

Analisis QSAR Senyawa Turunan Diosmetin sebagai Antioksidan Baru dengan Metode Semi Empirik AM 1

Esti Mumpuni^{1*}, Titiek Martati¹, Esti Mulatsari¹,
Andika Muhammad Hidayat¹

ABSTRACT: Diosmetin is a bioflavonoid that abundant in nature and it is flavone derived compound that have low antioxidant activity so the utilization of diosmetin as an antioxidant is very rare. To optimize the utilization of diosmetin as an antioxidant, diosmetin chemical structure was developed using QSAR methode. Quantitative Structure and Activity Relationship (QSAR) analysis of 195 diosmetin derived compound have been performed using electronic descriptors i.e heat formation, HOMO energy, LUMO energy, Log P value, mass, C2, C4, and C4'. The electronic structure as descriptor were analyzed using Hyperchem 8.0.6 software for Windows 7.0 using AM1 semi-empirical method. The descriptors were obtained by molecular modelling to obtain the most stabile structure after geometry optimization process. The best QSAR equation model was determined by multilinear regression approach. The best QSAR equation is $-\log IC_{50} = 70.52781 + (-0.0298 \text{ Panas Pembentukan}) + (3.627483 \text{ Energi HOMO}) + (-0.48695 \text{ Energi LUMO}) + (0.274203 \text{ Energi Hidrasi}) + (-3.43515 \text{ Log P}) + (-0.17476 \text{ Massa}) + (26.95107 \text{ muatan atom C2}) + (-3.67587 \text{ muatan atom C4}) + (-3.85701 \text{ muatan atom C4'})$. The result of the IC_{50} prediction value showed that 3,6-diamin diosmetin is a diosmetin derived compound that have the best antioxidant activity with IC_{50} value 0.33 $\mu\text{g/mL}$.

Keywords: QSAR, antioxidant, diosmetin, semi-empirical AM 1.

ABSTRAK: Diosmetin adalah bioflavonoid yang berlimpah di alam dan merupakan senyawa turunan flavon yang memiliki aktivitas antioksidan yang buruk, sehingga pemanfaatan senyawa ini sebagai antioksidan sangat jarang. Untuk mengoptimalkan pemanfaatan diosmetin digunakan metode QSAR. Analisis QSAR (*Quantitative Structure-Activity Relationship*) terhadap 195 senyawa turunan diosmetin sebagai senyawa antioksidan yang dilakukan dengan menggunakan deskriptor panas pembentukan, energi HOMO, energi LUMO, energi hidrasi, nilai Log P, massa, muatan atom C2, C4, dan C4'. Struktur elektronik sebagai deskriptor telah dilakukan perhitungan melalui perangkat lunak Hyperchem 8.0.6 untuk Windows 7.0 menggunakan metode semiempirik AM1. Deskriptor-deskriptor telah diperoleh melalui permodelan molekul untuk memperoleh struktur yang paling stabil setelah proses optimasi geometri. Nilai aktivitas biologis antioksidan (IC_{50}) diperoleh melalui jurnal penelitian. Persamaan model QSAR terbaik ditentukan melalui pendekatan regresi multilinear dan diperoleh persamaan QSAR : $-\log IC_{50} = 70.52781 + (-0.0298 \text{ Panas Pembentukan}) + (3.627483 \text{ Energi HOMO}) + (-0.48695 \text{ Energi LUMO}) + (0.274203 \text{ Energi Hidrasi}) + (-3.43515 \text{ Log P}) + (-0.17476 \text{ Massa}) + (26.95107 \text{ muatan atom C2}) + (-3.67587 \text{ muatan atom C4}) + (-3.85701 \text{ muatan atom C4'})$, sehingga diperoleh hasil bahwa senyawa 3,6-diamin diosmetin merupakan senyawa turunan diosmetin dengan aktivitas antioksidan terbaik dengan nilai IC_{50} prediksi sebesar 0.33 $\mu\text{g/mL}$.

¹ Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jakarta Selatan, Indonesia

Korespondensi :

Esti Mumpuni
e-mail : esti_mumpuni@yahoo.com

Kata kunci: QSAR, antioksidan, diosmetin, semiempirik AM 1

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*) atau reduktan. Antioksidan dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dari molekul yang sangat reaktif, sehingga menghambat kerusakan sel akibat radikal bebas. Pada dasarnya, tubuh dapat menghasilkan antioksidan atau biasa disebut dengan antioksidan endogen. Akan tetapi, apabila jumlah radikal bebas terus bertambah sedangkan antioksidan endogen jumlahnya tetap, maka kelebihan radikal bebas tidak dapat dinetralkan(1). Antioksidan dapat berupa enzim, vitamin, dan senyawa lain seperti flavonoid.

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman(2). Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzena (C6) terikat pada suatu rantai propan (C3) sehingga membentuk suatu susunan C6-C3-C6. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yakni 1,3-diarilpropan atau flavonoid, 1,2-diarilpropan atau isoflavonoid, dan 1,1-diarilpropan atau neoflavonoid(3).

Penelitian mengenai aktivitas antioksidan dari turunan senyawa flavonoid telah banyak dilakukan baik secara eksperimen maupun secara komputasi. Berdasarkan penelitian Ray 2012, diperoleh 35 senyawa turunan flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan(4). Salah satu senyawa turunan flavonoid adalah diosmetin (3',5,7-trihydroxy-4'-methoxyflavone) yang merupakan turunan flavon dengan nilai IC₅₀ sebesar 465,13 µg/mL. Diosmetin adalah bioflavonoid yang berlimpah di alam, senyawa ini ditemukan pada daun mint, oregano, kulit buah dari berbagai jenis jeruk dan banyak tanaman lain. Seperti semua bioflavonoid, diosmetin membantu memelihara kapilaritas, permeabilitas, dan fragilitas normal(5). Nilai IC₅₀ dari diosmetin menunjukkan bahwa senyawa ini merupakan senyawa antioksidan yang buruk, sehingga pemanfaatan senyawa ini sebagai

antioksidan sangat jarang.. Diosmetin memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi senyawa baru yang memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi, sehingga pemanfaatan terhadap senyawa ini menjadi lebih optimal. Modifikasi dilakukan untuk memperoleh nilai IC₅₀ yang lebih kecil dari senyawa asal, karena semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin tinggi aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

Untuk membuat desain senyawa baru dibutuhkan proses yang panjang dan kompleks yang dapat memakan waktu bertahun-tahun serta biaya yang tidak murah. Salah satu strategi yang banyak dikembangkan untuk desain molekul senyawa baru adalah pemanfaatan metode kimia komputasi. Kimia komputasi memberikan peluang besar untuk dapat menemukan dan mendesain molekul obat baru yang memiliki aktivitas lebih tinggi dari senyawa obat yang telah dikenal(6).

Teknik analisis QSAR atau HKSA digunakan pada penelitian ini karena QSAR merupakan bagian penting rancangan obat, dalam usaha mendapatkan suatu obat baru dengan aktivitas yang lebih besar, selektivitas yang lebih tinggi, toksisitas atau efek samping sekecil mungkin dan kenyamanan penggunaan yang lebih besar. Selain itu dengan menggunakan model QSAR, akan lebih banyak menghemat biaya atau lebih ekonomis, karena untuk mendapatkan obat baru dengan aktivitas yang dikehendaki, faktor coba-coba ditekan sekecil mungkin sehingga jalur sintesis menjadi lebih pendek(7).

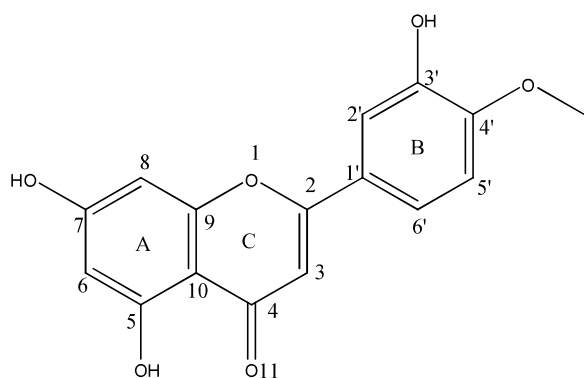
Analisis QSAR bermaksud mencari hubungan yang konsisten antara variasi dalam harga suatu besaran sifat molekul dan aktivitas biologis untuk satu seri senyawa sedemikian hingga aturan dapat digunakan untuk mengevaluasi suatu bahan baru yang mirip dengan satu seri molekul yang dimodelkan(7).

Pada penelitian ini struktur diosmetin dimodifikasi dengan mengganti atom H dengan beberapa gugus seperti amina, alkoksi, alkil dan halogen. Persamaan QSAR dibentuk dengan analisis regresi multilinier, dengan penentuan

deskriptor menggunakan hyperchem metode *Semi Empiric Austin Model 1*. Dengan penelitian ini diharapkan dapat diperoleh kandidat senyawa baru dengan potensi yang lebih besar dalam perannya sebagai antioksidan

METODE PENELITIAN

Bahan: Struktur 2D/3D dari 12 senyawa golongan flavonoid sebagai antioksidan hasil penelitian Ray et al., 2012 sebagai senyawa training set. Struktur 2D/3D 195 model struktur modifikasi senyawa diosmetin dengan mensubstitusi beberapa atom hidrogen dengan substituen gugus metoksi, etoksi, propoksi, isopropoksi, metil, etil, propil, isopropil, amina, dan unsur – unsur halogen.



Gambar 1. Struktur kimia diosmetin.

Alat: Perangkat keras: Laptop Dell Vostro 2520 Intel(R) Core(TM) i3-2328M CPU @2.20GHz (4CPUs), ~2.2GHz, Intel(R) HD Graphics 3000, RAM 6GB, HDD 300GB

Perangkat lunak: Hyperchem 8.0.6, SPSS 16, Chemdraw ultra 10.0.

Metode penelitian: Metode penelitian yang digunakan mengacu pada metode standard analisis QSAR *Semi Empiric Austin Model 1* dengan tahapan sebagai berikut:

Penentuan Deskriptor Persamaan QSAR.

Menggambar struktur 3D senyawa *training set* dan senyawa turunan kuersetin menggunakan program *Hyperchem 8.0.6*. Optimasi geometri dilakukan dengan persamaan gradien sekawan (*Conjugate gradient*) algoritma *Polak Ribiere*

dengan metode semiempirik AM 1 (batas konvergensi sebesar 0,001 kkal/A, batas iterasi sebesar 32767). Selanjutnya dilakukan perhitungan parameter elektronik dan molekular menggunakan QSAR *properties*.

Penentuan Persamaan QSAR Terbaik dan Desain Senyawa Baru. Penentuan persamaan QSAR menggunakan metode analisis Multilinear dengan IC_{50} sebagai variable tak bebas (terikat) dan parameter elektronik dan molekular sebagai variabel bebas. Selanjutnya parameter elektronik dan molekular dari senyawa uji diplot ke dalam persamaan QSAR terbaik hingga diperoleh nilai IC_{50} prediksi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Persamaan QSAR. Analisis QSAR telah dilakukan dengan membuat model persamaan QSAR sebanyak 26 model persamaan dengan beberapa deskriptor yang setelah uji korelasi secara statistik memiliki korelasi kuat terhadap nilai IC_{50} senyawa yaitu Energi total, Energi isolasi atom, Energi elektronik, Panas pembentukan, Energi interaksi inti, Energi HOMO, Energi LUMO, Log P, Massa, muatan atom C2, muatan atom C4, dan muatan atom C4'. Deskriptor-deskriptor tersebut yang digunakan dalam pembuatan model persamaan regresi multilinear. Dalam analisis regresi multilinear – log IC_{50} sebagai variabel terikat dan deskriptor-deskriptor yang berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan sebagai variabel bebas.

Persamaan QSAR yang memenuhi syarat didasarkan pada nilai R^2 , SE, F dan Sig. F. Nilai R^2 digunakan untuk mengetahui persentase pengaruh variabel bebas yang berupa deskriptor-deskriptor (x_1, x_2, x_3, \dots) secara serentak berpengaruh terhadap variabel terikat yang berupa nilai IC_{50} (y). Apabila nilai $R^2 = 0$ berarti tidak ada pengaruh variabel-variabel bebas terhadap variabel terikat. Apabila nilai $R^2 = 1$ berarti variabel bebas 100% mempengaruhi variabel terikat. Standard Error of the Estimate (SE) merupakan ukuran banyaknya kesalahan

model regresi dalam memprediksi nilai variabel terikat (IC_{50}). Model regresi dikatakan semakin baik dalam memprediksi nilai variabel terikat (IC_{50}) apabila nilai SE lebih kecil daripada nilai standar deviasi (SD). Uji F digunakan untuk mengetahui apakah variabel bebas berupa deskriptor-deskriptor secara bersama-sama berpengaruh secara signifikan terhadap variabel terikat. Uji F dilakukan dengan membandingkan nilai F hitung yang merupakan salah satu hasil dari analisis regresi multilinier dengan nilai F tabel. Nilai F hitung lebih besar dari F tabel dan nilai sig. F lebih kecil dari 0,05 menunjukkan bahwa variabel-variabel bebas secara bersama-sama berpengaruh secara signifikan terhadap variable terikat (aktivitas biologis).

Berdasarkan nilai R^2 , SE, F dan Sig. F dari 26 model persamaan QSAR diperoleh 4 model persamaan QSAR diosmetin yang memenuhi persyaratan yang selanjutnya digunakan untuk plotting nilai IC_{50} prediksi vs IC_{50} eksperimet dengan memasukkan nilai deskriptor senyawa

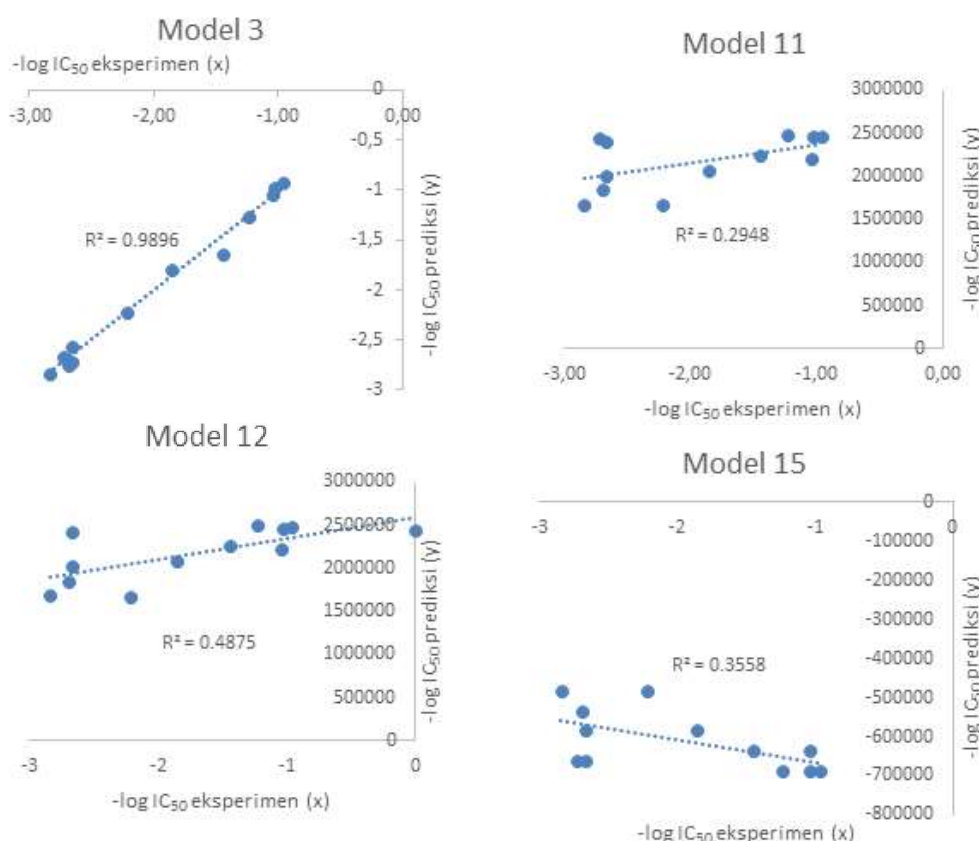
training set. Hasil plotting (Gambar 2.) menunjukkan bahwa hanya persamaan model 3 yang memberikan nilai R^2 mendekati 1 yang artinya nilai IC_{50} (prediksi) yang bisa dihasilkan dengan persamaan QSAR tersebut mendekati nilai IC_{50} (eksperimen)*

Model persamaan QSAR terbaik ialah sebagai berikut:

$$-\log IC_{50} = 70.52781 + (-0.0298 \text{ Panas Pembentukan}) + (3.627483 \text{ Energi HOMO}) + (-0.48695 \text{ Energi LUMO}) + (0.274203 \text{ Energi Hidrasi}) + (-3.43515 \text{ Log P}) + (-0.17476 \text{ Massa}) + (26.95107 \text{ muatan atom C2}) + (-3.67587 \text{ muatan atom C4}) + (-3.85701 \text{ muatan atom C4'})$$

$$R = 0.995 \quad R^2 = 0.990, \quad SE = 0.1833, \quad \text{Sig. F} = 0.046, \quad F_{hit}/F_{tab} = 1.569$$

Variabel – variabel yang ada dalam persamaan QSAR terbaik antara lain Panas Pembentukan, Energi HOMO, Energi LUMO, Energi Hidrasi, Log



Gambar 2. Grafik plotting IC_{50} prediksi Vs IC_{50} eksperimen senyawa *training set* dengan model persamaan QSAR yang memenuhi syarat.

P, Massa, muatan atom C2, muatan atom C4 dan muatan atom C4'. Energi HOMO dan energi LUMO yang mempengaruhi daya ikat suatu senyawa dengan senyawa yang lainnya dan log P yang menunjukkan polaritas dari suatu senyawa.

Penentuan Nilai IC_{50} (prediksi) Senyawa Uji. Analisis nilai aktivitas biologis ($-\log IC_{50}$) dilakukan terhadap 195 senyawa turunan diosmetin. Dari 195 senyawa uji diperoleh 12 senyawa yang memiliki nilai $-\log IC_{50}$ lebih besar daripada nilai $-\log IC_{50}$ diosmetin, hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki nilai log IC_{50} yang lebih kecil. Semakin kecil nilai log IC_{50} berarti semakin besar pula aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

Dari Tabel 1. dapat diketahui bahwa penggantian atom H dengan gugus amina mampu menurunkan nilai IC_{50} . Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diketahui bahwa penggantian atom H dengan substituen gugus alkoksi dan gugus amina pada posisi tertentu menghasilkan peningkatan aktivitas antioksidan pada senyawa diosmetin. Hal ini terjadi karena gugus-gugus alkoksi dan amin merupakan gugus-gugus yang memiliki kemampuan mengaktivasi cincin benzena, sehingga sisi-sisi senyawa menjadi semakin reaktif dan terjadi peningkatan aktivitas antioksidan. Sedangkan gugus-gugus halogen tertentu dan pada posisi tertentu dapat menyebabkan terjadinya penurunan maupun peningkatan aktivitas antioksidan. Berdasarkan penelitian ini, diketahui bahwa substitusi di berbagai posisi pada senyawa diosmetin memberikan pengaruh terhadap aktivitas antioksidan diosmetin. Hal ini dikarenakan semua posisi pada senyawa flavonoid memiliki peranan penting dalam memberikan aktivitas antioksidan, seperti substitusi yang dilakukan pada cincin aromatik A dan C dapat mempengaruhi kelarutan dan daya ikat, sedangkan substitusi pada cincin aromatik B dapat mempengaruhi aktivitas/reaktivitas senyawa terhadap radikal. Sifat ini berkaitan erat dengan variabel yang ada dalam persamaan QSAR yang digunakan dalam perhitungan nilai aktivitas biologis prediksi,

dimana dalam persamaan tersebut terdapat variabel-variabel Panas Pembentukan, Energi HOMO, dan Energi LUMO, variabel log P, energi hidrasi, massa, serta muatan atom pada rantai samping (atom C2, C4 dan C4').

Panas pembentukan adalah suatu energi yang dibutuhkan atau dikeluarkan untuk membentuk satu mol senyawa, nilai dari variable panas pembentukan berpengaruh terhadap daya ikat suatu senyawa.

HOMO adalah orbital tertinggi pada pita valensi yang ditempati elektron, LUMO adalah orbital terendah pada pita konduksi yang tidak ditempati elektron. Energi HOMO berkaitan dengan potensial ionisasi dan karakteristik kerentanan terhadap serangan elektrofil, sedangkan energi LUMO berhubungan dengan afinitas elektron dan ciri kerentanan molekul terhadap serangan nukleofil. Semakin tinggi selisih antara energi HOMO dan energi LUMO, maka semakin tinggi juga stabilitas suatu senyawa(8).

Log P atau koefisien partisi merupakan nilai yang menyatakan nilai lipofilitas suatu senyawa dengan membandingkan kelarutan senyawa dalam pelarut non polar dan pelarut polar. Sehingga semakin tinggi nilai log P, maka semakin tinggi lipofilitas dan aktivitas biologis suatu senyawa.

Energi hidrasi menunjukkan kemampuan senyawa dalam berinteraksi dengan molekul air. Semakin tinggi energi hidrasi suatu senyawa, maka semakin hidrofil senyawa tersebut.

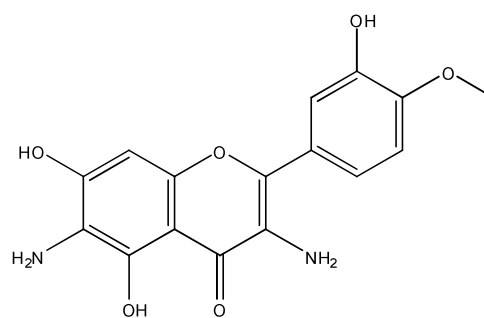
Massa molekul menunjukkan massa atau bobot molekul yang berhubungan dengan kerapatan dan jari-jari suatu atom pada suatu senyawa, sehingga berpengaruh terhadap reaktivitas suatu senyawa.

Berdasarkan analisis QSAR dengan variabel-variabel pada persamaan QSAR terbaik, diperoleh senyawa senyawa 3,6-diamin diosmetin sebagai senyawa turunan diosmetin dengan nilai $-\log IC_{50}$ yang cukup besar yang berarti memiliki nilai IC_{50} kecil yang menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang baik.

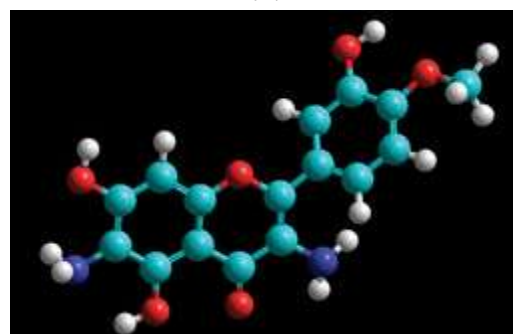
Nilai IC_{50} prediksi senyawa senyawa 3,6-diamin diosmetin sebesar 0,33 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Tabel 1. Nilai IC_{50} (prediksi) 12 senyawa turunan diosmetin.

| No | Nama senyawa | $IC_{50}(\text{prediksi})$ ($\mu\text{g} / \text{mL}$) |
|----|-----------------------------|---|
| 1 | 3,6-diamin diosmetin | 0.33 |
| 2 | 3,5'-diamin diosmetin | 0.45 |
| 3 | 3,8-diamin diosmetin | 0.63 |
| 4 | 5'-amin diosmetin | 0.78 |
| 5 | 6-amin diosmetin | 1.75 |
| 6 | 8-amin diosmetin | 2.63 |
| 7 | 3,5'-difluoro diosmetin | 94.45 |
| 8 | 6,8-difluoro diosmetin | 94.91 |
| 9 | 3-amin diosmetin | 98.50 |
| 10 | 8-fluoro diosmetin | 177.98 |
| 11 | 6-fluoro diosmetin | 259.16 |
| 12 | 3,5',6-trimetoksi diosmetin | 372.45 |



(A)



(B)

Gambar 3. Struktur kimia 3,6-diamin diosmetin (A) 2D (B) 3D.

KESIMPULAN

Deskriptor molekuler yang mempengaruhi aktivitas antioksidan senyawa modifikasi diosmetin panas pembentukan, energi HOMO, energi LUMO, energi hidrasi, nilai Log P, massa, muatan atom C2, C4, dan C4'. Yang ditunjukkan dengan model persamaan QSAR terbaik sebagai berikut :

$$-\log IC_{50} = 70.52781 + (-0.0298 \text{ Panas Pembentukan}) + (3.627483 \text{ Energi HOMO}) + (-0.48695 \text{ Energi LUMO}) + (0.274203 \text{ Energi Hidrasi}) + (-3.43515 \text{ Log P}) + (-0.17476 \text{ Massa}) + (26.95107 \text{ muatan atom C2}) + (-3.67587 \text{ muatan atom C4}) + (-3.85701 \text{ muatan atom C4'})$$

Penggantian atom H dengan substituen golongan amina cenderung meningkatkan aktivitas biologis sebagai antioksidan, dan 3,6-diamin diosmetin merupakan senyawa turunan diosmetin terbaik dengan nilai IC_{50} prediksi sebesar 0.33 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Winarsi H. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Ed.5. Yogyakarta: Kanisius; 2011, h.15–20.
- Rajalakshmi D, Narasimhan S, Madhavi DL, Deshpande SS, Salunkhe DK, editors. Food Antioxidants: Technological: Toxicological and Health Perspectives. 4th ed. New York: Marcel Dekker, Inc.; 1995, p.65,66
- Achmad SA. Kimia Organik Bahan Alam. Jakarta: Penerbit Karunia, Universitas Terbuka; 1986.
- Ray S. A Theoretical Study Of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) Radical Scavenging Activities Of Flavonoids Using Electropological State Atom (E-State) Parameters. Int J Pharm Bio Sci 2012.
- Brad K, Chen C. Physicochemical properties of diosmetin and lecithin complex. Trop J Pharm Res; 2013, p.453.
- Pranowo HD, Hetadi AKR. Pengantar kimia komputasi. Bandung: Lubuk Agung; 2011.
- Siswandono, Bambang S. Kimia Medisinal. Surabaya: Airlangga University Press; 1995
- H.M. Bi, J.P. Hu, F.Y. You, M.M. Gao, and C.H.

Dong, QSAR Studies of Biological Activity with
Phenylpropyl Aldehyde Thiosemicarbazone

Compounds, Asian Journal of Chemistry, 2014,
26, 18, 5947-5950.