

TERAPAN ANALISIS HANSCH PADA HUBUNGAN STRUKTUR DAN TOKSISITAS SENYAWA FENOL BERDASARKAN PARAMETER TEORITIK

Sahirul Alim, Iqmal Tahir, M. Fajar Pradipta
Pusat Kimia Komputasi Indonesia Austria
Jurusan Kimia Fakultas MIPA UGM Yogyakarta

ABSTRAK

Telah dilakukan kajian hubungan secara kuantitatif antara struktur dan toksisitas menggunakan model analisis Hansch dari 8 senyawa turunan fenol. Data toksisitas diukur sebagai konsentrasi relatif senyawa yang menyebabkan 100 % kematian sel *Tetrahymena pyriformis* (Schultz, 1978) dan dikaji sebagai fungsi linear dari muatan atom netto pada atom-atom C cincin benzena. Data muatan atom netto diperoleh dari perhitungan orbital molekuler struktur senyawa dengan menggunakan metoda semiempirik AM1 dan dilanjutkan dengan analisis populasi Mulliken. Model persamaan diperoleh dengan analisis regresi multilinear, yang dinyatakan sebagai :

$$\log (\text{LC}_{100}) = -3,708 + 31,837.(q C_1) - 4,785.(q C_2) - 4,958.(q C_3) - 2,350.(q C_4) - 2,893.(q C_5) - 1,879.(q C_6)$$

dengan parameter statistik : $n = 8$; $r^2 = 0,979$; $SE = 0,109$.

APPLYING HANSCH ANALYSIS IN THE STUDY OF STRUCTURE-TOXICITY CORRELATION OF PHENOL COMPOUND BASED ON THEORETICAL PARAMETER

Sahirul Alim, Iqmal Tahir, M. Fajar Pradipta
Austrian-Indonesian Center of Computational Chemistry
Chemistry Department, Gadjah Mada University, Yogyakarta

ABSTRACT

Quantitative Structure - Toxicity Relationship of substituted phenol compounds have been done. This model applied Hansch analysis by using atomic net charges as the predictors and its toxicity as the dependent variable. The charges are resulted by computational chemistry methods using semiempirical AM1 method and continued with Mulliken population analysis. The linear model is presented as :

$$\log (\text{LC}_{100}) = -3,708 + 31,837.(q C_1) - 4,785.(q C_2) - 4,958.(q C_3) - 2,350.(q C_4) - 2,893.(q C_5) - 1,879.(q C_6)$$

($n = 8$; $r^2 = 0,979$; $SE = 0,109$).

I. PENDAHULUAN

Aktivitas senyawa kimia secara biologis sebagai fungsi struktur kimia dikaji secara mendalam oleh Corwin Hansch dan dikenal sebagai kajian *Quantitative Structure-Activity Relationship* (QSAR) - analisis Hansch. Analisis Hansch berkembang dari pemikiran bahwa interaksi senyawa dengan reseptor terjadi karena adanya efek gaya-gaya intermolekular seperti interaksi hidrofobik, interaksi polar, interaksi elektrostatik dan efek sterik senyawa. Gambaran interaksi tersebut direpresentasikan sebagai struktur dari senyawa dan selanjutnya aktivitas dikaji sebagai fungsi linear dari struktur senyawa. Struktur elektronik senyawa dalam bentuk muatan atom netto yang terdapat pada kerangka penyusun struktur senyawa diketahui berfungsi sebagai salah satu prediktor yang dapat digunakan pada analisis Hansch. Hal ini telah banyak dipublikasikan pada berbagai literatur seperti Kokpol, et al (1988), Rode, et al (1989), Hannongbua, et al (1996), Tahir et al (1997), Tahir et al (2000) dan Tahir (2000). Selain hubungan dengan aktivitas obat dan sifat fisik senyawa, struktur elektronik juga memiliki hubungan erat dengan sifat toksik suatu senyawa. Menurut Kubinyi (1993), toksisitas senyawa biasa ditentukan secara kuantitatif dalam ukuran konsentrasi efektif (EC, *effective concentration* atau ED, *effective dose*), konsentrasi inhibisi (IC, *inhibition concentration*) atau konsentrasi mematikan (LD, *lethal dose*). Berdasarkan analisis Hansch, toksisitas merupakan variabel tak bebas sebagai fungsi dari struktur elektronik senyawa.

Pengujian toksisitas dalam bidang lingkungan dapat dilakukan dengan berdasarkan pengamatan sistem kultur *Tetrahymena* seperti yang telah dilakukan oleh Schultz et al (1978). Spesies ini cukup representatif untuk pengujian toksisitas karena memberikan gambaran lengkap tentang (1) pergerakan senyawa dan interaksi senyawa di lingkungan; (2) interaksi senyawa dengan barrier antara organisme dengan lingkungan; (3) perpindahan yang terjadi dari senyawa selama menempuh barrier dan (4) gaya intraselular yang ada pada senyawa. Penggunaan kultur *Tetrahymena* uniselular dapat memberikan gambaran secara kimiawi pada kondisi akut yang terjaga dapat menggambarkan keempat proses tersebut (Schultz & Cajina-Quezada, 1982). Kajian QSAR antara toksisitas senyawa fenol dengan menggunakan parameter hidrofobik dan lipofilitas telah dilakukan oleh Schultz et al (1978). Penggunaan parameter struktur elektronik hasil perhitungan kimia komputasi terhadap efek toksisitas ini perlu dilakukan.

Pada penelitian ini telah diteliti satu seri senyawa turunan fenol sejumlah 8 senyawa. Data tentang toksisitas dari seluruh senyawa fenol terhadap kultur *Tetrahymena* diperoleh dari riset Schultz (1978) dan

selengkapnya disajikan pada tabel 1. Toksisitas dinyatakan sebagai konsentrasi senyawa yang dibutuhkan supaya dapat mengakibatkan 100 % kematian sel dalam waktu 24 jam (digunakan istilah LC_{100}). Selanjutnya kajian QSAR dilakukan dengan berdasarkan hubungan linearistik antara harga log (LC_{100}) dengan muatan atom netto pada atom-atom karbon penyusun cincin benzena. Data muatan atom netto diperoleh dari perhitungan kimia komputasi menggunakan perhitungan semiempirik metoda AM1 dan dilanjutkan dengan analisis populasi Mulliken.

Tabel 1. Data toksisitas dari 8 senyawa fenol

No	Senyawa	LC_{100}
1	fenol	6.37
2	3-hidroksi fenol	15.44
3	4-metil fenol	3.70
4	2-metil fenol	3.70
5	3-metil fenol	3.47
6	3,5-dimetil fenol	2.25
7	2,6-dimetil fenol	2.66
8	3-etil fenol	2.07

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk :

1. Mempelajari hubungan kuantitatif antara toksisitas dengan struktur elektronik senyawa turunan fenol.
2. Dapat mengembangkan strategi pemilihan senyawa turunan fenol lain dengan sifat toksik yang diinginkan.

II. METODE PENELITIAN

Peralatan

Perangkat lunak kimia komputasi yang digunakan adalah paket program Hyperchem versi 6.0 (Hyperchem, Hypercube) dan perangkat lunak statistik berupa paket program Statistica 4.0. Perangkat keras yang digunakan berupa komputer dengan prosessor IP III-400 MHz memory 32 MB.

Bahan

Pada penelitian ini digunakan satu seri senyawa fenol seperti yang tersaji pada tabel 1. Pada kajian QSAR, nilai LC_{100} diubah menjadi harga log (LC_{100}).

Cara Kerja

Penentuan struktur elektronik

Untuk setiap senyawa yang digunakan pada penelitian ini, dibuat model struktur secara dua dimensional dengan menggunakan paket program Hyperchem. Selanjutnya dilengkapi dengan atom hidrogen pada setiap atom untuk melengkapi struktur sebenarnya dan kemudian dibentuk menjadi struktur tiga dimensional. Proses dilanjutkan dengan optimasi geometri struktur berupa minimasi energi molekul untuk memperoleh konformasi struktur molekul paling stabil. Perhitungan dilakukan dengan menggunakan metoda semiempirik AM1 dan batas konvergensi ditentukan setelah mencapai batas gradien perubahan energi terhadap perubahan posisi sebesar 0,001 kkal/Å. Metoda optimasi yang digunakan adalah berdasarkan algoritma Polak-Ribiero. Setelah diperoleh struktur terstabil kemudian dilakukan perhitungan *single point* dan direkam untuk memperoleh data hasil perhitungan. Perhitungan ini meliputi penentuan energi molekul dan kemudian dilanjutkan dengan penentuan muatan atom netto dengan metoda analisis populasi Mulliken. Output data selanjutnya dilihat pada file rekaman (file.log).

Untuk penelitian QSAR ini, data yang digunakan adalah data muatan atom netto saja. Output data berupa muatan atom yang dihasilkan paket program versi 6.0 Hyperchem berupa muatan atom netto. Pada seri senyawa fenol ini, atom yang digunakan hanya atom-atom karbon penyusun cincin benzena.

Kajian QSAR

- Kajian QSAR dilakukan berdasarkan analisis statistik regresi multilinear dengan variabel tidak bebas : log (LC₁₀₀) dan variabel bebas : harga-harga muatan atom netto. Muatan atom netto yang dilibatkan hanya untuk atom pada struktur utama yakni cincin benzena meliputi atom-atom C₁, C₂, C₃, C₄, C₅ dan C₆.
- Selanjutnya dihitung korelasi untuk semua variabel bebas (q_{C1}, q_{C2}, q_{C3}, q_{C4}, q_{C5}, q_{C6}), dan dikaitkan dengan harga variabel tidak bebas yakni log (LC₁₀₀). Hasil perhitungan digunakan untuk menunjukkan urutan variabel bebas penting yang berfungsi sebagai prediktor.
- Dilakukan analisis regresi multilinear terhadap data output berupa parameter statistik meliputi koefisien korelasi r² dan standar deviasi SE. Analisis dilakukan sehingga diperoleh model hubungan yang dinyatakan secara matematik untuk merepresentasikan nilai log (LC₁₀₀) sebagai fungsi linear dari harga-harga muatan atom netto. Model QSAR ini secara umum dinyatakan dengan persamaan regresi :

$$\log(LC_{100}) = \sum_{j=1}^n k_j \cdot q_j + k_{n+1} \quad (1)$$

Pengujian model QSAR

Hasil kajian QSAR di atas selanjutnya digunakan untuk perhitungan log (LC_{100}) masing-masing senyawa secara teoritis dengan menggunakan data muatan atom netto tiap-tiap senyawa. Kajian dilakukan terhadap ukuran penyimpangan (*residual*) data relatif terhadap data log (LC_{100})_{eksperimen}. Dengan demikian diperoleh data log (LC_{100})_{eksperimen} dan log (LC_{100})_{prediksi}. Analisis kedua data ini dilakukan dengan menggunakan model regresi linear.

Strategi desain senyawa fenol

Desain senyawa fenol yang baru dilakukan untuk memiliki efek toksisitas yang diinginkan. Pada penelitian ini pengkajian dilakukan terbatas hanya perkiraan langkah yang harus dilakukan untuk memperoleh senyawa teoritis dengan efek yang kuat atau sebaliknya dengan menggunakan model hubungan persamaan QSAR terpilih.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Korelasi Struktur Elektronik dan Toksisitas

Pada tabel 2 disajikan muatan atom karbon penyusun gugus benzena dari senyawa fenol yang akan digunakan pada kajian QSAR. Perhitungan kimia komputasi yang dilakukan menghasilkan data muatan atom netto untuk tiap-tiap atom pada senyawa fenol. Data log (LC_{100}) hasil konversi logaritmik nilai data LC_{100} eksperimen juga disajikan untuk analisis model hubungan QSAR.

Tabel 2. Rekapitulasi data muatan atom netto pada senyawa fenol

Senyawa no	Log (LC_{100})	Muatan atom netto (coulomb)					
		C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆
1	0,80	0,070	-0,152	-0,101	-0,161	-0,096	-0,207
2	1,19	0,100	-0,234	0,104	-0,238	-0,068	-0,182
3	0,57	0,063	-0,201	-0,098	-0,101	-0,101	-0,148
4	0,57	0,070	-0,145	-0,097	-0,158	-0,105	-0,149
5	0,54	0,070	-0,150	-0,042	-0,162	-0,094	-0,210
6	0,35	0,072	-0,152	-0,042	-0,159	-0,036	-0,211
7	0,42	0,065	-0,141	-0,103	-0,153	-0,108	-0,085
8	0,32	0,071	-0,212	-0,034	-0,158	-0,101	-0,154

Data muatan atom netto yang digunakan untuk kajian QSAR dibatasi sampai 3 angka desimal. Penambahan jumlah angka desimal berikutnya relatif tidak banyak berpengaruh pada analisis regresi multilinear yang telah dilakukan. Data muatan atom netto C_1 , C_2 , C_3 , C_4 , C_5 dan C_6 yang digunakan sebagai variabel bebas pada kajian QSAR selanjutnya dikaitkan dengan nilai log (LC_{100}) sebagai variabel tidak bebas. Untuk melihat model hubungan antar variabel lebih jauh maka dilakukan tinjauan korelasi antar variabel yang terjadi.

Pembahasan korelasi antar variabel digunakan untuk melihat bagaimana hubungan antar variabel sesungguhnya secara awal. Hal ini dilakukan terutama dengan melihat tingkat pengaruh tiap-tiap muatan atom terhadap nilai log (LC_{100}). Pada data berikut disajikan data yang menunjukkan nilai korelasi antar variabel :

Log (LC_{100}) >	q C_1	>	q C_4	>	q C_2	>	q C_3	>	q C_6	>	q C_5
1	0,802		-0,678		-0,460		0,445		-0,264		0,116

Nilai mutlak dari nilai yang ditunjukkan pada data di atas menunjukkan kualitas korelasi antar variabel. Untuk data yang menunjukkan nilai mendekati faktor 1 (atau faktor -1) maka korelasi semakin kuat.

Hasil analisis menunjukkan bahwa variabel bebas yang berpengaruh relatif cukup besar terhadap nilai log (LC_{100}) adalah muatan atom C_1 dan C_4 . Oleh karena itu dapat diduga bahwa apabila terjadi perubahan nilai muatan atom pada C_1 dan C_4 akibat pengaruh substitusi suatu gugus alkil di posisi manapun pada cincin benzena (C_2 , C_3 , C_4 , C_5 atau C_6), akan berakibat perubahan drastis karakter aroma senyawa tersebut.

Untuk variabel bebas yang lain, pengaruh perubahan harga muatan atom terhadap perubahan nilai log (LC_{100}) relatif tidak cukup kuat, yakni muatan atom netto pada atom-atom C_2 dan C_3 . Selanjutnya variabel bebas yang tidak begitu berpengaruh adalah variabel muatan atom netto di C_5 dan C_6 . Hal ini ditandai dengan ukuran korelasi yang terkait terhadap variabel tidak bebas relatif tidak cukup besar. Meskipun demikian pengkajian masih harus dilakukan untuk melihat apakah masih ada pengaruh yang signifikan atau tidak, serta untuk mencari hubungan QSAR yang bisa digunakan. Data korelasi tersebut tidak cukup kuat untuk menjawab hal tersebut.

Model Hubungan Struktur Elektronik Dan Toksisitas

Berdasarkan jumlah variabel bebas yakni 6 muatan atom netto atom karbon penyusun cincin benzena, maka model hubungan QSAR yang mungkin adalah sebanyak $(2^6 - 1) = 63$ model. Alternatif model sejumlah 63 buah tersebut merupakan jumlah semua kemungkinan yang ada untuk menyatakan hubungan linear dari log (LC_{100}) sebagai fungsi linear dari satu muatan atom netto atau kombinasi lebih dari satu harga muatan atom netto.

Kubinyi (1993) menyatakan bahwa pada kajian QSAR berlaku hubungan yang baik adalah jika melibatkan jumlah variabel bebas semaksimal mungkin. Pada penelitian ini model hubungan yang dikaji adalah model hubungan yang menggunakan seluruh variabel bebas

Persamaan regresi untuk menyatakan model hubungan struktur elektronik dan toksisitas dengan melibatkan semua variabel bebas, yakni muatan atom netto pada C_1 , C_2 , C_3 , C_4 , C_5 dan C_6 dinyatakan dalam bentuk :

$$\log(LC_{100}) = -3,708 + 31,837.(q C_1) - 4,785.(q C_2) - 4,958.(q C_3) - 2,350.(q C_4) - 2,893.(q C_5) - 1,879.(q C_6) \quad (2)$$

dengan parameter regresi :

- n = jumlah data = 8;
- db = derajat kebebasan = 6,1;
- r^2 = koefisien korelasi = 0,979;
- SE = standar deviasi = 0,109;

Peninjauan terhadap nilai r^2 dari model yang dihasilkan menunjukkan bahwa hubungan linearistik tersebut cukup baik. Nilai r^2 yang ditunjukkan relatif cukup mendekati nilai 1 (merupakan nilai r^2 untuk model hubungan yang bersifat ideal). Parameter ini sudah memenuhi kaidah QSAR/QSPR secara umum seperti yang dikriteriakan oleh Kubinyi (1993).

Tabel 3. Hasil prediksi karakter aroma senyawa fenol

Senyawa	$\log(LC_{100})$ eksperimen	$\log(LC_{100})$ prediksi	residual
fenol	0,80	0,79	0,01
3-hidroksi fenol	1,19	1,18	0,01
4-metil fenol	0,57	0,55	0,02
2-metil fenol	0,57	0,65	-0,08
3-metil fenol	0,54	0,49	0,05
3,5-dimetil fenol	0,35	0,36	-0,01
2,6-dimetil fenol	0,42	0,38	0,04
3-etil fenol	0,32	0,35	-0,03

Perhitungan akurasi model dilakukan dengan meninjau harga $\log(LC_{100})_{\text{eksperimen}}$ dan $\log(LC_{100})_{\text{prediksi}}$. Perhitungan dilakukan terhadap 8 senyawa uji sendiri dengan memasukkan harga masing-masing muatan atom

netto ke dalam persamaan yang diperoleh (persamaan 2). Hasil prediksi disajikan pada tabel 3 yaitu nilai $\log(LC_{100})_{\text{eksperimen}}$ dan dibandingkan dengan nilai $\log(LC_{100})_{\text{prediksi}}$ untuk model tersebut. Harga residual pada tabel 4 menunjukkan tingkat penyimpangan antara nilai $\log(LC_{100})_{\text{prediksi}}$ dan nilai $\log(LC_{100})_{\text{eksperimen}}$.

Strategi Pemilihan Senyawa Fenol

Pemilihan senyawa turunan fenol yang memiliki ukuran toksisitas tertentu dengan cara QSAR ini dapat dilakukan dengan mudah. Hal ini bisa dilakukan mengingat senyawa turunan fenol manapun dapat dimodelkan di komputer dan kemudian dengan prosedur yang sama akan dapat diperoleh data muatan atom. Toksisitas senyawa turunan fenol akan dapat diprediksikan dengan menggunakan persamaan (2) yang telah dihasilkan sebagai hasil model hubungan QSAR. Dengan demikian metoda QSAR ini akan cukup membantu pada riset bidang lingkungan karena tidak semua senyawa turunan fenol harus diuji, tetapi cukup senyawa-senyawa fenol yang diprediksikan memiliki $\log(LC_{100})$ kecil.

Berdasarkan nilai parameter-parameter pada persamaan regresi (2) maka pemilihan senyawa dapat dilakukan dengan menghitung $\log(LC_{100})_{\text{prediksi}}$ untuk senyawa fenol baru. Senyawa tersebut dilakukan penentuan data struktur elektronik dan kemudian dimasukkan ke persamaan (2) sehingga akan diperoleh harga $\log(LC_{100})_{\text{prediksi}}$. Apabila nilai $\log(LC_{100})_{\text{prediksi}}$ yang diperoleh cukup kecil maka toksisitas senyawa tersebut juga semakin besar.

Berdasarkan nilai parameter-parameter tersebut dapat diketahui bahwa nilai variabel muatan atom C_1 dan C_4 cukup sensitif terhadap efek toksisitas senyawa, sedangkan variabel yang lain relatif kurang begitu berpengaruh.. Untuk nilai variabel-variabel muatan atom C_2 , C_3 , C_4 , C_5 dan C_6 berbanding lurus dengan toksisitas senyawa, sedangkan nilai variabel muatan atom C_1 berbanding terbalik dengan nilai toksisitas senyawa.

Strategi ini dapat memberikan hasil prediksi yang memiliki kemungkinan cukup baik. Gugus alkil yang dapat dikembangkan untuk substitusi ini antara lain adalah propil, butil, amil, isoamil dan homolog alkana yang lain. Terbuka juga kemungkinan substitusi ganda seperti dialkil atau trialkil dengan satu atau lebih macam gugus alkil. Gugus lain seperti hidroksi, amina dan karboksilat dapat digunakan meskipun kemungkinan kesalahannya akan cukup besar. Demikian juga untuk penggunaan gugus halogen yang mungkin akan memberikan kesalahan lebih besar lagi. Untuk itu pembuktian eksperimental untuk kasus tersebut masih harus dilakukan. Tetapi strategi pemilihan yang dianjurkan sudah diarahkan dengan menggunakan hasil-hasil QSAR ini.

IV. KESIMPULAN

1. Toksisitas senyawa turunan fenol merupakan fungsi linear dari muatan atom karbon pembentuk cincin benzena dengan hubungan persamaan :

$$\log(\text{LC}_{100}) = -3,708 + 31,837.(q C_1) - 4,785.(q C_2) - 4,958.(q C_3) - 2,350.(q C_4) - 2,893.(q C_5) - 1,879.(q C_6)$$

2. Pemilihan senyawa turunan fenol yang memiliki efek toksisitas tertentu dapat dilakukan dengan menggunakan model hubungan di atas.

V. DAFTAR PUSTAKA

- Kubinyi, H., QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches, VCH Publishers, New York, 1993.
- Kokpol, S.U., Hannongbua, S.V., Thongrit, N., Polman, S., Rode, B.M., Swendinger, M.G., Analysis of Structure-Activity Relation for Primaquine Antimalarial Drugs by a Quantum Pharmacological Approach, *Anal. Sci.*, 120, 4, 1988, 565-568.
- Rode, B.M., Swendinger, M.G., Kokpol, S.U., Hannongbua, S.V., Polman, S., Quantum Pharmacological Studies on Antimalarial Drugs, *Monatsch, Chemie*, 120, 1989, 913-921.
- Hannongbua, S., Lawtrakul, L., Limtrakul, J., Structure-Activity Correlation Study of HIV-1 Inhibitors : Electronic and Molecular Parameters, *J. Comp-Aided Mol. Design*, 10, 1996, 1-14.
- HyperChem Release 4.5, Hypercube, Inc, 419 Philip Street, Waterloo, Ontario, Canada, 1996.
- Schultz, T.W., Kyte, L.M., Dumont, J.N., 1978, Structure-Toxicity Correlations of Organic Contaminants in Aqueous Coal-Conversion Effluents, *Arch. Environment. Contam. Toxicol.*, 7, 457-463.
- Schultz, T.W., Cajina-Quezada, 1982, Structure-Toxicity Correlations of Selected Nitrogenous Heterocyclic Compounds II. Dinitrogen Molecules, *Arch. Environment. Contam. Toxicol.*, 11, 353-361.
- Tahir, I., Setiaji, B., Yahya, M.U., Rode, B.M., 1997, Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktivitas Senyawa Fenil Etil Amina dengan Metoda Validasi Silang, Prosiding Seminar Nasional Kimia I, Yogyakarta.
- Tahir, I. Setiaji, B., Alim, S.A., 2000, Hubungan Kuantitatif Struktur Elektronik dan Karakter Aroma Senyawa Senyawa Alkil Benzaldehid, *Berkala Ilmiah MIPA*, no 1 tahun X, 19-37.
- Tahir, I. 2000, Hubungan Kuantitatif Struktur Elektronik dan Karakter Aroma Senyawa Senyawa Alkil Nitrobenzena, (Jurnal Nusantara Kimia *in press*).