE 958.65; MFE 30.93 and MAPE 12.94%. The results of 1H-NMR and 13C-NMR spectra prediction was not influenced by the geometry optimization and chemical shift in accordance with the theory of NMR spectra.

Keywords: *ab initio, semiempirical, molecular mechanics, quercetin, glucosamine, andrographolide*

Pendahuluan

Obat yang baik harus memenuhi persyaratan khasiat (efficacy), keamanan (safety) dan mutu (quality) pada dosis yang digunakan untuk terapi. Oleh karena obat berkaitan erat dengan kesehatan, bahkan nyawa manusia, maka pembuatannya diatur secara ketat sesuai dengan persyaratan CPOB (Cara Pembuatan Obat yang Baik). Salah satu faktor yang berperan terhadap mutu obat adalah proses pembuatan dan pengawasan mutunya, sehingga konsep pengawasan mutu harus dapat menjamin bahwa selama proses pembuatan obat tidak terjadi kesalahan atau penyimpangan apapun (Muliawan et al., 2011).

Pengawasan mutu obat di antaranya meliputi pemastian bahwa bahan baku yang digunakan telah memenuhi spesifikasi identitas, kekuatan, kemurnian dan parameter mutu lain yang telah ditetapkan. Salah satu parameter pengujian yang sangat penting adalah analisis sifat fisikokimia yang dapat menentukan mutu dan karakteristik bahan baku obat yang diperiksa (Badan POM, 2006).

Kimia komputasi adalah cabang kimia yang menggunakan hasil kimia teori yang diterjemahkan ke dalam program komputer untuk menghitung sifat-sifat molekul dan perubahannya. Kimia komputasi sangat bermanfaat dalam penelitian zat-zat kimia atau bahan baku obat baru yang sangat sukar didapatkan atau harganya yang terlalu mahal. Selain itu, kimia komputasi juga membantu ahli kimia membuat prediksi sebelum menjalankan percobaan yang sebenarnya sehingga mereka bisa lebih siap untuk melakukan

pengamatan dan waktunya menjadi lebih efisien (Grant & Richards, 1998).

Beberapa institut telah merancang dan membuat berbagai program perangkat lunak kimia komputasi. Salah satunya, dengan program tersebut kita dapat memprediksi sifat fisikokimia suatu senyawa bahkan dapat memprediksi berbagai macam spektrum yang akan dihasilkan. Hal ini tentunya sangat bermanfaat dalam pemilihan metode dan penentuan kondisi analisis yang optimum.

Saat ini ada dua metode dalam pendekatan permasalahan kimia, yaitu: kimia komputasi kuantum dan kimia komputasi non-kuantum. Kimia komputasi kuantum adalah yang berkaitan dengan komputasi numerik dari struktur elektronik molekul. Ada 2 teknik pendekatan untuk metode ini yaitu ab initio dan semiempiris. Kimia komputasi non-kuantum adalah pendekatan dengan perumusan ekspresi analitis untuk sifat-sifat molekul dan reaksinya, dimana pendekatan ini dikenal dengan mekanika molekul (Jensen, 1999).

Kuersetin, glukosamin dan andrografolid merupakan senyawa obat bahan alam yang akhir-akhir ini banyak diteliti. Dilihat dari struktur molekulnya, ketiga senyawa tersebut mempunyai ciri khas masing-masing. Kuersetin dengan rumus molekul C15H10O7 dan nama IUPAC 2-(3,4-dihidroksifenil)-3,5,7-trihidroksi-4H-kromon-4-on, mempunyai banyak gugus kromofor dari cincin aromatik (Materska, 2008). Glukosamin dengan rumus molekul C6H13NO5 dan nama IUPAC (3R,4R,5S,6R)-3-amino-6-(hidroksimetil) oksana-2,4,5-triol, tidak mempunyai gugus kromofor sehingga biasanya dilakukan derivatisasi dalam analisisnya (Shen et al., 2007). Andrografolid dengan rumus molekul C20H30O5 dan nama IUPAC (3E)-4-hidroksi-3-{2-[(1R,4aS,6R,8aS)-6-hidroksi-5-(hidroksimetil)-5,8a-dimetil-2-metilendekahidro-1-naftalenil]etiliden}dihidro-2 (3H)-furanon, mempunyai gugus kromofor tapi tidak mempunyai cincin aromatik (Smith et al., 1982).

Pada penelitian ini dilakukan perbandingan metode ab initio, semiempiris dan mekanika molekul dalam memprediksi sifat fisikokimia dan spektrum dengan menggunakan senyawa contoh kuersetin, glukosamin dan andrografolid sebagai representasi senyawa bioaktif dari alam. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dalam pemilihan metode yang tepat dalam analisis senyawa obat bahan alam dan senyawa obat yang lain secara komputasi.

Metode

Dalam penelitian ini dilakukan analisis sifat fisikokimia (Log P, titik leleh), spektrum (ultraviolet-visible, 1H-NMR, 13C-NMR) senyawa uji kuersetin, glukosamin dan andrografolid secara komputasi, dimana masing-masing dianalisis dengan metode ab initio, semiempiris dan mekanika molekul.

Peralatan yang digunakan untuk analisis sifat fisikokimia dan spektrum senyawa uji terdiri dari perangkat keras (hardware) dan perangkat lunak (software). Perangkat keras (hardware) berupa komputer pribadi (personal computer, PC) dengan spesifikasi Processor: Intel® Core™ i5-450M (2.40 GHz, Cache 3 MB), Chipset: Intel HM55, Memory: 4 GB DDR3 SODIMM PC-8500, Video: ATI Mobility Radeon HD 5430 512MB, Hard Drive: 500 GB Serial ATA 7200 RPM. Perangkat lunak (software) yang digunakan adalah ChemBio Office® ultra 2010 (trial version) dengan pre-installed add-on Gamess Client® Pro untuk perhitungan ab initio, CS MOPAC® Pro untuk perhitungan semiempiris dan Mechanics® Pro untuk perhitungan mekanika molekul.

Analisis fisikokimia dan spektrum kuersetin, glukosamin, dan andrografolid dimulai dengan pembuatan struktur dua dimensi untuk masing-masing senyawa uji dengan program ChemDraw Pro® 12.0, kemudian dikonversi ke struktur tiga dimensi dengan program ChemBio3D Ultra® 12.0.

Perhitungan secara ab initio dimulai dengan optimasi geometri masing-masing senyawa uji. Tipe pendekatan yang digunakan adalah perhitungan Hartree-Fock (HF) dengan metode pendekatan medan pusat (central field approximation). Fungsi koordinat yang dipilih adalah kombinasi linear dari orbital tipe Slater exp(-x) dengan himpunan basis (basic set) yang digunakan adalah STO-3G.

Perhitungan secara semiempiris dimulai dengan optimasi geometri masing-masing senyawa uji. Tipe pendekatan yang digunakan mengacu pada perhitungan Neglect of Diatomic Differential Overlap atau pendekatan NDDO. Parameter yang digunakan adalah Austin Model 1 atau AM1.

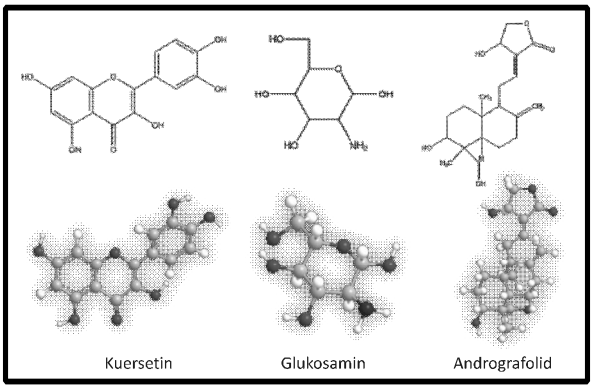
Perhitungan secara makanika molekul dimulai dengan optimasi geometri masing-masing senyawa uji. Medan gaya (Force-Field) yang digunakan dalam metode parameterisasi senyawa uji adalah MM2.

Perhitungan statistik digunakan untuk analisis data hasil prediksi. Uji statistik yang digunakan untuk mengetahui tingkatan akurasi masing-masing metode adalah Mean Absolute Deviation (MAD), Mean Square Error (MSE), Mean Forecast Error (MFE), dan Mean Absolute Percentage Error (MAPE).

Hasil dan Pembahasan

Setelah dilakukan pemodelan molekul secara dua dimensi dan tiga dimensi (Gambar 1),

Gambar 1. Struktur Dua Dimensi dan Tiga Dimensi Kuersetin, Glukosamin, Andrografolid



Keterangan: Digambar menggunakan software ChemDraw Pro® 12.0 dan ChemBio3D Ultra® 12.0

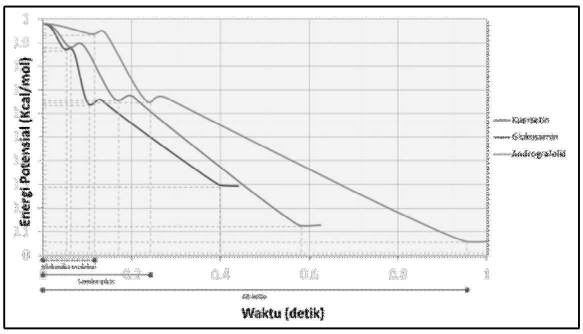
masing-masing model dilakukan optimasi geometri dengan metode ab initio, semiempiris dan mekanika molekul (Tabel 1). Proses optimasi geometri ini merupakan tahap terpenting pada kimia komputasi sebelum menganalisis senyawa uji, karena perhitungan dalam kimia komputasi akan berdasarkan konformasi molekul.

Tabel 1. Hasil Optimasi Geometri Senyawa Uji

ĨŇŎŘŇR MĮ Ô	Metode Optimasi					
	Ab Initio (HF)		Semiempiris (AM1)		Mekanika Molekul (MM2)	
	Energi (Kcal/mol)	Waktu (detik)	Energi (Kcal/mol)	Waktu (detik)	Energi (Kcal/mol)	Waktu (detik)
Kuersetin	-680058,87	628,80	-204,65	3,50	7,72	1,10
	-680058,87	640,20	-204,65	3,50	7,72	1,00
	-680058,87	629,30	-204,65	3,60	7,72	1,00
Rata-rata	**-680058,87**	**632,77**	**-204,65**	**3,53**	**7,72**	**1,03**
Glukosamin	-410995,24	170,60	-248,45	1,40	7,28	0,80
	-410995,24	167,60	-248,45	1,50	7,28	0,70
	-410995,24	166,60	-248,45	1,40	7,28	0,60
Rata-rata	**-410995,24**	**168,27**	**-248,45**	**1,43**	**7,28**	**0,70**
Andrografolid	-712113,97	2142,60	-221,67	7,60	49,63	1,80
	-712113,97	2095,50	-221,67	7,80	49,63	1,80
	-712113,97	2107,90	-221,67	7,70	49,63	1,70
Rata-rata	**-712113,97**	**2115,33**	**-221,67**	**7,70**	**49,63**	**1,77**

Energi akhir hasil optimasi ini menandakan local minimum dari Potential Energy Surface (PES) dari suatu sistem molekular. PES merupakan peta yang menggambarkan perubahan energi yang berkaitan dengan perubahan struktur dari sistem molekular suatu senyawa, yang terdiri dari daerah puncak (local maximum), daerah transisi (saddle point) dan daerah lembah (local minimum). Suatu proses optimasi geometri dimulai dari struktur awal yang tidak stabil yang berada di daerah puncak (local maximum), kemudian bergerak sepanjang kurva PES. Optimasi akan menghitung energi dan gradient pada titik tertentu dan menentukan seberapa jauh langkah berikutnya dan arah mana yang akan ditempuh. Gradient mengindikasikan arah sepanjang surface dimana energi turun dengan cepat dari titik tersebut yang menghasilkan ketajaman slope tertentu (Gambar 2).

Gambar 2. Kurva Perubahan Energi Potensial Pada Proses Optimasi Geometri Kuersetin, Glukosamin, Andrografolid



Keterangan: Dihitung menggunakan software ChemBio3D Ultra® 12.0

Dari Gambar 2 terlihat perbandingan metode proses optimasi geometri untuk masing-masing senyawa uji. Metode ab initio mampu menghitung dan memprediksi energi potensial terendah untuk semua senyawa uji hingga mencapai global minimum, yang menandakan tercapainya konformasi paling stabil, sedangkan metode mekanika molekul walaupun waktu yang dibutuhkan tercepat, tetapi nilai energi potensial besar yang menandakan perhitungan sudah dihentikan pada saat molekul baru mencapai local minimum terdekat dengan konformasi struktur molekul belum stabil. Untuk metode semiempiris, energi potensial dan waktu yang dibutuhkan untuk perhitungan berada diantara metode mekanika molekul dan ab initio.

Perbedaan energi potensial dan waktu yang dibutuhkan dalam proses optimasi geometri ini dikarenakan pendekatan perhitungan untuk masing-masing metode berbeda. Untuk metode ab initio, semua energi masing-masing atom dan ikatan di dalam molekul dihitung secara matematis dengan pendekatan fisika kuantum, sehingga algoritma perhitungannya paling rumit (Almeida et al, 2006). Dalam metode semiempiris, tidak semua energi dari atom dan ikatan molekul dihitung berdasarkan fisika kuantum, namun ada beberapa parameter diambil dari data empiris atau percobaan yang dijadikan sebagai tetapan, sehingga algoritma perhitungannya lebih sederhana dari metode ab initio (Wollacott, 2007). Metode mekanika molekul, algoritma perhitungannya adalah yang paling sederhana, karena energi atom dan ikatannya dihitung berdasarkan pendekatan fisika klasik atau non-kuantum (Hehre, 2003).

Selain dari perbedan pendekatan perhitungan dari masing-masing metode, perbedaan hasil optimasi geometri juga disebabkan karena perbedaan kriteria konvergensi. Kriteria konvergensi adalah kriteria yang akan menghentikan proses perhitungan apabila semua parameternya terpenuhi misalnya ketika gaya sama dengan 0, root-mean-square dari gaya harus bernilai 0 dan lain-lain (Schlick, 1997). Dari hasil penelitian bisa dipastikan bahwa kriteria konvergensi untuk metode ab initio adalah yang paling ketat jika dibandingkan dengan metode semiempiris dan mekanika molekul.

Dari kurva perubahan energi potensial terhadap waktu (Gambar 2) terlihat perbedaan waktu yang dibutuhkan masing-masing senyawa uji untuk mendapatkan konformasi paling stabil. Dari senyawa uji yang memiliki struktur molekul yang paling besar dan rumit berturut-turut adalah andrografolid, kuersetin dan glukosamin (Gambar 1). Hasilnya waktu yang dibutuhkan dalam optimasi geometri dari yang paling lama ke yang paling sebentar berturut-turut adalah andrografolid, kuersetin dan glukosamin. Sehingga dapat disimpulkan semakin besar dan rumit struktur molekul, akan semakin lama waktu yang dibutuhkan dalam optimasi geometri.

Perhitungan nilai Log P dan titik leleh secara komputasi dilakukan pada masing-masing senyawa uji untuk ketiga metode, kemudian nilai hasil prediksi dibandingkan dengan pustaka dan dihitung tingkat kesalahannya (error) secara statistik (Tabel 2 dan 3). Supaya hasilnya tidak bias, data untuk nilai pustaka diambil dari sumber online http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/ (Lide & Milne, 1994; Yalkowsky & Dannenfelser, 1992; Daisy et al., 2009).

Tabel 2. Prediksi Nilai Log P
Kuersetin, Glukosamin, Andrografolid

Senyawa Uji	Nilai Pustaka	Hasil Prediksi			MAD	MSE	MFE	MAPE
		Ab initio	Semiempiris	Mekanika molekul				
Kuersetin	1,480	1,504	1,504	1,504				
Glukosamin	-2,175	-2,184	-2,184	-2,184	0,271	0,204	0,255	9,66%
Andrografolid	2,900	2,119	2,119	2,119				

Hasil prediksi nilai Log P pada Tabel 2, terlihat bahwa tidak ada perbedaan antara hasil optimasi geometri secara ab initio, semiempiris maupun mekanika molekul. Hal ini menunjukkan bahwa algoritma perhitungan untuk memprediksi nilai Log P pada program, tidak tergantung pada hasil optimasi geometri suatu senyawa uji.

Add-on yang terintegrasi pada program yang digunakan untuk menghitung nilai Log P dari suatu senyawa adalah ClogP®. Metode perhitungan yang diimplementasikan pada program ClogP® adalah dengan menghitung kontribusi dari setiap atom berdasarkan jenis atomnya, dimana input yang digunakan dalam perhitungan adalah berupa data struktur kimia yang sudah dikonversi kedalam bentuk sistem pengkodean Simplified Molecular Input Line Entry System (SMILES). Sistem pengkodean SMILES ini merupakan penyederhanaan dari sistem rumus kimia biasa, dimana aturan yang digunakan adalah: menggunakan simbol-simbol atom seperti biasa, ikatan tidak perlu dituliskan kecuali ikatan rangkap, percabangan dilakukan dengan menggunakan tanda kurung, dan penulisan bentuk cincin dilakukan dengan pemutusan satu ikatan untuk tiap cincin (Tahir & Setiaji, 1999). Oleh karena itu parameter bentuk dan konfigurasi dari struktur molekul diabaikan dalam perhitungan, sehingga hasil prediksi nilai Log P untuk senyawa uji akan memberikan hasil yang sama untuk setiap hasil optimasi geometri baik secara ab initio, semiempiris, maupun mekanika molekul.

Dilihat dari hasil uji statistik dengan membandingkan nilai Log P hasil prediksi dengan pustaka, didapatkan nilai MAD dan MSE masing-masing sebesar 0,271 dan 0,204. Hal ini menandakan rata-rata hasil prediksi mempunyai simpangan atau kesalahan (error) yang cukup kecil. Nilai MFE adalah 0,255, ini menunjukan bahwa hasil prediksi rata-rata lebih kecil 0,255. Nilai MAPE adalah 9,66%, ini menunjukan bahwa persentase kesalahan prediksi adalah 9,66%, dengan kata lain prediksi mempunyai akurasi 90,34%.

Tabel 3. Prediksi Nilai Titik Leleh
Kuersetin, Glukosamin, Andrografolid

Senyawa Uji	Nilai Pustaka (°C)	Hasil Prediksi (°C)			MAD	MSE	MFE	MAPE
		Ab initio	Semi empiris	Mekanika molekul				
Kuersetin	310-317	697,47	697,47	697,47				
Glukosamin	168-170	227,26	227,26	227,26	190,96	55.434,78	-190,96	70,82%
Andrografolid	228-230	365,16	365,16	365,16				

Sama halnya seperti prediksi nilai Log P, hasil prediksi untuk nilai titik leleh tidak ada perbedaan antara hasil optimasi geometri secara ab initio, semiempiris maupun mekanika molekul. Hal ini menunjukan bahwa algoritma perhitungan untuk memprediksi nilai titik leleh pada program, tidak tergantung pada hasil optimasi geometri suatu senyawa uji.

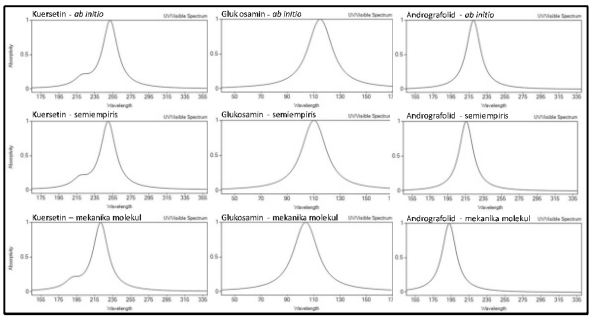
Pendekatan atau algoritma pemrograman yang digunakan dalam memprediksi nilai titik leleh suatu senyawa uji adalah berdasarkan Joback's Fragmentation Method atau dikenal dengan metode Joback, dimana input yang digunakan dalam perhitungan hanya bagian atau fragmen-fragmen dari molekul yang diuji, yaitu berupa gugus-gugus fungsi yang sudah diparameterisasi. Perhitungan Joback mengasumsikan bahwa tidak ada interaksi antara kelompok dan hanya menggunakan kontribusi aditif dan tidak ada kontribusi untuk interaksi antara gugus fungsi di dalam molekul (Joback & Reid, 1987). Oleh karena itu parameter bentuk dan konfigurasi dari struktur molekul diabaikan dalam perhitungan, sehingga hasil prediksi nilai titik leleh untuk senyawa uji akan memberikan hasil yang sama untuk setiap hasil optimasi geometri baik secara ab initio, semiempiris, maupun mekanika molekul.

Dilihat dari hasil uji statistik dengan membandingkan nilai titik leleh hasil prediksi dengan pustaka, didapatkan nilai MAD dan MSE masing-masing sebesar 190,96 dan 55434,78. Hal ini menandakan rata-rata hasil prediksi mempunyai simpangan atau kesalahan (error) yang cukup besar. Nilai MFE adalah -190,96, ini menunjukkan bahwa hasil prediksi rata-rata lebih besar 190,96°C. Nilai MAPE adalah 70,82%, ini menunjukkan bahwa persentase kesalahan prediksi adalah 70,82%, dengan kata lain prediksi hanya mempunyai akurasi 29,18%.

Dari data di atas dapat disimpulkan bahwa prediksi titik leleh memberikan hasil yang kurang baik karena persentase kesalahan prediksinya tinggi. Metode Joback mempunyai beberapa kelemahan, antara lain daftar kelompok yang sudah diparameterisasi tidak mencakup semua molekul umum. Senyawa aromatik tidak dibedakan dari komponen yang mengandung cincin alifatik. Ini adalah salah satu penyebab kesalahan dalam perhitungan, karena aromatik dan alifatik merupakan komponen yang sangat berbeda. Selain itu, metode Joback diasumsikan hanya memberikan kontribusi yang konstan terhadap kelompok yang ada dalam seri homolog seperti alkana. Hal ini tidak menggambarkan perilaku nyata dari titik leleh secara normal, sehingga metode Joback mengarah ke penyimpangan yang tinggi untuk molekul besar dan kecil dan prediksi yang baik dapat diterima hanya untuk komponen menengah (Stein & Brown, 1994). Oleh karena itu, dalam penelitian ini prediksi titik leleh untuk semua senyawa uji memberikan hasil yang kurang baik, hal ini disebabkan karena senyawa uji memiliki cincin aromatik dan alifatik (Gambar 1).

Prediksi spektrum ultraviolet-visible secara komputasi dilakukan pada masing-masing senyawa uji untuk setiap hasil optimasi geometri (Gambar 3), kemudian nilai panjang gelombang serapan maksimum (λ maks) untuk masing-masing spektrum dibandingkan dengan nilai pustaka kemudian dihitung tingkat kesalahannya secara statistik (Tabel 4).

Gambar 3. Prediksi Spektrum Ultraviolet-Visible Kuersetin, Glukosamin dan Andrografolid



keterangan: Dihitung menggunakan software ChemBio3D Ultra® 12.0

Tabel 4. Prediksi Nilai λ Maksimum Kuersetin, Glukosamin dan Andrografolid

Metode Optimasi	Senyawa Uji	λ Maks Prediksi (nm)	λ Maks Pustaka (nm)	λ Maks *Woodward Fieser* (nm)	MAD	MSE	MFE	MAPE
Ab initio	Kuersetin	252,81	256	250	2,78	7,90	2,78	1,15%
	Glukosamin	114,35	-	-				
	Andrografolid	220,63	223	222				
Semiempiris	Kuersetin	250,17	256	250	6,46	42,06	6,46	2,73%
	Glukosamin	110,75	-	-				
	Andrografolid	215,92	223	222				
Mekanika molekul	Kuersetin	223,66	256	250	30,93	958,65	30,93	12,94%
	Glukosamin	106,40	-	-				
	Andrografolid	193,48	223	222				

Dari Gambar 3 terlihat bahwa terdapat perbedaan bentuk spektrum ultraviolet-visible hasil prediksi untuk setiap senyawa uji. Namun untuk spektrum ultraviolet-visible dengan zat yang sama, menghasilkan bentuk yang relatif sama, yang berbeda hanya nilai λ maksimumnya untuk setiap metode optimasi geometri. Hal ini berbeda dengan prediksi Log P dan titik leleh sebelumnya, untuk prediksi spektrum ultraviolet-visible, masing-masing metode optimasi memberikan pengaruh terhadap hasil prediksi, terutama terhadap nilai λ maksimum dari spektrum.

Pendekatan atau algoritma pemrograman yang digunakan dalam memprediksi spektrum ultraviolet-visible suatu senyawa uji adalah Configuration Interaction Singles (CIS). Metode pendekatan CIS adalah berdasarkan perubahan energi dari transfer muatan pada keadaan transisi. Perubahan energi yang dimasukkan dalam perhitungan antara lain jenis transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$ seperti pada ikatan tak jenuh atau ikatan rangkap dan jenis transisi elektron $n \rightarrow \pi^*$ seperti pada gugus karbonil atau ikatan rangkap pada atom nitrogen. Selain itu, interaksi dari konfigurasi struktur molekul juga diperhitungkan dalam memprediksi spektrum ultraviolet-visible (Sherrill & Schaefer, 1999). Oleh karena itu, bentuk geometri dari struktur molekul sangat berpengaruh terhadap hasil prediksi. Karena masing-masing metode optimasi memberikan hasil akhir yang berbeda terhadap bentuk geometri struktur molekul yang di uji, maka hasil dari prediksi spektrum ultraviolet-visible juga akan berbeda.

Metode lain yang dapat digunakan untuk menentukan λ maksimum suatu senyawa organik adalah dengan perhitungan Woodward-Fieser Rules. Penentuan λ maksimum dalam metode ini diawali dengan mencari nilai dasar (base value) kemudian ditambahkan nilai kontribusi dari substituen yang ada. Untuk kuersetin, nilai dasarnya adalah 6-membered ring enone (215 nm), dan substituennya adalah gugus –OH pada posisi α (35 nm), sehingga totalnya adalah 250 nm. Untuk glukosamin λ maksimum tidak dapat dihitung karena tidak mempunyai ikatan rangkap yang terkonjugasi. Untuk andrografolid, nilai dasarnya adalah 5-membered ring enone (202 nm), ring residu pada posisi α (10 nm) dan grup alkil pada posisi β (12 nm), sehingga totalnya adalah 222 nm.

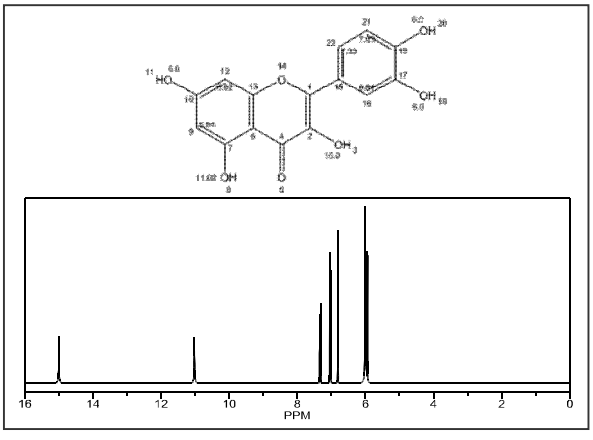
Pada Tabel 4 tidak tercantum nilai panjang gelombang maksimum pustaka untuk glukosamin, karena glukosamin tidak memiliki gugus kromofor sehingga tidak memberikan serapan pada daerah ultraviolet-visible. Tetapi hasil dari prediksi tetap memberikan spektrum dan memang benar panjang gelombang maksimumnya berada di bawah daerah panjang gelombang UV. Oleh karena itu, hasil prediksi untuk glukosamin tidak dimasukkan kedalam perhitungan uji statistik.

Dari hasil uji statistik dapat disimpulkan bahwa optimasi dengan metode ab initio memberikan hasil prediksi yang paling baik, hal ini dapat dilihat dari nilai MAD dan MSE yang paling kecil jika dibandingkan dengan metode yang lain. Dari nilai MFE dapat disimpulkan rata-rata kesalahan prediksi untuk metode ab initio, semiempiris dan mekanika molekul berturut-turut adalah lebih kecil 2,78 nm, 6,46 nm dan 30,93 nm. Dari nilai MAPE juga dapat disimpulkan bahwa tingkat akurasi untuk metode ab initio adalah yang paling baik yaitu 98,85%, metode semiempiris memiliki akurasi 97,27% dan metode mekanika molekul memiliki akurasi 87,06%.

spektrum 1H-NMR dan 13C-NMR secara komputasi dilakukan pada masing-masing senyawa uji untuk setiap hasil optimasi geometri. Hasil prediksi memberikan spektrum yang berbeda untuk setiap senyawa uji, namun tidak memberikan perbedaan untuk setiap metode optimasi (Gambar 4, 5, 6, 7, 8 dan 9).

perhitungan yang digunakan untuk memprediksi spektrum 1H-NMR dan 13C-NMR adalah dengan menggunakan metode heuristically-driven. Metode tersebut memperkirakan pergeseran kimia (chemical shifts) dimulai dengan penentuan nilai dasar dari atom yang ditentukan, kemudian koreksi diterapkan untuk setiap kelompok yang terikat tanpa menghitung panjang dan sudut ikatannya, sehingga perbedaan bentuk geometri dari struktur molekul yang diuji tidak akan mempengaruhi hasil perhitungan (Cheeseman & Frisch, 2000).

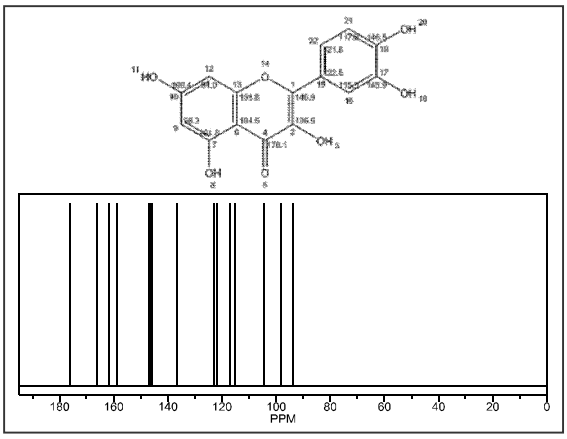
Gambar 4. Hasil Prediksi Spektrum 1H-NMR Kuersetin



Keterangan: Dihitung menggunakan software ChemDraw Pro® 12.0

Dari hasil prediksi spektrum 1H-NMR untuk senyawa uji kuersetin pada Gambar 4, memperlihatkan ada 6 kelompok sinyal proton yang menunjukan terdapat 6 kelompok atom H pada daerah aromatik dan alifatik. Kelompok pertama adalah atom H dari gugus hidroksil (11, 18, 20) yang terikat pada cincin aromatik, yang ditunjukan dengan sinyal proton singlet dengan intensitas yang tinggi pada geseran kimia 6,0 ppm. Hal ini sesuai dengan teori bahwa gugus Ar-OH akan muncul pada geseran kimia 6,0 – 8,5 ppm. Berbeda dengan atom H dari gugus hidroksil (3, 8), proton dari atom tersebut kurang terlindungi (deshielded) karena dekat dengan gugus karbonil C=O (5) yang bersifat menarik elektron. H (3) ditunjukan dengan sinyal proton singlet pada geseran kimia 15,0 ppm, sedangkan H (8) ditunjukan dengan sinyal proton singlet pada geseran kimia 11,02 ppm, hal ini dikarenakan H (3) lebih dekat dengan gugus karbonil dari pada H (8). Kelompok selanjutnya adalah H pada cincin aromatik, dimana menurut teori, H kelompok ini akan muncul pada geseran kimia 6,5 – 8,5 ppm. Dari hasil prediksi benar terdapat tiga signal proton pada daerah tersebut, pertama H (16) singlet pada geseran kimia 6,81 ppm, kedua H (21) doblet pada geseran kimia 7,03 ppm dan yang ketiga H (22) doblet pada geseran kimia 7,33 ppm. Sinyal H (21) dan H (22) masing-masing muncul doblet karena saling bertetangga.

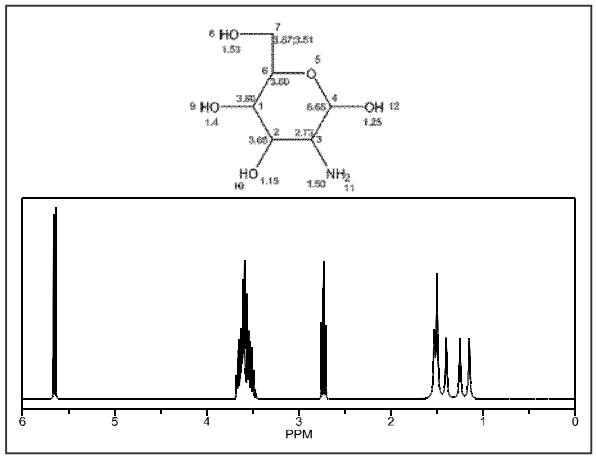
Gambar 5. Hasil Prediksi Spektrum 13C-NMR Kuersetin



Keterangan: Dihitung menggunakan software ChemDraw Pro® 12.0

Dari hasil prediksi spektrum 13C-NMR untuk senyawa uji kuersetin pada Gambar 5, memperlihatkan ada 15 kelompok sinyal proton, hal ini menunjukan terdapat 15 kelompok atom C yang berbeda. Kuersetin memiliki 15 atom C, oleh karena itu tiap signal mewakili 1 atom C pada kuersetin. Dari hasil prediksi spektrum tidak terdapat sinyal yang muncul di bawah 80 ppm atau daerah medan magnet tinggi (high magnetic field), karena memang benar kuersetin tidak mempunyai atom C jenuh alifatik. Yang ada adalah atom C aromatik, yang menurut teori akan muncul pada geseran kimia 90 – 160 ppm. Hal tersebut dikonfirmasi, spektrum hasil prediksi beberapa atom C aromatik muncul pada daerah tersebut. Kecuali atom C yang dekat dengan gugus elektronegatif seperti karbonil dan hidroksil, maka atom C tersebut akan muncul di daerah medan magnet rendah (low magnetic field), seperti C karbonil (4) muncul paling kiri pada geseran kimia 176,1 ppm, kemudian atom C yang dekat dengan gugus hidroksil (2, 7, 10, 17, 19) dan atom C (1, 13) yang dekat dengan atom O (14) atau gugus metoksi.

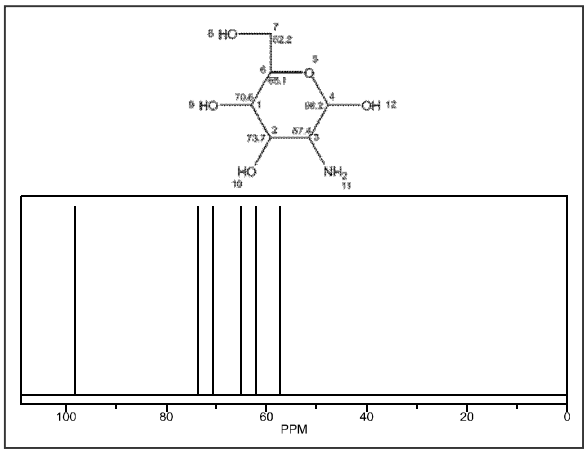
Gambar 6. Hasil Prediksi Spektrum 1H-NMR Glukosamin



Keterangan: Dihitung menggunakan software ChemDraw Pro® 12.0

Dari hasil prediksi spektrum 1H-NMR untuk senyawa uji glukosamin pada Gambar 6, memperlihatkan ada 7 kelompok sinyal proton yang menunjukan terdapat 7 kelompok atom H pada daerah alifatik. Atom H pada gugus hidroksil yang terikat pada atom C alifatik (R-OH) akan muncul pada geseran kimia pada daerah 0,5 – 6,0 ppm. Hal ini ditunjukan munculnya sinyal 4 sinyal proton pada geseran kimia 1,15, 1,25, 1,4 dan 1,53 ppm yang masing-masing mewakili atom H pada gugus hidroksil. Terdapat sinyal triplet pada geseran kimia 2,73 ppm, sinyal ini merupakan sinyal dari atom H (3) karena atom tersebut bertetangga dengan 1 H pada atom C (2) dan 1 H pada atom C (4). Terdapat juga beberapa sinyal pada geseran kimia 3,5 – 3,7 ppm. Sinyal tersebut merupakan sinyal dari atom H yang dipengaruhi efek induksi dari atom O pada gugus hidroksil. Berbeda dengan atom H pada atom C (4), proton tersebut mengalami efek induksi dari atom O pada gugus hidroksil dan atom O pada gugus metoksi, maka atom tersebut kurang terlindungi (deshielded) sehingga sinyal muncul paling kiri yaitu pada geseran kimia 5,65 ppm. Bentuk sinyal adalah doblet karena terdapat tetangga 1 H pada atom C (3).

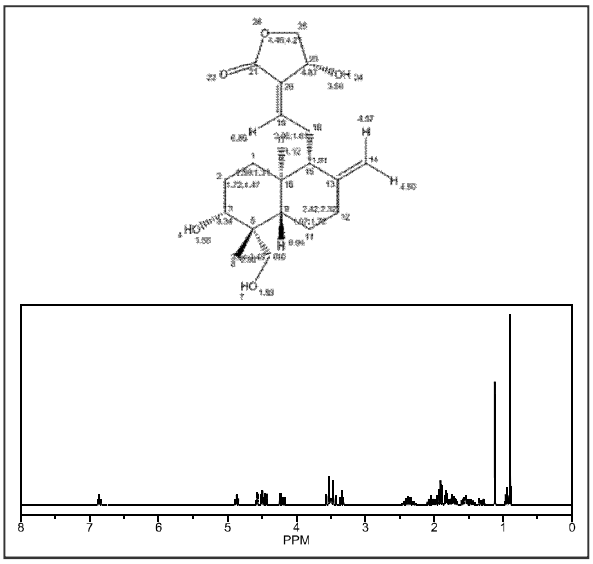
Gambar 7. Hasil Prediksi Spektrum 13C-NMR Glukosamin



Keterangan: Dihitung menggunakan software ChemDraw Pro® 12.0

Dari hasil prediksi spektrum 13C-NMR untuk senyawa uji glukosamin pada Gambar 7, memperlihatkan ada 6 kelompok sinyal proton, hal ini menunjukan terdapat 6 kelompok atom C yang berbeda. Glukosamin memiliki 6 atom C, oleh karena itu tiap signal mewakili 1 atom C pada glukosamin. Sinyal atom C (3) muncul paling kanan pada geseran kimia 57,4 ppm, hal ini disebabkan atom tersebut lebih terlindungi elektron (shielded) dari pada atom C yang lain karena tidak terikat secara langsung dengan atom O sehingga efek induksi dari atom elektronegatif kecil. Selanjutnya muncul sinyal pada geseran kimia 62,2, 65,1, 70,6, dan 73,7 ppm, sinyal tersebut merupakan sinyal dari atom C yang terikat langsung dengan atom O dari gugus hidroksil maupun metoksi. Sedangkan sinyal atom C (4) muncul paling kanan, karena atom tersebut paling kurang terlindungi elektron (deshielded) akibat dari efek induksi dari atom O (12) pada gugus hidroksil dan atom O (5) pada gugus metoksi.

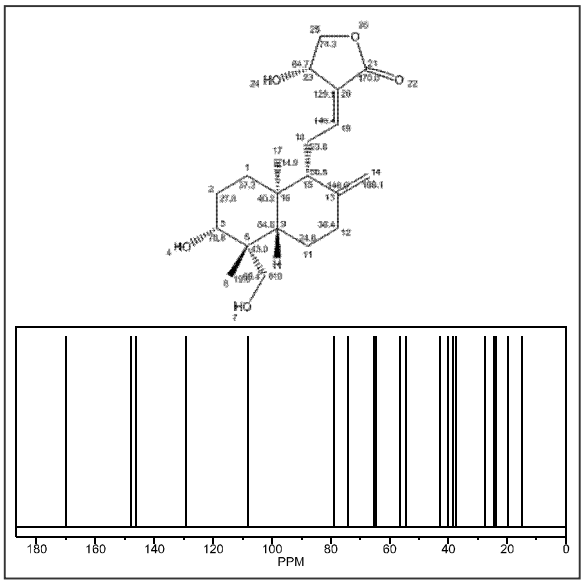
Gambar 8. Hasil Prediksi Spektrum 1H-NMR Andrografolid



Keterangan: Dihitung menggunakan software ChemDraw Pro® 12.0

Andrografolid mempunyai 2 ikatan olefin yaitu pada atom C (14) dan C (19), ikatan tersebut menyebabkan peningkatan elektronegatifitas dari atom karbon sp2 dan efek induksi pada ikatan C=C, sehingga akan membuat sinyal proton muncul pada daerah medan magnet rendah (low magnetic field). Sinyal proton pada atom C (19) muncul triplet pada geseran kimia 6,86 ppm, hal ini dikarenakan posisi ikatan rangkap tersebut dekat dengan gugus karbonil dan dikuatkan oleh keduanya, yaitu efek induksi dari gugus karbonil dan konjugasi. Bentuk sinyal triplet dikarekan atom H pada C (19) bertetangga dengan 2 H pada atom C (18). Sedangkan sinyal proton pada atom C (14) muncul masing-masing singlet pada geseran kimia 4,5 dan 4,57 ppm. Hal ini dikarenakan atom tersebut hanya dipengaruhi efek induksi dari ikatan olefin. Sinyal proton pada atom C (23) juga muncul pada daerah medan magnet rendah (low magnetic field) dalam bentuk triplet pada geseran kimia 4,87 ppm, hal ini dikarenakan atom tersebut dipengaruhi efek induksi dari atom O pada gugus hidroksil. Bentuk sinyal triplet dikarekan atom H pada C (23) bertetangga dengan 2 H pada atom C (25). Dari hasil prediksi spektrum juga terdapat 2 sinyal proton singlet dengan intensitas yang tinggi pada daerah medan magnet tinggi (high magnetic field), sinyal ini tentunya berasal dari gugus metil (R-CH3) pada atom C (8) dan C (17).

Gambar 9. Hasil Prediksi Spektrum 13C-NMR Andrografolid



Keterangan: Dihitung menggunakan software ChemDraw Pro® 12.0

Dari hasil prediksi spektrum 13C-NMR untuk senyawa uji andrografolid pada Gambar 9, memperlihatkan ada 20 kelompok sinyal proton, hal ini menunjukan terdapat 20 kelompok atom C yang berbeda. Andrografolid memiliki 20 atom C, oleh karena itu tiap signal mewakili 1 atom C pada andrografolid. Sama seperti spektrum 1H-NMR, spektrum 13C-NMR juga dipengaruhi oleh efek induksi dari gugus elektronegatif seperti gugus karbonil, hidroksil dan ikatan olefin yang ada pada andrografolid. Signal yang muncul pada daerah medan magnet rendah (low magnetic field) antara lain atom C (21) yang merupakan gugus karbonil pada geseran kimia 170.0 ppm, atom C (13), C (19), C (20) dan C (14) yang semuanya dipengaruhi oleh efek induksi dari ikatan olefin sehingga memberikan geseran kimia pada 148,0, 146,4, 129,1 dan 108,1 ppm. Terdapat juga beberapa sinyal pada daerah geseran kimia 40 – 80 ppm yang merupakan atom-atom C yang terikat pada gugus hidroksil. Signal yang berada pada daerah medan magnet tinggi (high magnetic field) merupakan signal yang berasal dari gugus metil C (8) dan C (17) yang masing-masing muncul pada geseran kimia 19,6 dan 14,9 ppm.

Simpulan

Prediksi Log P dan spektrum senyawa bioaktif kuersetin, glukosamin dan andrografolid lebih tepat dilakukan menggunakan metode ab initio, sehingga metode ini dapat mempermudah pekerjaan pengawasan mutu ketiga senyawa tersebut.

Daftar Pustaka

Almeida, A.M., Fonseca, A.M. & Neves, I.C. 2006. *Ab-Initio Methods for Quantum Calculations on Chemical Structures and Their Physical Characterization.* Jornadas do Centro de Física da Universidade do Minho.

Badan POM. 2006. *Pedoman Cara Pembuatan Obat yang Baik.* Jakarta.

Cheeseman, J.R. & Frisch, A. 2000. *Predicting Magnetic Properties with ChemDraw and Gaussian.* Gaussian, Inc.

Daisy, P., Sasikala, R. & Ambika, A. 2009. *Analysis of Binding Properties of Phosphoinositide 3-kinase Through In Silico Molecular Docking. J. Proteomics Bioinform.* Volume 2: 274 – 284.

Grant, G.H. & Richards, W.G. 1998. *Kimia Komputasi.* Terjemahan Martoprawiro dan Muhammad, A. Bandung : Penerbit ITB.

Hehre, W.J. 2003. *A Guide to Molecular Mechanics and Quantum Chemical Calculations.* California : Wavefunction, Inc.

Jensen, F. 1999. *Introduction to Computational Chemistry.* New York : John Wiley and Sons.

Joback K.G. & Reid R.C. 1987. *Estimation of Pure-Component Properties from Group-Contributions,* Chem. Eng. Commun. Volume 57: 233–243.

Lide, D.R. & Milne, G.W.A. 1994. *Handbook of Data on Organic Compounds.* Volume I. 3rd ed. CRC Press, Inc. Boca Raton, FL.: 1570

Materska, M. 2008. *Quercetin and Its Derivatives: Chemical Structure and Bioactivity – A Review. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences.* Volume 58, Issue 4: 407 – 413.

Muliawan, I.K., Sindhu, R.N.Z., Manurung, R.G. & Kurniawan, E. 2011. *Pelaksanaan Quality Management System di Industri. Manajemen Mutu dan Industri Pangan.* Volume I, No.15.

Schlick, T. 1997. Geometry Optimization. *The Howard Hughes Medical Institute and New York University,* New York, NY.

Shen, X., Yang, M. & Tomellini, S.A. 2007. *Liquid Chromatographic Analysis of Glucosamine in Commercial Dietary Supplements Using Indirect Fluorescence Detection.* Journal of Chromatographic Science. Volume 45: 70 – 75.

Sherrill, C. D. & Schaefer, H. F. 1999. *The configuration interaction method: Advances in highly correlated approaches. Advances in quantum chemistry,* Volume 34: 143 – 269.

Smith III, A.B., Toder, B.H., Carroll, P.J. & Donohue, J. 1982 *Andrographolide: an X-ray crystallographic analysis.* Journal of *Crystallographic and Spectroscopic Research.* Volume 12, Issue 4: 309 – 319.

Stein S.E. & Brown R.L. 1994. *Estimation of Normal Boiling Points from Group Contributions.* J. Chem. Inf. Comput. Sci. Volume 34: 581–587.

Tahir, I. & Setiaji, B. 1999. *Penentuan Nilai Koefisien Partisi Senyawa Hidrokarbon C1 – C8 Dengan Penelusuran Kode SMILES. Prosiding Seminar Nasional Kimia Organik,* Yogyakarta.

Wollacott, A.M. & Merz, K.M.Jr. 2007. *Assessment of Semiempirical Quantum Mechanical Methods for the Evaluation of Protein Structures.* Journal of Chemical Theory and Computation. Volume 3, Issue 4 : 1609 – 1619.

Yalkowsky, S. H., & Dannenfelser, R. M. 1992. *Aquasol database of aqueous solubility. College of Pharmacy,* University of Arizona, Tucson, AZ.