

# TERAPAN ANALISIS HANSCH UNTUK AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA TURUNAN FLAVON / FLAVONOL

Iqmal Tahir, Karna Wijaya, Dinni Widianingsih

*Pusat Kimia Komputasi Indonesia Austria*

*Jurusan Kimia Fakultas MIPA UGM Jogjakarta*

**Bambang Purwono**

*Laboratorium Kimia Organik*

*Jurusan Kimia Fakultas MIPA UGM Jogjakarta*

## INTISARI

Telah dilakukan analisis multivariat hubungan kuantitatif aktivitas antioksidan dan struktur senyawa turunan flavon/flavonol berdasarkan pendekatan analisis Hansch. Analisis ini menggunakan variabel sifat fisika kimia senyawa yang diperoleh dari struktur hasil optimasi geometri menggunakan metode semiempirik PM3, meliputi koefisien partisi oktanol/air ( $\log P$ ), polarisabilitas, indeks refraktivitas, energi interaksi inti-inti, luas permukaan dan volume molekuler, massa molekul, panas pembentukan, energi ikatan, energi hidrasi dan energi total. Dari hasil analisis regresi multivariat dengan aktivitas sebagai fungsi linear dari variabel sifat fisik diperoleh model persamaan "terbaik" :

$$\begin{aligned} \% A = & 594,475 - 99,866 [\log P] + 2 \cdot 10^{-3} [\text{energi interaksi inti-inti}] - \\ & 1,905 [\text{volume}] + 0,481 [\text{massa}] - 8,052 [\text{momen dwikutub}] + \\ & 0,539 [\text{panas pembentukan}] - 0,332 [\text{energi ikat}] + 0,013 [\text{energi total}] \\ (n = 18 ; r^2 = 0,783 ; SD = 27,044 ; F_{hitung}/F_{tabel} = 1,257) \end{aligned}$$

**Kata kunci :** QSAR, senyawa antioksidan, flavon, flavonol

## PENDAHULUAN

Senyawa antioksidan saat ini bermanfaat untuk berbagai bidang seperti dalam bidang pangan, industri tekstil, minyak bumi, bahan pewarna dan lain-lain. Riset tentang pengembangan senyawa berkhasiat antioksidan telah banyak dikembangkan baik senyawa alam maupun senyawa sintetis. Senyawa antioksidan adalah senyawa yang berperanan untuk menghambat proses autooksidasi dalam minyak atau lemak (Ketaren, 1986). Donnelly (1996) telah melaporkan berbagai senyawa yang dapat berkhasiat sebagai antioksidan dan bisa digunakan dalam bahan makan. Selain dalam bidang pangan, senyawa antioksidan sangat dibutuhkan juga dalam berbagai industri seperti industri tekstil (Bangee et al, 1995), perminyakan (Pan et al, 1998 dan Jones & Balster, 1997) serta industri karet (Puspha et al, 1995).

Senyawa antioksidan ditambahkan ke dalam suatu bahan untuk menghambat reaksi oksidasi dengan udara (Scott, 1963). Antioksidan hanya berfungsi sebagai penghambat reaksi oksidasi dan tidak dapat menghentikan sama sekali proses autooksidasi pada lemak sehingga pada akhir proses ketengikan akan selalu terjadi.

Beberapa senyawa antioksidan yang sering digunakan saat ini adalah senyawa turunan fenol dan amina. Antioksidan golongan fenol sebagian besar terdiri dari antioksidan alam dan sejumlah antioksidan sintesis. Contoh antioksidan fenol sintetis yang

biasa digunakan adalah BHA dan BHT. Kedua bahan tersebut merupakan senyawa fenol tersubstitusi pada posisi *para* dan kedua posisi *ortho*-nya. Dari penelitian-penelitian sebelumnya dapat diambil kesimpulan bahwa perbedaan struktur antioksidan berpengaruh terhadap daya antioksidan senyawa. BHT dengan substituen *t*-butil pada dua posisi *ortho* dan *para*-nya menyumbang aktivitas antioksidan lebih kuat dibanding dengan BHA (Prokarny, 1987).

Senyawa fenol tersubstitusi telah banyak digunakan sebagai antioksidan (Stuckey, 1986). Kerja antioksidan dalam reaksi oksidasi adalah menghambat terbentuknya radikal bebas pada tahap inisiasi atau menghambat kelanjutan reaksi berantai pada tahap propagasi dari reaksi autooksidasi. Antioksidan yang baik adalah senyawa yang mampu membuat radikal fenol dari antioksidan menjadi lebih stabil. Senyawa turunan fenol tersubstitusi ini banyak terdapat pada berbagai tumbuhan tropis berupa senyawa turunan polifenol. Salah satu turunan senyawa polifenol yang lain dan banyak dijumpai pada tanaman adalah catechin dan epicatechin serta beberapa senyawa turunannya antara lain epicatechin, galocatechin dan epigallo catechin. Selain itu senyawa turunan flavon/flavonol juga berkhasiat sebagai antioksidan. Melihat begitu besarnya peranan antioksidan, maka akan dilakukan penelitian tentang aktivitas antioksidan pada senyawa flavon/flavonol. Kedua jenis senyawa merupakan jenis senyawa flavonoid, suatu senyawa turunan benzo- $\gamma$ -pyron yang banyak terkandung di dalam tumbuh-tumbuhan (Burda dan Oleszek, 2001 ).

Untuk dapat menemukan senyawa antioksidan baru perlu dikembangkan desain molekul baik dengan cara sintesis langsung maupun dicoba dengan pendekatan pemodelan menggunakan konsep-konsep kimia komputasi. Salah satu aplikasi kimia komputasi yang dapat diterapkan adalah kajian *Quantitative Structure-Activity Relationship* (QSAR) atau hubungan kuantitatif struktur aktivitas. Kajian ini mempelajari korelasi secara kuantitatif antara struktur molekul dan nilai aktivitas biologis yang terukur secara eksperimen.

Kajian QSAR menjabarkan suatu model persamaan yang menghubungkan ketergantungan harga aktivitas suatu senyawa secara eksperimen dengan struktur molekul. Secara umum aktivitas senyawa adalah aktivitas biologis yang telah diuji secara klinis. Perkembangan terakhir analisis QSAR ini juga dilakukan terhadap keterkaitan antara struktur senyawa dengan sifat fisik suatu bahan. Menurut Kubinyi (1993) struktur suatu senyawa tersebut dapat direpresentasikan sebagai parameter fisik dan kimiawi (analisis Hansch), variabel indikator (analisis Free-Wilson) atau dengan peninjauan profil sifat molekular secara tiga dimensi (analisis HKSA-3D). Perkembangan kimia komputasi memungkinkan untuk perhitungan kuantum suatu senyawa sehingga dapat diperoleh struktur elektronik senyawa tersebut, yang dapat dinyatakan dengan parameter muatan

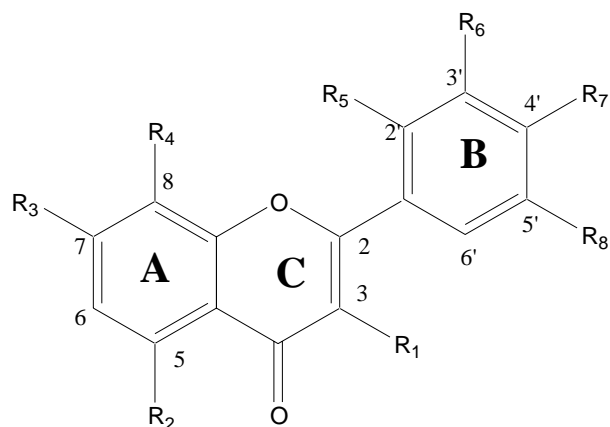
atom, momen dwikutub, kerapatan elektron dan lain-lain (Leach, 1996). Kokpol et al (1989) dan Rode et al (1988) telah menggunakan muatan bersih atom sebagai prediktor pada kajian QSAR. Alim et al (2000) juga menggunakan pendekatan QSAR untuk mempelajari toksisitas suatu seri senyawa fenol. Metoda yang sama telah berhasil digunakan oleh Tahir (2000) untuk kajian QSAR senyawa fenil etil amina. Metoda-metoda tersebut dapat berhasil baik untuk memilih variabel bebas yang berpengaruh dan hasilnya dapat digunakan untuk mendesain senyawa turunan baru. Desain senyawa baru pada kasus senyawa tabir surya dengan menggunakan pendekatan QSAR juga telah dilakukan oleh Tahir et al (2001).

Pada penelitian ini dilakukan analisis QSAR senyawa turunan flavon/flavonol dengan menggunakan pendekatan analisis Hansch yang menerapkan kajian aktivitas antioksidan sebagai fungsi dari variabel-variabel sterik, hidrofobik dan elektronik. Hasil lebih jauh diharapkan dapat digunakan untuk melakukan desain senyawa turunan flavonol dan flavon baru yang berkhasiat antioksidan.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Materi Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan (dalam %) senyawa turunan flavon dan flavonol yang diperoleh dari literatur, berupa jurnal penelitian. Adapun data aktivitas antioksidan dan antiradikal senyawa disajikan pada tabel 1. Struktur senyawa turunan flavon dan flavonol disajikan pada gambar 1 berikut.



Gambar 1. Struktur dasar senyawa turunan flavon dan flavonol

### Peralatan

Dalam penelitian ini, digunakan peralatan komputer dengan prosesor pentium IV, RAM 128.0 MB. Adapun perangkat lunak (*software*) yang digunakan untuk mengolah data yang diperoleh dari literatur adalah sistem operasi *Windows*<sup>TM</sup> 2000, *Hyperchem*<sup>TM</sup> for *Windows* versi 6.01 untuk mengoptimasi geometri senyawa, dan *SPSS*<sup>®</sup> for *Windows* versi 10.0 untuk mengolah data statistik.

Tabel 1. Aktivitas antioksidan senyawa turunan flavon dan flavonol

Senyawa flavon / flavonol	Aktivitas antioksidan( % )
Kaempferol	65,3
Galangin	64,9
Quersetin	63,6
Morin	63,5
Robinetin	61,7
Fisetin	61,6
Kaempferida	60,0
3-hidroksiflavon	59,4
Larisitrin	28,5
Mirisetrin	18,4
3,5,7,3',4',5'-Heksametoksiflavon	2,6
3,5,7,3',4'- Pentametoksiflavon	1,1
7-Hidroksiflavon	0,0
Flavon	-1,5
5-Hidroksiflavon	-4,0
Krisin	-20,8
8-Metoksiflavon	-29,6
Apigenin	-78,8

### Prosedur Kerja

#### 1) Pengambilan data prediktor untuk analisis Hansch

Dalam penelitian dengan analisis Hansch, setiap senyawa dibuat model struktur dua dimensinya menggunakan paket program Hyperchem. Kemudian model tersebut dilengkapi dengan atom hidrogen pada setiap atom untuk melengkapi struktur sebenarnya dan dibentuk menjadi struktur tiga dimensi. Proses selanjutnya adalah melakukan optimasi geometri struktur berupa minimasi energi molekul guna memperoleh konformasi struktur yang paling stabil. Perhitungan dilakukan dengan metode semiempirik PM3 dengan batas konvergensi 0,001 kkal/Å.mol. Metode optimasi dilakukan berdasarkan algoritma Polak-Ribiero. Setelah diperoleh struktur terstabil, data mulai disimpan dengan melakukan *Start log*, kemudian dilakukan perhitungan *single point*, dan dilakukan *Stop log* untuk mengakhiri proses perekaman hasil perhitungan. *Output* data selanjutnya dapat dilihat pada file rekaman (*file.log*).

Untuk penelitian HKSA ini, parameter-parameter yang digunakan adalah sebagai berikut :

- Parameter hidrofobisitas :  $\log P$ ,  $(\log P)^2$
- Parameter elektronik : polarisabilitas, energi interaksi inti-inti, momen dwikutub, energi ikat, energi atom terisolasi, energi hidrasi, energi elektronik dan energi total.
- Parameter sterik : luas permukaan, refraktivitas, volume, massa molekul dan panas pembentukan.

## 2) Analisis regresi

Analisis korelasi dan regresi multilinear dengan pendekatan Hansch, dilakukan dalam program *SPSS for Windows* dengan metode *Backward*.

Untuk satu seri senyawa dilakukan analisis statistik dengan langkah-langkah sebagai berikut :

- a. Data disajikan dalam tabel yang meliputi masing-masing aktivitas antioksidan (dalam %) sebagai variabel terikat (tak bebas), dan nilai *QSAR properties* sebagai variabel bebasnya.
- b. Semua parameter dihitung korelasinya dengan aktivitas senyawa yang bersangkutan. Dari hasil perhitungan dapat diketahui urutan variabel bebas mana yang berpengaruh terhadap aktivitas senyawa.
- c. Variasi dari beberapa variabel bebas membentuk beberapa alternatif model persamaan. Untuk setiap model persamaan alternatif dapat dilakukan perhitungan terhadap beberapa parameter statistik seperti  $r$ ,  $r^2$ , SD dan F.
- d. Selain parameter statistik tersebut, dari hasil perhitungan juga diperoleh nilai Selain parameter statistik tersebut, dari hasil perhitungan juga diperoleh nilai koefisien setiap variabel bebas yang terlibat dalam model persamaan.
- e. Nilai koefisien yang diperoleh digunakan untuk menghitung aktivitas teoritis.
- f. Data aktivitas teoritis dibandingkan dengan aktivitas eksperimen senyawa. Untuk mengetahui kualitas dan kemampuan memprediksi dari setiap model persamaan, maka dihitung harga PRESS-nya.

## HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

### Kajian korelasi aktivitas dan sifat fisik

Untuk melihat model hubungan antar variabel maka dilakukan tinjauan korelasi antar variabel yang terjadi. Data parameter fisika kimia digunakan sebagai variabel bebas dikaitkan dengan aktivitas antioksidan biologis sebagai variabel tak bebasnya. Pembahasan korelasi antar variabel digunakan untuk melihat bagaimana hubungan antar variabel sesungguhnya dari awal. Hal ini dilakukan terutama dengan melihat tingkat pengaruh tiap-tiap sifat fisika kimia terhadap aktivitas antioksidan. Data yang menunjukkan nilai korelasi antar variabel bebas (sifat fisika kimia) dengan aktivitas antioksidan disajikan pada tabel 2. Arah korelasi positif menunjukkan bahwa variabel tersebut sebanding dengan aktivitas, sedangkan arah korelasi negatif menunjukkan pengaruh yang berlawanan. Kuatnya hubungan sifat fisika kimia dengan aktivitas antioksidannya ditunjukkan dengan nilai korelasi yang lebih dari 0,5 (Santoso, 2000).

Tabel 2 Nilai korelasi sifat fisika kimia senyawa terhadap variabel % aktivitas antioksidan dengan teknik analisis Hansch

Variabel	Nilai parameter
log P	-0.442
(log P) <sup>2</sup>	-0.305
Polarisabilitas	-0.020
Refraktivitas	-0.019
Interaksi inti-inti	0.180
Luas permukaan	-0.066
Volume molekul	-0.045
Massa molekul	0.274
Momen dwikutub	-0.362
Panas pembentukan	-0.489
Energi ikat	0.014
Energi atom terisolasi	-0.306
Energi hidrasi	-0.422
Energi elektronik	-0.195
Energi total	-0.298

Dari tabel 2 diketahui urutan korelasi tertinggi terhadap variabel tak bebas % aktivitas antioksidan sebagai berikut :

panas pembentukan > log P > energi hidrasi > momen dwikutub > energi atom terisolasi > (log P)<sup>2</sup> > energi total > massa molekul > energi elektronik > energi interaksi inti-inti > luas permukaan > volume molekul > polarisabilitas > refraktivitas > energi ikat.

Hasil analisis menunjukkan bahwa parameter panas pembentukan merupakan variabel yang paling berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan, melihat nilai korelasinya yang paling mendekati 0,5. Karena nilai korelasi variabel ini berarah negatif, maka pengaruhnya terhadap aktivitas antioksidan cenderung berlawanan. Perubahan aktivitas ini tidak terlalu drastis, karena nilai korelasi panas pembentukan pun tergolong kecil, tidak lebih dari 0,8.

Variabel bebas yang lain relatif tidak terlalu berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan sebab nilai korelasinya terlampau kecil. Meskipun demikian, analisis masih harus dilakukan untuk melihat apakah masih ada pengaruh lain yang signifikan atau tidak. Data korelasi ini tidak dapat dijadikan satu-satunya acuan dalam menentukan parameter yang mempengaruhi aktivitas antioksidan karena korelasi tersebut dihitung dengan asumsi bahwa tidak ada sifat fisika kimia lain yang turut mempengaruhi.

### Hasil analisis regresi multilinear HKSA

Dari hasil analisis regresi multilinear diperoleh 5 model senyawa alternatif yang memenuhi syarat signifikansi pada tingkat kepercayaan 95%, terlihat dari nilai rasio  $F_{hitung}/F_{tabel}$  yang lebih dari 1. Kelima parameter statistik model persamaan terpilih disajikan pada tabel 3.

Dengan mempertimbangkan besarnya nilai koefisien korelasi dan jumlah variabel bebas yang terlibat, maka dipilih persamaan 1 sebagai persamaan HKSA “terbaik”. Harga SD dari tiap model persamaan relatif tidak jauh berbeda sehingga penggunaan parameter statistik ini dalam penentuan model persamaan terbaik kurang memberikan keterangan yang bermanfaat.

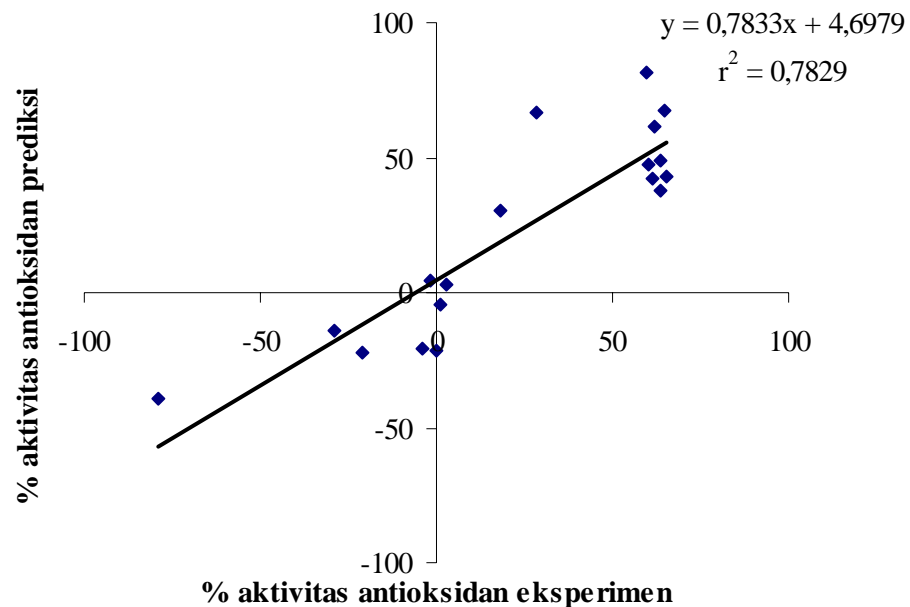
Tabel 3. Model persamaan HKSA senyawa antioksidan hasil analisis regresi multilinear

Model HKSA	r	r <sup>2</sup>	SD	F	F <sub>hitung</sub> /F <sub>tabel</sub>
<b>1</b>	<b>0,885</b>	<b>0,783</b>	<b>27,044</b>	<b>4,058</b>	<b>1,257</b>
2	0,882	0,778	25,953	5,004	1,596
3	0,861	0,741	26,713	5,250	1,696
4	0,839	0,703	27,375	5,694	1,833
5	0,815	0,664	27,976	6,437	2,025

Pemilihan persamaan 1 sebagai model persamaan HKSA terbaik didukung oleh parameter PRESS yang relatif paling minimum dibandingkan dengan keempat model persamaan lain. Data PRESS kelima model persamaan disajikan pada tabel 4.

Tabel 4 Data PRESS model persamaan HKSA senyawa antioksidan

Model	PRESS
1	6585,04
2	6736,88
3	7848,57
4	9001,85
5	10181,37



Gambar 2. Grafik hubungan % aktivitas antioksidan prediksi dengan % aktivitas antioksidan eksperimen berdasarkan persamaan HKSA model 1

Secara lengkap persamaan HKSA model 1 dapat dituliskan sebagai berikut :

$$\% A = 594,475 - 99,866 [\log P] + 2 \cdot 10^{-3} [\text{energi interaksi inti-inti}] - 1,905 [\text{volume}] + 0,481 [\text{massa}] - 8,052 [\text{momen dwikutub}] + 0,539 [\text{panas pembentukan}] - 0,332 [\text{energi ikat}] + 0,013 [\text{energi total}]$$

Gambar 2 menggambarkan hubungan linear yang terjadi antara % aktivitas antioksidan prediksi dengan % aktivitas eksperimen.

### **Analisis Sifat Fisik Berpengaruh**

Dari hasil analisis korelasi variabel terlihat bahwa parameter yang paling berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan adalah parameter panas pembentukan. Namun berdasarkan analisis regresi multilinear, pengaruh parameter panas pembentukan sangat kecil, bahkan dapat dikatakan tidak berpengaruh sama sekali. Hal ini diperlihatkan dalam persamaan di atas di mana nilai koefisien parameter panas pembentukan sangat kecil. Menurut hasil analisis ini, justru parameter log P dan momen dwikutub yang berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan. Pada persamaan HKSA model 1 terlihat bahwa kedua parameter tersebut memiliki nilai koefisien yang cukup besar.

Bila senyawa antioksidan dianggap sama dengan senyawa obat, maka dalam sistem biologis senyawa antioksidan diabsorpsi melintasi selaput sel. Pada kebanyakan molekul obat, penembusan selaput sel dihubungkan dengan kelarutan obat dalam lemak. Oleh sebab itu, kelarutan dalam lemak merupakan suatu sifat fisika penting yang menentukan kecepatan senyawa antioksidan dalam melewati berbagai penghalang selaput. Dengan demikian, dapat diperkirakan bahwa senyawa antioksidan yang memiliki aktivitas relatif tinggi dalam tubuh adalah yang memiliki nilai koefisien partisi (log P) tinggi. Nilai P yang tinggi menunjukkan bahwa senyawa antioksidan lebih terdistribusi ke dalam oktanol yang non polar, seperti sifat lemak, daripada terdistribusi ke air yang bersifat non polar.

Pengaruh momen dwikutub terhadap aktivitas antioksidan dapat diabaikan sebab berdasarkan analisis statistik yang dilakukan, parameter ini kurang memiliki pengaruh yang signifikan pada tingkat kepercayaan 95 %. Parameter ini memiliki angka signifikansi 0,668. Dengan demikian, dapat diprediksi senyawa antioksidan yang mungkin untuk disintesis adalah senyawa-senyawa yang memiliki nilai log P cukup tinggi.

### **KESIMPULAN**

Nilai aktivitas antioksidan senyawa flavon/flavonol memiliki keterkaitan secara kuantitatif terhadap berbagai sifat fisik senyawa dan dinyatakan dalam bentuk persamaan QSAR berikut :



$$\% A = 594,475 - 99,866 [\log P] + 2 \cdot 10^{-3} [\text{energi interaksi inti-inti}] - 1,905 [\text{volume}] + 0,481 [\text{massa}] - 8,052 [\text{momen dwikutub}] + 0,539 [\text{panas pembentukan}] - 0,332 [\text{energi ikat}] + 0,013 [\text{energi total}]$$

## DAFTAR PUSTAKA

- Alim, A.H., Pradipta, M.F., and Tahir, I., 2000, *Jurnal Nasional Kimia Fisik*, III, 2, 23-26.
- Bangee, O.D., Wilson, V.H., East, G.C., and Holme, I., 1995, *Polymer Deg & Stability*, 50 (3), 313-317.
- Burda, S., and Oleszek, W., 2001, *J. Agric. Food Chem.*, 49, 2774-2779.
- Donnelly, T.H., 1996, *J.Chem. Educ.*, 73(2), 158-161.
- Jones, E.G., and Balster, L.M., 1997, *Energy & Fuel*, 11 (3), 610-614.
- Ketaren, S., 1986, *Minyak dan Lemak Pangan*, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Kokpol, S.U., Hannongboa, S.V., Thongrit, N., Polman, S., Rode, B.M. and Schwendinger, M.G., 1988, *Anal. Sci.*, 4, 565-568.
- Kubinyi, H., 1993, *QSAR : Hansch Analysis and Related Approach*, VCH Verlagsgesellschaft, weinheim.
- Leach, A.R., 1996, *Molecular Modelling : Principles and Applications*, Addison Wisley, Longman, London,. 90.
- Pan, J.Q., Liu, N.C., and Lau, W.M.Y., 1998, *Polymer Degradation & Stability*, 62 (1), 165-170.
- Prokarny, J., 1987, *In Autooxidation of Unsaturated Lipids*, Academia Press, New York.
- Puspha, S.A., Goonetilkhe, P., and Billingham, N.C., 1995, *Rubber Chemistry & Technology*, 68(5), 705-716.
- Rode, B.M., Schwendinger M.G., Kokpol, S.U., Hannongboa S.V., and Polman S., 1989, *Monatscheffe fur Chemie*, 120, 913-921.
- Santoso, S., 2000, *Buku Latihan SPSS Statistik Parametrik*, PT Elex Media Komputindo, Jakarta.
- Scott, G., 1963, *Atmospheric Oxidation and Antioxidants*, Elsevier Publisher Co., Amsterdam.
- Stuckey, B.N., 1972, in *Handbook of Food Additives*, T.E. Furia Ed., CRC Press Inc, Clkeveland.
- Tahir, I., 2000, *Analisis Hubungan Kuantitatif Struktur dan Karakter Aroma Senyawa Nitrobenzena*, Makalah Seminar Jurnal Nusantara Kimia, Semarang 17 Oktober 2000.
- Tahir, I., Setiaji, B., and Yahya, M.U., 2001, *Berkala Ilmiah MIPA*, 1, XI, 1-29.