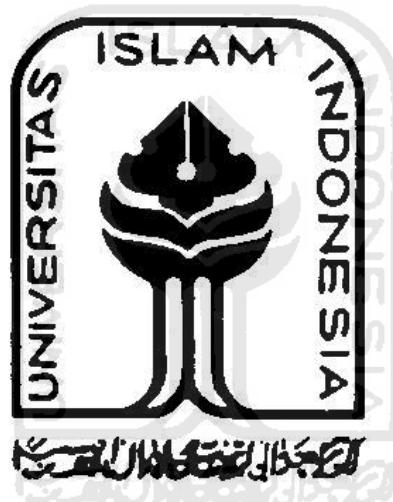


Analisis HKSA Senyawa Inhibitor GAO dari Turunan 4-Substitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1*H*-PIROL-2,5-DION dengan Deskriptor Muatan Atom, ϵ_{HOMO} , ϵ_{LUMO} dan Momen Dipol Menggunakan Perhitungan Metode AM1

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Sains (S.Si) Program Studi Ilmu Kimia pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia



Disusun oleh :

IRESTIN YENITA
No Mhs : 02612074

**JURUSAN ILMU KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JOGJAKARTA
2008**

**ANALISIS HKSA SENYAWA INHIBITOR GAO DARI
TURUNAN 4-SUBSTITUSI-HETEROSIKLIK-3-HIDROKSI-
1H-PIROL-2,5-DION DENGAN DESKRIPTOR MUATAN
ATOM, ϵ_{HOMO} , ϵ_{LUMO} DAN MOMEN DIPOL MENGGUNAKAN
PERHITUNGAN METODE AM1**

INTISARI

**IRESTIN YENITA
02 612 074**

Telah dilakukan analisis HKSA senyawa penghambat GAO turunan 4-substitusi-heterosiklik-3-hidroksi-1H-pirol-2,5-dion dengan deskriptor muatan atom, ϵ_{HOMO} , ϵ_{LUMO} , dan momen dipol. Tujuan penelitian ini adalah menemukan hubungan kuantitatif antara struktur senyawa yang dideskripsikan dengan deskriptor berupa muatan atom, ϵ_{HOMO} , ϵ_{LUMO} , dan momen dipol dari senyawa penghambat GAO 4-substitusi-heterosiklik-3-hidroksi-1H-pirol-2,5-dion dengan aktivitas penghambatnya yang dinyatakan sebagai pI_{50} .

Dari hasil analisis HKSA diperoleh persamaan HKSA terbaik yang menghubungkan deskriptor dengan aktivitas penghambat adalah:

$$pI_{50} = -721.646 - 590.850(qC5) - 2217.634(qO6) + 647.561(qO8) \\ - 66.165(qC10) - 37.086(qS11) + 5.453(qC12) - \\ 36.660(\epsilon_{\text{HOMO}}) \\ (n = 15, R^2 = 0.979, \text{Adjusted } R^2 = 0.959, SE = 0.15333, F_{\text{hit}} / F_{\text{tab}} = 12.5 \\ \text{PRESS} = 0.1921)$$

Kata Kunci : Senyawa inhibitor GAO, HKSA, metode AM1, aktivitas inhibisi

QSAR ANALYSIS OF GAO INHIBITOR 4-HETEROCYCLIC-SUBSTITUTED-3-HYDROXY-1H-PYRROL-2,5-DIONE DERIVATIVES USE ATOMIC NET CHARGES, ϵ_{HOMO} , ϵ_{LUMO} , AND DIPOLE MOMENT AS DESCRIPTORS CALCULATING BY AM1 METHOD

ABSTRACT

**IRESTIN YENITA
02612 074**

Quantitative Structure Activity Relationship (QSAR) analysis of GAO inhibitor activities of 4-heterocyclic-substituted-3-hydroxy-1H-pyrrol-2,5-dione derivatives compounds using atomic net charge, ϵ_{HOMO} , ϵ_{LUMO} , and dipole moment as descriptor has been studied. The objective of the research is to find the quantitative relationship between the descriptor compounds which was described using the atomic net charge, ϵ_{HOMO} , ϵ_{LUMO} , and dipole moment and the GAO inhibitor activities of 4-heterocyclic-substituted-3-hydroxy-1H-pyrrol-2,5-dione derivative compounds which presented as pI_{50} . Relation analysis between the inhibitor activity and descriptor, give the QSAR equation as follows:

$$pI_{50} = -721.646 - 590.850(qC5) - 2217.634(qO6) + 647.561(qO8) - 66.165(qC10) - 37.086(qS11) + 5.453(qC12) - 36.660(\epsilon_{\text{HOMO}})$$

(n = 15, $R^2 = 0.979$, *Adjusted* $R^2 = 0.959$, SE = 0.15333, $F_{\text{hit}} / F_{\text{tab}} = 12.5$
PRESS = 0.1921)

Keywords: GAO inhibitor, QSAR, AM1 method, inhibitor activities.

DAFTAR ISI

	Hal
Halaman Judul	i
Lembar Pengesahan	ii
Kata Pengantar	iii
Intisari	v
Abstract	vi
Daftar isi	vii
Daftar Tabel	xi
Daftar Gambar	xii
Daftar Lampiran	xiii
 I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Batasan Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
 II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas dari suatu molekul (<i>Quantitaif Structure Activity Relationship, QSAR</i>)	6
2.2 QSAR Inhibitor Asam Glikolat Oksidasi (<i>Glycolic Acid Oxidase, GAO</i>).....	7

2.3	QSAR Turunan Senyawa 4-substitusi-heterosiklik-3-hidroksi-1 <i>H</i> -pirol-2,5-dion	10
-----	--	----

III. DASAR TEORI

3.1	Mekanika Molekul	12
3.2	Mekanika Kuantum.....	13
3.2.1	Deskriptor Kimia Kuantum.....	14
3.2.2	Persamaan Schrodinger.....	17
3.2.3	Metode Perhitungan Semiempirik AM1	18
3.2.4	Permodelan Molekul	20
3.2.5	Optimasi Geometri.....	21
3.2.6	Momen Dipol	22
3.2.7	Ikatan Hidrogen	23
3.3	Teori Dasar QSAR.....	23
3.4	Metode QSAR.....	24
3.4.1	Model Hansch	24
3.4.2	Metode Free-Wilson	26
3.4.3	Model QSAR-3D	27
3.5	Analisis Statistik QSAR.....	27
3.6	Penghambat (Inhibitor) dan Konstanta Penghambatan.....	28
3.6.1	<i>Glycolic Acid Oxidase (GAO)</i>	32
3.7	Hipotesis Penelitian	35

IV. METODOLOGI PENELITIAN

4.1	Alat.....	36
4.2	Obyek Penelitian.....	36
4.3	Cara Kerja	38
4.3.1	Optimasi Geometri dengan Perhitungan Parameter Muatan Atom, ϵ HOMO, ϵ LUMO dan μ dengan metode AM1	38
4.3.2	Analisis QSAR dengan Program SPSS.....	40

V. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1	Optimasi Geometri Senyawa Turunan 4-substitusi-heterosiklik 3-hidroksi-1 <i>H</i> -pirol-2,5-dion	43
5.2	Hasil Perhitungan AM1	46
5.3	Analisis HKSA Senyawa Turunan 4-substitusi-heterosiklik-3- hidroksi-1 <i>H</i> -pirol-2,5-dion.....	48
5.3.1	Pemisahan Data.....	48
5.3.2	Analisis Statistik Deskriptor	48
5.3.3	Penentuan Model Persamaan Prediksi Terbaik.....	50
5.4	Validasi Model Persamaan HKSA.....	54
5.4	Deskriptor Yang paling Berpengaruh Terhadap Aktivitas Inhibisi GAO pada Senyawa Turunan 4-substitusi-heterosiklik-3-hidroksi-1 <i>H</i> - pirol-2,5-dion	57

VI. PENUTUP

6.1 Kesimpulan 61

6.2 Saran..... 62

DAFTAR PUSTAKA 63

LAMPIRAN.....



DAFTAR TABEL

	Hal
Tabel 1. Nilai aktivitas penghambatan (inhibisi) Enzim GAO pada Senyawa Turunan 4-substitusi-heterosiklik-3-hidroksi-1 <i>H</i> -pirol-2,5-dion.....	37
Tabel 2. Hasil Perhitungan muatan atom-atom, momen dipol, energi HOMO, dan energi LUMO dengan metode semi-empirik PM3 pada 17 senyawa Turunan 4-sustitusi-heterosiklik-3-hidroksi-1 <i>H</i> -pirol-2,5-dion PM3..	45
Tabel 3. Nilai Koefisien Statistik masing-masing Model.....	47
Tabel 4. Data Parameter Statistik (nilai r , R^2 , Adj R, F dan SE)	47
Tabel 5. Model Persamaan HKSA Terpilih hasil regresi multilinear	50
Tabel 6. Nilai F_{hitung}/F_{tabel}	52
Tabel 7. Aktivitas Inhibisi (pI_{50}) Senyawa Turunan 4-substitusi-heterosiklik-3-hidroksi-1 <i>H</i> -pirol-2,5-dion hasil eksperimen dan hasil prediksi menggunakan model persamaan 3 pada senyawa <i>fitting</i> (validasi internal).....	54
Tabel 8. Aktivitas Inhibisi (pI_{50}) Senyawa Turunan 4-substitusi-heterosiklik-3-hidroksi-1 <i>H</i> -pirol-2,5-dion hasil eksperimen dan hasil prediksi menggunakan model persamaan 3 pada senyawa <i>testing</i> (validasi eksternal).....	56

DAFTAR GAMBAR

	Hal
Gambar 1. Struktur Senyawa Senyawa Turunan 4-substitusi-heterosiklik-3-hidroksi-1 <i>H</i> -pirol-2,5-dion.....	10
Gambar 2. Reaksi Biosintesis Okasalat dari Glikolat.....	33
Gambar 3. Sistem Penomoran dalam permodelan molekul Senyawa Turunan 4-substitusi-heterosiklik-3-hidroksi-1 <i>H</i> -pirol-2,5-dion	37
Gambar 4. Diagram Alir Prosedur Optimasi Geometri Senyawa dengan Metode PM3.....	39
Gambar 5. Prosedur Analisis QSAR dengan Program SPSS	40
Gambar 6. Model Struktur 3D senyawa 4-substitusi-heterosiklik-3-hidroksi-1 <i>H</i> -pirol-2,5-dion Teroptimasi dan penomoran atom.....	43
Gambar 7. Grafik linearitas pI_{50} Eksperimen Vs pI_{50} untuk data <i>fitting</i> yang dihitung dengan persamaan model 3.....	55
Gambar 8. Grafik linearitas pI_{50} Eksperimen Vs pI_{50} untuk data <i>testing</i> yang dihitung dengan persamaan model 3.....	56

DAFTAR LAMPIRAN

	Hal
Lampiran 1. Output SPSS	65
Lampiran 2. Tabel Distribusi F	69
Lampiran 3. Nilai PRESS masing-masing Model.....	69
Lampiran 4. Hasil Perhitungan Optimasi Geometri dengan PM3.....	70



KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Alhamdulillah rabbil'alamin,.. segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, berkat Rahmat dan Inayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan segala kenikmatan-Nya. Shalawat serta salam penulis haturkan pada Nabi akhir zaman, Nabi Muhammad SAW yang senantiasa menuntun seluruh umat manusia ke jalan Allah SWT.

Skripsi ini disusun berdasarkan hasil penelitian penulis dengan judul **"ANALISIS HKSA SENYAWA INHIBITOR GAO DARI TURUNAN 4-SUBSTITUSI-HETEROSIKLIK-3-HIDROKSI-1H-PIROL-2,5-DION DENGAN DESKRIPTOR MUATAN ATOM, ϵ_{HOMO} , ϵ_{LUMO} DAN MOMEN DIPOL MENGGUNAKAN PERHITUNGAN METODE AM1"** untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Sains (S.Si) program studi Ilmu Kimia pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia Yogyakarta.

Dalam menyusun Skripsi ini, penulis menyadari telah banyak mendapatkan dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Akhmad Fauzy, S.Si., M.Si., Ph.D, selaku Dekan F-MIPA Universitas Islam Indonesia Yogyakarta.
2. Bapak Prof. Dr. Hardjono Sastrohamidjojo, selaku Pjs. ketua Jurusan Ilmu Kimia F-MIPA Universitas Islam Indonesia Yogyakarta.

3. Bapak Prof. Drs. Mudasir, M.Sc., Ph.D, selaku pembimbing I dengan penuh kesabaran memberikan bimbingan dan tambahan wawasan kepada penulis.
4. Tatang Shabur Julianto, M.Si, selaku dosen pembimbing II yang selalu memberikan motivasi, kritik, saran, semangat dan pengarahan dalam membantu menyelesaikan skripsi.
5. Laboratorium Pusat Kimia Komputasi Indonesia-Austria yang berkenan menyediakan fasilitas penelitian.
6. Segenap Dosen Jurusan Ilmu Kimia F-MIPA UII, yang telah memberi bekal ilmu pengetahuan selama ini kepada penulis.
7. Semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Dalam penyusunan Skripsi ini, penulis menyadari masih terdapat banyak kekurangan sehingga penulis mengharapkan masukan dan saran dalam perbaikan Skripsi ini. Sehingga Skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengaplikasian Ilmu Kimia di masyarakat.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Yogyakarta, Februari 2008

Penulis

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi telah mengalami kemajuan yang sangat pesat, kemajuan-kemajuan tersebut dapat dirasakan dalam bidang ilmu kimia. Di antaranya banyak peralatan laboratorium yang telah mengalami sistem komputerisasi, sehingga tidak hanya membantu penelitian tetapi juga dengan sistem komputerisasi dapat menghemat biaya, tenaga dan waktu dengan kualitas penelitian yang lebih baik.

Setelah ilmu pengetahuan makin berkembang, didapatkan bahwa struktur kimia obat ternyata dapat menjelaskan sifat-sifat senyawa obat dan terlihat bahwa unit-unit struktur atau gugus-gugus molekul obat berkaitan dengan aktivitas biologisnya. Untuk mencari hubungan antara struktur kimia dan aktivitas biologis dapat dilakukan terutama dengan mengaitkan gugus fungsional tertentu dengan merespons biologis yang tertentu pula.

Metode analisis QSAR (*Quantitatif Structure-Activity Relationship*) adalah suatu usaha untuk mengkoreksikan sifat-sifat secara struktural, baik struktur elektronik maupun geometri, dengan aktivitas suatu molekul melalui persamaan matematis. Dengan persamaan tersebut maka akan diprediksikan aktivitas dari molekul lain yang memiliki senyawa induk yang sama.

Tidak semua senyawa obat dapat dijelaskan hubungan struktur dan aktivitasnya. Sering kegagalan untuk mendapatkan hubungan antara struktur kimia, sifat kimia fisika dan aktivitas biologis disebabkan oleh sistem biologis tubuh yang sangat kompleks dan banyaknya faktor yang mempengaruhi aktivitas obat. Adanya persamaan ataupun perbedaan aktivitas biologis senyawa organik, baik yang mempunyai hubungan struktur maupun tidak, ternyata sangat dipengaruhi oleh sifat-sifat kimia fisika. Sifat-sifat tersebut ditentukan oleh jumlah, macam dan susunan molekul obat.

Metode pengembangan obat melalui modifikasi molekul dengan optimasi senyawa penuntun dan rancangan obat yang rasional merupakan tahap penting dalam usaha mencari dan menemukan senyawa baru yang lebih aktif, lebih selektif dengan efek samping dan toksisitas yang lebih rendah. Dalam penelitian ini akan dilakukan analisis hubungan kuantitatif struktur aktivitas penghambat *glycolic acid oxidase* pada senyawa turunan 4-Substitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1*H*-Pirol-2,5-Dion dengan variabel deskriptor muatan atom, energi HOMO, energi LUMO dan momen dipol. Perhitungan senyawa menggunakan metode semi-empiris AM1 dan analisis HKSA dilakukan dengan metode Hansch. Metode AM1 adalah salah satu metode semi empiris yang akurat dan merupakan metode pilihan untuk kebanyakan kasus.

Glycolic acid oxidase (GAO) merupakan enzim yang mengkatalisis produksi glioksilat dari glikolat, yang sangat penting untuk biosintesis pembentukan oksalat. Pemanfaatan glioksilat yang tidak efisien dapat menyebabkan produksi oksalat berlebih, sehingga mendorong ke arah serius

terjadinya endapan kristal oksalat. Dalam ginjal, apabila endapan ini tidak dikeluarkan, maka endapan ini akan menetap di ginjal atau berpindah ke kandung kemih, sehingga dalam jumlah berlebih dapat menyebabkan batu ginjal.

Untuk struktur molekul dan panas pembentukan dari molekul dengan sistem tertutup, MNDO, AM1, dan PM3 cukup baik, tapi secara umum AM1 lebih disukai karena secara teoritis metode AM1 dapat melakukan korelasi terhadap adanya tolakan antar inti dan pengaruh ikatan hidrogen. Metode AM1 juga merupakan metode perbaikan dari metode sebelumnya, seperti CNDO dan MNDO, (Leach, 1996).

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana peranan muatan atom, energi HOMO, energi LUMO dan momen dipol dari senyawa turunan 4-Substitusi-heterosiklik- 3-Hidroksi-1*H*-Pirrol-2,5-Dion dari hasil perhitungan metode AM1 sebagai deskriptor dalam analisis HKSA?
2. Bagaimana persamaan HKSA terbaik yang menghubungkan aktivitas penghambat GAO dari senyawa turunan 4-Substitusi-heterosiklik-3-hidroksi-1*H*-Pirrol-2,5-Dion menggunakan analisis regresi multilinear ?
3. Apakah aktivitas inhibisi senyawa turunan 4-Substitusi-Heterosiklik- 3-Hidroksi-1*H*-Pirrol-2,5-Dion dengan deskriptor yang berpengaruh memiliki hubungan yang linear?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui peranan muatan atom, energi HOMO dan energi LUMO senyawa turunan 4-Substitusi-heterosiklik-3-Hidroksi-1*H*-Pirrol-2,5-Dion yang didapat dari perhitungan muatan atom menggunakan metode AM1.
2. Menentukan persamaan HKSA terbaik dari senyawa turunan 4-Substitusi-Heterosiklik- 3-Hidroksi-1*H*-Pirrol-2,5-Dion dengan menggunakan regresi multilinear.
3. Berdasarkan model persamaan HKSA terbaik yang diperoleh, maka dapat diperoleh informasi tentang atom-atom dalam struktur senyawa, yang mempunyai pengaruh kuat terhadap aktifitas farmakologinya, sehingga dapat diasumsikan bahwa atom-atom tersebut merupakan daerah pusat aktif dari senyawa turunan 4-Substitusi-Heterosiklik- 3-Hidroksi-1*H*-Pirrol-2,5-Dion. Dari sisi aktif yang diperoleh, dapat diusulkan rancangan senyawa baru dengan struktur dasar senyawa yang sama, yang diharapkan mempunyai aktivitas yang lebih tinggi.

1.4 Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini dapat diketahui hubungan antara muatan atom, energi HOMO. Energi LUMO dan momen dipol dari senyawa turunan 4-Substitusi-Heterosiklik- 3-Hidroksi-1*H*-Pirrol-2,5-Dion terhadap aktivitas inhibisi senyawa

enzim dan memberikan dan memberikan informasi rancangan senyawa baru yang mempunyai aktivitas penghambat (inhibisi) GAO yang lebih baik.

1.5 Batasan Masalah

Pembahasan dibatasi pada analisis hubungan kuantitatif antara sifat struktur elektronik sebagai distribusi muatan atom-atom terhadap aktivitas biologis dari senyawa turunan 4-Substitusi-Heterosiklik- 3-Hidroksi-1*H*-Pirol-2,5-Dion.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas dari suatu molekul

(Quantitative Structure Activity Relationship, QSAR)

Hubungan kuantitatif struktur dan aktivitas (HKSA) biologis suatu molekul merupakan bagian penting bidang kimia *medicinal*, dalam usaha mendapatkan suatu senyawa baru dengan aktivitas yang lebih besar. Konsep aktivitas biologis suatu senyawa berhubungan dengan struktur kimia, pertama kali ditemukan oleh Crum, Brown dan Fraser di tahun 1869 (Siswandono, 1998). Banyak riset yang dilakukan untuk meneliti interaksi terutama untuk mengoptimalkan aktivitas atau mendapatkan gambaran molekul yang paling menarik untuk disintesis.

Hubungan struktur dan sifat adalah pendefinisian empiris kualitatif atau kuantitatif antara stuktur molekul dengan sifat fisika dan sifat kimia. Jika digambarkan sebagai sifat fisika dikenal dengan Hubungan Kualitatif Sruktur dan Sifat (*Quantitative Structure-property relationship, QSPR*) dan bila digambarkan sebagai aktivitas biologis, misalnya aktivitas obat, maka dikenal dengan Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktivitas (*Quantitative Structure-Activity relationship, QSAR*) (Pranowo, 2001).

Dari kajian hubungan struktur dan sifat ini banyak dihasilkan prediksi-prediksi berbagai senyawa mengenai sifat dan aktivitasnya, yang seringkali diaplikasikan pada pembuatan senyawa obat. Kegunaan lainnya adalah prediksi

senyawa polutan yang berhubungan dengan aktivitas racunnya pada target (makhluk hidup, baik manusia, hewan maupun tumbuhan) hingga dapat dilakukan suatu tindakan pencegahan penyebaran senyawa tersebut di lingkungan atau suatu bentuk pengobatan bagi makhluk hidup yang terpapar senyawa polutan tersebut.

2.2 HKSA Asam Glikolat Oksidase (*Glycolic Acid Oxidase, GAO*)

GAO terdiri dari daerah ikatan hidropobik dan dua kutub yang bermuatan positif pada tempat yang tertutup dan berdekatan (Schuman dan Massey, 1980 dalam Gupta, 1987). Untuk menemukan sisi lebih dalam lagi tentang mekanisme penghambat GAO, baru-baru ini telah dilakukan studi HKSA tentang hal tersebut.

Randall, 1981 dalam Gupta, 1987 telah mencoba studi HKSA pada tiga rangkaian campuran yaitu : substitusi asam glikolat, substitusi asam oksilat dan substitusi asam glioksilat. Untuk asam glikolat, Randall telah melakukan potensi yang bersifat mencegah mereka (pI_{50}), untuk dihubungkan dengan MR dan π sebagaimana ditunjukkan pada persamaan (1) dan (2).

$$pI_{50} = 0,054 (\pm 0,007)MR + 1,36 \quad (1)$$

$$n = 21, r = 0,878$$

$$pI_{50} = 0,6 (\pm 0,1) \pi + 1,66 \quad (2)$$

$$n = 21, r = 0,786$$

dimana data dalam tanda kurung merupakan interval kepercayaan 95 % (tempat dimana tanpa adanya tanda \pm , yang berarti kesalahan standar (*standart error*) dari koefisien variabel), dimana n adalah banyaknya poin-poin data, dan r adalah koefisien korelasi.

Untuk asam oksilat, Randall telah menemukan pI_{50} yang dikorelasikan dengan π pada persamaan (3).

$$pI_{50} = 0,8 (\pm 0,3) \pi - 0,10 (\pm 0,05) \pi^2 + 1,80 \quad (3)$$

$$n = 31, r = 0,672$$

MR menjadi hal yang penting untuk ditemukan dalam kasus ini. Randall juga melakukan penelitian terhadap turunan substitusi para-, ortho-, dan meta secara terpisah. Mencakup 22 komponen dalam kasus yang lain mereka menemukan korelasi untuk tiga kelompok yang berbeda sebagaimana ditunjukkan pada persamaan (4-6) secara berturut-turut.

$$pI_{50} = 1,5 (\pm 0,5) \pi - 0,21 (\pm 0,08) \pi^2 + 1,04 \quad (4)$$

$$n = 11, r = 0,830$$

$$pI_{50} = 0,10 (\pm 0,04) \pi^2 + 2,41 \quad (5)$$

$$n = 10, r = 0,727$$

$$pI_{50} = 0,65 (\pm 0,1) \pi - 0,4 (\pm 0,2) \sigma_m + 1,71 \quad (6)$$

$$n = 9, r = 0,928$$

untuk substitusi asam glioksilat, pI_{50} kurang bagus untuk dihubungkan dengan π (persamaan 7), tetapi ketika suatu parameter tiruan D diciptakan untuk suatu bagian jenis dari enam komponen yang berisi dengan heteroatom pada tempat tertutup yang dekat dengan tujuan untuk pemasangan substituen pada kelompok α -keto asam glioksilat. Korelasi telah ditemuakn untuk ditingkatkan (persamaan 8)

$$pI_{50} = 0,03 (\pm 0,02) \pi^2 + 3,68 \quad (7)$$

$$n = 18, r = 0,261$$

$$pI_{50} = 0,04 (\pm 0,02) \pi^2 + 0,8 (\pm 0,2)D + 3,26 \quad (8)$$

$$n = 18, r = 0,768$$

D diberi nilai 1,0 untuk keenam komponen dan 0,0 untuk selain itu.

Bagaimanapun, tidak ada kasus yang lain selain daripada substitusi meta asam penoasetik (persamaan 6) mempunyai beberapa parameter elektronik yang relevan. Atas korelasi ini, Randall berpendapat bahwa karakter hidropobik penghambat memiliki peranan yang sangat penting pada penghambatan GAO. Pada banyak kasus, istilah utama hidropobik adalah mempunyai suatu koefisien positif, tetapi pada persamaan (3) dan (4) π^2 memiliki koefisien negatif, dan kedua persamaan tersebut menunjukkan suatu korelasi parabola.

2.3 HKSA Turunan Senyawa 4-Substitusi-Heterosiklik- 3-Hidroksi-1 H-pirol-2,5-dion

Senyawa ini merupakan seri terbaru dari penghambat GAO yang baru-baru ini ditemukan oleh (Rooney, 1983 dalam Gupta, 1987), Dimana aktivitas penghambat dikorelasikan dengan π dan MR sebagaimana ditunjukkan pada persamaan 9 dan 10

$$pI_{50} = 0,45 (\pm 0,08) \pi + 4,54 \quad (9)$$

$$n = 41, r = 0,68, s = 0,736, F = 34,13$$

$$pI_{50} = 0,056 (\pm 0,010) MR + 3,32 \quad (10)$$

$$n = 41, r = 0,67, s = 0,749, F = 31,64$$

dimana s dan F adalah standar deviasi dan perbandingan antara perbedaan aktivitas yang diamati dan dihitung. Namun kedua persamaan tersebut tidak memiliki korelasi yang bagus, sehingga diperlukan parameter tambahan D untuk membedakan.

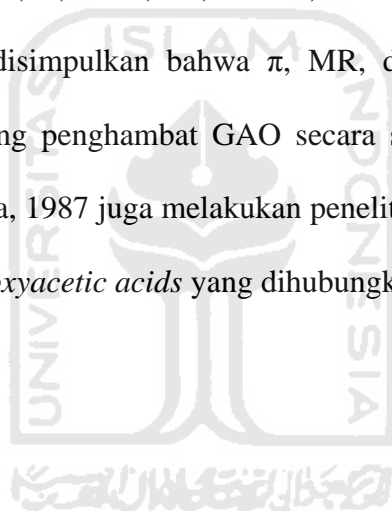
$$pI_{50} = 0,50 (\pm 0,05) \pi + 1,1 (\pm 0,2)D + 3,91 \quad (11)$$

$$n = 41, r = 0,87, s = 0,508, F = 57,76$$

$$pI_{50} = 0,051 (\pm 0,009) MR + 0,65 (\pm 0,22)D + 3,28 \quad (12)$$

$$n = 41, r = 0,74, s = 0,683, F = 23,48$$

Dari persamaan 12, disimpulkan bahwa π , MR, dan D tidak sepenuhnya mewakili penelitian tentang penghambat GAO secara sepenuhnya. Lukens dan Horsfal, 1984 dalam Gupta, 1987 juga melakukan penelitian aktivitas penghambat GAO pada senyawa *phenoxyacetic acids* yang dihubungkan dengan hidropobisitas.



BAB III

DASAR TEORI

3.1 Mekanika Molekul

Mekanika molekul merupakan salah satu metode permodelan molekul yang ada dalam kimia komputasi, terutama untuk mendeskripsikan struktur dan sifat-sifat makromolekul (Pranowo, 2001). Metode ini mengabaikan gerak elektronik dan hanya menghitung energi suatu system sebagai fungsi posisi inti, sehingga mekanika molekul tidak dapat memberikan informasi tentang sifat-sifat yang tergantung pada distribusi elektron dalam suatu molekul, (Leach, 1996)

Metode mekanika molekul didasarkan pada beberapa prinsip, yaitu sebagai berikut:

1. inti atom dan elektron dianggap sebagai partikel bak atom (*atom-like particles*)
2. partikel bak atom tersebut terbentuk spheris (jari-jari diperoleh dari pengukuran atau teori) dan memiliki muatan bersih (diperoleh dari teori)
3. interaksi didasarkan pada potensial klasik dan pegas (*Hukum Hooke*)
4. interaksi harus dispesifikasikan terlebih dahulu untuk atom-atom yang dipelajari.
5. interaksi menentukan distribusi ruang dari partikel dan energinya.

3.2 Kimia Kuantum

Kimia kuantum adalah sebuah cabang kimia teori, yang menerapkan

mekanika kuantum (dan belakangan ini teori medan kuantum) untuk menangani masalah dalam kimia. Penjelasan perilaku elektron pada atom dan molekul dalam kaitannya dengan kereaktifan adalah salah satu terapan kimia kuantum. Kimia kuantum terletak di perbatasan antara kimia dan fisika, dan sumbangan yang berarti telah dicapai oleh ilmuwan dari kedua bidang tersebut.

Langkah pertama untuk memecahkan masalah kimia kuantum biasanya dengan menyelesaikan persamaan Schrödinger (atau persamaan *Dirac* dalam kimia kuantum relativitas) dengan Hamiltonian molekul elektron, yang disebut sebagai penentuan struktur elektron molekul.

Landasan mekanika kuantum dan kimia kuantum adalah model gelombang, dimana suatu atom adalah inti bermuatan positif yang amat kecil dan rapat namun masih dapat dibelah lagi, tidak seperti teori yang selama ini dianut bahwa inti atom merupakan bagian terkecil dari suatu atom yang tidak dapat dibelah lagi, yang dikelilingi oleh elektron. Tidak seperti model sebelumnya, yaitu model Bohr tentang atom, model gelombang menggambarkan elektron sebagai "awan" yang bergerak dalam orbital mengelilingi inti atom, dan letaknya dinyatakan dengan distribusi kebolehjadian dari titik-titik diskrit. Kekuatan model ini terletak pada daya ramalnya.

Walaupun dasar matematika kimia kuantum telah diletakkan oleh Schrödinger pada tahun 1926, umum diterima bahwa perhitungan dalam kimia kuantum baru sungguh-sungguh dilakukan oleh ilmuwan Jerman walter Heitler dan Fritz London pada molekul hidrogen (H_2) pada tahun 1927. Metode Heitler dan London diperluas oleh kimiawan Amerika John C. Slater dan Linus Pauling

menjadi metode Ikatan-Valensi (*Valensi Bond*) (atau *Heitler-London-Slater-Pauling*). Pada metode ini, perhatian terutama diberikan pada interaksi berpasangan antara atom-atom, dan dengan demikian metode ini terkait erat dengan penggambaran ikatan oleh kimiawan.

Pendekatan alternatif dikembangkan pada tahun 1920 oleh Friedrich Hund dan Robert S. Mulliken, dimana elektron digambarkan dengan fungsi matematika terdelokalisasi di seluruh molekul. Pendekatan Hund-Mulliken atau metode orbital molekul (MO) kurang intuitif bagi kimiawan.

Model Thomas-Fermi dikembangkan secara sendiri-sendiri oleh Thomas dan Fermi pada tahun 1927. Hal ini merupakan usaha pertama untuk menggambarkan sistem banyak-elektron berlandaskan kerapatan elektron, walaupun tidak terlalu berhasil untuk menangani keseluruhan molekul. Metode meletakkan landasan bagi teori fungsi kerapatan. Walaupun metode ini kurang dikembangkan dibandingkan dengan metoda *Pasca-Hartree-Fock*, kebutuhan komputasi yang lebih rendah memungkinkannya menangani molekul poliatom yang lebih besar dan bahkan makromolekul, yang membuatnya menjadi metode yang paling sering digunakan dalam kimia komputasi saat ini

Langkah lebih jauh dapat mencakup penyelesaian persamaan Schrödinger dengan Hamiltonian molekul total untuk mengkaji gerakan molekul. Penyelesaian langsung persamaan Schrödinger disebut *dinamika molekul kuantum*, dengan hampiran semiklasik disebut *dinamika molekul semiklasik*, dan dalam kerangka mekanika klasik disebut dinamika molekul (MD). Pendekatan statistik juga mungkin, misalnya dengan menggunakan *metode Monte Carlo*.

3.3 Mekanika Kuantum

Mekanika kuantum adalah cabang dasar fisika yang menggantikan mekanika klasik pada tataran atom dan subatom. Ilmu ini memberikan kerangka matematika untuk berbagai cabang fisika dan kimia, termasuk fisika atom, fisika molekular, kimia komputasi, kimia kuantum, fisika partikel, dan fisika nuklir. Mekanika kuantum adalah bagian dari teori medan kuantum dan fisika kuantum umumnya, yang bersama relativitas umum, merupakan salah satu pilar fisika moderen. Dasar dari mekanika kuantum adalah bahwa energi itu tidak kontinyu, tapi diskrit -- berupa 'paket' atau 'kuanta'. Konsep ini revolusioner - bertentangan dengan fisika klasik yang berasumsi bahwa energi itu berkesinambungan.

Deskriptor kimia kuantum diperoleh dari perhitungan berdasarkan hukum mekanika kuantum terhadap struktur molekul. Metode kimia kuantum dan teknik permodelan molekul memungkinkan untuk mengkarakterisasi sifat struktural. Ada 2 keuntungan yang dapat diambil dari penggunaan deskriptor kimia kuantum dalam studi HKSA, yaitu :

1. Senyawa beserta substituen atau fragmennya dapat dikarakterisasi secara langsung hanya berdasar pada struktur molekulnya.
2. Dapat memperkirakan mekanisme aksi dari senyawa yang dipelajari (Karelson dan Labanov, 1996).

Deskriptor kimia kuantum yang sering digunakan dalam studi HKSA antara lain :

- a. Muatan Atom

Menurut teori kimia klasik, interaksi antar molekul dapat berupa interaksi elektrostatik (polar) atau kovalen (*van der Waals*). Muatan listrik dalam molekul terlibat dalam interaksi elektrostatik. Kerapatan elektron pada atom atau muatan atom memegang peranan penting dalam reaksi maupun sifat fisikokimia senyawa. Muatan atom parsial dapat digunakan sebagai penentu reaktivitas kimia. Konsep muatan atom atau dipol dalam suatu molekul digunakan untuk menandai kepadatan elektron pada atom dalam molekul. Banyak deskriptor kimia kuantum yang diturunkan dari distribusi muatan atom. Analisis populasi Mulliken merupakan metode yang sering diterapkan dalam penentuan muatan atom. Distribusi kerapatan elektron merupakan kebolehdjian mendapatkan sebuah elektron dalam elemen volume dr yang dinyatakan dalam persamaan sebagai berikut :

$$\rho(r) = \sum_{\mu}^N \sum_{\nu}^N P_{\mu\nu} \phi_{\mu} \phi_{\nu} \quad (13)$$

Pengintegrasian pada seluruh ruang yang ditinjau akan menghasilkan jumlah total elektron (Pranowo, 2001)

$$\int \rho(r) dr = \sum_{\mu}^N \sum_{\nu}^N P_{\mu\nu} S_{\mu\nu} = n \quad (14)$$

b. Energi Orbital Molekul

Energi orbital tertinggi yang terisi elektron (*Highest Occupied Molecular Orbital, HOMO*) dan energi terendah yang tak terisi elektron (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital, LUMO*) adalah deskriptor kimia yang sangat populer. Zou dan Perr (1990) melaporkan bahwa orbital-orbital ini memainkan peranan utama dalam banyak reaksi kimia. Orbital-orbital ini juga bertanggung jawab dalam

pembentukan kompleks perpindahan muatan. Menurut teori orbital molekul Frontier (*Frontier Molecular Orbital Theory*) pembentukan keadaan transisi dari suatu reaksi kimia merupakan interaksi antara orbital-orbital *frontier* (HOMO dan LUMO) dari spesies yang bereaksi.

Energi HOMO dikaitkan dengan potensial ionisasi dan menurunkan sifat kerentanan molekul terhadap serangan elektrofil, sedangkan energi LUMO dikaitkan dengan afinitas elektron dan memberikan sifat kerentanan molekul terhadap serangan nukleofil. Energi HOMO dan LUMO juga berperan penting dalam reaksi radikal (Karelson dan Labanov, 1996)

c. Polaritas

Banyak deskriptor telah diusulkan untuk mengkuantifikasi efek polaritas, dan yang paling sering digunakan untuk menggambarkan polaritas molekul adalah momen dipol. Sifat polaritas molekul dapat dinyatakan dengan parameter-parameter polarisabilitas molekular yang berkaitan dengan hidrofobisitas, sehingga mempunyai pengaruh yang kuat terhadap aktivitas biologis. Parameter yang sangat terkenal menyatakan sifat hidrofobisitas suatu molekul adalah koefisien partisi n-oktanol/air (Log P).

d. Energi sistem molekul

Energi total yang dihitung menggunakan metode semiempiris telah dilaporkan oleh banyak peneliti sebagai deskriptor yang baik dalam berbagai kasus. Sebagai contoh, energi total telah digunakan untuk menentukan interaksi non-spesifik antara zat terlarut dengan fasa diam dalam kromatografi gas.

e. Parameter Sterik

Refraktivitas molar (*Molar Refractivity, MR*) dapat dipertimbangkan sebagai pengestimasi ukuran molekul relatif. Volume molekular (v) dan *surface area* (SA) menyatakan volume dan luas permukaan molekul yang dihitung berdasarkan jari-jari *van der Waals*. Meyer memperkenalkan parameter globularitas (GLOB) yang merupakan perbandingan antara volume molekular dan luas permukaan untuk menyatakan penyimpangan sferitas dari molekul.

3.3.1 Persamaan Schrodinger

Energi dan fungsi gelombang sistem dalam keadaan stasioner diberikan dengan penyelesaian persamaan Schrödinger:

$$\hat{H}\psi = E\psi \quad (15)$$

Dimana \hat{H} adalah operasi Hamiltonian yang menyatakan energi kinetik dan energi potensial dari sistem yang mengandung elektron dan inti atom. Energi ini analog dengan energi kinetik mekanika klasik dari partikel dan interaksi elektrostatik dari partikel Coulombik antara inti dan elektron. E adalah *eigenvalue* yang berkaitan dengan energi sistem pada keadaan tersebut. Simbol ψ menyatakan fungsi gelombang yang menjabarkan koordinat kartesian dari partikel-partikel dalam sistem dalam keadaan partikuler. Fungsi gelombang ini bergantung pada posisi elektron dan inti atom. Hamiltonian disusun oleh tiga bagian yaitu energi kinetik inti, energi kinetik elektron dan energi potensial inti dan elektron.

$$\text{Persamaan Schrödinger : } \hat{H}\psi_{e,n} = E\psi_{e,n} \quad (16)$$

$$\text{Hamiltonian : } \hat{H} = T_n + T_e + V_{e,n} \quad (17)$$

Empat pendekatan yang biasanya diterapkan adalah :

1. Tak gayut waktu, sistem dalam keadaan stasioner terhadap waktu.
2. Mengabaikan efek relativitas, hal ini memberikan garansi bahwa elektron bergerak tidak akan lebih lambat dari kecepatan cahaya. Koreksi perlu dilakukan untuk atom yang mempunyai muatan inti yang sangat besar.
3. Pendekatan Bohr-Oppenheimer, pemisahan gerakan inti dan elektron.
4. Pendekatan orbital, elektron berada/menempati daerah dalam ruang tertentu disekitar inti.

Pendekatan Bohr-Oppenheimer diterapkan dengan pemisahan fungsi gelombang untuk inti dan elektron. Fungsi gelombang total merupakan hasil perkalian dua faktor.

$$\text{Bohrn-Oppenheimer : } \psi_{e,n} = X_n \psi_e \quad (18)$$

Pendekatan ini berdasarkan pada fakta bahwa elektron begitu ringan relatif terhadap inti sehingga gerakan elektron dapat mudah mengikuti gerakan inti. Dari segi eksperimental pendekatan ini dapat dibuktikan kebenarannya. Dari pendekatan ini kita dapat menghitung fungsi gelombang elektronika, yang didapatkan sebagai penyelesaian persamaan Schrödinger elektronika.

$$\hat{H}_e(R_n)\psi(r_e) = E_e(R_n)\psi(r_e) \quad (19)$$

Persamaan ini masih mengandung posisi inti walaupun bukan sebagai variabel tapi sebagai parameter.

3.3.2 Metode Perhitungan Semi Empirik Austin Mode 1 (AM1)

Salah satu pendekatan yang digunakan oleh penyelesaian persamaan schrodinger adalah metode perhitungan semi empiris, yang diparameterisasi

berdasar pada sifat khas dari kumpulan molekul yang mempunyai kesamaan sifat. Pada umumnya metode ini cukup baik dalam memprediksikan sifat molekul (Pranowo, 2001). Metode ini merupakan penyederhanaan dari teori *Hartree-Fock* menggunakan koreksi empiris (didapat dari data experimental) untuk meningkatkan performa.

Dari beberapa metode semi empiris, yang paling sering digunakan adalah MNDO (*Modified Neglect of Diatomic overlap*), AM1 (*Austin Mode 1*), dan PM3 (*Parameterization Model 3*) yang berdasarkan pendekatan integral *Neglect of Differential Diatomic Overlap* (NDDO), sementara metode yang lebih dahulu (CNDO dan INDO) menggunakan skema integral yang lebih sederhana. Metode MNDO, AM1, dan PM3 dirancang untuk memproduksi panas pembentukan dan struktur dari sejumlah besar molekul organik (Pranowo, 2001).

Metode AM1 yang merupakan salah satu metode perhitungan semi empirik, adalah hasil parameterisasi model MNDO (*Modified Neglect of Diatomic Overlap*) pada suku interaksi antar inti (*core-core*) yang dimodifikasi menggunakan fungsi Gaussian. Dengan modifikasi tersebut, maka gambaran untuk interaksi antar ini dapat dihubungkan dengan MNDO melalui persamaan dibawah ini.

$$E_{AB} = E_{MNDO} + \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \left\{ \sum_i K_{Ai} \exp[-L_{Ai} (R_{AB} - M_{Ai})^2] + \sum_j K_{Bj} \exp[-L_{Bj} (R_{AB} - M_{Bj})^2] \right\}$$

Suku tambahan adalah fungsi Gaussian sferis dengan lebar yang ditentukan dengan parameter L , sedangkan K dan M adalah parameter-parameter optimasi untuk kedua atom Z_A dan Z_B dimana keduanya berturut-turut adalah muatan inti pada atom A dan atom B, adapun R_{AB} adalah jarak antara kedua atom (Leach, 1996).

AM1 mempunyai 14 parameter per atom (beberapa atom yang memiliki parameter fungsi gaussian lebih dari atau lebih kecil dari yang disebutkan). Metode ini berlaku untuk H, B, C, N, O, F, Al, Si, P, S, Cl, Zn, Ge, I, Br (Pranowo, 2001). Proses parameterisasi dalam metode AM1 ini secara keseluruhan merupakan perkembangan bagi MNDO karena mengoreksi banyak kekurangan yang berhubungan antar interaksi antar inti, metode semi-empirik AM1 dipilih karena :

1. Metode AM1 merupakan pengembangan dari metode empiris sebelumnya (Leach, 1996).
2. Berdasarkan kemampuan komputer yang digunakan.
3. Dapat memprediksi senyawa-senyawa dengan valensi banyak dengan ketetapan yang lebih baik.
4. Mampu menghitung energi yang ditimbulkan oleh ikatan hidrogen atom O dan N.

3.3.3 Pemodelan Molekul

Pemodelan molekul dapat dikatakan adalah semua hal yang menyangkut tentang cara-cara meniru perilaku dari molekul atau sistem molekular (Leach,

2001). Pada awalnya, pemodelan molekul dilakukan dengan cara yang sederhana seperti model mekanik atau digambar dan dihitung secara manual. Namun kini pemodelan molekul biasanya dilakukan dengan menggunakan komputer.

Pemodelan molekul dengan menggunakan teknik komputer dimaksudkan untuk menghasilkan data tentang sifat struktur suatu senyawa yang dapat melengkapi data eksperimen. Dengan cara ini, model masih tetap menggunakan hasil dari pakar kimia teoritis, tetapi perhitungan dilakukan dengan komputer berdasarkan atas suatu “resep”, algoritma yang dituliskan dalam bahasa pemrograman. Keuntungan dari metode ini adalah dimungkinkannya menghitung sifat molekul yang kompleks dan hasil perhitungan berkorelasi secara signifikan dengan data eksperimen (Pranowo, 2001).

3.3.4 Optimasi Geometri

Optimasi geometri merupakan metode untuk menghitung dan menampilkan struktur molekul dengan energi potensial minimum dan gaya-gaya atomic terkecil. Optimasi geometri dilakukan untuk menentukan struktur molekul yang stabil yang memiliki energi potensial rendah (Sudarmanto, 2002). Optimasi geometri untuk mempersiapkan molekul-molekul agar dapat dilakukan perhitungan secara *single point*. Program *hyperchem* melalui geometri optimasi dengan *set-up* koordinat suatu molekul dan berusaha untuk menemukan koordinat baru yang mempunyai energi potensial yang paling rendah.

Optimasi dalam istilah matematika dimaksudkan untuk menyatakan bahwa suatu struktur terhitung dengan struktur sebelumnya. Struktur dimodifikasi agar

konsisten dengan informasi parameter yang ada dalam program. Beberapa prosedur matematika telah digunakan untuk menentukan bagaimana geometri akan berubah dari satu langkah ke langkah berikutnya. Program yang tersedia akan menyimpan perubahan harga geometri sampai harga spesifik *cut-off* dicapai, pada saat ini molekul dinyatakan telah teroptimasi. Harga *cut-off* spesifik dikenal dengan istilah konvergensi.

3.3.5 Muatan Atom

Konsep muatan atom atau dipol dalam suatu molekul digunakan untuk menandai kepadatan elektron pada atom dalam molekul tetapi tidak ada definisi yang khusus dari muatan atom dan molekul mekanik. Analisis populasi mulliken merupakan metode yang sering diterapkan dalam penentuan muatan atom. Distribusi kerapatan elektron merupakan kebolehdjian mendapatkan sebuah elektron dalam elemen volume dr yang dinyatakan dalam persamaan sebagai berikut :

$$\rho(r) = \sum_{\mu}^N \sum_{\nu}^N P_{\mu\nu} \Phi_{\mu} \Phi_{\nu} \quad (20)$$

Pengintegrasian pada seluruh ruang yang ditinjau akan menghasilkan jumlah total elektron (Pranowo, 2001).

$$\int \rho(r) dr = \sum_{\mu}^N P_{\mu\nu} S_{\mu\nu} = n \quad (21)$$

3.3.6 Momen Dipol

Momen dipol (μ) merupakan salah satu besaran kuantitatif yang dapat diturunkan dari fungsi gelombang elektronik yang dihitung berdasarkan metode kimia kuantum *ab initio* atau semi-empirik. Momen dipol listrik dari molekul terkait langsung dengan posisi inti dan fungsi gelombang elektronik yang secara matematis dinyatakan sebagai berikut :

$$\mu = 2,5416 \left[\sum Z_{AA}^r - \sum \sum P \mu v(\mu|r|v) \right] \quad (22)$$

Dengan keterangan P merupakan total populasi, Z adalah muatan inti dan r adalah jarak. Satuan momen dipol dinyatakan sebagai satuan debye (D) dimana :

$$1 \text{ D} = 3,335641 \times 10^{-30} \text{ cm} \quad (\text{Dogra, 1984}) \quad (23)$$

3.4 Teori Dasar HKSA

Sains adalah ilmu yang berdasarkan kebenaran dari suatu fakta eksperimen, yang berpedoman dari teori yang telah ada. Ilmu sains dimulai dengan mengukur dan menggambarkan sifat fisika dan biologi dari suatu bahan alam, serta menghubungkan sifat tersebut dengan hasil pengukuran yang diperoleh. Hasil yang diperoleh merupakan fakta dari suatu eksperimen. Hal ini dianggap mengejutkan adalah ketika beberapa tipe pengukuran dimungkinkan dalam dunia biologi, terutama hubungannya dengan aktivitas biologi dan sifat fisika.

Suatu percobaan dikembangkan dengan menggunakan analisis regresi linier dengan menggunakan sebuah parameter hidrofobik untuk mendapatkan hubungan antara aktivitas biologi dengan sifat molekulnya telah dilakukan Hansch pada tahun 1950. sejak saat itu, metode statistik lebih banyak digunakan dalam pengembangan ilmu sains. Tujuan utama dari hubungan kuantitatif antara struktur aktifitas adalah untuk mendapatkan dan mengembangkan hubungan antara aktivitas biologi dan sifat substituenya, yaitu :

$$\text{Aktivitas biologi} = f(\text{sifat})$$

HKSA dimulai dengan beberapa hubungan diantara reaktivitas kimia dan struktur dengan memperkenalkan :

1. Penggambaran sifat fisik dari diskriptor seperti parameter elektronik, sterik, dan hidrofobik.
2. Analisis yang melibatkan regresi multilinier.
3. memberikan beberapa contoh aplikasi seperti desain obat, analisis farmasi dan evaluasi toksisitas.

3.5 Metode HKSA

3.5.1 Metode Hansch

Metode Hansch dikembangkan oleh Hansch pada tahun 1964 (Kubinyi, 1993). Model Hansch mengasumsikan aktivitas biologi sebagai fungsi dari parameter-parameter hidrofobitas (π), elektronik (σ) dan sterik (E_s) yang

terdapat pada molekul, yang dapat dinyatakan secara matematis sebagai persamaan berikut :

$$\text{Log } A = a \sum \pi + b \sum \sigma + c \sum E_s + d \quad (24)$$

dimana, A dinyatakan sebagai aktivitas biologis, notasi a, b, c, dan d dinyatakan sebagai tetapan persamaan regresi. Notasi π adalah tetapan hidrofobisitas substituen menurut Hansch-Fujita, σ adalah tetapan Hammett yang menyatakan sifat elektronik, dan E_s adalah tetapan substituen untuk sterik menurut Taft. Ketiga parameter tersebut diperoleh dari pendekatan extra termodinamika atau model kaitan linear energi bebas (*Linear Free Energy Relationship = LFER*), yaitu suatu model matematik yang dikembangkan dari hubungan reaktivitas kimia dengan parameter substituen yang dikemukakan oleh Hammett pada tahun 1938.

Analisis Hansch kemudian dikembangkan dengan menggunakan parameter sifat fisikokimia dan struktur molekul atau menggunakan beberapa parameter teoritis. Parameter-parameter itu digunakan sebagai variabel bebas yang memberikan prediksi harga aktivitas biologi.

3.5.2 Metode Free-Wilson

Model Free-Wilson dikembangkan oleh Free dan Wilson. Model ini didasarkan pada perkiraan bahwa masing-masing substituen pada struktur senyawa induk memberikan sumbangan yang tetap terhadap aktivitas biologis. Sumbangan ini bersifat *aditive* dan tidak dipengaruhi oleh sumbangan substituen lain (Sarjoko, 1993). Model Free Wilson mengajukan model matematik yang

memperkirakan bahwa aktivitas biologis sama dengan jumlah sumbangan substituen ditambah aktivitas biologis senyawa induk.

$$\text{Log } \frac{1}{C} = \sum S + \mu \quad (25)$$

Dimana $\log 1/C$ merupakan logaritma aktivitas biologis senyawa induk dan μ adalah aktivitas senyawa induk itu sendiri.

Model *de novo* ini kurang berkembang karena tidak dapat digunakan bila efek substituen bersifat tidak linear atau bila ada interaksi antar substituen. Selain itu model ini memerlukan banyak senyawa dengan kombinasi substituen yang bervariasi untuk menarik kesimpulan yang benar. Meskipun demikian, model ini mempunyai keuntungan karena dapat menghubungkan secara kuantitatif antara struktur kimia dan aktivitas biologis dari turunan senyawa dengan bermacam-macam gugus substitusi pada berbagai zona.

3.5.3 Metode HKSA-3D

Analisis HKSA tiga dimensi (3D) dikembangkan sebagai antisipasi permasalahan yang terdapat dalam analisis Hansch, yaitu senyawa-senyawa enantiomer yang mempunyai kuantitas senyawa sifat fisikokimia yang sama, tetapi memiliki aktivitas biologi yang berbeda. Ternyata diketahui bahwa efek stereokimia memegang peranan penting pada harga aktivitas biologis. Metode HKSA-3D menggunakan prosedur analisis perbandingan medan molekular atau *Comparative Molecular Field Analysis (CoMFA)* yang dikemukakan oleh Cram

dkk 1988 dalam Sudarmanto, 2002. Comfa berusaha untuk menyusun suatu hubungan antara aktivitas biologis dan sifat sterik dari suatu sel senyawa.

Dalam metode CoMFA, efek sterik, elektrostatik, luas permukaan dari molekul dihubungkan pada deskripsi molekular spesifik (subtituen).

3.6 Analisis Statistik HKSA

Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktivitas (HKSA) bermaksud mencari hubungan yang konsisten antar 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. Secara umum HKSA menyatakan bentuk persamaan linear sebagai berikut :

$$\text{Aktivitas biologis} = \text{tetapan} + (C_1.P_1) + (C_2.P_2) + (C_3.P_3) + \dots \quad (26)$$

Dimana P_1 adalah parameter yang dihitung untuk setiap molekul dalam C_1 , yang merupakan koefisien yang dihitung dengan variasi *fitting* dalam parameter dan aktivitas biologis (Pranowo, 2001).

3.7 Penghambat (inhibitor) dan Konstanta Penghambatan

Enzim memiliki tenaga katalitik yang luar biasa, yang biasanya jauh lebih besar dari katalisator sintetik. Molekul ini berfungsi di dalam larutan encer pada

keadaan suhu dan pH normal. Enzim merupakan unit fungsional metabolisme sel. Bekerja dengan urutan yang teratur, enzim mengkatalisis ratusan reaksi bertahap yang menguraikan molekul nutrien.

Kebanyakan inhibitor mempunyai banyak tempat ikatan, yang semuanya itu menyatu berinteraksi bertanggung jawab terhadap aktivitas enzim pada inhibitor. Pendataan dari interaksi dari suatu enzim dan suatu inhibitor hampir tidak ada variasi yang diperlukan dalam analisa dari efek inhibitor dengan parameter kinetic dari reaksi enzimatik. Keterangan dapat diperoleh dari sifat interaksi inhibitor enzim dan dengan reaksi multisubstrat yang didapatkan di dalam substrat dan inhibitor tentang pelepasan maupun pengikatan dari enzim. (Wolff, 1994). Enzim penghambat (inhibitor) terdiri dari dua tipe yaitu: penghambat reversibel dan penghambat irreversibel. Adapun persamaan mekanisme penghambatan adalah sebagai berikut :



Dimana E menyatakan Enzim dan I untuk menyatakan penghambat (inhibitor).

Pada persamaan (27) disebut dengan penghambat reversibel, sedangkan persamaan (28) dan (29) disebut dengan penghambat irreversibel yang kemudian dispesifikkan menjadi penghambat irreversibel non-spesifik dan penghambat irreversibel spesifik. Pada penghambat reversibel sebagaimana persamaan (27), konstanta penghambat K_i , biasanya merupakan konstanta disosiasi pada kompleks EI, yang diberikan oleh persamaan (30) dibawah ini :

$$K_i = k_{-1}/k_{+1} = ([E] - [EI]) [I]/[EI] \quad (30)$$

Persamaan (30) diperoleh dengan asumsi bahwa konsentrasi penghambat sebagaimana yang telah dibandingkan dengan enzim yang sangat besar dan berada pada jumlah yang sangat kecil daripada penghambat yang berkombinasi dengan enzim, oleh karena itu konsentrasi penghambat dapat dilihat sebagaimana tidak berubah setelah susunan kompleks. Umumnya mempunyai K_i seharga 10^{-3} atau lebih rendah. Konstanta penghambat K_i selalu berkarakteristik seperti kombinasi yang mana proses penghambatannya tidak tergantung pada waktu, sebagaimana reaksi tidak melibatkan susunan ikatan kovalen diantara enzim dan penghambat. Semakin rendah harga K_i makin besar afinitas berikatan dengan inhibitor. Sejak reaksi bersifat reversibel, penghambat dapat direaksikan kembali dengan dialysis, gel filtrasi atau dilusi.

Penghambat reversibel diklasifikasikan dalam beberapa tipe bergantung pada efek yang mereka hasilkan dalam persamaan Michaelis-Menten yang sederhana, yang dirumuskan sebagai berikut:

$$V_i = V_{\max} [S] / ([S] + K_m) \quad (31)$$



Persamaan (32) digunakan untuk reaksi substrat (S) dengan enzim (E). persamaan (31) sendiri diperoleh dari pendekatan Steady-state, dimana K_m merupakan konstanta Michaelis-Menten, yang disederajatkan dengan $(k_{-1} + k_2)/k_1$. V_i dan V_{\max} dalam persamaan (31) adalah inisial dan kecepatan maksimum yang berturut-turut dari reaksi enzim dan substrat. Dari persamaan (31), K_m dapat ditentukan sebagai konsentrasi substrat pada $V_i = \frac{1}{2} V_{\max}$. Jika penghambat

menaikkan nilai K_m tanpa menghiraukan pengaruh V_{max} maka dinamakan dengan penghambat kompetitif, sedangkan jika penghambat menurunkan V_{max} tanpa memperdulikan efek dari K_m maka dinamakan dengan penghambat nonkompetitif.

Penghambat dapat menyebabkan penurunan derajat pada K_m dan V_{max} yang dinamakan dengan penghambat unkompetitif (antikompetitif). Adapun tipe-tipe dari penghambat reversibel diberikan dengan persamaan dibawah ini:

$$V_i = V_{max} / (1 + K_m / [S]) \quad (32)$$

Konstanta penghambat K_i pada beberapa tipe penghambat dapat dihitung dengan Lineweaver-Bulk plot (alur garis tenun Bulk), atau dengan *double-reciprocal plot*, yang mana $1/V_i$ alur untuk menyerang $1/[S]$ untuk memberikan konsentrasi penghambat, dengan plot Dixon (*Dixon's plot*) dimana alur $1/V_i$ menyerang konsentrasi penghambat untuk memberikan konsentrasi substrat.

Pada studi HKSA, sebaiknya menemukan batas kepercayaan 95 % terhadap K_i . Ketika penghambat itu mengikat dengan sangat kuat, metode Scatchard dapat digunakan untuk menganalisis binding data. Persamaan (30) dapat ditata ulang kembali menjadi persamaan (32).

$$[EI] = [E] - K_i \frac{[EI]}{[I]} \quad (33)$$

Dimana $[E]$ menerangkan konsentrasi enzim *binding site*. Jika enzim memiliki n binding site per molekul, maka nilai $[E]$ pada persamaan menjadi n waktu konsentrasi molar. Jika konsentrasi molar enzim didesain oleh $[E']$, maka persamaan (33) akan menjadi :

$$\frac{[EI]}{[E']} = n - Ki \frac{[EI]}{[I][E']} \quad (34)$$

Grafik $[E]/[E']$ vs $[EI]/[I][E']$ yang diperoleh merupakan garis lurus dengan slope $-Ki$ dan intersep sumbu vertikal yang bernilai n .

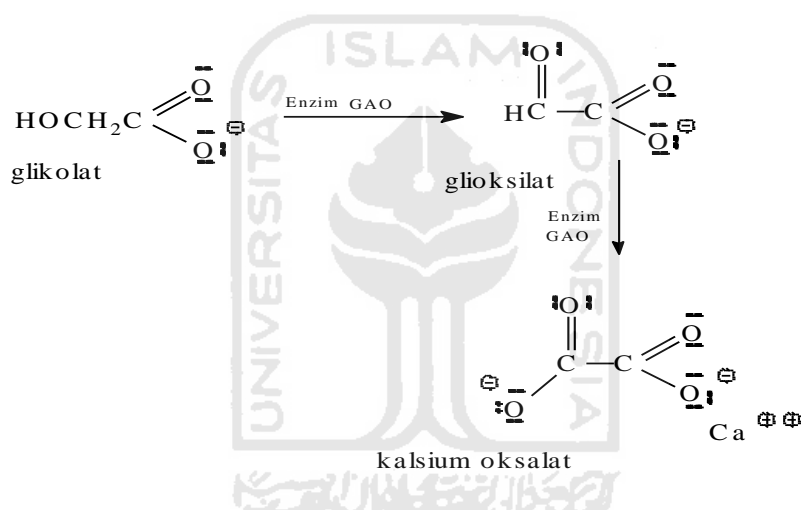
Beberapa pendekatan yang lain, index potensi penghambat I_{50} , merupakan konsentrasi yang memimpin 50% penghambat enzim. Kadang-kadang I_{50} dibagi dengan S_{50} , konsentrasi substrat yang dibutuhkan untuk 50% enzim penghambat, untuk menjelaskan potensi penghambat seperti (I_{50}/S_{50}) . Ketegasan persentasi penghambat diberikan pada konsentrasi tetap substrat yang sedikit digunakan, pada beberapa kasus ini dapat menjadi misleading, seperti pada beberapa kasus perbedaan derajat penghambat dengan perbedaan substrat yang telah diteliti, menunjukkan bahwa lebih dari satu enzim dapat terlibat (Wolff, 1994).

Pada beberapa kasus penghambat irreversibel, hanya order laju konstanta (order kedua laju konstanta yang memiliki konsentrasi penghambat yang sangat rendah) yang cocok untuk potensi penghambat pada persamaan (28) dan (29), disosiasi enzim-penghambat juga diperlukan, sejak persamaan (29) menjadi persamaan (35). Nilai I_{50} dapat digunakan untuk mempercepat potensi penghambat irreversibel, tetapi bukan nilai yang mutlak, sebagaimana konsentrasi enzim.

$$D [EI]/dt = k_2 [E]/(1 + Ki/[I]) \quad (35)$$

3.7.1 Glycolic Acid Oxidase (GAO)

Asam glikolat oksidase merupakan golongan enzim oxidoreduktase, yang mana enzim tersebut berkonsentrasi pada oksidasi-reduksi biologi dan memainkan peranan penting pada proses fermentasi dan respirasi. Pada kebanyakan kasus, disebut dehidrogenasi, seperti substrat yang mengalami oksidasi dengan menyumbang atom hydrogen. Adapun variasi substant seperti : O_2 , NAD^+ , $NADP^+$, sitokrom, H_2O_2 , yang bertindak sebagai penerima atau aseptor.



Gambar 1. Biosintesis oksalat dari glikolat (Cragoe dan Rooney, 1984)

Asam glikolat oksidase merupakan enzim yang mengkatalisis produksi glioksilat dari glikolat, yang mana sangat penting sebagai precursor biosintetik oksalat dengan segera. Kalsium oksalat sangat dominan dalam batu ginjal dan dapat menjadi sarang kristalisasi batu pada komponen campuran. Pemanfaatan glioksilat yang tidak efisien dapat menyebabkan produksi oksalat berlebih, sehingga mendorong ke arah serius dan dapat mematikan penghambat Asam glikolat oksidase. Oleh karena itu, GAO dapat bertindak sebagai obat atau racun yang berpotensi dan bermanfaat untuk perawatan beberapa penyakit yang

merupakan konsekuensi patologis dalam kaitan dengan kristalisasi kalsium oksalat, Sebagaimana utamanya hiperoksalurias dan kalsium oksalat yang berkenaan dengan ginjal lithiasis. Penghambat GAO dapat mengurangi kedua produksi dari glioksilat dari glikolat seperti halnya oksidasi tentang glioksilat menjadi glikolat.

3.8 Hipotesis Penelitian

1. Hubungan antara deskriptor muatan atom, energi HOMO, energi LUMO, dan momen dipol pada senyawa turunan 4-substitusi-heterosiklik-3-hidroksi-1*H*-pirol-2,5-dion dengan aktivitas inhibisi enzim GAO diperkirakan bersifat linear.
2. Dengan penerapan teknik pemisahan data menjadi data *fitting* dan data *testing*, maka pemilihan deskriptor yang berpengaruh akan lebih akurat dan model yang didapat lebih valid.

BAB IV

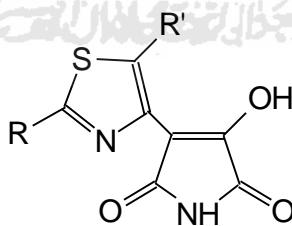
METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Alat yang digunakan

Peralatan yang digunakan adalah perangkat komputer dengan spesifikasi *Personal Computer(PC)*, prosesor tipe Pentium IV, RAM 256 MB, *harddisk* 80 GB, perangkat lunak (*software*) HyperChemTM for Windows versi 7.0 dan perangkat lunak (*software*) SPSS[®] for Windows versi 13.0.

4.2 Obyek yang digunakan

Pada penelitian yang digunakan data aktivitas senyawa turunan 4-Substitusi-Heterosiklik- 3-Hidroksi-1*H*-Pirrol-2,5-Dion dengan penghambat oksidasi asam glikolat (GAO) yang diperoleh dari literatur (Gupta, 1987).



Gambar 2. Struktur rangka senyawa turunan 4-Substitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1*H*-pirrol-2,5-dion.

Tabel 1. Data aktivitas potensi penghambatan GAO

No	Subtituen (R)	PI ₅₀
1	4-FC ₆ H ₄	6.75
2	4-BrC ₆ H ₄	7.00
3	4-BrC ₆ H ₄	4.58
4	3-BrC ₆ H ₄	6.82
5	4-ClC ₆ H ₄	6.86
5	3-CF ₃ C ₆ H ₄	6.57
6	4-Br C ₆ H ₄ CH ₂	6.18
8	2,6-Cl ₂ C ₆ H ₃	7.07
9	2,3-Cl ₂ C ₆ H ₃	6.77
10	3,4-Cl ₂ C ₆ H ₃	7.11
11	3-Cl-4-CH ₃ C ₆ H ₃	6.92
12	2,6-(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃	6.92
13	4-CH ₃ O-2,6-Cl ₂ C ₆ H ₂	6.77
14	4-C ₅ H ₄ N	6.48
15	3-C ₅ H ₄ N	6.16
16	2,6-(CH ₃) ₂ -4-C ₅ H ₂ N	6.26
17	2-pyrazinyl	5.33
18	4-thiazolyl	5.19

Sumber : Gupta, 1987

Keterangan: R' = CH₃ untuk 96, untuk yang lainnya R' = H

4.3 Cara Kerja

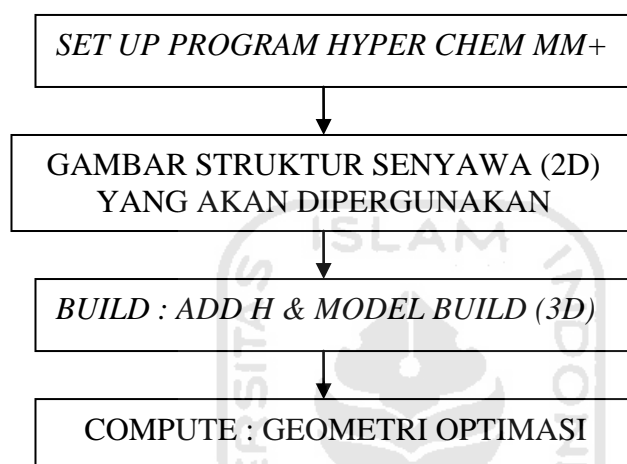
4.3.1. Optimasi Geometri dengan Metode MM+

Dilakukan optimasi geometri MM+ dengan pendekatan perhitungan kimia kuantum dengan menggunakan program *HyperChem*TM for windows versi 7.0 untuk seri senyawa turunan 4-Substitusi-Heterosiklik- 3-Hidroksi-1*H*-Pirrol-2,5-Dion. perangkat lunak *HyperChem*TM diatur sebagai berikut :

- a. *set up* : MM+, *option* : *electrostatic = bond dipole, cutoffs = none, components = bond, angle, torsion, non-bonded, electrostatic, hydrogen bonded.*

- b. *Compute, Geometry optimization, option : Algorithm = Polak-Ribiere, RMS (Root Mean Square-Gradien Akar Kuadrat), Gradient of 0.0001 kcal(Å/mol).*

Urutan langkah kerja dalam optimasi geometri struktur senyawa dengan MM+ disajikan pada gambar 3.



Gambar 3 Diagram alir prosedur optimasi geometri struktur turunan 4- substitusi-Heterosiklik- 3-Hidroksi-1*H*-pirol-2,5-dion dengan metode MM+

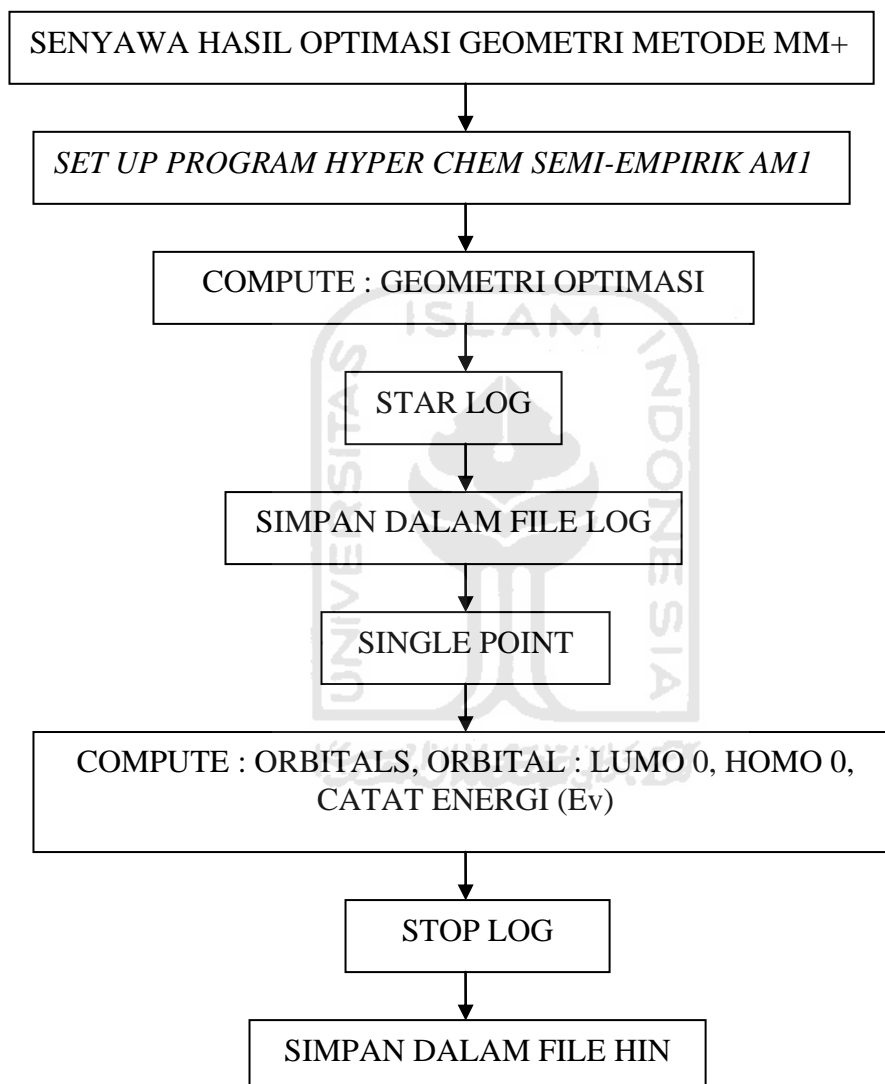
4.3.2. Optimasi Geometri dan Perhitungan Parameter Muatan Atom, ϵ HOMO, ϵ LUMO dan Momen Dipol dengan Metode AM1

Dilakukan optimasi geometri AM1 dengan pedekatan perhitungan kimia kuantum dengan menggunakan program *HyperChemTM for windows* versi 7.0 perangkat lunak *HyperChemTM* diatur sebagai berikut :

- a. *set up : semi empirical : AM1, option : Convergence Limit = 0.0001, Iteration Limit = 10000, acceleration curve = yes (x)*
- b. *Compute, Geometry optimization, option : Algorithm = Polak-Ribiere, RMS (Root Mean Square-Gradien Akar Kuadrat), Gradien of 0.0001 kcal(Å/mol).*

c. *Compute, orbitals, orbital : LUMO : energy (eV), HOMO (eV)*

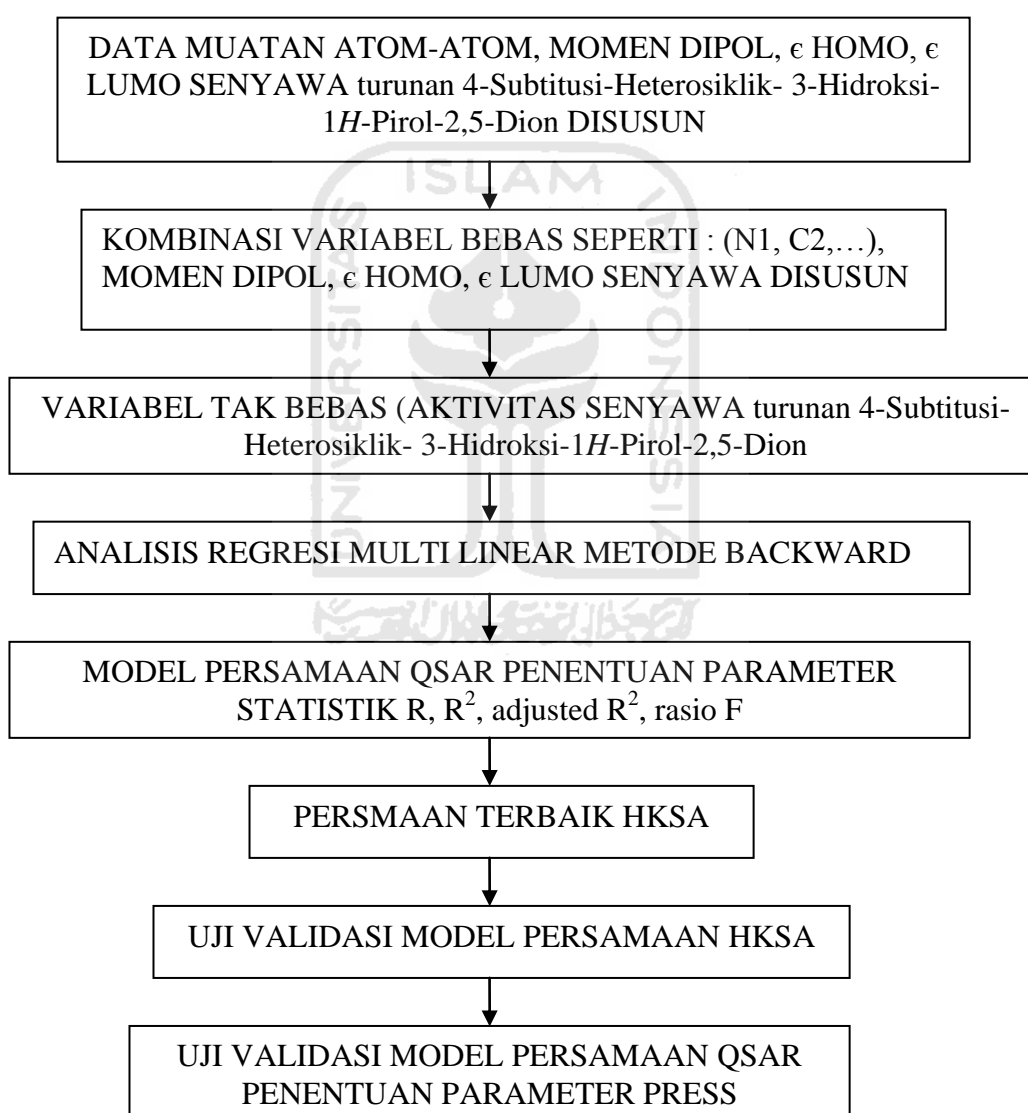
Urutan langkah kerja dalam optimasi geometri struktur senyawa dan perhitungan parameter muatan atom, energi HOMO, energi LUMO dan moment dipol dengan metode semi empirik AM1 pada gambar 4.



Gambar 4. Diagram alir produser optimasi geometri struktur senyawa 4-Subtitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1*H*-pirol-2,5-Dion dan prosedur perhitungan parameter (muatan atom, momen dipol, ϵ_{HOMO} dan ϵ_{LUMO}) dengan metode AM1

4.3.3. Analisis QSAR dengan program HKSA

Analisis regresi multilinear pada penelitian HKSA ini dilakukan dengan program SPSS[®] for windows 13.0, dengan prosedur analisis regresi multilinear metode *backward*. Variabel yang digunakan meliputi dua jenis yaitu variabel bebas dan variabel tak bebas. Prosedur analisis HKSA dengan program SPSS ditunjukkan pada gambar 5.



Gambar 5. Prosedur analisis HKSA dengan program SPSS.

BAB V

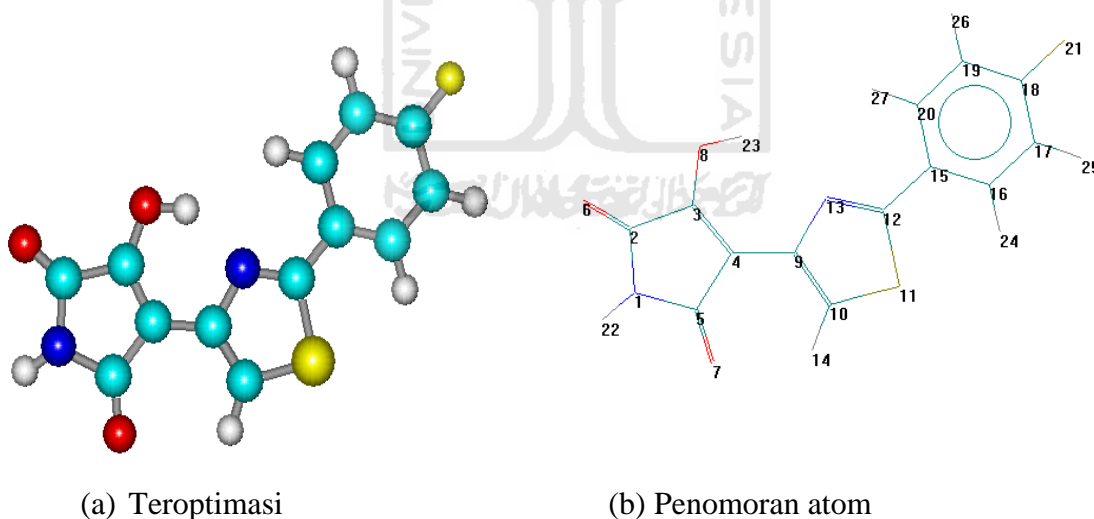
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini menggunakan 18 senyawa turunan 4-Substitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1*H*-pirol-2,5-Dion dengan variasi pada substituen R yang ditunjukkan pada Tabel 1, tampak bahwa pengaruh posisi pengsubstitusi dengan gugus yang berbeda dapat mempengaruhi harga pI_{50} . Aktivitas senyawa ini dinyatakan dalam pI_{50} yang merupakan aktivitas penghambat (inhibisi) yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas pertumbuhan gliksilat dari glikolat dan oksalat dari gliksilat oleh enzim GAO. pI_{50} adalah logaritma negatif dari konsentrasi inhibisi.

Dalam penelitian ini telah dilakukan analisis HKSA pada senyawa turunan 4-Substitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1*H*-pirol-2,5-Dion yang mempunyai aktivitas sebagai senyawa penghambat enzim GAO (*Glycolic Acid Oxidase*) untuk obat anti ginjal. GAO (*Glycolic Acid Oxidase*) adalah salah satu enzim yang dapat menghasilkan oksalat, dimana enzim GAO mengkatalisis reaksi oksidasi glikolat menjadi oksalat melalui pembentukan gliksilat. Sebagian besar batu ginjal mengandung kalsium oksalat, sehingga adanya penghambat dari enzim ini dapat mengurangi besarnya konsentrasi asam oksalat dalam ginjal dan kandung kemih, serta mengurangi kemungkinan terjadinya kristalisasi kalsium oksalat.

Enzim merupakan protein yang paling menonjol dan amat khusus, yang memiliki aktivitas katalitik. Spesifikasi enzim amat tinggi terhadap substratnya, enzim mempercepat reaksi kimiawi spesifik tanpa pembentukan produk samping.

Metode semiempirik AM1 merupakan metode perbaikan dari metode sebelumnya seperti NNDO dan MNDO. Metode AM1 cocok untuk memodelkan sebagian besar senyawa organik karena telah di parameterisasi untuk unsur-unsur seperti H,B,Si,N,O,F,Al,P,S,Cl,Zn,Ge,I,Br sehingga dapat digunakan untuk perhitungan orbital molekul dari senyawa yang mengandung unsur-unsur tersebut. Selain itu perhitungan dengan metode AM1 tidak memerlukan memori yang besar dan waktu yang diperlukan juga relatif singkat (Putri dan Tahir, 2004). AM1 merupakan metode yang relatif akurat karena telah memasukan koreksi terhadap adanya tolakan antar inti dan pengaruh ikatan hidrogen dan hasil perhitungan dapat mendekati harga yang di peroleh melalui eksperimen (Grant dan Richard, 1995).



Gambar 6. Model 3D struktur 4-Substitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1*H*-pirol-2,5-Dion

5.1 Optimasi Geometri Dengan Senyawa Turunan 4-Substitusi-Heterosiklik- 3-Hidroksi-1*H*-pirol-2,5-Dion

Langkah awal dalam penelitian ini adalah membuat gambar stuktur 3 dimensi (3D) menggunakan program *Hyperchem 7.0*. Penggambaran Struktur senyawa dalam bentuk 3D ini adalah untuk memvisualisasikan struktur senyawa dalam ruang, yang dapat diasumsikan seperti dalam tubuh, sehingga di harapkan dapat menggambarkan struktur yang mendekati keadaan sebenarnya bila terikat dengan reseptornya.

Optimasi geometri dilakukan melalui dua tahap. Untuk penentuan bentuk awal geometri yang paling stabil digunakan optimasi MM⁺, sedangkan Optimasi geometri berdasarkan perhitungan elektronik metode semiempirik AM1. Optimasi geometri yang terakhir sekaligus melakukan perhitungan terhadap harga deskriptor dari struktur senyawa muatan atom, energi HOMO, energi LUMO, dan momen dipol. Optimasi geometri dilakukan untuk menghitung energi terendah dan gaya-gaya atom terkecil serta untuk menampilkan struktur molekul sedemikian rupa sehingga mendekati struktur sebenarnya dialam dengan energi minimum. MM⁺ dapat meramalkan energi yang berkaitan dengan konformasi tertentu dari molekul (Pranowo, 2001), sehingga dapat memudahkan perhitungan dengan metode selanjutnya. Waktu perhitungan MM⁺ tidak lama karena hanya dilakukan oleh medan gaya didasarkan pada pendekatan *Born Openheimer* yaitu memisahkan sumbangan inti atom dan sumbangan gerak elektron terhadap energi potensial molekul.

Perhitungan deskriptor elektron diturunkan dari struktur teroptimasi sehingga setiap struktur senyawa turunan 4-Substitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1*H*-pirol-2,5-Dion yang terlibat dalam penelitian dioptimasi terlebih dahulu. Optimasi struktur geometri berupa minimisasi energi untuk memperoleh konformasi energi yang paling stabil dengan batas konvergensi *root mean square* (RMS) 0.0001kcal/Å mol. Metode optimasi yang dilakukan adalah polak-ribierre, hal ini didasarkan atas pertimbangan waktu yang dibutuhkan yang lebih cepat serta tingkat akurasi yang cukup baik oleh komputer untuk mencari titik minimum (Jensen, 1999). Batas iterasi yaitu sebesar 32767 sehingga struktur molekul yang diperoleh saat perhitungan relatif sudah mendekati keadaan yang teroptimasi. Dengan menggunakan batas iterasi maksimal maka perputaran senyawa untuk mencari keadaan yang stabil menjadi optimal dan hasil yang diperoleh lebih teliti.

Setelah dilakukan proses optimasi geometri semiempirik AM1, kemudian dilakukan perhitungan *single point* untuk mendapatkan deluruh data perhitungan seperti muatan atom, momen dipol, energi HOMO, dan energi LUMO. Hasil optimasi geometri disimpan dalam log files, yang di dalamnya tercantu data-data perhitungan yang penting termasuk data energi. Hasil perhitungan optimasi geometri dapat dilihat pada Tabel 2.



5.2 Hasil Perhitungan Metode AM1

Hasil perhitungan parameter elektronik seperti muatan atom, ϵ_{HOMO} , ϵ_{LUMO} dan Momen Dipol Senyawa turunan 4-Substitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1H-Pirol-2,5-Dion Semua deskriptor muatan atom, ϵ_{HOMO} , ϵ_{LUMO} dan Momen Dipol yang dapat di lihat pada table 2, menunjukkan perbedaan muatan pada tiap-tiap atom C, N, O, dan S, energi HOMO, energi LUMO, dan momen dipole (μ).

Dari table 2 tersebut terlihat bahwa muatan atom pada karbon berharga positif maupun negatif, tergantung pada atom atau gugus yang terikat atom C tersebut, dimana atom karbon lebih elektropositif akibat tarikan elektron oleh oksigen, untuk atom karbon yang berikatan dengan gugus metil, alkil, atom halida maupun H akan berharga negatif karena gugus ini penyumbang elektron sehingga kerapatan elektron menjadi lebih banyak. Atom N berharga negatif karena lebih bersifat elektronegatif sedangkan atom S berharga positif karena bersifat elektropositif.

Besarnya muatan atom ini tidak lain dipengaruhi oleh faktor induksi dari atom-atom yang mensubstitusi pada gugus oleh karena itu jenis atom dari gugus substitusi sangat mempengaruhi besarnya muatan atom penyusun senyawa turunan 4-Substitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1H-Pirol-2,5-Dion. Muatan atom-atom ini merupakan gambaran struktur molekul yang sangat penting dalam hal aktivitas molekul sebagai obat.



5.3 Analisis HKSA Senyawa Turunan 4-Subtitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1H-Pirol-2,5-Dion

5.3.1 Pemisahan Data

Pada proses ini 18 data aktivitas senyawa turunan 4-Subtitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1H-Pirol-2,5-Dion total di pecah menjadi data fitting untuk mendapatkan model persamaan dan data testing untuk pengujian keakuratan model. Data fitting yang digunakan sebanyak 15 senyawa, dan data testing yang digunakan sebanyak 3 senyawa, yaitu senyawa pada nomor 6,10 dan 13. Pemisahan ini dilakukan dengan cara acak agar obyektivitas secara statistik terjaga, teknik pemisahan data secara acak ini merupakan salah satu penarikan sampel yang bersifat mewakili (Hadi, 2000), karena setiap unsur dalam populasi mempunyai probabilitas yang sama untuk dipilih dalam sampel, sehingga dapat dikatakan pengambilan sampel dengan cara ini bersifat obyektif.

5.3.2 Analisis Statistik Deskriptor

Pada Kajian HKSA banyak metode statistik yang sering digunakan dan dapat memberikan hasil yang sangat memuaskan, salah satunya adalah metode regresi multilinear. Pengolahan data untuk mendapatkan persamaan yang terbaik dilakukan dengan bantuan program komputer SPSS 13, program ini diatur pada analisis regresi multilinear dengan metode *backward*. Metode ini menganalisis semua variabel yang ada, untuk diketahui pengaruhnya terhadap perhitungan regresi, kemudian variabel bebas yang memiliki korelasi parsial terkecil dengan variabel tak bebas satu persatu dihilangkan. Proses ini berlanjut hingga tidak ada

lagi variabel yang memenuhi kriteria diatas (Weisberg, 1985), sehingga diharapkan parameter yang keluar adalah yang terbaik.

Dalam penelitian ini, berdasarkan kerangka utama dari suatu seri senyawa maka hanya muatan atom pada struktur utama saja yang digunakan dalam perhitungan HKSA, atom-atom H tidak perlu dilibatkan dalam penentuan struktur utama, sehingga analisis statistik pada senyawa turunan 4-Substitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1H-Pirol-2,5-Dion dapat dilakukan dengan parameter deskriptor muatan atom (q_{N1} , q_{C2} , q_{C3} , q_{C4} , q_{C5} , q_{O6} , q_{O7} , q_{O8} , q_{C9} , q_{C10} , q_{S11} , q_{C12} , q_{N13}), energi HOMO, energi LUMO, dan momen dipole (μ). Parameter tersebut digunakan sebagai variabel bebas selanjutnya dikaitkan dengan pI_{50} sebagai variabel tak bebas.

Dari perhitungan analisis regresi multilinear diperoleh 6 model regresi yang layak dikaji lebih jauh untuk mendapatkan model terbaik dan dapat diterima secara statistik, analisis terhadap data muatan atom, energi HOMO, energi LUMO, dan momen dipole (μ) dengan harga aktivitas penghambatan (pI_{50}) dengan memberikan ringkasan statistik pada tabel 3. Koefisien statistik deskriptor masing-masing model dapat dilihat pada tabel 4. pada tabel 5, disajikan 6 model persamaan prediksi model terpilih yang dapat dikaji lebih lanjut. Model tersebut memiliki nomor sesuai dengan urutan pekerjaan perhitungan yang terdapat dalam program.

Tabel 5. Model persamaan HKSA terpilih hasil analisis regresi multilinear

Model	r	R ²	Adjusted R ²	SE	F _{hit} / F _{tab}	PRESS
1	0.991	0.983	0.879	0.26279	4.89	0.2569
2	0.991	0.983	0.920	0.21458	1.78	0.2569
3	0.991	0.982	0.938	0.18827	3.72	0.4236
4	0.991	0.981	0.948	0.17269	6.13	0.4321
5	0.991	0.981	0.956	0.15790	9.50	0.4122
6	0.990	0.979	0.959	0.15333	12.5	0.1921

Dari tabel 5 untuk beberapa model terpilih terlihat bahwa perbedaan variabel-variabel yang di ikutkan dalam perhitungan akan menghasilkan parameter uji statistik yang berbeda pula. Secara umum hasil perhitungan analisis regresi multilinear menunjukkan adanya analisis regresi multilinear menunjukkan adanya hubungan yang kuat antara variabel bebas dan tak bebas. Pada tabel diatas terlihat bahwa setiap model yang dihasilkan dari analisis regresi multilinear metode *backward*, memiliki perbedaan variabel yang diikutkan dalam analisis dan juga dapat menghasilkan parameter statistik yang berbeda, sehingga dari ke 6 model persamaan terbaik yang dapat memprediksi harga aktivitas inhibisi paling tepat dengan parameter uji statistik.

5.3.3 Penentuan Model Persamaan Prediksi Terbaik

Dari hasil perhitungan analisis maka diperoleh 6 model regresi yang layak dikaji lebih lanjut untuk mendapatkan satu model regresi yang dapat diterima secara statistik untuk memilih serangkaian uji statistik sebagai berikut :

1. Uji koefisien meliputi koefisien regresi (R), koefisien determinasi ganda (R²), dan Adjusted R² yang optimal nilai terbaik mendekati 1

atau yang paling tinggi juga berdasarkan SE (Standar Error) yang terendah.

2. Uji signifikan F, korelasi kuat akan memberikan harga F_{hitung} paling tinggi dengan nilai yang lebih besar dari pada batas kepercayaan yang ditentukan dari F tabel. Regresi yang terbaik memiliki rasio F_{hitung} / F_{tabel} tertinggi dan lebih dari 1.
3. Nilai prediksi PRESS (*Predictive Residual Sum Of Square*) yang paling rendah, mencerminkan nilai prediksi dengan nilai eksperimen hampir sama.

Jika dilihat dari harga R model 1 sampai 5 mempunyai harga R yang sama yaitu 0.991. Hal ini menunjukkan adanya hubungan yang cukup kuat antara variabel tak bebas (pI_{50}) dengan variabel bebas (muatan atom, ϵ_{HOMO} , ϵ_{LUMO} dan Momen Dipol). Nilai R ini menunjukkan tingkat kelinearan dari model persamaan, dimana semakin kecil nilai R yang ada menunjukkan hubungan antara variabel bebas dan tak bebas dalam model semakin rendah. Nilai R yang dapat diterima dalam analisis HKSA biasanya adalah di atas 0,8.

Tahap selanjutnya adalah mengamati nilai koefisien determinasi (R^2) untuk mengetahui besarnya pengaruh variabel bebas terhadap variabel tak bebas, dimanamodel yang terbaik harus memiliki nilai R^2 paling tinggi mendekati 1. Dari hasil analisis regresi diperoleh nilai R^2 model 1 dan 2 mempunyai harga yang sama yaitu 0.983. yang relatif tinggi dan mendekati 1, walaupun bukan yang paling tinggi di antara 6 model tersebut, hal ini berarti hubungan antara variabel bebas dan variabel tak bebas cukup kuat, sedangkan untuk model 3 dari hasil

analisis regresi diperoleh nilai R^2 yaitu 0.982. Dari hasil analisis regresi diperoleh nilai R^2 model 4 sampai model 5 sama yaitu 0.981. sedangkan untuk model 6 dari hasil analisis regresi diperoleh nilai R^2 yaitu 0.979. Namun demikian nilai R^2 biasanya dipengaruhi oleh jumlah variabel yang dilibatkan dalam model, semakin banyak variabel yang dilibatkan dalam persamaan akan semakin tinggi nilai R^2 .

Tahap selanjutnya adalah mengevaluasi nilai *Adjusted* R^2 dimana model 6 terlihat mempunyai nilai yang paling tinggi yaitu 0.959. *Adjusted* R^2 adalah koefisien determinasi yang telah dikoreksi terhadap variabel sehingga tidak dipengaruhi oleh jumlah variabel bebas yang ada di dalam model. *Adjusted* R^2 menunjukkan bobot pengaruh yang sebenarnya dari variabel bebas terhadap variabel tak bebas, semakin banyak variabel yang tidak adanya korelasi maka nilai *Adjusted* R^2 umumnya akan semakin besar.

Parameter statistik selanjutnya yang dianalisis adalah uji signifikan F, parameter ini digunakan untuk mengetahui apakah hubungan yang dinyatakan dengan persamaan HKSA yang diperoleh adalah benar atau hanya merupakan kejadian yang kebetulan. Jadi semakin tinggi nilai F kemungkinan hubungan tersebut karena kebetulan saja. Selain itu juga dilihat nilai F_{hit} / F_{tab} dimana model persamaan yang dapat digunakan untuk mengganbarkan hubungan yang ada adalah model yang memiliki nilai F_{hit} / F_{tab} lebih dari 1. Nilai ini menunjukkan bahwa F_{hitung} lebih besar dari F_{tabel} yang berarti model regresi tersebut mempunyai hubungan yang benar atau signifikan yang diberikan, yaitu 95% (Siswando dan Soekardjo, 2000). Dari hasil analisis regresi yang diperoleh model 6 mempunyai nilai signifikansi yang tertinggi $F_{hitung} = 47.711$ dan $F_{hit} / F_{tab} = 12.5$ sehingga

model 6 adalah signifikan. Dengan demikian hubungan antara aktifitas penghambat GAO dengan variabel pada persamaan model 6 dapat diterima. Nilai F_{hitung} dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Nilai F_{hit}/ F_{tab}

Model	F_{hit}	F_{tab}	F_{hit}/ F_{tab}
1	9.507	19.41	4.89
2	15.556	8.73	1.78
3	22.217	5.96	3.72
4	29.314	4.78	6.13
5	39.443	4.15	9.50
6	47.711	3.97	12.5

Untuk lebih meyakinkan pilihan, selanjutnya dilakukan analisis terhadap parameter SE (*standar error*), dimana nilai SE menunjukkan simpangan yang diperbolehkan dalam suatu perhitungan. Semakin kecil nilai SE maka data semakin akurat dan menunjukkan data yang dianalisis semakin mendekati data yang sesungguhnya (Putri dan Tahir, 2004). Model yang memiliki nilai SE paling kecil adalah model 6 yaitu 0.15333, sehingga dapat di katakan model 6 lebih baik dari model model yang lain.

Sebagai pembandingan, pada 15 senyawa *fitting* dan 3 senyawa *testing* dilakukan uji nilai PRESS (*Predictive Residual Sum Of Square*). Uji PRESS ini didefinisikan sebagai jumlah selisih $pI_{50eksperimen}$ dan $pI_{50prediksi}$. Model yang paling baik yaitu yang akan memberikan harga PRESS yang paling kecil karena perbedaan antara data hasil eksperimen dan data hasil prediksi (perhitungan dengan model yang dipilih) adalah minimum (Tahir dkk, 2005). Dari data statistik yang diperoleh model 6 mempunyai nilai PRESS yang kecil yaitu 0.1921.

Dari semua pertimbangan-pertimbangan kriteria statistik sebagaimana dikemukakan diatas diputuskan model persamaan HKSA 6 sebagai model terbaik.

Dan dituliskan secara lengkap sebagai berikut :

$$pI_{50} = -721.646 - 590.850(qC5) - 2217.634(qO6) + 647.561(qO8) \\ - 66.165(qC10) - 37.086(qS11) + 5.453(qC12) - \\ 36.660(\epsilon_{HOMO})$$

$$(n = 15, R^2 = 0.979, Adjusted R^2 = 0.959, SE = 0.15333, F_{hit} / F_{tab} = 12.5$$

$$PRESS = 0.1921)$$

5. 4 Validasi Model Persamaan HKSA

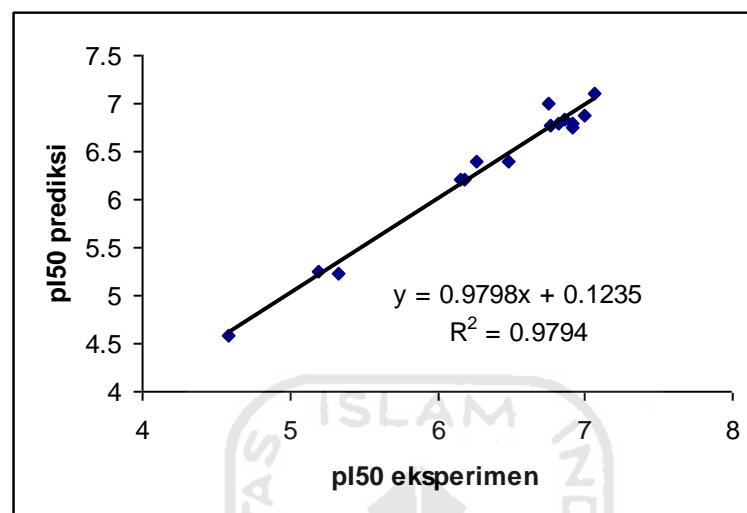
Dari analisis regresi multilinear dan uji statistik yang dilakukan, didapatkan model persamaan “terbaik” yaitu model 6. Maka dapat dihitung nilai pI_{50} prediksi senyawa turunan 4-Substitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1H-Pirol-2,5-Dion terhadap hasil perhitungan deskriptor. Hasil prediksi pI_{50} *fitting* dapat dilihat pada tabel 5. Model persamaan 6 kemudian divalidasi dengan cara membandingkan nilai pI_{50} prediksi dengan pI_{50} eksperimen.

Tabel 7. Aktivitas inhibisi (pI_{50}) senyawa turunan 4-Substitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1H-Pirol-2,5-Dion hasil eksperimen dan hasil prediksi menggunakan model persamaan 6 pada senyawa *fitting* (validasi internal).

SENYAWA	pI_{50} EKSPERIMEN	pI_{50} PREDIKSI
1	6.75	6.99
2	7.00	6.87
3	4.58	4.58
4	6.82	6.79
5	6.86	6.84
7	6.18	6.21
8	7.07	7.11
9	6.77	6.78
11	6.92	6.80
12	6.92	6.75
14	6.48	6.40
15	6.16	6.21
16	6.26	6.40
17	5.33	5.23
18	5.19	5.26
PRESS _{internal}		0.1651

Pengujian model juga diperkuat dengan grafik korelasi antara aktifitas inhibisi (pI_{50}) prediksi dan pI_{50} eksperimen. Grafik analisis dinyatakan linear apabila semua nilai tengah atau pertemuan antara nilai pada sumbu absis dan ordinat jatuh pada satu garis lurus dan dikatakan ideal jika grafik tersebut memiliki harga r^2 dan slope mendekati atau sama dengan 1, artinya bahwa korelasi variabel bebas dengan tidak bebas adalah sempurna (Santoso, 2000).

Grafik regresi antara pI_{50} eksperimen dengan pI_{50} prediksi ditunjukkan pada gambar 7.



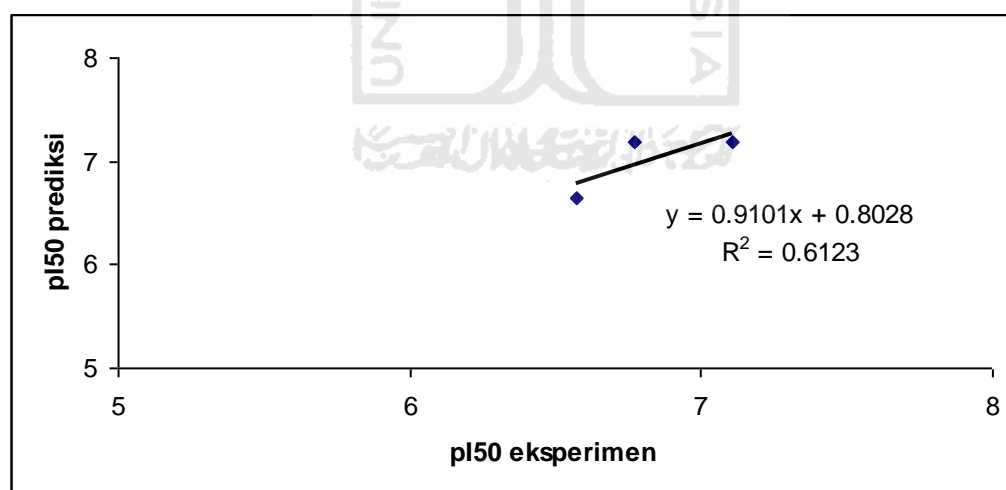
Gambar 7. Grafik linearitas pI_{50} eksperimen Vs pI_{50} Prediksi untuk data *fitting* yang dihitung dengan persamaan model 6.

Dari grafik linearitas antara pI_{50} eksperimen Vs pI_{50} Prediksi untuk data *fitting* dengan persamaan model 6 terpilih memiliki harga r dan r^2 masing-masing sebesar 0.990 dan 0.979 serta *slope* sebesar 0.979. Harga r tersebut memiliki arti bahwa adanya korelasi yang berharga positif, artinya korelasi antara pI_{50} Prediksi Vs pI_{50} eksperimen pada denyawa *fitting* dengan model 6 adalah dangat kuat, memiliki bias yang kecil dan mendekati sempurna. Untuk R^2 diartikan bahwa sebesar 99,5% aktivitas penghambat GAO dapat dijelaskan hubungan linearnya dengan variabel tidak bebasnya. Harga aktivitas inhibisi pada senyawa *testing* dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Aktivitas inhibisi (pI_{50}) senyawa turunan 4-Subtitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1H-Pirol-2,5-Dion hasil eksperimen dan hasil prediksi menggunakan model persamaan 6 pada senyawa *testing* (validasi eksternal).

Senyawa	pI_{50}	
	EKSPERIMEN	PREDIKSI
6	6.57	6.64
10	7.11	7.19
13	6.77	7.19
PRESS		0.1877

Dari Tabel ini dapat dilihat bahwa harga pI_{50} prediksi tidak berbeda jauh dengan pI_{50} eksperimen. Hal ini ditunjukkan dengan harga PRESS yang relatif kecil. Pengujian nodel juga diperkuat dengan grafik linearitas antara aktivitas inhibisi pI_{50} prediksi dan pI_{50} eksperimen pada senyawa *testing* yang ditunjukkan pada gambar 8.



Gambar 8. Grafik linearitas pI_{50} eksperimen Vs pI_{50} Prediksi untuk data *testing* yang dihitung dengan persamaan model 6.

Dari gambar, diperoleh nilai r dan r^2 sebesar 0,975 dan 0,612 serta *slope* sebesar 0,910. Menunjukkan bahwa model secara umum memprediksi sedikit lebih kecil daripada harga sebenarnya, sebesar 8,6 % hal ini mungkin dapat diminimalisir dengan mengeluarkan senyawa-senyawa yang mempunyai aktivitas inhibitor yang sama dari senyawa *fitting*, sehingga hubungan antara pI_{50} prediksi vs pI_{50} eksperimen pada senyawa model mendekati sempurna. Namun demikian model persamaan 6 masih dapat memprediksi nilai aktivitas inhibisi senyawa turunan turunan 4-substitusi-heterosiklik-3-hidroksi-1H-pirol-2,5-dion dengan relatif baik.

5.5 Deskriptor yang Paling Berpengaruh Terhadap Aktivitas Inhibisi Senyawa Turunan 4-Substitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1H-Pirol-2,5-Dion

Dari persamaan HKSA terbaik model 6 terdapat tujuh deskriptor yang memiliki korelasi terhadap besarnya aktivitas penghambat GAO. Muatan atom pada atom C5, O6, O8, C10, S11, C12, dan energi LUMO terpilih sebagai prediktor berpengaruh terhadap aktivitas penghambat GAO berdasarkan data hasil perhitungan dengan metode AM1 Dengan analisis regresi multilinear.

Pada senyawa Turunan 4-Substitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1H-Pirol-2,5-Dion pada atom O6, C10, S11 dan C12 adalah muatan atom yang lebih elektronegatif, sedangkan pada atom C5 dan O8 lebih elektropositif. Donor elektron meningkatkan kemampuan mengikat melalui efek induksi, seperti pada atom C5 dan O8, sedangkan atom yang sangat elektronegatif seperti pada muatan atom pada O6, C10, S11 dan C12 atom akan menarik elektron-elektronnya sendiri sehingga lebih mampat. Apabila struktur senyawa 4-substitusi-heterosiklik-3-

hidroksi-1*H*-pirol-2,5-dion adalah mengandung atom yang sangat elektronegatif, maka efek induktif akibat dorongan elektron dalam ikatan menjadikan atom O6, C10, S11 dan C12 menjadi lebih negatif dan menyebabkan struktur polar. Gugus polar akan mengimbangi momen dipol pada rantai didekatnya, sehingga menyebabkan terjadinya tarikan antar atom. Dari persamaan HKSA muatan atom O6, dan S11 memberikan pengaruh melalui koefisien regresinya berturut-turut sebesar -2217,634, dan -37,086, hal ini menunjukkan bahwa dengan kenaikan muatan atom O6 maupun atom S11 akan mengakibatkan penurunan aktifitas penghambat GAO menjadi sebesar -2217,634 dan -37,086 kali besar muatan atom senyawa tersebut. Besarnya pI_{50} dipengaruhi dari hasil perkalian koefisien dan harga deskriptor, sehingga hal ini berlaku untuk semua deskriptor.

Sedangkan energi LUMO digunakan untuk memperkirakan sifat elektrofil dari molekul dan bagian molekul yang berikatan dengan nukleofil. Energi LUMO dari senyawa turunan 4-substitusi-heterosiklik-3-hidroksi-1*H*-pirol-2,5-dion memiliki pengaruh terhadap besarnya harga aktivitas penghambat GAO. Koefisien regresi dari energi LOMO sebesar -36,660. Kenaikan harga energi LUMO memberikan respon sebesar -36,660 kali terhadap penurunan aktifitas penghambat GAO.

Setelah diketahui deskriptor yang mempengaruhi aktifitas penghambat GAO maka dapat digunakan untuk merancang senyawa turunan 4-substitusi-heterosiklik-3-hidroksi-1*H*-pirol-2,5-dion yang baru yang memiliki aktifitas penghambat yang diharapkan. Senyawa inhibitor GAO akan lebih efektif bila harga aktivitas inhibisinya (pI_{50}) memberikan nilai yang sangat tinggi. Dalam hal

ini pada metode AM1 aktivitas inhibisi akan semakin efektif. Desain senyawa turunan 4-substitusi-heterosiklik-3-hidroksi-1*H*-pirol-2,5-dion dapat dilakukan secara kualitatif dengan memperhatikan pengaruh yang diberikan pada substituen tertentu.

Walaupun secara statistik muatan atom pada atom C5, O6, O8, C10, S11, C12, dan energi LUMO terpilih sebagai prediktor berpengaruh terhadap aktivitas penghambat namun terdapat deskriptor yang paling dominan berpengaruh terhadap aktifitas penghambat GAO. Dari persamaan HKSA koefisien deskriptor perhitungan AM1, nilai koefisien terbesar terdapat pada deskriptor muatan atom O6 yaitu -2217,634 (Tabel 3). Deskriptor ini mempunyai pengaruh yang dominan karena memiliki nilai perkalian koefisien dan harga deskriptor yang tinggi, sehingga muatan atom O6 pada senyawa turunan 4-substitusi-heterosiklik-3-hidroksi-1*H*-pirol-2,5-dion adalah deskriptor yang paling dominan berpengaruh terhadap aktivitas inhibisi enzim GAO.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Dari hasil perhitungan yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Deskriptor muatan atom (C5, O6, O8, C10, S11, C12), dan energi LUMO dari senyawa Turunan 4-Substitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1H-Pirol-2,5-Dion yang dihitung menggunakan metode semi-empirik AM1 dapat dipakai sebagai deskriptor untuk menentukan aktivitas penghambatan (inhibisi) enzim GAO pada senyawa Turunan 4-Substitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1H-Pirol-2,5- Dion.
2. Dengan melakukan fitting program regresi multilinier terhadap harga aktivitas penghambat (inhibisi) GAO terhadap seri senyawa Turunan 4-Substitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1H-Pirol-2,5- Dion diperoleh persamaan HKSA terbaik yang menghubungkan deskriptor muatan atom, ϵ_{HOMO} , ϵ_{LUMO} dan Momen Dipol dengan aktivitas penghambat GAO adalah :

$$pI_{50} = -721.646 - 590.850(qC5) - 2217.634(qO6) + 647.561(qO8) \\ - 66.165(qC10) - 37.086(qS11) + 5.453(qC12) - \\ 36.660(\epsilon_{\text{HOMO}})$$

$$(n = 15, R^2 = 0.979, \text{Adjusted } R^2 = 0.959, SE = 0.15333, F_{\text{hit}} / F_{\text{tab}} = 12.5 \\ \text{PRESS} = 0.1921)$$

3. Dari perhitungan persamaan model pada kesimpulan 2, diketahui bahwa aktivitas penghambat (inhibisi) GAO pI_{50} Prediksi mendekati dengan harga pI_{50} eksperimen . Harga aktivitas penghambat ini bervariasi tergantung substituen yang mengikatnya. Dengan demikian model yang diperoleh cukup valid.

6.2 . Saran

Perlu dilakukan penelitian yang lebih mendalam tentang aktivitas senyawa Turunan 4-Substitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1H-Pirol-2,5- Dion dan dapat dilakukan dengan metode yang berbeda sehingga dapat diperoleh hasil yang representatif.



Lampiran 1 . Output SPSS 13.0 for Windows

Hasil regresi multilinear metode Backward

Variables Entered/Removed(b)

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	ELUMO, O7, C12, N13, S11, momendipol , O8, EHOMO, C10, C3, C5, O6(a)	.	Enter
2	.	N13	Backward (criterion: Probability of F-to- remove >= .100).
3	.	momendipol	Backward (criterion: Probability of F-to- remove >= .100).
4	.	O7	Backward (criterion: Probability of F-to- remove >= .100).
5	.	C3	Backward (criterion: Probability of F-to- remove >= .100).
6	.	EHOMO	Backward (criterion: Probability of F-to- remove >= .100).

a Tolerance = .000 limits reached.

b Dependent Variable: PI50

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.991(a)	.983	.879	.26279
2	.991(b)	.983	.920	.21458
3	.991(c)	.982	.938	.18827
4	.991(d)	.981	.948	.17269
5	.991(e)	.981	.956	.15790
6	.990(f)	.979	.959	.15333

ANOVA(g)

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	7.879	12	.657	9.507	.099(a)
	Residual	.138	2	.069		
	Total	8.017	14			
2	Regression	7.879	11	.716	15.556	.022(b)
	Residual	.138	3	.046		
	Total	8.017	14			
3	Regression	7.875	10	.788	22.217	.004(c)
	Residual	.142	4	.035		
	Total	8.017	14			
4	Regression	7.868	9	.874	29.314	.001(d)
	Residual	.149	5	.030		
	Total	8.017	14			
5	Regression	7.867	8	.983	39.443	.000(e)
	Residual	.150	6	.025		
	Total	8.017	14			
6	Regression	7.852	7	1.122	47.711	.000(f)
	Residual	.165	7	.024		
	Total	8.017	14			

Coefficients(a)

Koefisien model persamaan 6

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig
		B	Std Error	Beta		
6	(constant)	-721.646	93.291		-7.735	.000
	C5	590.850	197.970	.550	2.985	.020
	O6	-2217.634	231.337	-4.425	-9.586	.000
	O8	647.561	81.778	1.617	7.919	.000
	C10	-66.165	5.723	-2.879	-11.561	.000
	S11	-37.086	2.647	-2.126	-14.010	.000
	C12	-5.543	2.758	-.133	-2.010	.084
	E LUMO	-36.660	4.421	-2.974	-8.293	.000



Tabel distribusi F ($\alpha = 5\%$)

db penyebut (k_2)	derajat bebas (db) pembilang (k_1)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	161	200	216	225	230	234	237	239	241	242	243	244
2	18,51	19,00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.36	19.37	19.38	19.39	19.40	19.41
3	19.31	9,55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.88	8.84	8.81	8.78	8.73	8.74
4	7.71	6,94	6.59	6.39	6.28	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.93	5.91
5	6.61	5,79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.78	4.74	4.70	4.68
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	4.03	4.00
7	5.99	4.47	4.35	4.12	3.97	3.87	3.97	3.73	3.68	3.63	3.60	3.57
8	5.53	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.34	3.31	3.28

Sumber : Soejoeti, Z., 1996

Nilai PRESS masing-masing Model

Model	PRESS _{Testing}	PRESS _{Fitting}	PRESS _{Model}
1	0.2569	0.1776	0.4345
2	0.2569	0.1573	0.4142
3	0.4236	0.2267	0.6503
4	0.4321	0.1965	0.6286
5	0.4122	0.2157	0.6279
6	0.1921	0.2415	0.4336

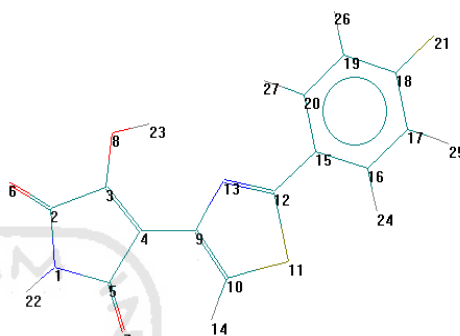
LAMPIRAN 3

Hasil perhitungan optimasi geometri dengan metode semiempirik AM1

Senyawa 1

NET CHARGES AND COORDINATES

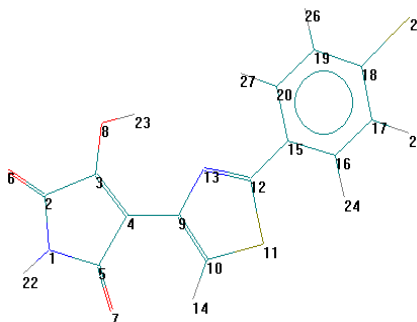
Atom	Z	Charge	Mass
1	7	-0.407523	-14.00700
2	6	0.345649	12.01100
3	6	0.091799	12.01100
4	6	-0.184808	12.01100
5	6	0.372845	12.01100
6	8	-0.257481	15.99900
7	8	-0.300699	15.99900
8	8	-0.190706	15.99900
9	6	-0.023334	12.01100
10	6	-0.441485	12.01100
11	16	0.542779	32.06400
12	6	-0.226832	12.01100
13	7	-0.141562	14.00700



Senyawa 2

NET CHARGES AND COORDINATES

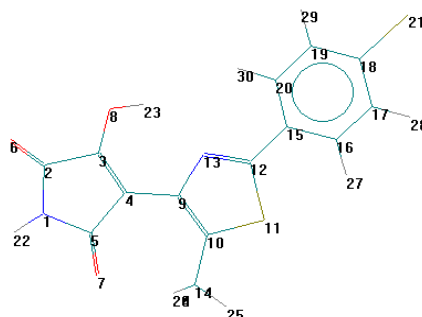
Atom	Z	Charge	Mass
1	7	-0.407362	14.00700
2	6	0.345607	12.01100
3	6	0.092450	12.01100
4	6	-0.185615	12.01100
5	6	0.372962	12.01100
6	8	-0.257071	15.99900
7	8	-0.300804	15.99900
8	8	-0.190345	15.99900
9	6	-0.023868	12.01100
10	6	-0.442277	12.01100
11	16	0.551581	32.06400
12	6	-0.236037	12.01100
13	7	-0.137311	14.00700



Senyawa 3

NET CHARGES AND COORDINATES

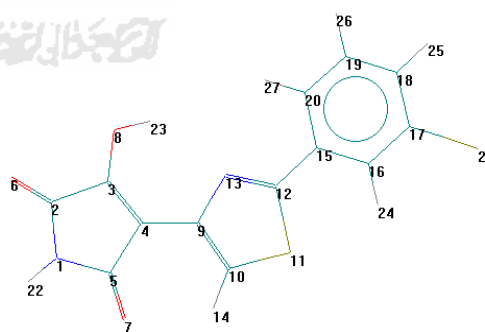
Atom	Z	Charge	Mass
1	7	-0.409706	14.00700
2	6	0.342901	12.01100
3	6	0.095055	12.01100
4	6	-0.182219	12.01100
5	6	0.375418	12.01100
6	8	-0.259510	15.99900
7	8	-0.302557	15.99900
8	8	-0.193891	15.99900
9	6	-0.020011	12.01100
10	6	-0.335870	12.01100
11	16	0.515848	32.06400
12	6	-0.230736	12.01100
13	7	-0.155135	14.00700



Senyawa 4

NET CHARGES AND COORDINATES

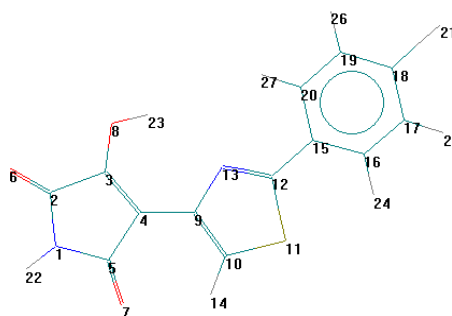
Atom	Z	Charge	Mass
1	7	-0.407454	14.00700
2	6	0.345724	12.01100
3	6	0.091511	12.01100
4	6	-0.184525	12.01100
5	6	0.372825	12.01100
6	8	-0.257572	15.99900
7	8	-0.300398	15.99900
8	8	-0.190802	15.99900
9	6	-0.024415	12.01100
10	6	-0.442835	12.01100
11	16	0.554455	32.06400
12	6	-0.235030	12.01100
13	7	-0.139028	14.00700



Senyawa 5

NET CHARGES AND COORDINATES

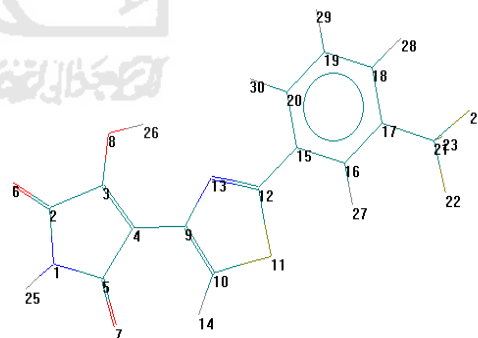
Atom	Z	Charge	Mass
1	7	-0.407519	14.00700
2	6	0.345632	12.01100
3	6	0.091983	12.01100
4	6	-0.184978	12.01100
5	6	0.372882	12.01100
6	8	-0.257458	15.99900
7	8	-0.300787	15.99900
8	8	-0.190641	15.99900
9	6	-0.023832	12.01100
10	6	-0.442001	12.01100
11	16	0.546796	32.06400
12	6	-0.231015	12.01100
13	7	-0.139490	14.00700



Senyawa 6

NET CHARGES AND COORDINATES

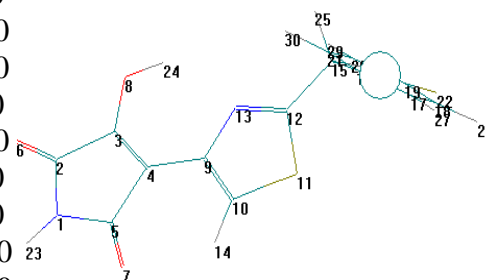
Atom	Z	Charge	Mass
1	7	-0.406861	14.00700
2	6	0.345546	12.01100
3	6	0.093122	12.01100
4	6	-0.187015	12.01100
5	6	0.372972	12.01100
6	8	-0.256176	15.99900
7	8	-0.300075	15.99900
8	8	-0.189952	15.99900
9	6	-0.024540	12.01100
10	6	-0.443272	12.01100
11	16	0.568114	32.06400
12	6	-0.248755	12.01100
13	7	-0.133375	14.00700



Senyawa 7

NET CHARGES AND COORDINATES

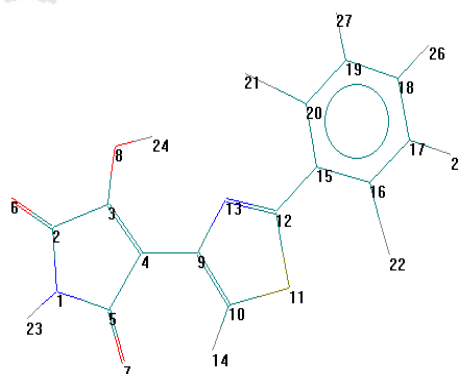
Atom	Z	Charge	Mass
1	7	-0.407691	14.00700
2	6	0.345818	12.01100
3	6	0.090176	12.01100
4	6	-0.182688	12.01100
5	6	0.372567	12.01100
6	8	-0.258056	15.99900
7	8	-0.300529	15.99900
8	8	-0.191341	15.99900
9	6	-0.027920	12.01100
10	6	-0.436898	12.01100
11	16	0.536942	32.06400
12	6	-0.272450	12.01100
13	7	-0.139341	14.00700



Senyawa 8

NET CHARGES AND COORDINATES

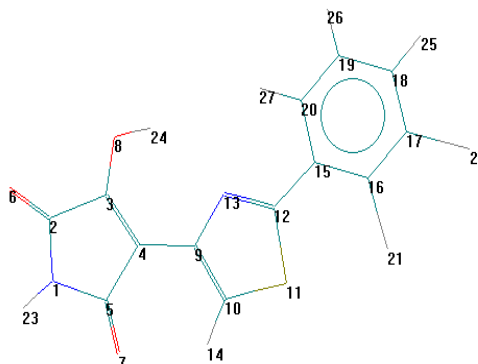
Atom	Z	Charge	Mass
1	7	-0.408890	14.00700
2	6	0.345534	12.01100
3	6	0.090534	12.01100
4	6	-0.182140	12.01100
5	6	0.373006	12.01100
6	8	-0.260552	15.99900
7	8	-0.302202	15.99900
8	8	-0.193517	15.99900
9	6	-0.031223	12.01100
10	6	-0.469272	12.01100
11	16	0.606236	32.06400
12	6	-0.259978	12.01100
13	7	-0.121640	14.00700



Senyawa 9

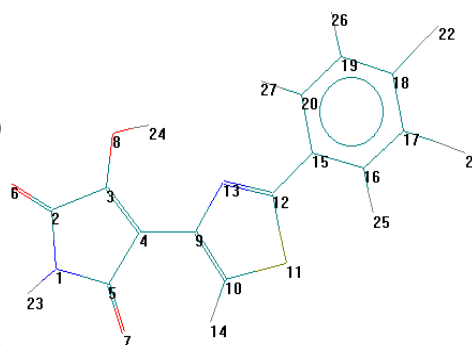
NET CHARGES AND COORDINATES

Atom	Z	Charge	Mass
1	7	-0.408165	14.00700
2	6	0.346255	12.01100
3	6	0.086348	12.01100
4	6	-0.179302	12.01100
5	6	0.372548	12.01100
6	8	-0.259280	15.99900
7	8	-0.299956	15.99900
8	8	-0.192198	15.99900
9	6	-0.029221	12.01100
10	6	-0.471989	12.01100
11	16	0.624179	32.06400
12	6	-0.264926	12.01100
13	7	-0.139568	14.00700

**Senyawa 10**

NET CHARGES AND COORDINATES

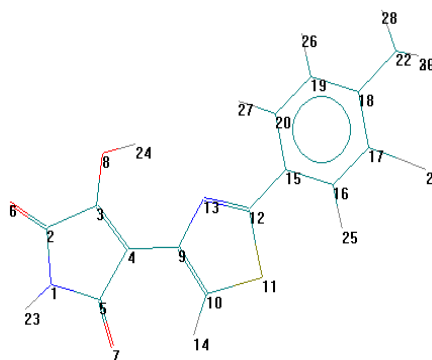
Atom	Z	Charge	Mass
1	7	-0.407022	14.00700
2	6	0.345666	12.01100
3	6	0.092703	12.01100
4	6	-0.186202	12.01100
5	6	0.373018	12.01100
6	8	-0.256467	15.99900
7	8	-0.300385	15.99900
8	8	-0.189997	15.99900
9	6	-0.023299	12.01100
10	6	-0.442586	12.01100
11	16	0.559594	32.06400
12	6	-0.240381	12.01100
13	7	-0.136651	14.00700



Senyawa 11

NET CHARGES AND COORDINATES

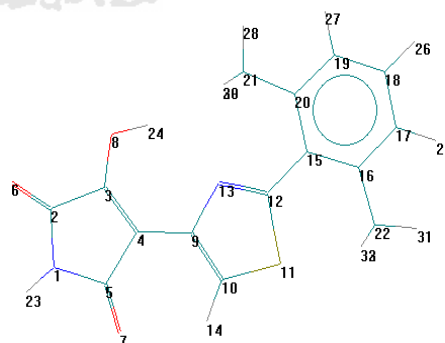
Atom	Z	Charge	Mass
1	7	-0.407730	14.00700
2	6	0.345719	12.01100
3	6	0.091049	12.01100
4	6	-0.183765	12.01100
5	6	0.372748	12.01100
6	8	-0.258190	15.99900
7	8	-0.300548	15.99900
8	8	-0.191216	15.99900
9	6	-0.024805	12.01100
10	6	-0.443042	12.01100
11	16	0.550427	32.06400
12	6	-0.230355	12.01100
13	7	-0.140164	14.00700



Senyawa 12

NET CHARGES AND COORDINATES

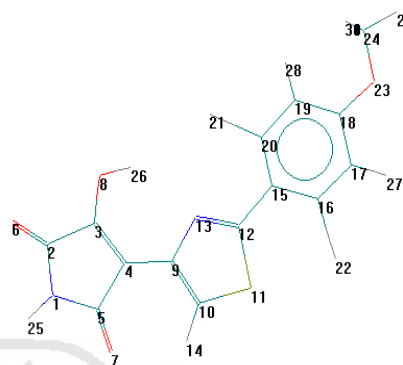
Atom	Z	Charge	Mass
1	7	-0.409062	14.00700
2	6	0.345958	12.01100
3	6	0.087080	12.01100
4	6	-0.179189	12.01100
5	6	0.372630	12.01100
6	8	-0.260932	15.99900
7	8	-0.300563	15.99900
8	8	-0.195832	15.99900
9	6	-0.027415	12.01100
10	6	-0.461826	12.01100
11	16	0.543655	32.06400
12	6	-0.211190	12.01100
13	7	-0.153126	14.00700



Senyawa 13

NET CHARGES AND COORDINATES

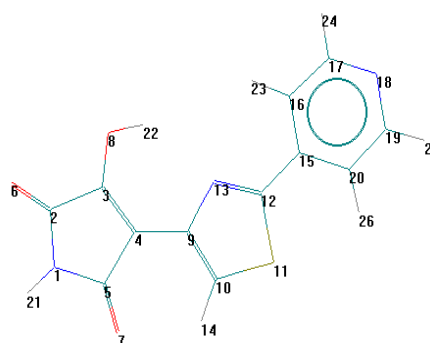
Atom	Z	Charge	Mass
1	7	-0.409169	14.00700
2	6	0.345709	12.01100
3	6	0.088761	12.01100
4	6	-0.179982	12.01100
5	6	0.372727	12.01100
6	8	-0.261547	15.99900
7	8	-0.301784	15.99900
8	8	-0.194415	15.99900
9	6	-0.031173	12.01100
10	6	-0.468287	12.01100
11	16	0.595218	32.06400
12	6	-0.246222	12.01100
13	7	-0.128123	14.00700



Senyawa 14

NET CHARGES AND COORDINATES

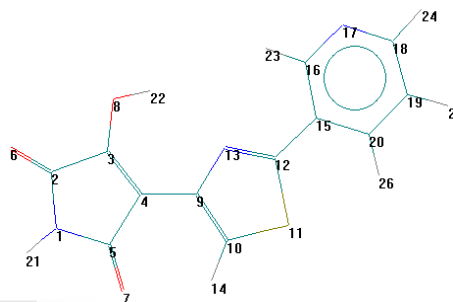
Atom	Z	Charge	Mass
1	7	-0.406971	14.00700
2	6	0.345550	12.01100
3	6	0.093611	12.01100
4	6	-0.187175	12.01100
5	6	0.373159	12.01100
6	8	-0.256107	15.99900
7	8	-0.300858	15.99900
8	8	-0.189663	15.99900
9	6	-0.024188	12.01100
10	6	-0.442931	12.01100
11	16	0.564368	32.06400
12	6	-0.247930	12.01100
13	7	-0.131285	14.00700



Senyawa 15

NET CHARGES AND COORDINATES

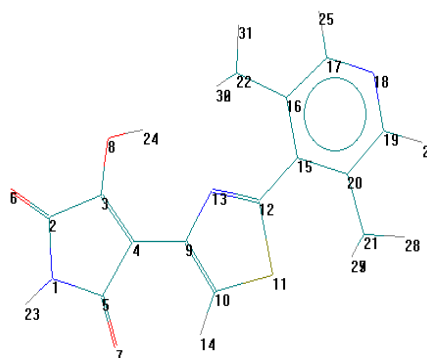
Atom	Z	Charge	Mass
1	7	-0.407370	14.00700
2	6	0.345341	12.01100
3	6	0.094278	12.01100
4	6	-0.187557	12.01100
5	6	0.373150	12.01100
6	8	-0.256451	15.99900
7	8	-0.301452	15.99900
8	8	-0.189221	15.99900
9	6	-0.021428	12.01100
10	6	-0.440748	12.01100
11	16	0.542854	32.06400
12	6	-0.225916	12.01100
13	7	-0.139061	14.00700



Senyawa 16

NET CHARGES AND COORDINATES

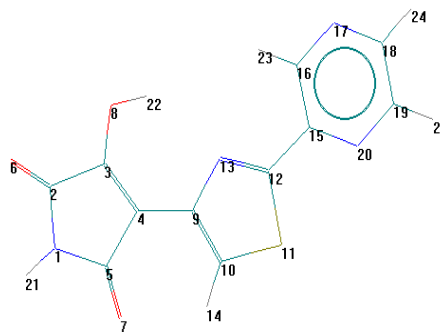
Atom	Z	Charge	Mass
1	7	-0.407890	14.00700
2	6	0.345858	12.01100
3	6	0.090098	12.01100
4	6	-0.183483	12.01100
5	6	0.373120	12.01100
6	8	-0.258092	15.99900
7	8	-0.300317	15.99900
8	8	-0.193630	15.99900
9	6	-0.026161	12.01100
10	6	-0.460864	12.01100
11	16	0.566384	32.06400
12	6	-0.233914	12.01100
13	7	-0.142266	14.00700



Senyawa 17

NET CHARGES AND COORDINATES

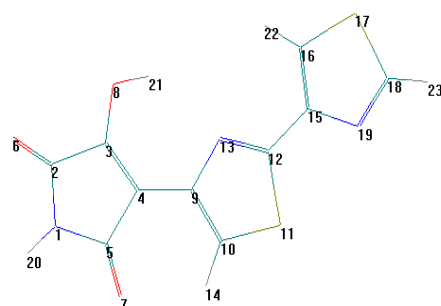
Atom	Z	Charge	Mass
1	7	-0.407435	14.00700
2	6	0.345785	12.01100
3	6	0.090963	12.01100
4	6	-0.184318	12.01100
5	6	0.373100	12.01100
6	8	-0.256885	15.99900
7	8	-0.300741	15.99900
8	8	-0.189673	15.99900
9	6	-0.026274	12.01100
10	6	-0.470899	12.01100
11	16	0.664722	32.06400
12	6	-0.269210	12.01100
13	7	-0.134748	14.00700



Senyawa 18

NET CHARGES AND COORDINATES

Atom	Z	Charge	Mass
1	7	-0.408506	14.00700
2	6	0.346119	12.01100
3	6	0.086565	12.01100
4	6	-0.178473	12.01100
5	6	0.372397	12.01100
6	8	-0.260238	15.99900
7	8	-0.300157	15.99900
8	8	-0.192843	15.99900
9	6	-0.029476	12.01100
10	6	-0.469840	12.01100
11	16	0.643332	32.06400
12	6	-0.230036	12.01100
13	7	-0.141237	14.00700



Tabel 2. Hasil perhitungan muatan atom-atom, momen dipol, energi HOMO, dan energi LUMO dengan metode semiempirik AM1 pada 18 senyawa turunan 4-Subtitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1H-Pirol-2,5-Dion dengan pI_{50} dari referensi

Senyawa	pI_{50}	Muatan atom (coulumb)						
		N1	C2	C3	C4	C5	O6	O7
1	6.75	-0.407523	0.345649	0.091799	-0.184808	0.372845	-0.257481	-0.300699
2	7	-0.407362	0.345607	0.09245	-0.185615	0.372962	-0.257071	-0.300804
3	4.58	-0.409706	0.342901	0.095055	-0.182219	0.375418	-0.25951	-0.302557
4	6.82	-0.407454	0.345724	0.091511	-0.184525	0.372825	-0.257572	-0.300398
5	6.86	-0.407519	0.345632	0.091983	-0.184978	0.372882	-0.257458	-0.300787
6	6.57	-0.406861	0.345546	0.093122	-0.187015	0.372972	-0.256176	-0.300075
7	6.18	-0.407691	0.345818	0.090176	-0.182688	0.372567	-0.258056	-0.300529
8	7.07	-0.40889	0.345534	0.090534	-0.18214	0.373006	-0.260552	-0.302202
9	6.77	-0.408165	0.346255	0.086348	-0.179302	0.372548	-0.25928	-0.299956
10	7.11	-0.407022	0.345666	0.092703	-0.186202	0.373018	-0.256467	-0.300385
11	6.92	-0.40773	0.345719	0.091049	-0.183765	0.372748	-0.25819	-0.300548
12	6.92	-0.409062	0.345958	0.08708	-0.179189	0.37263	-0.260932	-0.300563
13	6.77	-0.409169	0.345709	0.088761	-0.179982	0.372727	-0.261547	-0.301784
14	6.48	-0.406971	0.34555	0.093611	-0.187175	0.373159	-0.256107	-0.300858
15	6.16	-0.40737	0.345341	0.094278	-0.187557	0.37315	-0.256451	-0.301452
16	6.26	-0.40789	0.345858	0.090098	-0.183483	0.37312	-0.258092	-0.300317
17	5.33	-0.407435	0.345785	0.090963	-0.184318	0.3731	-0.256885	-0.300741
18	5.19	-0.408506	0.346119	0.086565	-0.178473	0.372397	-0.260238	-0.300157

Tabel 2. Hasil perhitungan muatan atom-atom, momen dipol, energi HOMO, dan energi LUMO dengan metode semiempirik AM1 pada 18 senyawa turunan 4-Substitusi-Heterosiklik-3-Hidroksi-1H-Pirol-2,5-Dion dengan pI_{50} dari referensi (lanjutan)

Senyawa	Muatan atom (coulumb)						μ	EHOMO	ELUMO
	O8	C9	C10	S11	C12	N13			
1	-0.190706	-0.023334	-0.441485	0.542779	-0.226832	-0.141562	3.061	-8.919061	-1.377569
2	-0.190345	-0.023868	-0.442277	0.551581	-0.236037	-0.137311	3.441	-8.96496	-1.396828
3	-0.193891	-0.020011	-0.33587	0.515848	-0.230736	-0.155135	3.441	-8.871048	-1.366556
4	-0.190802	-0.024415	-0.442835	0.554455	-0.23503	-0.139028	2.75	-8.976923	-1.376682
5	-0.190641	-0.023832	-0.442001	0.546796	-0.231015	-0.13949	3.215	-8.928755	-1.375662
6	-0.189952	-0.02454	-0.443272	0.568114	-0.248755	-0.133375	1.754	-9.138383	-1.450762
7	-0.191341	-0.02792	-0.436898	0.536942	-0.27245	-0.139341	3.86	-9.110156	-1.332595
8	-0.193517	-0.031223	-0.469272	0.606236	-0.259978	-0.12164	5.29	-8.839404	-1.251089
9	-0.192198	-0.029221	-0.471989	0.624179	-0.264926	-0.139568	3.229	-8.93959	-1.315795
10	-0.189997	-0.023299	-0.442586	0.559594	-0.240381	-0.136651	2.125	-9.017885	-1.442124
11	-0.191216	-0.024805	-0.443042	0.550427	-0.230355	-0.140164	3.327	-8.891443	-1.344438
12	-0.195832	-0.027415	-0.461826	0.543655	-0.21119	-0.153126	4.595	-8.750864	-1.222858
13	-0.194415	-0.031173	-0.468287	0.595218	-0.246222	-0.128123	5.191	-8.726911	-1.206245
14	-0.189663	-0.024188	-0.442931	0.564368	-0.24793	-0.131285	2.722	-9.116497	-1.437061
15	-0.189221	-0.021428	-0.440748	0.542854	-0.225916	-0.139061	4.748	-8.990895	-1.388993
16	-0.19363	-0.026161	-0.460864	0.566384	-0.233914	-0.142266	3.134	-9.010864	-1.359487
17	-0.189673	-0.026274	-0.470899	0.664722	-0.26921	-0.134748	4.036	-9.038002	-1.407221
18	-0.192843	-0.029476	-0.46984	0.643332	-0.230036	-0.141237	4.374	-8.810184	-1.258726

Tabel 3.Nilai koefisien statistik masing-masing model

Model HKSA	Nilai koefisien parameter-parameter (variable bebas) terpilih												
	konstanta	qC3	qC5	qO6	qO7	qO8	qC10	qS11	qC12	qN13	μ	ϵ_{HOMO}	ϵ_{LUMO}
1	-651.262	135.080	656.728	-2348.947	461.260	624.128	-68.550	-38.246	-13.586	-1.119	.153	1.464	-39.007
2	-645.976	130.069	669.409	-2318.710	464.660	618.876	-68.152	-38.217	-38.217	*	.151	1.563	-38.589
3	-605.408	104.754	747.464	-1948.103	341.825	577.565	-65.872	-36.520	-15.715	*	*	2.264	-31.061
4	-584.285	11.161	419.200	-1914.484	*	527.017	-61.227	-35.475	-11.974	*	*	1.837	-34.435
5	-604.101	*	478.274	-1920.927	*	543.635	-62.028	-35.942	-11.796	*	*	1.792	-34.334
6	-721.646	*	590.850	-2217.634	*	647.561	-66.165	-37.086	-5.543	*	*	*	-36.660

Keterangan: * = bukan parameter yang masuk dalam model

Tabel 4. Data Parameter Statistik (nilai r, R^2 , *adjusted* R^2 , F dan SE)

No	Deskriptor	r	R^2	Adj R	F_{hitung}	F_{tabel}	$F_{\text{hit}}/F_{\text{tab}}$	SE	PRESS
1	qC3 qC5, qO6, qO7, qO8, qC10, qS11, qC12,qN13, μ , ϵ_{HOMO} , ϵ_{LUMO}	0,991	0,983	0,879	9,118	19,41	4,98	0,26279	0,2569
2	qC3,qC5, qO6,qO7,qO8, qC10, qS11, qC12, μ , ϵ_{HOMO} , ϵ_{LUMO}	0,992	0,983	0,920	15,556	8,73	1,78	0,21458	0,2569
3	qC3,qC5,qO6,qO7,qO8,qC10,qS11,qC12, ϵ_{HOMO} , ϵ_{LUMO}	0,991	0,982	0,938	22,217	5,96	3,72	0,18827	0,4236
4	qC3,qC5, qO6,qO8, qC10, qS11, qC12, ϵ_{HOMO} , ϵ_{LUMO}	0,991	0,981	0,948	29,314	4,78	6,13	0,17269	0,4321
5	qC5, qO6,qO8, qC10, qS11, qC12, ϵ_{HOMO} , ϵ_{LUMO}	0,991	0,981	0,956	39,443	4,15	9,50	0,15790	0,4122
6	qC5, qO6,qO8, qC10, qS11, qC12, ϵ_{LUMO}	0,990	0,979	0,959	47,711	3,97	12,5	0,15333	0,1921

R^2 = kuadrat koefisien korelasi regresi multiliniar

SE = rerata standar error