

Desain Senyawa Turunan Meisoindigo Baru Sebagai Anti Kanker Payudara

Design New Derivative of Meisoindigo as Antibreast Cancer

Agus Dwi Ananto^{1*}, Handa Muliasari¹, Saprizal Hadisaputra²

¹ Program Studi Farmasi FK UNRAM

² Program Studi Pendidikan Kimia FKIP UNRAM

Corresponding author: Agus Dwi Ananto: Email: agus_da@unram.ac.id

Submitted: 07-02-2019

Revised: 12-06-2019

Accepted: 12-06-2019

ABSTRAK

Senyawa turunan meisoindigo merupakan senyawa yang diharapkan mampu berikatan dengan enzim *Cyclin Dependent Kinase 4* (CDK4) yang berperan dalam siklus sel sehingga mencegah pembelahan sel. Desain model senyawa turunan meisoindigo menggunakan metoda semiempiris secara insilico telah berhasil dibuat. Desain model senyawa terbaik turunan meisoindigo sebagai antikanker payudara tersebut dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui model terbaik berdasarkan hubungan kuantitatif antara struktur dan aktivitas senyawa turunan meisoindigo. Hasil permodelan tersebut akan digunakan untuk desain senyawa baru turunan meisoindigo. Metode yang digunakan untuk penentuan model terbaik senyawa turunan meisoindigo menggunakan metoda semiempirik AM1. Pemilihan model matematika terbaik dilakukan dengan analisis statistik regresi multilinear terhadap data-data perhitungan yang diperoleh.

Kata kunci: metoda semiempirik; meisoindigo; *Cyclin Dependent Kinase 4*

ABSTRACT

Meisoindigo derivatives are compounds that are expected to be able to bind enzyme *Cyclin Dependent Kinase 4* (CDK4) which plays a role in the cycle. Design of the model for meisoindigo derivatives using the semi-empirical method in insilico was successfully made. Design of the best compound model of meisoindigo as breast anticancer was carried out in order to find out the best model based on the quantitative relationship between the structure and activity of meisoindigo derivative compounds. The modeling results will be used to design new meisoindigo derivative compounds. The method used to determine the best model of meisoindigo derivative compounds uses the semiempirical AM1 methods. The research procedure used in either AM1 method uses the same steps. The selection of the best mathematical model is done by multilinear regression statistical analysis of the calculation data obtained.

Keyword: semi empiric method; meisoindigo; *Cyclin Dependent Kinase 4*

PENDAHULUAN

Penelitian dibidang kimia dengan menggunakan media komputer atau lebih dikenal dengan istilah kimia komputasi akhir-akhir ini berkembang sangat pesat. Salah satu disiplin ilmu dibidang farmasi yang sangat terbantu dengan perkembangan tersebut adalah Kimia Medisinal, terutama untuk studi Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas (HKSA) atau *Quantitative Structure-Activity Relationship* (QSAR). Hal ini sinergis dengan perkembangan penemuan obat baru yang semakin lama diharapkan semakin efektif dan efisien (Ananto, 2017). Penemuan senyawa baru yang berkhasiat tinggi memerlukan tahapan yang eksperimen yang meliputi

desain, sintesis, identifikasi, purifikasi dan uji aktivitas. Kelemahan dari strategi eksperimental ini adalah meskipun semua tahapan tersebut telah dikerjakan, namun seringkali produk yang diperoleh ternyata mempunyai aktivitas yang tidak lebih baik dari senyawa-senyawa yang telah ada, sehingga waktu, biaya dan tenaga yang telah dikeluarkan dalam serangkaian kerja laboratorium akan menjadi sia-sia. Salah satu solusi yang dapat ditawarkan untuk mengatasi masalah di atas adalah diperkenalkannya pemodelan menggunakan komputer. Dengan menggunakan pemodelan, sebelum sintesis suatu senyawa dikerjakan terlebih dahulu dapat dicari model hubungan antara struktur, baik elektronik

Tabel I. Data aktivitas biologis senyawa turunan meisoindigo berdasarkan literature (Chiou dkk. 2015)

Senyawa	IC50 (µM)	Senyawa	IC50 (µM)
Seny. 1	14.0	Seny. 11	6.2
Seny. 2	3.5	Seny. 12	4.1
Seny. 3	4.0	Seny. 13	3.9
Seny. 4	3.6	Seny. 14	13.4
Seny. 5	3.2	Seny. 15	27.9
Seny. 6	2.3	Seny. 16	3.1
Seny. 7	4.7	Seny. 17	3.5
Seny. 8	1.5	Seny. 18	84.9
Seny. 9	2.5	Seny. 19	44.7
Seny. 10	2.4	Seny. 20	64.3

maupun geometri dari satu ataupun sekelompok molekul yang telah dicurigai mempunyai aktivitas tertentu (Mudasir, dkk., 2003).

Dalam eksperimen komputer, perhitungan dilakukan dengan resep algoritma yang ditulis dalam bahasa pemrograman, dengan menggunakan model dari para pakar teoritis. Metoda ini memungkinkan penghitungan sifat molekul yang kompleks dengan hasil yang berkorelasi secara signifikan dengan eksperimen (Jensen, 1999).

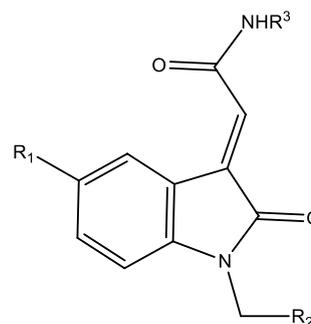
Penelitian ini mencoba untuk mencari model struktur senyawa turunan meisoindigo terbaik melalui pendekatan HKSA. Berdasarkan data GLOBOCAN, International Agency for Research on Cancer (IARC), dilaporkan bahwa pada tahun 2012 terdapat sekitar 14 juta kasus baru kanker dan 8,2 juta kematian akibat kanker. Kasus kanker yang paling banyak menyebabkan kematian berturut-turut adalah : kanker paru (19,7 %), kanker payudara (12,9 %), kanker hati (9,5 %), dan kanker perut (8,9 %). Angka penderita kanker diperkirakan akan meningkat setiap tahunnya dan diperkirakan mencapai 23,6 juta kasus baru per tahun pada 2030 (Kemenkes RI, 2016).

Jenis kanker yang paling banyak menyebabkan kematian pada wanita khususnya usia 40 tahun ke atas adalah kanker payudara. Kanker tersebut lebih banyak menyerang payudara sebelah kiri pada bagian atas yang mendekati lengan. Berdasarkan data dari Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan (2015) prevalensi kanker payudara di Provinsi Nusa Tenggara Barat sebesar 0,2% (Kemenkes RI, 2015)

Salah satu senyawa yang berpotensi sebagai antikanker adalah senyawa turunan meisoindigo. Beberapa senyawa turunan meisoindigo memiliki aktivitas baik terhadap sel kanker payudara yang telah ujikan secara in vitro. Senyawa turunan meisoindigo akan berikatan dengan enzim Cyclin Dependent Kinase 4 (CDK4) yang berperan dalam siklus sel sehingga mencegah pembelahan sel (Chiou dkk, 2015).

METODOLOGI

Bahan dan alat



Gambar 1. Senyawa induk turunan meisoindigo

Bahan yang digunakan pada penelitian ini berupa data berjumlah 20 senyawa turunan meisoindigo yang diperoleh dari hasil penelitian Chiou dkk (2015) yang memiliki aktivitas penghambatan pada CDK4. Struktur senyawa induk turunan meisoindigo (Gambar 1), dan data senyawa dengan aktivitas biologi (Tabel I).

Penelitian ini dikerjakan dengan menggunakan seperangkat alat komputer

Tabel II. Data *training set*

Senyawa	IC50 (μM)	Senyawa	IC50 (μM)
Seny. 2	3.5	Seny. 12	4.1
Seny. 3	4.0	Seny. 13	3.9
Seny. 4	3.6	Seny. 14	13.4
Seny. 6	2.3	Seny. 15	27.9
Seny. 7	4.7	Seny. 16	3.1
Seny. 8	1.5	Seny. 17	3.5
Seny. 9	2.5	Seny. 18	84.9
Seny. 10	2.4	Seny. 20	64.3

Tabel III. Data *test set*

Senyawa	IC50 (μM)
Seny. 1	14.0
Seny. 5	3.2
Seny. 11	6.2
Seny. 19	44.7

dengan spesifikasi prosesor Pentium core i5 6600, RAM 2 GB, Harddisk 1 TB. Sedangkan perangkat lunak (*software*) yang digunakan yaitu *Hyperchem 8.0 for Windows* untuk melakukan pemodelan molekul senyawa, dan perangkat lunak *SPSS 16.0 for Windows* untuk analisis persamaan HKSA.

Prosedur penelitian

Senyawa turunan meisoindigo dibuat model struktur dua dimensinya menggunakan paket program *Hyperchem*. Kemudian model tersebut dibentuk menjadi struktur tiga dimensi (3D) supaya sesuai dengan senyawa sebenarnya. Proses selanjutnya adalah melakukan optimasi geometri struktur berupa minimasi energi molekul guna memperoleh konformasi struktur yang paling stabil. Setelah diperoleh struktur terstabil, data mulai disimpan dengan melakukan *Start log*, kemudian dilakukan perhitungan *single point*, dan dilakukan *Stop log* untuk mengakhiri proses perekaman hasil perhitungan. *Output* data selanjutnya dapat dilihat pada file rekaman (*file.log*).

Evaluasi persamaan QSAR dilakukan berdasarkan analisis regresi multilinear dan dilakukan menggunakan program *SPSS for Windows*. Berdasarkan persamaan terbaik yang telah diperoleh dari literatur, langkah berikutnya yaitu mendesain senyawa baru dengan tujuan untuk mencari senyawa baru yang merupakan senyawa turunan meisoindigo dengan aktivitas yang lebih tinggi dari senyawa

sebelumnya. Desain senyawa baru ini dilakukan dengan memodifikasi jenis dan posisi substituen. Posisi substituent difokuskan pada daerah pusat aktif.

Tahap berikutnya yaitu melakukan Perhitungan dilakukan dengan metode semiempirik AM1 dengan batas konvergensi 0,001 kkal/ \AA .mol, metode optimasi dilakukan berdasarkan algoritma Polak-Ribiere terhadap semua senyawa baru yang akan disusun. Berdasarkan perhitungan tersebut maka akan diperoleh senyawa turunan meisoindigo baru yang memiliki aktivitas yang tinggi dan senyawa tersebut dapat diusulkan untuk dilakukan sintesis pada tahapan berikutnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan data awal yang diperoleh dari literature (Chiou dkk, 2015), peneliti membagi data tersebut menjadi 2 bagian, yaitu *training set* dan *test set*. Pembagian senyawa kedalam *training set* dan *test set* (Tabel II dan III).

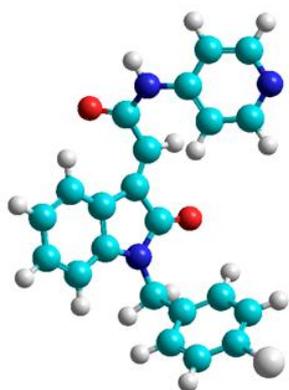
Pada penelitian ini, senyawa induk meisoindigo digambar dalam bentuk 2 dimensi untuk selanjutnya di lengkapi dengan atom hidrogen sehingga terlihat senyawa dalam bentuk 3 dimensinya.

Pembuatan senyawa dalam bentuk 2 dimensi dan 3 dimensi ini menggunakan program Hyperchem 8.0.

Perancangan model dalam bentuk tiga dimensi ini dilakukan dengan tujuan untuk

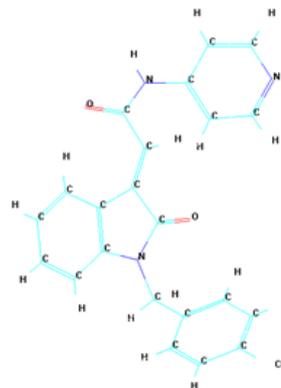
memperoleh konformasi struktur meisoindigo yang stabil secara stereokimia. Metode yang umumnya digunakan untuk memodelkan suatu senyawa organik biasanya menggunakan metode semiempirik, khususnya metode AM1 mengingat senyawa meisoindigo juga merupakan senyawa organik, maka pada penelitian ini juga menggunakan metode yang sama yaitu metode semiempirik. Salah satu dari beberapa metode semiempirik tersebut pastinya mempunyai hasil yang lebih mendekati molekul yang sebenarnya dibandingkan dengan metode yang lain. Oleh karena itu perlu adanya perbandingan hasil pemodelan molekul diantara kedua metode semiempirik tersebut.

Pada penelitian ini digunakan senyawa induk dari meisoindigo yang kemudian dilakukan optimasi menggunakan metode yang telah divalidasi sebelumnya, yaitu metode semiempirik AM1. Hasil optimasi geometri dari senyawa induk meisoindigo (Gambar 2) dengan menggunakan model *balls and cylinders* yang tersedia pada paket program *Hyperchem*. Atom C digambarkan dengan bola pejal warna biru muda, atom O dengan warna merah, atom N dengan warna biru tua dan atom H dengan warna putih. Kemudian senyawa tersebut digambarkan dengan model *sticks* (Gambar 3 dan 4) serta gambar berikutnya menggambarkan senyawa induk meisoindigo dengan model *sticks* yang dilengkapi dengan muatan bersih atom untuk masing-masing atom (Gambar 5).

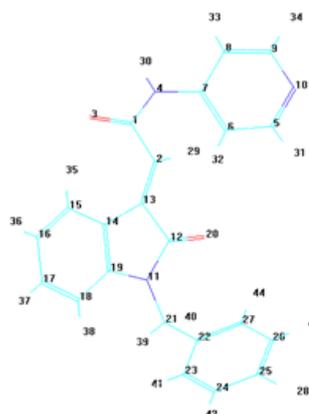


Gambar 2. Hasil optimasi senyawa meisoindigo dengan model *balls and cylinders* menggunakan metode AM1

Parameter parameter yang digunakan sebagai variabel bebas dalam analisis HKSA pada penelitian ini adalah parameter elektronik,



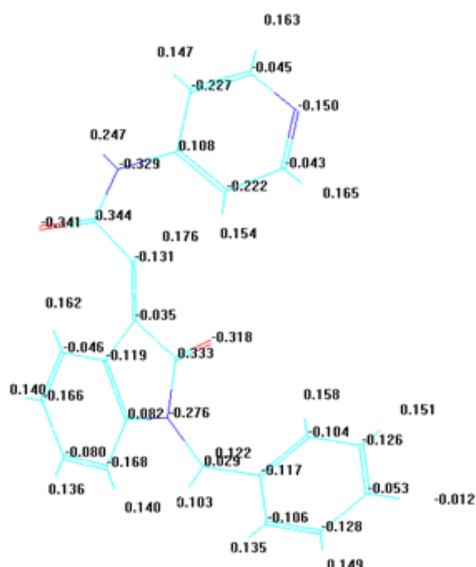
Gambar 3. Hasil optimasi senyawa meisoindigo dengan model *sticks* dan *symbol* nama menggunakan metode AM1



Gambar 4. Hasil optimasi senyawa meisoindigo dengan model *sticks* dan *symbol* urutan penomoran atom menggunakan metode AM1

sterik dan hidrofobik. Variabel terikat yang digunakan pada penelitian ini adalah \log_1/IC_{50} . Persamaan terpilih yang berhasil ditentukan kemudian digunakan sebagai alat untuk menghitung aktivitas antikanker senyawa turunan meisoindigo baru, yaitu hasil modifikasi teoritik terhadap struktur senyawa meisoindigo.

Aktivitas biologis yang terdapat pada literature adalah nilai hambat minimum atau IC_{50} . Akan tetapi, pada penelitian ini peneliti merubah data IC_{50} kedalam bentuk nilai logaritmik dengan asumsi untuk mempermudah analisis data, sehingga sebarannya tidak terlalu jauh. Bentuk logaritmis yang digunakan adalah $\log 1/IC_{50}$, artinya bahwa semakin besar nilai



Gambar 5. Hasil optimasi senyawa meisoindigo dengan model *sticks* yang dilengkapi dengan muatan bersih atom menggunakan metode AM1

log 1/IC50 maka senyawa tersebut memiliki aktivitas yang lebih baik dibandingkan dengan senyawa yang nilai log 1/IC50 nya lebih rendah.

Berdasarkan (Gambar 3 dan Gambar 5), terlihat bahwa pemilihan deskriptor muatan bersih atom (q) dilakukan dengan pertimbangan bahwa muatan atom sangat penting dalam penentuan reaksi kimia dan sifat-sifat fisikokimia suatu senyawa dan berguna untuk mengukur interaksi intermolekuler. Muatan bersih atom dapat bernilai positif maupun negatif, hal ini tergantung pada gugus-gugus yang terikat pada atom tersebut. Muatan atom yang bernilai positif disebabkan karena adanya gugus-gugus penarik elektron sehingga kerapatan elektron menjadi lebih kecil. Sedangkan untuk muatan yang bernilai negative disebabkan karena adanya gugus-gugus metil, alkil maupun gugus halida yang mana gugus-gugus tersebut merupakan gugus penyumbang elektron, sehingga kerapatan elektron menjadi lebih besar.

Deskriptor - deskriptor yang diperoleh dari pemodelan untuk setiap senyawa kemudian dilakukan analisis dengan regresi multilinear. Penggunaan analisis regresi multilinear dilakukan karena variabel yang digunakan memiliki jumlah lebih dari satu.

Analisis regresi multilinear dilakukan dengan program SPSS 16 for Windows.

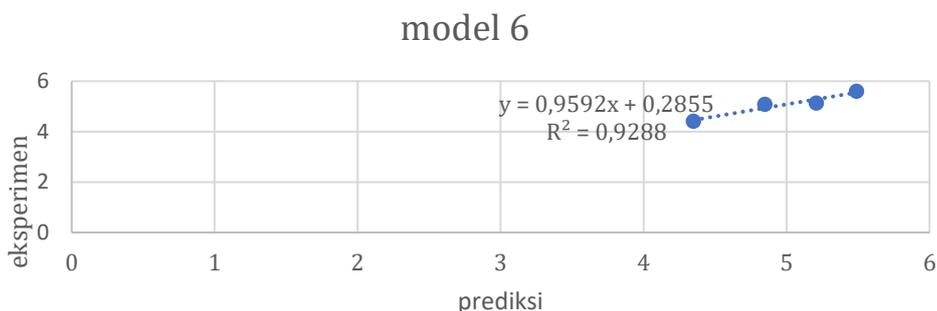
Dari model-model persamaan HKSA pada lampiran 1 dapat dipilih kandidat model persamaan HKSA terbaik. Pemilihan model persamaan HKSA terbaik tersebut dilakukan dengan memperhitungkan parameter-parameter statistik seperti harga r^2 (koefisien korelasi), adjusted r^2 , SD (Standar Deviasi), Fhit/Ftab dan PRESS (Predicted Residual Sum of Square).

Berdasarkan lampiran 1, pemilihan model terbaik dengan menggunakan metoda semiempiris AM1 da PM3, jika dilihat dari harga r dan r^2 , baik dengan menggunakan metoda AM1 maupun PM3, maka semua model mempunyai nilai diatas 0,8, sehingga semua model tersebut memenuhi syarat sebagai model yang baik. Nilai r dan r^2 mempunyai makna kekuatan korelasi antara variabel bebas dan variabel terikat serta seberapa baik tingkat linearitas model persamaan tersebut untuk memprediksi model persamaan yang lain.

Apabila dilihat dari nilai adjusted r^2 atau nilai r^2 yang telah dikoreksi terhadap jumlah variable untuk metoda AM1, dapat dilihat bahwa model 1, 4, 6 dan 9 memiliki nilai adjusted r^2 yang besar. Hal ini berarti bahwa model tersebut mempunyai ketelitian yang baik dalam menggambarkan hubungan variabel bebas dengan variabel terikat dengan tingkat kesalahan yang relatif kecil. Model 1, 4, 6 dan 9 juga memiliki kesalahan yang relatif kecil jika dibandingkan dengan model yang lain.

Kriteria penilaian statistik berikutnya yaitu dilihat berdasarkan nilai PRESS. Semakin kecil nilai PRESS maka semakin bagus data yang diperoleh. Berdasarkan nilai PRESS yang kecil, model 1, 4, 6 dan model 9 mempunyai nilai PRESS yang kecil jika dibandingkan dengan model yang lain.

Selain dilihat dari parameter statistik seperti yang dijelaskan diatas, pembuktian model terbaik bisa dilakukan dengan menggunakan uji validasi menggunakan empat senyawa uji (*test set*) yang telah ditentukan sebelumnya. Uji validasi dilakukan dengan memprediksi aktivitas antikanker payudara dengan menggunakan model terpilih yaitu model 1, 4, 6, dan model 9, kemudian membuat kurva hubungan antara log 1/IC50 eksperimen dengan log 1/IC50 prediksi, seperti yang terlihat pada tabel IV.



Gambar 6. Kurva hubungan log 1/IC50 eksperimen dengan log 1/IC50 prediksi

Tabel IV. Data perbandingan nilai log 1/IC50 eksperimen dengan log 1/IC50 prediksi

Seny Uji	Log 1/IC50 eksperimen	Log 1/IC50 prediksi			
		model 1	model 4	model 6	model 9
1	4.85	-6.24	5.20	5.09	5.41
5	5.49	-5.95	5.57	5.60	5.27
11	5.21	-7.16	5.35	5.13	5.44
19	4.35	-4.73	4.08	4.41	4.52

Berdasarkan hubungan perbandingan antara log 1/IC50 eksperimen dengan log 1/IC50 prediksi, akan menghasilkan nilai *slope* dan *r*² yang dapat dijadikan bahan pertimbangan dalam penentuan model terbaik. Berdasarkan hasil perbandingan, dihasilkan nilai *slope* dan *r*² yang paling bagus adalah model 6 (Gambar 6).

Berdasarkan pada (Gambar 6), terlihat bahwa nilai *r*² sebesar 0.9288. Hal ini bisa membuktikan bahwa model 9 dapat dipilih sebagai model persamaan yang paling baik. Model 6 tersebut dapat dilihat sebagai berikut:

$$\text{Log } 1/\text{IC50} = 1.242 + (-0.03 * \text{Log } P) + (-0.00003079 * \text{Eis.at}) + (-0.244 * \mu) + (4.756 * \text{qC9}) + (11.797 * \text{qO10}) + (-16.755 * \text{qN11}) + (7.083 * \text{qC13})$$

r = 0.938; *r*² = 0.88; *Adjusted r*² = 0.774; SE = 0.249; *F*_{hit}/*F*_{tab} = 2.38; PRESS = 0.00066.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan diperoleh model persamaan terbaik untuk dijadikan acuan desain senyawa turunan meisoindigo sebagai antikanker payudara baru. Model tersebut adalah model 9 dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Log } 1/\text{IC50} = 1.242 + (-0.03 * \text{Log } P) + (-0.00003079 * \text{Eis.at}) + (-0.244 * \mu)$$

$$+ (4.756 * \text{qC9}) + (11.797 * \text{qO10}) + (-16.755 * \text{qN11}) + (7.083 * \text{qC13})$$

r = 0.938; *r*² = 0.88; *Adjusted r*² = 0.774; SE = 0.249; *F*_{hit}/*F*_{tab} = 2.38; PRESS = 0.00066.

DAFTAR PUSTAKA

Ananto, A.D., 2017, Desain Senyawa Turunan Fluorokuinolon Baru Sebagai Zat Anti Bakteri *S. typhimurium* Via Komputasi Kimia. Penelitian PS. Farmasi Unram, Mataram.

Chiou, C.T., Wei C.L., Jiahn H.L., Jing J.C., Lie C.L., Chih Y.C., Jen S.S., Ming H.W., Kak S.S., and Wen T.L. 2015. Synthesis and Evaluation Of 3-Ylideneoxindole Acetamides as Potent Anticancer Agents. *European Journal Of Medicinal Chemistry.*, Vol. 98, pp. 1-12.

Jensen, F., 1999, *Introduction for computational Chemistry, 2nd ed.*, John Willey and Sons, Inc., New York

Kemendes RI, 2015, Infodatin Kanker, Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI Situasi Penyakit Kanker, Jakarta : Kementerian Kesehatan RI

Kemendes RI, 2016, Infodatin Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI Kanker Payudara, Jakarta : Kementerian Kesehatan RI.

Mudasir, Iqmal T., Ida P. A. M. P., 2003,
*Quantitative Structure and Activity
Relationship Analysis of 1,2,4-
Thiadiazoline Fungicides Based on*

*Molecular Structure Calculated by Am1
Method*, Indonesian Journal of Chemistry,
Gadjah Mada University, Yogyakarta.