

PENGGUNAAN FRONTIER ORBITAL MOLEKUL SEBAGAI DESKRIPTOR PADA ANALISIS HUBUNGAN KUANTITATIF STRUKTUR AKTIVITAS (HKSA) TOKSIK SENYAWA KHLOROFENOL

Emdeniz

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas

ABSTRACT

Quantitative structure-activity relationship (QSAR) methods have been applied to prediction of the toxicity of certain chemical compound. In this research a QSAR descriptor used frontier molecular orbital (LUMO energy (E_L), HOMO energy (E_H), and band gap (ΔE) and its derivatives were obtained from density functional theory (DFT) (chemical hardness (χ), chemical potential (μ) or absolute electronegativity (χ) and global electrophilicity indeks (ω)). Frontier molecular orbital (E_L and E_H) was calculated by *ab initio* quantum methods. This research found the correlation between the experimental ecotoxicological data of chlorophenols and toxicity prediction were calculated based on the best QSAR equation model of all equation model which have been studied. The best QSAR equation model using parameter LUMO energy (E_L), and global electrophilicity index (ω) as descriptor on QSAR toxic of chlorophenol compounds against *Bacillus* sp TL81 is $-\log IC_{50} = 11,022 - 1,767 E_L - 5,687 \omega$, and it has the coefficient of determination (R^2) = 0,581 and standard deviation (SD) = 0,6111.

Keywords : *Frontier molecular orbital, QSAR toxic, ab initio method, chlorophenols*

PENDAHULUAN

Hubungan kuantitatif struktur aktivitas (HKSA) adalah suatu bentuk representasi matematik dari aktivitas biologi dengan deskriptor struktural dari deret homolog molekul^[1]. Metode ini secara luas telah digunakan untuk memprediksi toksisitas senyawa kimia tertentu. Dalam beberapa tahun belakangan, deskriptor kimia kuantum telah digunakan dalam studi HKSA karena kuantitas kimia kuantum dapat memberikan deskripsi kuantitas akurat dari struktur molekul dan sifat fisikokimia^[2]. Dalam perkembangannya kuantitas kimia kuantum yang digunakan melibatkan teori orbital molekul. Teori ini merupakan teori dasar yang sangat penting serta serbaguna dalam kimia organik. Berdasarkan teori ini telah diungkapkan pola reaktivitas dalam reaksi perisiklik, dapat atau tidaknya berlangsung reaksi perisiklik. Sebagai teori usikan mengkonsentrasikan pada bagaimana interaksi orbital molekul mempengaruhi tingkat energi transisi, serta reaktivitas kimianya. Penggunaan dan pengembangan teori orbital molekul telah

dilakukan oleh beberapa ahli kimia, diantaranya teori frontier orbital molekul dari Fukui^[3].

Diantara beberapa teori kimia kuantum, Teori Fungsi Kerapatan (*Density Functional Theory*) merupakan salah satu teori yang sampai sekarang dianggap paling baik dalam menerangkan struktural molekul. Berdasarkan teori DFT telah diturunkan secara matematik beberapa deskriptor dari nilai frontier orbital molekul yang akan digunakan dalam memprediksi reaktivitas atom-atom dan molekul^[2,4]. Deskriptor tersebut antara lain *chemical hardness* (χ), *chemical potential* (μ), *softness* (S). Semuanya disebut sebagai deskriptor reaktivitas global. Disamping itu, berdasarkan teori DFT juga telah didefinisikan deskriptor untuk mengukur kekuatan elektrofilitas dari molekul yang disebut sebagai indeks elektrofilitas global (ω) sebagai berikut^[4].

$$E_{Homo}(E_H) \approx -I$$

$$E_{Lumo}(E_L) \approx -A$$

$$\Delta E = E_L - E_H$$

$$t = -\frac{E_H + E_L}{2}$$

$$y = \frac{E_H + E_L}{2}$$

$$\xi = \frac{-2}{2y}$$

Keterangan:

- I = potensial ionisasi
 A = affinitas elektron
 μ = potensial kimia
 = elektronegatifitas absolut
 = kekerasan kimia (*chemical hardness*)
 = indeks elektrofilitas global

Metode DFT telah banyak digunakan dalam penelitian HKSA, antara lain untuk sifat toksik derivat klorofenol^[2,4,5,6], aktivitas anti-oksidan^[7], vibrasi fenol^[8,9], energi disosiasi derivat fenol^[10]. Metode ini sampai sekarang masih dinyatakan sebagai metode perhitungan kimia kuantum yang keakuratannya tinggi. Kesulitan dalam menghitung nilai parameter struktural molekul dengan menggunakan metode DFT adalah untuk molekul yang tersusun oleh banyak atom, diperlukan waktu yang relatif lama dan komputer yang mempunyai kemampuan tinggi. Metode DFT sangat cocok digunakan untuk perhitungan untuk molekul yang relatif kecil dengan hasil perhitungan yang akurat atau tingkat ketelitian tinggi. Oleh karena itu perlu diteliti penggunaan metode *ab initio* untuk menghitung nilai parameter struktural molekul, salah satunya untuk frontier orbital. Frontier orbital tersebut akan digunakan untuk menghitung deskriptor reaktivitas global dan indeks elektrofilitas. Metode *ab initio* ini mempunyai tingkat keakuratan relatif baik, walaupun tidak seakurat metode DFT tapi masih jauh lebih baik dibandingkan dengan metode semi empiris. Perhitungan dengan menggunakan metode ini memerlukan waktu yang jauh lebih pendek dibandingkan dengan metode DFT.

Untuk menguji penggunaan deskriptor yang dihasilkan dari perhitungan dengan metode *ab initio* pada analisa HKSA, maka untuk persamaan regresi multilinear pada penelitian ini digunakan aktivitas toksik klorofenol (CPs)

terhadap *Bacillus* sp TL81^[11] sebagai variabel terikat dan parameter frontier orbital (E_H , E_L , *band gap* (E) dan parameter yang diturunkan dari nilai frontier orbital menurut teori DFT (*chemical hardness* (χ), *chemical potential* (μ) atau *absolute electronegativity* (χ) dan indeks elektrofilitas global (χ)) dijadikan sebagai variabel bebas. Variabel bebas ini dihitung dengan menggunakan program kimia kuantum *ab initio* dari paket program Hyper Chem 07^[12]. Untuk mendapatkan persamaan untuk HKSA ini dilakukan metode perhitungan statistik analisis regresi linier dan multilinear menggunakan *Statistical Package for Service Solutions* (SPSS) 17^[13].

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan adalah :

- Perangkat keras berupa komputer dengan *processor Intel(R) Core™2 Duo CPU T6600 @ 2.20 GHz, memory 2.00 GB.*
- Perangkat lunak kimia komputasi : Program HyperChem versi 7.0.
- Perangkat lunak statistik : program *Statistical Package for Service Solutions* (SPSS) 17.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aktivitas toksik ($-\log IC_{50}$) klorofenol (CPs) yang telah diteliti secara eksperimen^[11].

Prosedur Kerja.

Dalam penelitian ini, untuk menggambarkan struktur yang sebenarnya setiap senyawa dibuat model struktur 3D menggunakan paket program Hyperchem^[12]. Proses selanjutnya adalah melakukan optimasi geometri molekul berupa minimasi energi molekul untuk memperoleh konformasi struktur paling stabil. Perhitungan dilakukan dengan metode *ab initio* dengan basis set STO-3G dan batas konvergensi 0,001 kkal/ A^o.mol. Metode optimasi dilakukan berdasarkan algoritma Polak–Ribiero. Keadaan struktur paling stabil ditandai dengan didapatkan energi total terendah. Untuk mendapatkan luaran data dilakukan perhitungan *single point* terhadap masing-masing molekul yang telah dioptimasi.

Ditentukan nilai parameter frontier orbital (E_H dan E_L) dan turunannya yakni *band gap* (E), *chemical hardness* (χ), *chemical potential* (μ) dan indeks elektrofilitas (σ). Aktivitas toksik hasil eksperimen klorofenol (CPs) ($-\log IC_{50_{ekp}}$) pada *Bacillus* sp TL81 yang digunakan sebagai variabel terikat tercantum pada Tabel 1^[11].

Tabel 1. Nilai aktifitas toksik senyawa khlorofenol (CPs) hasil eksperimen^[11]

No	Molekul	$-\log IC_{50}$
1	2-MCP	-0,74
2	3-MCP	-0,54
3	4-MCP	-0,49
4	2,3-DCP	0,10
5	2,4-DCP	0,34
6	2,5-DCP	0,28
7	2,6-DCP	-0,53
8	3,4-DCP	0,50
9	3,5-DCP	0,81
10	2,3,4-TCP	1,18
11	2,3,5-TCP	1,30
12	2,3,6-TCP	0,02
13	2,4,5-TCP	1,22
14	2,4,6-TCP	-0,08
15	3,4,5-TCP	1,60
16	2,3,4,5-TTP	1,76
17	2,3,4,6-TTP	-
18	2,3,5,6-TTP	0,63
19	PCP	1,47
20	Fenol	-

Keterangan:

MCP = monoklorofenol,
DCP = diklorofenol,
TCP = triklorofenol,
TTP = tetraklorofenol,
PCP = pentaklorofenol.

Tahap selanjutnya dari penelitian ini adalah menentukan korelasi antara aktivitas toksik hasil eksperimen ($-\log IC_{50_{ekp}}$)^[11] dengan masing-masing deskriptor, dihitung dengan metode analisis regresi linier menggunakan perangkat lunak SPSS 17 dengan metode enter. Selanjutnya dari 6 variabel bebas yang tersedia dibuat variasi variabel bebas sehingga akan didapatkan beberapa bentuk alternatif model persamaan. Untuk setiap model persamaan alternatif didapat beberapa parameter statistik seperti R , R^2 , SD dan F_{hit}/F_{tab} . Dari semua bentuk persamaan yang didapatkan dipilih beberapa persamaan yang dianggap baik berdasarkan nilai parameter statistik. Persamaan yang diperoleh digunakan untuk menghitung aktivitas toksik prediksi. Untuk mengetahui kualitas dan kemampuan memprediksi dari setiap model persamaan, maka dihitung harga PRESS-nya.

Nilai PRESS didapatkan dari persamaan :

$$PRESS = \sum_{i=1}^n (Y_{pred} - Y_{ekp})^2$$

Persamaan yang mempunyai nilai PRESS terkecil dipilih sebagai persamaan yang terbaik untuk memprediksi nilai $-\log IC_{50}$ menurut metoda HKSA^[14]. Bila semua parameter statistik dan nilai PRESS belum memberikan gambaran yang nyata untuk memilih model terbaik, maka dilakukan uji statistik antara nilai aktivitas toksik prediksi yang dihitung berdasarkan persamaan model dengan nilai $-\log IC_{50_{ekp}}$ yang tercantum pada Tabel 1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil perhitungan nilai *band gap* (E), *chemical hardness* (χ), *chemical potential* (μ) dan indeks elektrofilitas global (σ) berdasarkan metodea kuantum *ab initio* tercantum pada Tabel 2. Korelasi antara

- log IC₅₀ ekp dengan masing-masing deskriptor terlihat pada Tabel 3.

Dari Tabel 3 ini terlihat bahwa diantara 6 parameter yang ada. Korelasi antara -log IC₅₀ ekp dengan indeks elektrofilitas () mempunyai harga yang paling kecil. Hasil perhitungan regresi linier dan multilinier terhadap parameter deskriptor diatas,

didapatkan parameter statistik dan PRESS (Tabel 4). Dari perhitungan ini, didapatkan untuk No. 6 (variabel terlibat indeks elektrofilitas global ()) mempunyai nilai koefisien determinasi (R²) dan standar deviasi (SD) terkecil dan PRESS besar. Bila dinilai berdasarkan R² dan PRESS, ini menunjukkan penggunaan indeks elektrofilitas global (), relatif tidak baik sebagai deskriptor.

Tabel 2. Nilai *band gap* (E), *chemical hardness* (), *chemical potential* (μ), dan indeks elektrofilitas global ()

No	Molekul	E (eV)	μ (eV)	(eV)	(eV)
1	2-MCP	13,806,131	-0,390090	6,903,066	0,011022
2	3-MCP	13,859,259	-0,423414	6,929,630	0,012936
3	4-MCP	13,745,761	-0,289742	6,872,880	0,006107
4	2,3-DCP	13,593,366	-0,913014	6,796,683	0,061324
5	2,4-DCP	13,480,456	-0,828890	6,740,228	0,050967
6	2,5-DCP	13,576,413	-0,965418	6,788,206	0,068651
7	2,6-DCP	13,583,180	-0,911796	6,791,809	0,061206
8	3,4-DCP	13,534,583	-0,808042	6,767,292	0,048242
9	3,5-DCP	13,720,087	-1,008,786	6,860,044	0,074172
10	2,3,4-TCP	13,272,285	-1,255,000	6,636,142	0,118670
11	2,3,5-TCP	13,416,126	-1,445,485	6,708,063	0,155740
12	2,3,6-TCP	13,319,059	-1,375,968	6,659,530	0,142149
13	2,4,5-TCP	13,254,949	-1,309,946	6,627,474	0,129458
14	2,4,6-TCP	13,261,751	-1,303,774	6,630,876	0,128175
15	3,4,5-TCP	13,394,960	-1,280,937	6,697,480	0,122494
16	2,3,4,5-TTP	13,101,643	-1,696,166	6,550,822	0,219589
17	2,3,4,6-TTP	13,021,246	-1,693,371	6,510,623	0,220217
18	2,3,5,6-TTP	13,156,490	-1,834,499	6,578,245	0,255797
19	PCP	12,857,242	-2,068,125	6,428,621	0,332664
20	Fenol	14,070,566	0,206075	7,035,283	0,003018

Tabel 3. Korelasi antara - log IC_{50ekp} dengan parameter frontier orbital molekul klorofenol (CPs).

Parameter	E _H	E _L	E	μ
- log IC ₅₀	0,741	0,746	0,699	0,748

Tabel 4. Hasil analisa regresi linier dan multilinier berdasarkan beberapa variabel bebas yang digunakan untuk model persamaan HKSA toksik klorofenol terpilih

No.	Variabel bebas	R	R ²	AR ²	SD	F	PRESS
1	E _L	0,746	0,557	0,529	0,59821	20,077	2,272,294
2	E _H	0,741	0,549	0,521	0,59414	19,474	2,415,502
3	E	0,699	0,489	0,457	0,56086	15,322	2,362,730
4	μ	0,748	0,559	0,532	0,59976	20,312	2,194,725
5		0,699	0,489	0,457	0,56093	15,329	2,362,730
6		0,648	0,468	0,434	0,54829	14,047	2,412,708
7	E _L , E _H	0,748	0,559	0,501	0,59976	9,522	2,194,678
8	E _L ,	0,762	0,581	0,525	0,61109	10,388	2,140,905
9	E _L , E,	0,764	0,584	0,495	0,61273	6,547	2,229,690

Tabel 5. Model persamaan HKSA untuk memprediksi nilai aktivitas toksik – log IC₅₀

No. Pers.	Model Persamaan	R ²	SD	F _h /F _t	PRESS
4	- log IC ₅₀ = - 0,884 - 1,230 μ	0,559	0,5994	4,112	2,194,725
6	- log IC ₅₀ = - 0,201 + 6,224	0,468	0,5483	3,126	2,412,708
8	- log IC ₅₀ = 11,022 - 1,767 E _L - 5,687	0,581	0,6111	2,821	2,140,905
9	- log IC ₅₀ = 4,489 - 2,015 E _L + 0,0590 E - 5,711	0,584	0,6127	1,958	2,229,690

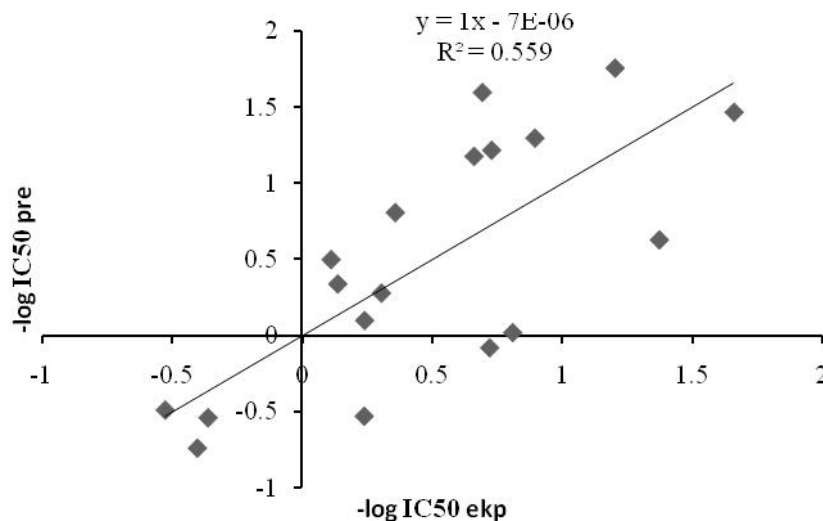
Jika dilihat dari nilai SD, ternyata penggunaan indeks global eleterofilisiti (χ) mempunyai nilai paling kecil. Nilai ini R^2 dan SD ini relatif tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Panabhan menggunakan metode DFT^[4] yang persamaan HKSA nya adalah $-\log IC_{50} = -3,56 + 45,0 \chi$, dengan $R^2 = 0,614$, $SD = 0,533$. Penggunaan deskriptor lebih banyak, berupa gabungan E_{LUMO} dan μ (no. 8) dan tiga parameter E_L , E_H dan μ (no. 9), memberikan hasil relatif lebih baik. Hal ini ditunjukkan dari nilai R^2 yang relatif besar (0,762 dan 0,764) dan PRESS yang kecil (2,140905 dan 2,229690). Penggunaan potensial kimia μ sebagai

deskriptor menghasilkan $F_{hit}/F_{tab} = 4,112$ (relatif paling besar) dan PRESS = 2,19474 (relatif paling kecil). Model persamaan HKSA untuk no. 4, 6, 8, dan 9 dapat dilihat pada Tabel 5.

Dari Tabel 5 ini terlihat nilai R^2 untuk model persamaan No.8 dan 9 relatif tidak berbeda, sedangkan PRESS model persamaan 8 mempunyai nilai terkecil. Hasil uji korelasi semua model persamaan yang terdapat pada Tabel 5 dengan $-\log IC_{50\ ekp}$ terlihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil uji korelasi $-\log IC_{50\ pre}$ hasil perhitungan model persamaan dengan $-\log IC_{50\ ekp}$.

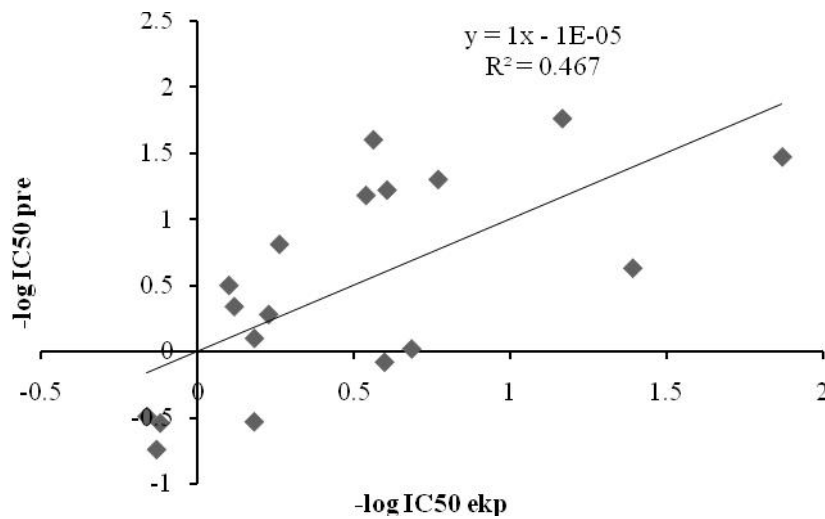
No. Pers.	Persamaan korelasi linier	R^2	SD
4	$-\log IC_{50\ pre} = -\log IC_{50\ ekp} - 0,000007$	0,559	0,448564
6	$-\log IC_{50\ pre} = -\log IC_{50\ ekp} - 0,000010$	0,467	0,374879
8	$-\log IC_{50\ pre} = -\log IC_{50\ ekp} - 0,000001$	0,581	0,465677
9	$-\log IC_{50\ pre} = -\log IC_{50\ ekp} + 0,000008$	0,583	0,468192



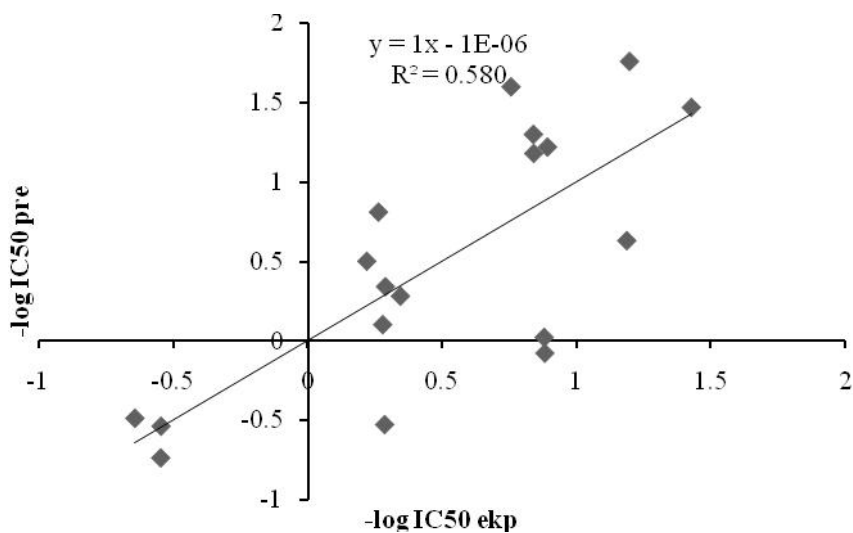
Gambar 1. Hubungan antara $-\log IC_{50\ ekp}$ dengan $-\log IC_{50\ pre}$ yang dihitung menggunakan model persamaan no.4

Secara keseluruhan, bila dilihat dari koefisien determinasi (R^2) dan nilai standar deviasi (SD) ternyata penggunaan parameter frontier orbital yang dihitung dengan metode *ab initio* pada penelitian ini maupun dengan metoda DFT^[4] mempunyai nilai koefisien

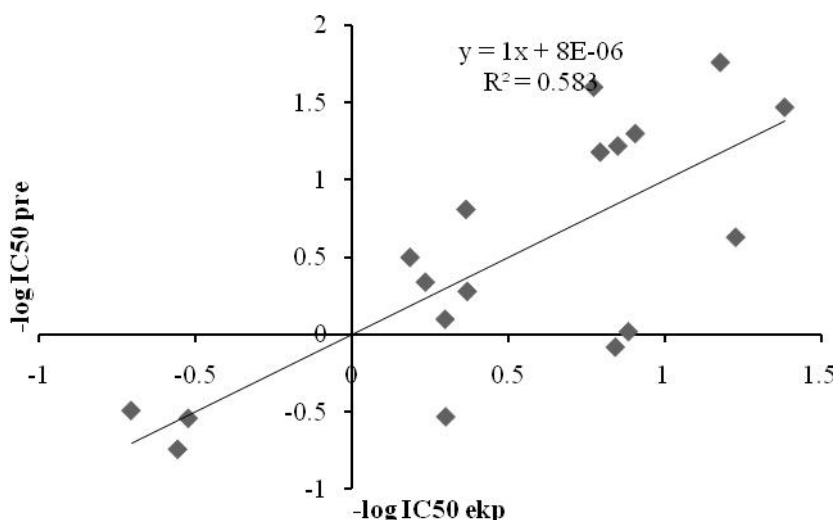
determinasi R^2 0,6 dan SD 0,37. Kurva hubungan antara $-\log IC_{50\text{ ekp}}^{[11]}$ dengan $-\log IC_{50\text{ pre}}$ yang dihitung menggunakan model persamaan no. 4, 6, 8, dan 9 (Tabel 6) terlihat pada Gambar 1, 2, 3, dan 4.



Gambar 2. Hubungan antara $-\log IC_{50\text{ ekp}}$ dengan $-\log IC_{50\text{ pre}}$ yang dihitung menggunakan model persamaan no.6



Gambar 3. Hubungan antara $-\log IC_{50\text{ ekp}}$ dengan $-\log IC_{50\text{ pre}}$ yang dihitung menggunakan model persamaan No.8



Gambar 4. Hubungan antara $-\log IC_{50_ekp}$ dengan $-\log IC_{50_pre}$ yang dihitung menggunakan model persamaan no. 9

Dari analisis uji PRESS (Tabel 5) dan korelasi antara aktivitas toksik prediksi $-\log IC_{50_pre}$ yang dihitung menggunakan model persamaan yang terdapat pada Tabel 6 dengan aktivitas toksik eksperimen $-\log IC_{50_ekp}^{[11]}$, didapatkan bahwa penggunaan E_L dan sebagai deskriptor pada HKSA toksik klorofenol (model persamaan no. 8) adalah yang terbaik dari semua model persamaan yang telah diteliti (Tabel 5). Persamaan tersebut adalah $-\log IC_{50} = 11,022 - 1,767 E_L - 5,687$ mempunyai nilai $R^2 = 0,581$ dan $SD = 0,6111$.

Berdasarkan analisis terhadap uji korelasi persamaan regresi HKSA yang telah dilakukan pada penelitian ini, nilai frontier orbital molekul yang dihitung menggunakan metode *ab initio* untuk menghitung nilai *chemical hardness* (χ), potensial kimia (μ) dan indeks elektrofilitas global (ρ) relatif tidak baik digunakan sebagai deskriptor HKSA toksik klorofenol.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penggunaan deskriptor gabungan energi LUMO (E_L) dan indeks elektrofilitas global (ρ) menghasilkan persamaan HKSA yang dianggap terbaik $-\log IC_{50} = 11,022 - 1,767$

$E_L - 5,687$ dengan $R^2 = 0,581$ dan $SD = 0,6111$, $PRESS = 2,140905$. Korelasi antara $-\log IC_{50_pre}$ yang dihitung dengan menggunakan persamaan ini dengan $-\log IC_{50_ekp}$ adalah $-\log IC_{50_pre} = -\log IC_{50_ekp} - 0,000001$, dengan nilai $R^2 = 0,581$ dan $SD = 0,465677$. Penggunaan frontier orbital molekul (E_H dan E_L) yang dihitung berdasarkan metode *ab initio* serta turunannya (potensial kimia, μ dan indeks elektrofilitas global, ρ) relatif tidak baik untuk deskriptor pada HKSA toksik senyawa klorofenol terhadap *Bacillus sp TL81* karena mempunyai nilai koefisien determinasi R^2 6 dan standar deviasi $SD = 0,37$.

DAFTAR PUSTAKA

1. C. Hansch and T. Fujita, - - analysis. A method for the correlation of biological activity and chemical structure, *J. Chem. Soc.*, 86, 1616-1626, (1964).
2. U. Sarkar, *et al.*, A Conceptual DFT approach towards analysing toxicity, *J. Chem. Sci.*, 117,5, 599-612, (2005).
3. K. Fukui, Role of frontier orbital in chemical reactions, *Science.*, 218, 747-754, (1987).
4. J. Padmanabhan, *et al.*, Group philcity and electrophilicity as possible descriptors for modeling ecotoxicity

- applied to chlorophenols, *Chem. Res. Toxicol.*, 19, 356-364, (2006).
5. R. Parthasarathi, *et al.*, Toxicity analysis of benzidine through chemical reactivity and selectivity profiles: A DFT Approach, *Int. Elec. J. Mol. Design.*, 2, 12, 789-813, (2003).
 6. J. S. Wright and H. Shadnia, Computational modeling of substituent effects on phenol toxicity, *Chem. Res. Toxicol.*, XXXX, xxx, 000, Received March 3, (2008).
 7. L. V. B. Hoelz, *et al.*, Quantitative structure-activity relationships of antioxidant phenolic compounds, *J. Chem. Pharm. Res.*, 2(5), 291-306, (2010).
 8. Y. Qin and R. A. Wheeler, Density-functional-derived structures, spin properties, and vibrations for phenol radical cation, *J. Phys. Chem.*, 10554-10563, (1996).
 9. D. Michalska and D. C. Bienko, Density functional, Hartree-Fock, and MP2 studies on the vibrational spectrum of phenol. *J. Phys. Chem.*, 100, 17786-17790, (1996).
 10. A. K. Chandra and T. Uchimaru, The O-H bond dissociation energies of substituted phenols and proton affinities of substituted phenoxide ions: A DFT Study, *Int. J. Mol. Sci.*, 3, 407-422, (2002).
 11. K. Liu, *et al.*, Quantitative structure-toxicity relationship of halogenated phenols on bacteria, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 29, 130-136, (1982).
 12. HyperChem 7.0 HyperCube Inc., Toronto Canada, (2002).
 13. P. Duwi, Paham analisa statistik data dengan SPSS, Media Kom, Yogyakarta (2010), 55-70.
 14. H. Kubinyi and C. Hansch, Analysis and related approach, Weinheim, New York 1993.