

**METODE STATISTIK *PRINCIPAL COMPONENT REGRESSION*
DALAM ANALISIS HUBUNGAN KUANTITATIF STRUKTUR DAN AKTIVITAS
PENGHAMBAT LIPOKSIGENASE SENYAWA TURUNAN KURKUMIN**

Didi Nurhadi

Dosen Fakultas Teknik Program Studi Teknik Industri Universitas Pamulang
dosen01190@unpam.ac.id

ABSTRAK

Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktivitas (HKSA) pada suatu seri senyawa turunan kurkumin telah dikaji dengan menggunakan data muatan bersih atom hasil perhitungan semi empirik AM1 dengan pendekatan Principal Component Regression PCR. Pengkajian dilakukan terhadap data aktivitas antiinflamasi yang menghambat lipoksigenase ($\log(1/IC_{50})$) sebagai fungsi linear dan variable laten (T_x) hasil transformasi data muatan bersih atom menggunakan Principal Component Analysis (PCA). Persamaan HKSA ditentukan berdasar kontribusi komponen yang terpilih dan selanjutnya dianalisis dengan pendekatan Model persamaan HKSA yang diperoleh adalah: $\log(1/IC_{50}) = -0,669 - 1,816.T_1 + 1,697.T_2 - 3,643.T_3$ Persamaan tersebut mempunyai tingkat kepercayaan 95 % dengan parameter statistik $n = 9$, $r^2 = 0.700$, $SE = 0,355$, $F_{hitung}/F_{tabel} = 1,19$ dan $PRESS = 0,082$.

Kata kunci : *HKSA, kurkumin, lipoksigenase, PCA, muatan bersih atom*

I. PENDAHULUAN

Salah satu aplikasi dari penggunaan kimia komputasi dalam bidang kimia medisinal adalah kajian analisis hubungan kuantitatif struktur aktivitas. Kajian ini menerapkan kajian khemometri terhadap satu seri senyawa dengan struktur induk tertentu data hasil perhitungan kimia komputasi yang dikaitkan dengan suatu data aktivitas biologis (Kokpol dkk., 1988, Rode dkk., 1989). Pendekatan kuantum menyatakan bahwa struktur kimia obat dapat dihubungkan secara matematis dengan aktivitas biologi disebut juga Analisis Kuantitatif Struktur Aktivitas. Asumsi mendasar dari HKSA adalah bahwa terdapat hubungan kuantitatif antar sifat mikroskopis (struktur molekul) dan sifat makroskopik/empirik (aktivitas biologis) dari suatu molekul (Lee dkk., 1996).

Kajian HKSA banyak teknik statistik yang dapat digunakan dan mampu memberikan hasil yang memuaskan. Metode dasar yang sangat populer adalah metode analisis regresi yaitu suatu metode yang mengkorelasikan beberapa variabel bebas X dengan variabel tidak bebas Y (Kubinyi, 1993). Pada prosedur desain obat setelah selesai mendapatkan model persamaan atau

hubungan matematis antara aktivitas dan parameter prediktor kemudian harus dilakukan pengujian terhadap keakuratan model tersebut untuk memprediksi molekul yang lain. Dengan demikian diperlukan dua set data molekul, yang pertama digunakan untuk melakukan *fitting* untuk mendapatkan model persamaan dan yang kedua untuk menguji akurasi model tersebut (Daniel dan Wood, 1980).

Pengembangan desain obat terus dilakukan diantaranya senyawa kurkumin. Kurkumin dikenal mempunyai aktivitas biologi yang luas antara lain sebagai antioksidan, antihephtotoksik, sithotoksik, antiinflamasi dan antirematik (Tonnessen, 1986). Senyawa turunan kurkumin yang telah disintesis oleh Nurfina (1994) mempunyai aktivitas sebagai antiinflamasi penghambat pembentukan lipoksigenase. Kombinasi perubahan posisi substituen hidroksi, metoksi dan metil pada cincin fenil senyawa turunan kurkumin menentukan aktivitas sebagai anti inflamasi. Substituen pada cincin fenil diperkirakan memegang peranan dalam aktivitas antiinflamasi senyawa turunan kurkumin (Nurfina, 1994).

Berbagai penelitian tentang penggunaan deskriptor kimia kuantum dalam studi HKSA telah banyak dilaporkan, yang memberikan hasil dengan baik (Tahir, 2000; Sudarmanto, 2002). Sifat fisikokimia yang dihitung dalam kimia kuantum semi empiris tersebut dapat diterapkan dalam analisis HKSA antiinflamasi turunan kurkumin, ditetapkan dengan menghitung korelasi antara aktivitas biologinya dengan parameter fisikokimia yang ada pada kedua cincin aromatik. Adanya hubungan aktivitas biologis dan struktur elektronik, beberapa penelitian telah melaporkan hubungan kuantitatif yang bersifat linear (Kokpol dkk., 1988; Tahir, 2000; Cho, 2003; Yuliana, 2004). Berdasarkan hal tersebut maka penelitian ini dipelajari pola hubungan antara aktivitas antiinflamasi penghambat lipoksigenase dengan struktur elektronik yang mengikuti hubungan linearistik.

II. DASAR TEORI

A. Perhitungan kimia kuantum

Persamaan Schroedinger

Setiap orbital molekul menerapkan prinsip-prinsip mekanika kuantum dari sistem kimia berupa deskripsi matematika dari struktur atom atau struktur molekul dengan suatu model yang menggambarkan inti dan distribusi elektron yang mengelilingi inti. Hal itu bisa diperoleh dengan menyelesaikan persamaan Schroedinger tidak tergantung waktu yang mengikuti persamaan:

$$\hat{H}\psi = E\psi \dots\dots\dots (1)$$

Tanda ψ menyatakan fungsi gelombang yang menjabarkan koordinat pada ruang kartesian dari partikel-partikel dalam sistem dalam keadaan partikuler. \hat{H} adalah notasi operator Hamiltonian berupa fungsi matematis yang digunakan untuk menjabarkan energi kinetik (\hat{T}) dan energi potensial (\hat{V}) dari sistem elektron dan inti. E adalah eigenvalue yang berkaitan dengan energi sistem pada keadaan tersebut.

Persamaan (1) tersebut bisa diselesaikan secara eksak untuk sistem dua partikel, itupun dengan mengabaikan efek relativitas. Untuk sistem elektronik yang lebih kompleks maka diperlukan beberapa

pendekatan untuk dapat menyelesaikan persamaan tersebut. Pendekatan tersebut meliputi Fungsi gelombang dinyatakan sebagai representasi sistem dalam keadaan stasioner terhadap waktu dan hanya tergantung pada susunan partikel pada sistem secara spasial. Gerakan inti harus diabaikan relatif terhadap gerakan elektron. Digunakan pendekatan Born-Oppenheimer berupa pemisahan sistem gerakan inti dan elektron, sehingga fungsi gelombang terkait menjadi

$$\Psi_{e,n} = \chi_n \psi_e \dots\dots\dots(2)$$

Dengan demikian, penyelesaian persamaan Schroedinger menjadi:

$$\hat{H}_e(R_n)\psi(r_e) = E_e(R_n)\psi(r_e) \dots\dots\dots(3)$$

Persamaan Hamiltonian elektronik yang menjabarkan gerakan n elektron pada terhadap medan buatan sebanyak N titik dapat dituliskan sebagai berikut.

$$\hat{H} = -\frac{1}{2} \sum \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^n \sum_{A=1}^N \frac{Z_A}{[R_A - r_i]} + \sum_{1 < j}^n \frac{1}{r_{ij}} \dots\dots\dots(4)$$

Simbol ∇^2 merupakan operator Laplace yang menggambarkan hubungan diferensial terhadap koordinat yang terkait dengan elektron i dan dinyatakan dalam hubungan :

$$\nabla_i^2 = \frac{\partial^2}{\partial x_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial y_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial z_i^2} \dots\dots\dots(5)$$

Pada persamaan (4) notasi Z_A menyatakan nomor atom A, R_A menyatakan jarak antar inti-inti, r_i menyatakan jarak antara elektron-elektron, dan r_{ij} menyatakan jarak elektron i ke j.. Energi total dari penyelesaian ini diperoleh dari penjumlahan energi tolakan inti pada energi elektronik : $E_{total} = E_e + E_n$ dengan :

$$E_n = \sum_{A < B}^N \frac{Z_A Z_B}{[R_A - R_B]} \dots\dots\dots (6)$$

Untuk melengkapi keterangan tentang elektron, maka perlu dijelaskan tentang spin elektron. Hasil dari fungsi satu elektron merupakan suatu orbital spin. Fungsi gelombang lengkap tidak hanya diperoleh dari persamaan Schroedinger, tetapi juga harus merupakan suatu anti simetri terhadap perubahan koordinat untuk setiap dua elektron. Prinsip ini dikenal

sebagai prinsip antisimetris dan secara umum dinyatakan sebagai asas ekklusi Pauli.

Fungsi gelombang asimetris paling sederhana, di mana dapat digunakan untuk menjabarkan keadaan dasar untuk sistem 2n elektron dengan 2 elektron untuk tiap orbital ψ_i (sistem kulit tertutup), yang dapat ditulis dalam bentuk determinandengan α dan β adalah fungsi spin. Determinan dari orbital ini disebut orbital Slater dan sering ditulis dalam ringkas dalam bentuk:

$$\psi(1,2...3) = \frac{1}{\sqrt{2n!}} [\psi_1(1)\alpha(1)\psi_1(2)\beta(2)... \psi_n(2n)\beta(2n)] \quad (9)$$

lebih sederhana lagi dalam bentuk

$$\psi(1,2...2n) = \frac{1}{\sqrt{2n!}} |\psi_1 \bar{\psi}_1 \dots \psi_n \bar{\psi}_n| \quad (10)$$

orbital spin tersebut sesuai dengan persamaan

$$\psi_i = \sum c_{\mu,i} \phi_{\mu} \quad i=1,2,...,k \quad \dots\dots(11)$$

dimana $c_{\mu,i}$ adalah koefisien kombinasi linear dan Φ_{μ} merupakan himpunan orbital atom (fungsi basis). Penjabaran tersebut dikenal sebagai kombinasi linear orbital atom menjadi orbital molekul (*Linear Combination of Atomic Orbital to Molekul = LCAO-MO*). Untuk penyelesaian perhitungan numerik dari orbital molekul, digunakan bentuk analitik dari orbital atom untuk tiap tipe atom dari molekul. Slater merumuskan bentuk fungsi berikut,

$$\phi = N r^{n-1} \exp(-\xi r) Y_{\theta,\phi}^{l,m} \quad \dots\dots (11)$$

dimana ξ adalah orbital eksponensial dari bilangan kuantum utama dan $Y_{\theta,\phi}^{l,m}$ adalah harmonik sferis. Tipe fungsi tersebut disebut sebagai orbital type Slater (*Slater-Type Orbital=STO*). Bentuk orbital yang lain adalah orbital type Gaussian (*Gaussian-Type Orbital =GTO*) yaitu :

$$\phi = N \exp(-\xi r^2) Y_{\theta,\phi}^{l,m} \quad \dots\dots(12)$$

dalam bentuk tersebut maka integral elektron-elektron dapat dievaluasi dengan lebih mudah.

B. Metode semi empirik AM 1 (Autian Model)

Metode AM1 fungsi Gaussian digunakan untuk menggambarkan tolak-menolak sekaligus tarik-menarik antara dua atom sehingga persamaan yang digunakan

pada metode ini menyatakan jumlah energi yang timbul antara dua atom E_{AB} , dinyatakan sebagai:

$$E_{AB} = E_{MINDO} + \frac{Z_A}{Z_B} \left\{ \sum_i K_{Ai} \exp[-L_{Ai}(R_{AB} - M_{Ai})] + \sum_j K_{Bj} \exp[-L_{Bj}(R_{AB} - M_{Bj})] \right\} \quad \dots\dots(13)$$

L adalah fungsi Gaussian sferis dalam bentuk determinan K dan M adalah parameter-parameter optimasi untuk kedua atom, Z_A dan Z_B adalah muatan inti pada atom A dan atom B sedangkan R_{AB} adalah jarak kedua atom.

Untuk menyelesaikan persamaan Schrodinger maka digunakan penyederhanaan metode yang meliputi: Elektron yang dilibatkan adalah elektron valensi, integral untuk interaksi tertentu diabaikan dan Fungsi orbital yang dipakai adalah fungsi orbital elektron standar dan tak teroptimasi. Hasil yang diperoleh dari perhitungan semi empirik AM1 adalah sifat-sifat elektronik, geometri teroptimasi, total energi dan panas pembentukan molekul senyawa yang bersangkutan yang merupakan parameter-parameter yang dapat digunakan dalam analisis HKSA. Metode AM1 sangat berguna untuk senyawa-senyawa organik (C, H, O, N) dan untuk unsur-unsur yang telah diparameterisasi lainnya yaitu pada periode kedua (Li, Be, B, F), atom-atom halogen (F, Cl, Br, I) serta atom-atom Al, Si, P, Sn, Hg, dan Pb (Dewar dkk, 1985). Analisis populasi Mulliken merupakan metode yang sering diterapkan dalam penentuan muatan atom. Distribusi kepadatan elektron merupakan kebolehhajian menempatkan sebuah elektron dalam elemen volume dr dinyatakan

$$\text{sebagai: } p(r) = \sum_{\mu}^N \sum_{\nu}^N P_{\mu\nu} \phi_{\mu} \phi_{\nu} \quad \dots\dots (14)$$

Pengintegrasian pada seluruh ruang yang ditinjau menghasilkan jumlah total elektron.

$$\int p(r) = \sum_u^N \sum_v^N P_{uv} S_{uv} = n \quad (15)$$

Persamaan (15) dapat dipisahkan menjadi dua suku yaitu diagonal dan nondiagonal. Suku pertama menyatakan total populasi dari orbital dari basis dan suku kedua menyatakan populasi tumpang tindih.

$$\sum_u^N P_{uv} + 2 \sum_v^N \sum_v^N P_{uv} S_{uv} = n \tag{16}$$

P_{uv} adalah total populasi dari ϕ_{μ} : $\phi_{\mu v} = 2P_{\mu v}S_{\mu v}$ merupakan populasi tumpang tindih dari ϕ_{μ} dan ϕ_{ν} dalam prosedur populasi Mulliken. Tumpang tindih dianggap sebagai penggunaan persamaan yang menggambarkan dalam muatan yang bergantung pada setiap orbital basis.

$$q_p = P_{uv} + \sum_{\mu \neq \nu} P_{\mu \nu} S_{\mu \nu}$$

C. Principal Componen Analisis (PCA)

PCA ini bertujuan untuk variabel dengan pengambilan sekecil mungkin jumlah komponen yang terhitung dari seluruh kombinasi data variabel awal dan untuk merangkum data dengan kehilangan informasi sekecil mungkin. PCA merupakan suatu penyederhanaan struktur dan dimensi yang cukup besar. Hal ini juga berlaku pada variabel yang cukup banyak sehingga diperlukan pengelompokkan dengan menggunakan kategori variabel-variabel yang mempunyai karakteristik hampir sama. Sebagai contoh sebanyak p variabel asal X yaitu $X_1, X_2, X_3, \dots, X_p$ dimana diambil asumsi sebagai beriku

$$X \sim N_p(U, \Sigma), X = (X_1, X_2, X_3, \dots, X_p) \\ E(X) = U, Cov(X) = \Sigma \tag{18}$$

Penelitian terhadap N individu dimana setiap individu akan diselidiki sebanyak p buah variabel maka pengamatan tersebut dapat dituliskan sebagai matrik berukuran N x p seperti:

$$X = \begin{bmatrix} X_{11} & X_{12} & \dots & X_{1p} \\ X_{21} & X_{22} & \dots & X_{2p} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ X_{N1} & X_{N2} & \dots & X_{Np} \end{bmatrix} \tag{19}$$

Dari matrik varians kovarian dapat diturunkan akar karakteristik yaitu $\lambda_1 \geq \lambda_2 \geq \lambda_3 \geq \dots \geq \lambda_p \geq 0$ dengan vektor karakteristik padanannya $\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3, \dots, \alpha_p$. Penyusutan variabel asal X dengan Variabel baru Y dapat diformulasikan sebagai berikut:

$$Y = \alpha_{11}X_1 + \alpha_{12}X_2 + \dots + \alpha_{p1}X_p \\ Y = \alpha_{12}X_2 + \alpha_{22}X_2 + \dots + \alpha_{p2}X_p \\ Y = \alpha_{1p}X_1 + \alpha_{22}X_2 + \dots + \alpha_{pp}X_p \tag{20}$$

Pemilihan α dilakukan agar $Var(Y) = \alpha' \Sigma \alpha$ maksimum dan $\alpha' \alpha = 1$, dapat ditentukan dari persamaan $(\Sigma - \lambda I)\alpha = 0$, untuk menyelesaikan persamaan tersebut digunakan fungsi Langrange atau tepatnya metode penggandaan Langrange yang dapat dirumuskan pada:

$$Y = \alpha' \Sigma \alpha - \lambda (\alpha' \alpha - 1) \tag{21}$$

Dengan maksimum persamaan 21 maka akan diperoleh komponen utamanya.

Komponen utama pertama mampu menerangkan variasi data terbesar sehingga $Var(Y_1) = \lambda_1$ dan kovarians antar masing-masing komponen utama = 0, artinya komponen utama tidak saling berkorelasi. Komponen utama pertama adalah kombinasi linear terbobot variabel asal yang dapat menerangkan keragaman terbesar demikian seterusnya untuk komponen utama yang lain. Total varian data yang mampu diterangkan setiap komponen utama adalah proporsi antara akar karakteristik (λ) komponen tersebut terhadap jumlahan akar karakteristik atau *trace* matrik varian kovarians yang dirumuskan sebagai berikut:

$$Tr \Sigma = \lambda_1 + \lambda_2 + \dots + \lambda_p = \sum_{j=0}^p \lambda_j \tag{22}$$

Dengan demikian maka persentase variasi yang dapat diterangkan oleh komponen utama ke-j adalah:

$$\frac{\lambda_j}{Tr \Sigma} \times 100\% \tag{23}$$

Dalam PCA dari p buah komponen utama yang ada dipilih k komponen yang menjelaskan keragaman data yang cukup tinggi misalnya 80-90 % (Supranto, 2004). Sebagai ilustrasi dicontohkan p berukuran besar dan diketahui 80-90 % keragaman total telah mampu diterangkan oleh satu, dua atau tiga komponen utama yang pertama maka komponen-komponen utama tersebut telah mampu mengganti p buah variabel asal tanpa mengurangi informasi yang banyak. Meskipun tidak ada aturan yang pasti biasanya yang digunakan untuk menerangkan keragaman adalah komponen utama dengan karakter (λ) minimal =1 atau dengan kata lain $\lambda \geq 1$. Harga karakteristik yang lebih kecil dari satu dalam menerangkan keragaman data sangat kecil. Suatu *eigenvalue* menunjukkan besarnya sumbangan

dari faktor terhadap varian seluruh variabel asli. Hanya faktor dengan varian lebih besar dari satu yang dimasukan dalam model. Faktor dengan varian lebih kecil dari satu tidak lebih baik dari asli, sebab variabel asli telah dibakukan yang berarti rata-ratanya nol dan variannya satu (Supranto, 2004).

D. Analisis Regresi Multilinear

Analisis regresi multilinear dalam HKSA menghubungkan variabel bebas X (parameter sifat fisikokimia struktur dalam HKSA disebut prediktor atau deskriptor) dengan variabel tidak bebas Y parameter aktivitas biologi (Kubinyi, 1993). Variabel tidak bebas mengandung suku *error* sedangkan variabel bebas secara ideal disusun untuk tidak mengandung suatu kesalahan apapun (Daniel dan Wood, 1980). Dalam penggunaan deskriptor kimia kuantum pada satu seri senyawa maka kesalahan komputasi dapat dianggap konstan (Karelson dkk., 1996).

Analisis regresi multilinear secara eksak adalah prosedur perhitungan matematis biasa untuk fitting data. Teknik fitting data ini adalah dengan jalan minimisasi harga selisih dari total *random error* (ϵ). Data observasi pada kenyataannya memiliki hubungan antara harga respon sebenarnya dengan harga prediktor yang menurut Daniel dan Wood (1980) dapat dinyatakan sebagai berikut:

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + \dots + b_kx_k + \epsilon \dots (24)$$

ϵ adalah random error. jika Q didefinisikan sebagai $\sum_{j=1}^N \epsilon^2$ maka:

$$Q = \sum_{j=1}^N (y_j - Y_j)^2 = \sum_{j=1}^N (y_j - b_0 - b_1x_{1j} - b_2x_{2j} - b_3x_{3j} - \dots - b_kx_{kj})^2 \dots (25)$$

dan Q harus minimum, kemudian harga diferensial setiap konstanta harus sama

dengan nol $\left(\frac{\partial Q}{\partial b_0}, \frac{\partial Q}{\partial b_1}, \frac{\partial Q}{\partial b_2}, \dots, \frac{\partial Q}{\partial b_n} \right)$

sehingga:

$$\frac{\partial Q}{\partial b_0} = -2 \sum_{j=1}^N (y_j - b_0 - b_1x_{1j} - b_2x_{2j} - b_3x_{3j} - \dots - b_kx_{kj})^2 = 0$$

$$\frac{\partial Q}{\partial b_1} = -2 \sum_{j=1}^N x_{1j} (y_j - b_0 - b_1x_{1j} - b_2x_{2j} - b_3x_{3j} - \dots - b_kx_{kj})^2 = 0$$

$$\frac{\partial Q}{\partial b_2} = -2 \sum_{j=1}^N x_{2j} (y_j - b_0 - b_1x_{1j} - b_2x_{2j} - b_3x_{3j} - \dots - b_kx_{kj})^2 = 0$$

$$\frac{\partial Q}{\partial b_0} = -2 \sum_{j=1}^N x_{ij} (y_j - b_0 - b_1x_{1j} - b_2x_{2j} - b_3x_{3j} - \dots - b_kx_{kj})^2 = 0 \dots (26)$$

Jika persamaan (26) disusun kembali dalam bentuk matriks maka:

$$\begin{bmatrix} N & \sum x_{1j} & \sum x_{2j} & \sum x_{3j} & \dots & \sum x_{kj} \\ \sum x_{1j} & \sum x_{1j}^2 & \sum x_{1j}x_{2j} & \sum x_{1j}x_{3j} & \dots & \sum x_{1j}x_{kj} \\ \sum x_{2j} & \sum x_{1j}x_{2j} & \sum x_{2j}^2 & \sum x_{2j}x_{3j} & \dots & \sum x_{2j}x_{kj} \\ \sum x_{3j} & \sum x_{1j}x_{3j} & \sum x_{2j}x_{3j} & \sum x_{3j}^2 & \dots & \sum x_{3j}x_{kj} \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ \sum x_{kj} & \sum x_{1j}x_{kj} & \sum x_{2j}x_{kj} & \sum x_{3j}x_{kj} & \dots & \sum x_{kj}^2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} b_0 \\ b_1 \\ b_2 \\ b_3 \\ \dots \\ b_k \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \sum y_1 \\ \sum y_j x_{1j} \\ \sum y_j x_{2j} \\ \sum y_j x_{3j} \\ \dots \\ \sum y_j x_{kj} \end{bmatrix} \dots (27)$$

Pemecahan persamaan (26) adalah dengan menggunakan aturan matriks berikut:

$$A \cdot B = C \Rightarrow B = A^{-1} \cdot C$$

Dimana A^{-1} adalah matrik invers dari matrik A. Pada matrik B kita dapat mempunyai semua harga parameter untuk tiap suku di dalam persamaan regresi multilinear. Parameter statistik lain yaitu koefisien korelasi (r) dan standar deviasi (SD) harga F. Harga r adalah suatu ukuran relatif terhadap kualitas model karena harganya tergantung pada semua varians dari prediktor.

dengan $\sum \epsilon^2$ adalah jumlah kuadrat penyimpangan (SSQ) maka:

$$\sum \epsilon^2 = SSQ = \sum (Y_{abs} - Y_{calc})^2 \dots (28)$$

tergantung pada kualitas fitting dan pada derajat kebebasan.

$$SD^2 = \frac{\sum \epsilon^2}{n - k - 1} = \frac{(1 - r^2) S_{yy}}{n - k - 1} \dots (30)$$

A biasanya digunakan tingkat konfidensi 95 % atau 99 %.

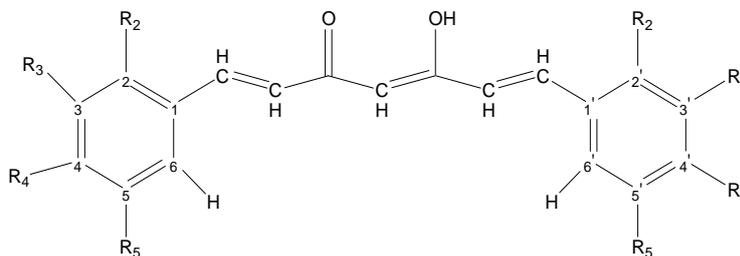
$$F = \frac{r^2(n - k - 1)}{k(1 - r^2)} \dots (31)$$

Harga F adalah perbedaan tingkat signifikan dari model regresi. Signifikasi dari persamaan regresi terjadi jika harga F lebih besar dari batas signifikasi (F_{tabel}) untuk batas konfidensi yang ditentukan. Dalam HKS. Menurut Kubinyi (1993) parameter-parameter r atau r^2 , SD dan F inilah yang digunakan sebagai parameter penentu dalam pengambilan keputusan pada analisis regresi multilinear

III. METODELOGI

Struktur molekul dan aktivitas diperoleh dari literatur hasil eksperimen Nurfina (1994). Terdapat sembilan seri senyawa turunan kurkumin yang telah

disintesis dan memiliki aktivitas antiinflamasi penghambat lipoksigenase yang ditunjukkan pada Tabel 1.



Gambar 1. Struktur senyawa penuntun

Tabel 1. Turunan senyawa kurkumin (Nurfina, 1994)

Senyawa	Substitusi				Penghambat lipoksigenase (log (1/IC ₅₀))
	R ₂ =R ₂ '	R ₃ =R ₃ '	R ₄ =R ₄ '	R ₅ =R ₅ '	
1	H	H	OH	H	0,1739
2	H	OCH ₃	OH	H	0,8301
3	H	OCH ₃	H	H	-16,224
4	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	-16,199
5	H	CH ₃	OH	CH ₃	-0,2553
6	H	C ₂ H ₅	OH	C ₂ H ₅	0,6860
7	H	OCH ₃	OCH ₃	H	-0,0362
8	H	C(CH ₃) ₃	OH	C(CH ₃) ₃	-0,6376
9	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	-0,1135

Alat yang digunakan

Perangkat keras komputer prosesor intel Pentium IV 2,66 GHz, dengan kapasitas memori 256 MB. Perangkat lunak *HyperChem 7.0* untuk melakukan perhitungan kimia kuantum dan mengeksplorasi sifat Fisikokimia. Perangkat lunak *SPSS 13.0 for Windows* untuk melakukan analisis korelasi, PCA dan PCR.

Perhitungan prediktor muatan atom

Untuk semua senyawa yang digunakan dalam penelitian dibuat struktur 3D dengan paket program *HyperChem*. Selanjutnya dilakukan optimasi struktur menggunakan metode semi empirik AM1 dengan batas konvergensi 0,001 kkal/Å.mol. Metode optimasi yang digunakan adalah algoritma *Polak-Ribiere*. Setelah diperoleh struktur paling stabil, data disimpan dengan melakukan menu *star*

log. Setelah itu dilakukan perhitungan *single point* untuk mencatat data perhitungan dan dilakukan *stop log* untuk mengakhiri proses perhitungan. Keluaran data dapat dilihat pada file rekaman (*file.log*). didapat dari hasil perhitungan yang dilakukan. Muatan bersih atom didapat dari hasil

perhitungan yang terekam dalam *file log*.

Analisis HKSA penghambat lipoksigenase senyawa turunan kurkumin

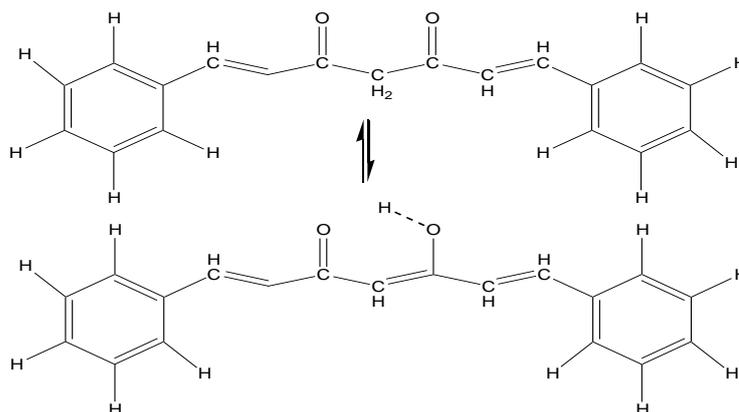
Data yang digunakan meliputi variabel bebas dan variabel tidak bebas. Variabel bebas yaitu muatan atom dari atom-atom C₁, C₂, C₃, C₄, C₅, C₆, C₁', C₂', C₃', C₄', C₅' dan C₆', (Gambar 1) sebanyak sembilan senyawa turunan kurkumin (Tabel 1) yang mempunyai aktivitas antiinflamasi penghambat lipoksigenase. Variabel tidak bebas yaitu aktivitas

lipoksigenase ($\log(1/IC_{50})$) senyawa turunan kurkumin. Semua variabel dihitung korelasinya menggunakan korelasi *bivariat* untuk mengetahui nilai korelasi dari semua variabel. Semua variabel bebas muatan bersih atom dinalisis PCA untuk menentukan jumlah komponen matrik yang akan digunakan. Jumlah komponen matrik yang diperoleh digunakan untuk menghitung nilai variabel laten baru. Setelah didapat variabel laten baru dilakukan perhitungan analisis PCR dengan metode *enter*, untuk perhitungan parameter statistik r , r^2 , SE dan F. Dengan menghitung nilai PRESSnya maka dilakukan pengujian model dengan persamaan:

$$PRESS = \sum_i^n (\log 1/IC_{50\text{eksperimen}} - \log 1/IC_{50\text{prediksi}})^2 \dots\dots(32)$$

IV. HASIL PEMBAHASAN

Perhitungan Struktur Elektronik



Gambar 2. Struktur tautomer keto enol

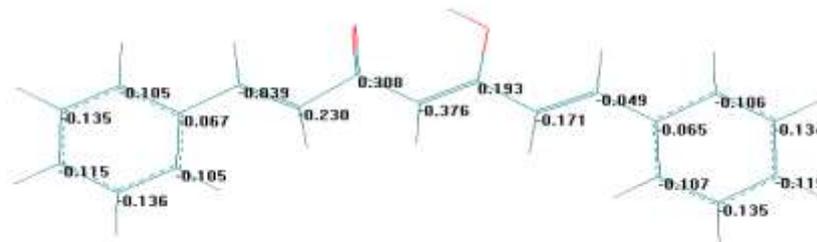
Gambar 2 struktur senyawa induk kurkumin hasil perhitungan *single point*, setelah melalui optimasi geometri menggunakan metode semi empirik AM1. Senyawa induk kurkumin merupakan senyawa yang planar (*plat*), dikarenakan hibridasi sp^2 pada semua atom C pada rangka. Substitusi pada cincin fenil menyebabkan senyawa turunan kurkumin tidak planar namun

Semua seri senyawa turunan kurkumin diperoleh dari literatur (Nurfina, 1994), senyawa yang diambil sebagai senyawa induk adalah *1,7-bis-(fenil)-1,6-heptadien-3,5-dion* senyawa kurkumin yang tidak memiliki substituen pada cincin fenil. Pemodelan molekul dilakukan dalam bentuk taotomer enol sesuai dengan hasil analisis eksperimen Nurfina (1994). Dari studi terhadap kurkumin diperoleh hasil bahwa entalpi pembentukan (ΔH_f) bentuk tautomer enol lebih rendah daripada entalpi pembentukan (ΔH_f) bentuk tautomer keto (Gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa kurkumin sebagai tautomer enol lebih stabil daripada sebagai tautomer keto (Istyastono dkk., 2003). Senyawa induk kurkumin menunjukkan bahwa entalpi pembentukan (ΔH_f) bentuk tautomer enol lebih rendah dibandingkan dalam bentuk tautomer keto. Hasil optimasi senyawa induk kurkumin sebagai bentuk enol memiliki energi pembentukan (ΔH_f) 9,7 kkal/mol.

sebagai bentuk taotomer enol maka struktur turuanan senyawa kurkumin akan mempertahankan keplanarannya. Selain hibridasi sp^2 pada semua atom C pada rangka struktur induk, faktor keberadaan ikatan hidrogen antara O karbonil dan gugus OH akan menyebabkan terbentuk cincin beranggota enam. Dengan penambahan substitusi pada R_1 , R_2 , R_3 dan R_4 cincin

fenil oleh gugus hidroksi metoksi, metil, dan isopropil tidak merubah bentuk

geometri rangka.



Gambar 3 Struktur teroptimasi

Gambar 3 dengan substitusi simetris pada kedua cincin fenil. Hal ini dapat mengakibatkan perubahan berbagai prediktor yang dimiliki tiap senyawa. Aktivitas hubungan aktivitas antiinflamasi penghambat lipoksigenase turunan kurkumin menunjukkan pengaruh adanya gugus hidroksi pada posisi 4, dan 4', metoksi pada posisi 3 dan 3' pada kedua cincin fenil (Rao, 1982, Mukhopadhyay, 1982). Substituen pada cincin fenil diduga memegang peranan penting dalam proses aktivitas antiinflamasi (Nurfina, 1994). Muatan atom tersebut merupakan muatan bersih dari seri senyawa turunan kurkumin, dengan perbedaan pada substituen R₂, R₃, R₄ dan R₅ pada cincin fenil secara simetris. Setelah penambahan substituen pada kedua cincin terjadi perubahan muatan pada atom C cincin fenil. Keberadaan gugus seperti OH dan OMe, mempunyai pengaruh imbasan karena menarik elektron.

Korelasi variabel bebas muatan bersih atom dengan aktivitas penghambat lipoksigenase

Dari tabel korelasi terlihat adanya keeratan korelasi antar variabel muatan bersih atom, keeratan korelasi antar variabel muatan bersih ditunjukkan dengan harga mutlak korelasi mendekati angka satu. Harga korelasi negatif menunjukkan keterkaitan secara negatif, artinya variabel satu berbanding terbalik dengan variabel lainnya. Apabila dikaitkan hubungan antara aktivitas antiinflamasi penghambat lipoksigenase ($\log (1/IC_{50})$) dengan dengan variabel

bebas (muatan bersih) korelasi tertinggi adalah variabel qC_2 , qC_1' , dan qC_4' dengan harga korelasi erturut-turut 0,6780, 0,6785 dan 0,6855. Dari ketiga korelasi tertinggi variabel bebas yang berpengaruh cukup besar terhadap aktivitas $\log (1/IC_{50})$ antiinflamasi penghambat lipoksigenase adalah qC_4' , untuk korelasi lainnya menunjukkan menunjukkan efek multikolinearitas.

kedudukan *orto* dan *para* dapat memberi pengaruh mesomeri dan bersifat sebagai penarik elektron. Keberadaan substituen tersebut menyebabkan terjadinya pengurangan induksi muatan parsial. Substituen OH mempunyai efek induksi dan resonansi pada cincin fenil, gugus OH menyebabkan muatan netto atom atom C pada posisi *orto* dan *para* dalam cincin fenil lebih negatif. Keberadaan kurkumin dan turunannya sebagai *tautomer enol* menyebabkan ada perbedaan muatan atom karbon pada kedua cincin fenil yang merupakan bayangan cermin. Muatan atom qC_1' , qC_3' , dan qC_5' (cincin yang terkonjugasi dekat gugus enol) lebih positif dibandingkan dengan qC_1 , qC_3 , dan qC_5 (cincin terkonjugasi dekat dengan gugus karbonil), untuk muatan qC_2' , qC_4' , dan qC_6' lebih negatif dibandingkan dengan qC_2 , qC_4 , dan qC_6 (Gambar 3). Muatan atom pada rantai tengah tidak digunakan sebagai deskriptor pada studi HKSA.

Analisis HKSA antiinflamasi penghambat lipoksigenase

Variabel bebas yang digunakan adalah muatan bersih atom senyawa turunan

kurkumin, senyawa 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 dan 9. Muatan bersih atom sebagai

prediktor merupakan hasil perhitungan semi empirik AM1 (Tabel 2).

Tabel 2 Muatan atom senyawa turunan kurkumin

Senyawa	Muatan atom (coulomb)											
	qC ₁	qC ₂	qC ₃	qC ₄	qC ₅	qC ₆	qC ₁ '	qC ₂ '	qC ₃ '	qC ₄ '	qC ₅ '	qC ₆ '
1	-0,1034	-0,0717	-0,1626	0,0947	-0,2212	-0,0648	-0,1011	-0,0726	-0,1616	0,0948	-0,2201	-0,2468
2	-0,0665	0,1100	0,0608	0,0268	-0,1852	-0,1036	-0,0640	-0,1113	0,0620	0,0268	-0,1840	-0,1054
3	-0,0353	-0,1333	0,0740	-0,1899	-0,1013	-0,1416	-0,0327	-0,1346	0,0751	-0,1901	-0,0999	-0,1436
4	-0,0149	-0,1567	0,0987	-0,0284	0,0829	-0,2072	-0,0128	-0,1578	0,0998	-0,0287	0,0842	-0,2098
5	0,0963	-0,0809	-0,0948	0,0966	-0,1559	-0,0709	-0,0940	-0,0819	-0,0937	0,0966	-0,1546	-0,0727
6	-0,0976	-0,0852	-0,0935	0,1015	-0,0717	-0,1527	-0,0954	-0,0861	-0,0924	0,1015	-0,1514	-0,7337
7	-0,0774	-0,1007	0,0428	0,0470	-0,1877	-0,0957	-0,0749	-0,1022	-0,0444	0,0464	-0,1863	-0,0978
8	-0,0733	-0,1039	-0,0754	0,0705	-0,1044	-0,0743	-0,1059	-0,0795	-0,0882	0,1139	-0,0733	-0,1039
9	-0,0377	-0,1357	0,0817	0,0097	-0,1764	0,0266	-0,0354	-0,1368	0,0828	0,0097	0,0280	-0,1783

Analisis Principle Component Analysis

Hasil analisis PCA disajikan pada Tabel 4. Komponen 1, 2, dan 3, dengan nilai karakteristik masing-masing 6,231, 1,982 dan 1,381 dengan persentase keragaman sebesar 51,913 %, 16,521 % dan 11,507 %. Dari hasil tersebut disimpulkan bahwa tiga komponen utama dapat menerangkan keragaman data sebesar kumulatif 79,941. Harga karakteristik yang lebih kecil dari satu dalam menerangkan keragaman data sangat kecil (Supranto, 2004).

Tabel 4. Hasil analisis PCA

Komponen	Initial eigenvalues		
	Akar	%	%
	karakteristik	Keragaman	Kumulatif
1	6,23	51,913	51,913
2	1,982	16,521	68,434
3	1,381	11,507	79,941
4	0,936	7,802	87,743
5	0,838	6,98	94,723
6	0,402	3,353	98,076
7	0,161	1,34	99,416
8	0,07	0,584	100

Tabel 5. Bobot muatan tiap komponen uji

Muatan	Bobot muatan komponen		
	1	2	3
qC ₁	0,2190	0,1800	0,7320
qC ₂	-0,3590	0,4050	0,5540
qC ₃	0,8990	-0,2660	-0,1610
qC ₄	-0,8260	-0,1520	0,2240
qC ₅	0,5850	0,7240	0,1480
qC ₆	0,3520	0,6660	0,3350
qC ₁ '	0,9740	0,0500	-0,0130
qC ₂ '	-0,9780	0,0140	0,0110
qC ₃ '	0,9000	0,2640	-0,1670
qC ₄ '	-0,8360	0,1520	0,2400
qC ₅ '	0,8010	-0,2290	0,3950
qC ₆ '	0,2040	0,7600	0,2950

Tabel 6. Variabel laten T senyawa uji.

Senyawa	Variabel laten		
	T ₁	T ₂	T ₃
1	-0,8067	-0,3547	-0,1885
2	-0,1824	-0,1955	-0,0923
3	0,4711	-0,3721	-0,2627
4	0,3698	-0,3330	-0,0920
5	-0,4963	-0,1620	0,0199
6	-0,5946	-0,6937	-0,3784
7	-0,1983	-0,2831	-0,2034
8	-0,4706	-0,1746	-0,1103
9	0,1451	-0,3107	-0,2029

Analisis Principle Component Resregion

Analisis PCA dihasilkan suatu variabel bebas baru (variable laten, T) yang merupakan hasil transformasi dari variabel bebas yang memiliki korelasi yang kuat menjadi variabel bebas baru yang tidak saling berkorelasi kuat.

Tabel 7. Hasil analisis PCR

Parameter	n	r	r ²	SE	F _{hitung} /F _{tabel}	PRESS
T ₁ T ₂ T ₃	9	0,837	0,700	0,355	1,199	0,082

Hasil analisis PCR antiinflamasi senyawa turunan kurkumin sebagai penghambat lipoksigenase pada tabel 7., data parameter statistik r dan r² mendekati 1, yaitu r =0,837 dan r²= 0,700, menyatakan bahwa perubahan aktivitas log (1/IC₅₀) penghambat lipoksigenase satu seri senyawa turunan kurkumin sebesar 83,7 % diakibatkan oleh adanya perubahan struktur elektronik dalam hal variabel laten T.

Pemasukan variabel terpilih yang tidak cocok kedalam persamaan akan mengakibatkan harga SE semakin meningkat. SE dari model persamaan yang dihasilkan relatif kecil yakni 0,355. Harga SE yang kecil menyatakan bahwa penyimpangan data yang sangat kecil atau dapat dikatakan bahwa signifikasi data tinggi.

Dari uji F menunjukkan persamaan ini memenuhi syarat signifikan pada tingkat kepercayaan 95 % sebagaimana ditunjukkan oleh rasio F_{hitung}/F_{tabel}, yang berharga lebih dari 1 yaitu 1,199, ini berarti H₁ diterima pada tingkat kepercayaan 95 %. Parameter r, r², SE dan F secara statistik telah mencukupi tetapi belum

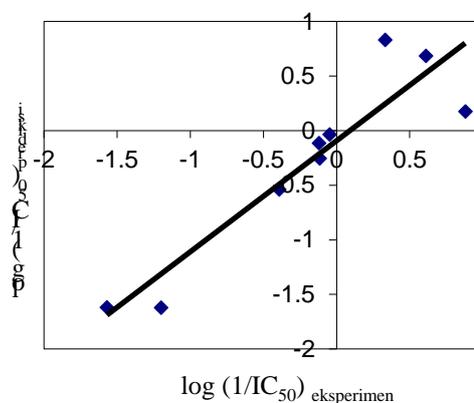
dapat memberikan gambaran yang nyata tentang kemampuan prediksi dari persamaan yang dihasilkan. Model persamaan HKSA yang diperoleh dari hasil analisis PCR menggunakan metode *enter* adalah:

$$\log(1/IC_{50}) = -0,669 - 1,816.T_1 + 1,697.T_2 - 3,643.T_3 \tag{44}$$

Dari model persamaan HKSA aktivitas prediksi senyawa turunan kurkumin dapat ditentukan. Aktivitas prediksi hasil HKSA disajikan pada Tabel 8. Korelasi antara aktivitas log (1/IC₅₀) eksperimen dan prediksi penghambat lipoksigenase untuk model persamaan HKSA disajikan Gambar 4.

Tabel 8. log (1/IC₅₀) prediksi dan log (1/IC₅₀)_{eksperimen}

Senyawa	log (1/IC ₅₀)	
	Prediksi	Eksperimen
1	0,8801	0,1739
2	0,3333	0,8301
3	-1,1989	-1,6224
4	-1,5703	-1,6199
5	-0,1149	-0,2553
6	0,6120	0,6806
7	-0,0484	-0,0362
8	-0,3910	-0,5376
9	-0,1208	-0,1135



Gambar 4. Korelasi antara prediksi dan eksperimen

Harga PRESS yang dihasilkan relatif kecil yaitu 0,082. Harga PRESS kecil menyatakan bahwa nilai aktivitas antiinflamasi eksperimen dengan aktivitas prediksi menggunakan model HKSA yang baik untuk memprediksikan

aktivitas antiinflamasi senyawa turunan kurkumin.

IV. KESIMPULAN

1. Muatan atom bersih pada struktur senyawa turunan kurkumin hasil perhitungan metode semi empirik AM1 dapat digunakan sebagai prediktor dalam kajian HKSA senyawa turunan kurkumin.
2. Metode PCA dapat digunakan untuk pemilihan variabel laten pada kajian HKSA anti inflamasi penghambat lipoksigenase sebelum melakukan analisis PCR dengan sensitivitas yang tinggi.
3. Dari analisis HKSA didapat model persamaan antiinflamasi penghambat lipoksigenase:
 $\log(1/IC_{50}) = -0,669 - 1,816.T_1 + 1,697.T_2 - 3,643.T_3$

DAFTAR PUSTAKA

- Daniel, C., and Wood, F.S., 1980, *Fitting Equations to Data*, edisi 2, John Wiley and Sons, New York.
- Cho, S.J., 2003, Computational Study of Mutagen X, *Bul. Korean Chem. Soc.*, 24, 731-732.
- Istyastono, E.P., Supardjan, A.M., dan Pranowo, H.D., 2003, Tautomeri Keto Enol Kurkumin dan Beberapa Turunan Kurkumin Tersubstitusi pada C-4; suatu Kajian Teoritis Berdasar Pendekatan Kimia Komputasi, *Majalah Farmasi Indonesia*, 14, 31-51.
- Kokpol, S.K., Hannongboa, S.V., Thongrit, N., Polman, S., Rode, B.,M., Schwendinger, M.G., 1988, Analysis of Structur Activity Relation for Primaquine Antimalarial Drugs by Quantum Pharmacological Approach, *Analytical Sciences*, vol 4, 565-568.
- Kubinyi, H., 1993, *QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinhem, 68-731.
- Lee, K.W., Kwon, S.Y., Hwang, S., Lee, J.U., and Kim, H., 1996, Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) Study on C-7 Substituted Quinolone, *Bull, Korean Chem. Soc.*, 17, 147-152.
- Mukhopadhyay, A.N., Basu, N., Ghatak, N., and Gujral, P.K., 1982, Antiinflammatory and Irritant Activities of Curcumin Analogues in Rat, *Agent and Action*, 12, 4: 508-515.
- Nurfina, A., 1994, *The Synthesis of Some Symmetrical Curcumin Derivatives and Study of their Antiinflammatory Activities as well as Structure-Activity Relationships*, Desertation, Gadjah Mada University, Yogyakarta.
- Pabon, H.Y.Y., 1964, A Synthesis of Curcumin and Related Compounds, *Rec. Trav. Chem.* 83:379-386.
- Rao, T.S., Basu. N., and Siddiqui, H.H., 1982, Antiinflammatory Activity of Curcumin Analogues, *Indian J. Med. Res.*, 75: 574-578.
- Rode, B.M., Schwendinger M.G., Kokpol, S.U., Hanogboa S.V., Polman S., 1989, Quantum Pharmacological Studies on Antimalarial Drugs, *Monatshefte fuer Chemie Interest, J. Med. Chem*, vol 15 no 1, 17-22.
- Sudarmanto, B.S.A., 2002, *Analisis Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas Seri Senyawa Analog Kurkumin Sebagai Antioksidan Menggunakan Deskriptor Perhitungan Kimia Kuantum*, Tesis

S2, Universitas Gadjah Mada,
Yogyakarta.

Supranto, J., 2004, *Analisis Multivariat Arti dan Interpretasi*, Rineka Cipta, Jakarta.

Tahir, I., 2000, *Hubungan Kuantitatif Struktur Elektronik-Aktivitas Senyawa Turunan N,N-dimetil-2Bromo Fenil Etil Amina Menggunakan Metode Validasi Silang*, Tesis S2 Pasca Sarjana, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Tonnessen. H.H., 1986, *Chemistry Stability and Analysis of Curcumin Naturally Occuring Drug Molecule*, Institute of Pharmacy Universitas Oslo, Oslo, Norway: 13-22.

Yuliana, 2004, *Analisa Hubungan Kuantitatif Struktur Elektronik Dan Aktivitas Antimugen Senyawa Turunan Benzalaseton Menggunakan Pendekatan, Principal Component Analysis*. Tesis S2 Pasca Sarjana, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.