PEMODELAN HUBUNGAN KUANTITATIF STRUKTUR-AKTIVITAS ANTIOKSIDAN *N,O*-KARBOKSIMETIL KITOSAN

Uripto Trisno Santoso[1]*, Taufiqur Rohman[1],Hilda Maulida[1], Bayu Bakti Angga Santoso[2]
[1] Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat, Jl. Jend. Ahmad Yani km 36, Banjarbaru, Kalimantan Selatan, INDONESIA
[2]Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat, Jl. Jend. Ahmad Yani km 36, Banjarbaru, Kalimantan Selatan, INDONESIA
*Corresponding author: uriptotrisnosantoso@gmail.com; utsantoso@ulm.ac.id

Abstrak. Kajian pemodelan hubungan kuantitatif struktur-aktivitas antioksidan *N,O*-kitosan telah dilakukan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa deskriptor molekular yang berpengaruh secara signifikan terhadap aktvitas antioksidan kelompok senyawa karboksimetil kitosan adalah *polar surface area* dengan persamaan regresi: **Log** (1/**C**)= -4.3802+0.0169·**PSA** dengan C adalah aktivitas antioksidan IC_{50} terhadap DPPH dan PSA adalah *polar surface area*. Model regresi ini memenuhi parameter kualitas statistika regresi pada tingkat signifikansi 0,05 dengan nilai koefisien korelasi (R) = 0,9777, koefisien determinasi R^2 = 0,9560, simpangan baku 0,2033 dan F = 65,1355. Hasil uji validasi dengan metode *leave one out* (LOO) menunjukkan nilai Q^2 = 0,698 sehingga dapat dinyatakan bahwa model HKSA persamaan ini adalah valid.

Kata kunci: kitosan, deskriptor, struktur, aktivitas, antioksidan

1. PENDAHULUAN

Kajian uji potensi aplikasi kitosan dan senyawa turunannya sebagai antioksidan telah banyak dikaji (Ngo & Kim, 2014). Penggunaan kitosan sebagai antioksidan relatif aman karena selain bersifat tidak toksik, biodegradable juga biocompatible. Lin & Chou (2004) membuktikan bahwa kitosan mampu mengurangi aktivitas radikal bebas yang dapat memacu reaksi oksidasi. Radikal bebas merupakan spesies yang relatif tidak stabil, memiliki elektron yang tidak berpasangan di orbital luarnya sehingga bersifat reaktif dalam mencari pasangan elektron (Kothari *et al*, 2010). Tubuh manusia secara alami memiliki sistem antioksidan untuk menangkal radikal bebas secara berkelanjutan, namun jika jumlah radikal bebas dalam tubuh berlebih maka dibutuhkan antioksidan tambahan yang diperoleh dari asupan bahan makanan (Erguder *et al*., 2007).

Hasil kajian literatur secara intensif (Sun *et al*, 2003; Sun *et al*, 2008; Lee *et al*, 2014; Wei *et al*, 2017; Kurniasih *et al*, 2018; Luan *et al*, 2018; Jing *et al*, 2019; Chaiwong *et al,* 2020) menunjukkan bahwa derivatisasi struktur kitosan umumnya dapat meningkatkan aktivitas antioksidan kitosan tetapi semua produk turunan kitosan tersebut masih tergolong beraktivitas antioksidan lemah, sedang atau kuat. Suatu senyawa dapat dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat jika IC_{50} bernilai 50-100 ppm, sedang jika bernilai 100-150 ppm, dan lemah jika nilai IC_{50} bernilai 151-200 ppm (Zuhra *et al*, 2008). Dengan demikian, senyawa turunan yang memiliki akvitas antioksidan yang sangat kuat belum pernah dilaporkan.

Salah satu cara untuk menemukan turunan atau derivat suatu senyawa yang beraktivitas lebih tinggi adalah dengan metode analisis hubungan kuantitatif struktur-aktivitas (HKSA) yang didasarkan pada perbedaan aktivitas empiris antara serangkaian senyawa yang berkolerasi dengan perbedaan struktur molekul kimia secara kuantitatif (Abdel-Ilah *et al*, 2017). Keuntungan dari penggunaan metode HKSA untuk pengembangan produk, misalnya suatu obat baru, diantaranya yaitu (a) penghematan biaya untuk pengembangan obat baru, (b) hasil prediksi dapat mengurangi penggunaan hewan uji dalam uji preklinik yang panjang dan mahal serta dapat menyakiti hewan, dan (c) meminimalkan penggunaan senyawa kimia sehingga mengurangi limbah yang dihasilkan. Pada artikel ini dilaporkan hasil kajian analisis HKSA senyawa turunan kitosan, yakni *N,O*-karboksimetil kitosan sebagai antioksidan serta hasil ujia kualitas regresi dan validitasnya.

2. METODE

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah komputer personal dengan prosesor AMD Ryzen 7 3700x 8-Core Processor @ 3.60GHz, Logical Processor 16, memori DDR4 SDRAM 16 GB, penyimpanan SSD ADATA SX8200PNP 512 GB with RAID support, GPU Nvidia GeForce GTX 1650 super, dan sistem operasi windows 64-bit. Perangkat lunak yang digunakan untuk pemodelan dan perhitungan parameter molekul adalah HyperChem

© Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Universitas Lambung Mangkurat

8.0.8 ® dan Chem3D versi 19.0.0.22. Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah data aktivitas antioksidan kitosan berupa nilai IC_{50} aktivitas antioksidan terhadap DPPH yang diperoleh dari peneliti terdahulu.

Senyawa turunan kitosan yang diperoleh dari kajian literatur digambar dalam bentuk 2D kemudian diubah dalam bentuk 3D dan dioptimasi menggunakan metode mekanika molekular MM+, selanjutnya dilakukan optimasi geometri lagi terhadap masing-masing senyawa menggunakan metode semiempirik untuk mendapatkan struktur paling stabil. Kajian optimasi geometri molekul dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak HyperChem 8.0.8 ® untuk metode molekular mekanik (MM+, AMBER, BIO+, dan OPLS) dan semiempirik (CNDO, INDO, MINDO3, MNDO, MNDO/d, AM1, RM1, PM3, ZINDO/1, TNDO). Khusus untuk optimasi geometri molekul menggunakan metode semiempirik PM7 dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak MOPAC2016 versi 20.232W (Sao *et al*, 2015). Prosedur dan hasil kajian optimasi geometri molekul ini telah dipresentasikan dalam Seminar Nasional Kimia yang dilenggarakan oleh Jurusan Kimia UNMUL pada tanggal 25 November 2020. Deskriptor yang digunakan dalam penelitian ini meliputi parameter hidrofobik, elektronik, dan sterik.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah dilakukan penelusuran data aktivitas antioksidan senyawa turunan kitosan dari berbagai literatur, diperoleh data aktivitas antioksidan sebanyak 57 senyawa turunan kitosan yang disintesis dengan bahan dasar kitosan yang memiliki berat molekul, derajat deasetilasi, atau bahan dasar kitin dari sumber bahan alam yang beragam. Beberapa peneliti melaporkan bahwa aktivitas antioksidan dapat dipengaruhi oleh berat molekul (Chaiwong *et al,* 2020) atau derajat susbtitusi (Sun *et al*, 2008;Lee *et al*, 2014; Jing *et al*, 2019). Setelah dilakukan pengelompokan, diperoleh 4 buah senyawa *N*,*O*-karboksimetil kitosan yang disintesis dari bahan dasar kitosan yang sama, dengan berat molekul dan derajat deasetilasi yang sama. Rekapitulasi data aktvitas antioksidan senyawa induk kitosan ditambah senyawa *N*,*O*-karboksimetil kitosan disajikan pada Tabel 1. Hasil perhitungan nilai deskriptor QSAR faktor hidrofobik, elektronik dan topologi menggunakan Hyperchem™ disajikan dalam Tabel 2 sedangkan hasil perhitungan nilai deskriptorfaktor hidrofobik dan topologi menggunakan Chem3D™ disajikan dalam Tabel 3.

Tabel 1. Data aktivitas antioksidan senyawa *N*,*O*-karboksimetil kitosan terhadap DPPH

Nama Senyawa	IC_{50} (mg/mL)[a]	Log (1/C)[b]
CS (*chitosan*)	29,6	-1,4713
NOCC (*N,O-carboxymethyl chitosan*)	1,03	-0,0120
GANOCC (*gallic acid-carboxymethyl chitosan*)	0,23	0,6383
CANOCC (*caffeic acid-carboxymethyl chitosan*)	0,36	0,4437
FANOCC (*ferulic acid-carboxymethyl chitosan*)	0,59	0,2291

Sumber: [a]data aktivitas antioksidan dari Liu *et al* (2013), [b]log (1/C) = log ($1/IC_{50}$)

Tabel 2. Nilai deskriptor faktor hidrofobik, elektronik dan topologi senyawa *N*,*O*-karboksimetil kitosan hasil perhitungan dengan program Hyperchem™

Nama senyawa	approximated surface area (Å²)	Grid Surface area (Å²)	Volume (Å³)	Hydration Energy (kcal/mol)	log P	Refractivity index (Å³)	Polarizability (Å³)	MR (amu)
kitosan	368,69	523,29	894,25	-23,52	-3,25	70,55	29,04	324,33
NOCC	584,43	701,23	1254,59	-34,42	-3,07	101,32	41,50	468,46
GANOCC	744,91	880,93	1593,63	-50,49	-5,17	139,89	54,99	620,56
CANOCC	806,92	939,28	1679,98	-46,11	-3,74	148,53	57,83	630,60
FANOCC	834,46	972,9	1731,71	-40,76	-3,70	153,3	59.,7	644,63

Sumber: data primer hasil komputasi

Tabel 3. Nilai deskriptor faktor hidrofobik dan topologi senyawa *N*,*O*-karboksimetil karboksimetil kitosan hasil perhitungan dengan program Chem3D™

Nama senyawa	Winner Index	Balaban Index	Molecular toplogy index	Polar surface area
kitosan	1011	338142	6458	180,88
NOCC	2958	2057452	18597	241,49
GANOCC	6696	6404764	42439	305,26
CANOCC	7484	7480166	48626	285,03
FANOCC	8002	8359284	52359	274,03

Sumber: data primer hasil komputasi

Hasil analisis korelasi menunjukkan bahwa selain deskriptor log P, semua nilai koesien korelasi antara deskriptor dan aktivitas antioksidan senyawa turunan karboksimetil kitosan > 0,8. Hasil uji statistika regresi terhadap masing-masing deskriptor disajikan pada Tabel 4 dan Tabel 5. Tabel 4 dan Tabel 5 menunjukkan bahwa deskriptor yang memiliki hubungan linear signifikan dengan aktivitas antioksidan senyawa karboksimetil kitosan meliputi deskriptor *approximated surface area*, *grid surface area*, volume, *hydration energy*, *refractivity index*, *polarizability*, berat molekul (MR), dan *polar surface area* (PSA). Dengan kata lain, indeks Wienner, indeks Balaban, indeks topologi molar dan log P tidak memiliki korelasi linear yang signifikan dengan aktivitas antioksidan.

Tabel 4. Nilai parameter kualitas regresi faktor hidrofobik, elektronik dan topologi senyawa *N*,*O*-karboksimetil kitosan hasil perhitungan dengan program Hyperchem™

Parameter	approx surface area (Å²)	Grid Surface area (Å²)	Volume (Å³)	Hydration Energy (kcal/mol)	log P	Refractivity index (Å³)	Polarizability (Å³)	MR (amu)
Multiple R	0.9098	0.8886	0.9079	0.9517	0.5924	0.8904	0.9035	0.9293
R Square	0.8278	0.7896	0.8242	0.9058	0.3510	0.7929	0.8164	0.8637
Standard Error	0.4020	0.4444	0.4062	0.2973	0.7805	0.4409	0.4151	0.3577
F	14.4247	11.2574	14.0664	28.8495	1.6225	11.4848	13.3373	19.0082
P-value of slope	0.03205	0.0439	0.0331	0.0126	0.2925	0.0428	0.0354	0.0223
P-value of intercept	0.0337	0.0451	0.0342	0.0132	0.2939	0.0449	0.0369	0.0232

Sumber: data primer hasil analisis regresi

Tabel 5. Nilai parameter kualitas regresi faktor hidrofobik dan topologi senyawa *N*,*O*-karboksimetil karboksimetil kitosan hasil perhitungan dengan program Chem3D™

Parameter	Winner Index	Balaban Index	Molecular toplogy index	Polar surface area
Multiple R	0.8529	0.8152	0.8409	0.9777
R Square	0.7274	0.6646	0.7071	0.9560
Standard Error	0.5058	0.5610	0.5243	0.2033
F	8.0053	5.9447	7.2436	65.1355
P-value of slope	0.0662	0.0926	0.0743	0.0040
P-value of intercept	0.0821	0.1233	0.0922	0.0040

Sumber: data primer hasil analisis regresi

Berdasarkan Tabel 4 dan Tabel 5 juga dapat dilihat bahwa parameter luas permukaan polar (*polar surface area*) memiliki nilai koefesien regresi linear paling tinggi dibandingkan parameter deskriptor yang lain. Oleh karena itu dekriptor ini lebih tepat digunakan sebagai model HKSA dalam bentuk persamaan regresi linear sederhana seperti pada persamaan (1).

$$\mathbf{log}(\boldsymbol{C}) = 4.3802 - 0.0169 \cdot \boldsymbol{PSA} \quad (1)$$

Persamaan (1) ini juga dapat ditulis dalam bentuk persamaan (2):

$$\mathbf{log}(1/\boldsymbol{C}) = -4.3802 + 0.0169 \cdot \boldsymbol{PSA} \quad (2)$$

Hasil uji validitas menggunakan metode LOO (*leave one out*) menunjukkan bahwa model ini memiliki nilai Q^2 sebesar 0,698. Karena nilai Q^2 model ini > 0,5 maka dapat dinyatakan bahwa model HKSA tersebut valid dan dapat digunakan sebagai prediktor yang baik.

4. SIMPULAN

Persamaan HKSA terbaik dalam bentuk regresi linear sederhana untuk senyawa *N*,*O*-karboksimetil kitosan adalah:

$$\mathrm{Log}(1/C) = -4.3802 + 0.0169 \cdot PSA$$

dengan C adalah aktivitas antioksidan IC_{50} terhadap DPPH dan PSA adalah *polar surface area*. Model regresi ini memenuhi parameter kualitas statistik pada tingkat signifikansi 0,05 dengan nilai koefisien korelasi (R) = 0,9777, koefisien determinasi R^2 = 0,9560, simpangan baku 0,2033 dan F = 65,1355. Hasil uji validasi dengan metode leave one out (LOO) menunjukkan nilai Q2 = 0,698 sehingga dapat dinyatakan bahwa model HKSA persamaan ini adalah valid. Berdasarkan model HKSA ini dapat diusulkan suatu senyawa *N*,*O*-karboksimetil kitosan baru yang diprediksi akan memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi daripada senyawa *N*,*O*-karboksimetil kitosan yang sudah ada.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Universitas Lambung Mangkurat yang telah mendanai penelitian ini melalui Program Dosen Wajib Menelilti ULM Tahun Anggaran 2020 nomor: 023.17.2.6777518/2020 tanggal 16 Maret 2020, sesuai dengan SK Rektor Universitas Lambung Mangkurat nomor: 701/UN8/PP/2020 tanggal 1 April 2020. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Fakultas MIPA ULM yang telah turut membantu meng-*upgrade* beberapa komponen komputer yang digunakan dalam penelitian ini.

6. DAFTAR PUSTAKA

Abdel-Ilah, L., Veljofic, E., Gurbeta, L., and Bednjevic, A. (2017). Applications of QSAR Study in Drug Design, *International Journal of Engineering Research & Technology*, 6: 582-587.

Chaiwong N, Leelapornpisid P, Jantanasakulwong K, Rachtanapun P, Seesuriyachan P, Sakdatorn V, Leksawasdi N, and Phimolsiripol Y. (2020). Antioxidant and Moisturizing Properties of Carboxymethyl Chitosan with Diferent MolecularWeights, *Polymers*, 12, 1445.

Erguder B, Avci A., Devrim E., dan Durak, I. (2007). Effects of cooking techniques on antioxidant enzyme activities of some fruits and vegetables*. Turkish Journal Medical Science* 37 (3), 151-156.

Jing Y, Diao Y, and Yu X. (2019). Free radical-mediated conjugation of chitosan with tannic acid: Characterization and antioxidant capacity, *Reactive and Functional Polymers*, 135, 16–22.

Kothari, S., Thompson, A., Agarwal, A., dan Plessis, S.S. (2010). Free Radicals: Their Beneficial and Detrimental Effects on Sperm Function. *Indian Journal of Experimental Biology* 48.

Kurniasih, M., Purwatia, P., Dewib, R.S., and Fatimaha,S. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan N-Metil Kitosan Berkelarutan Tinggi, Alchemy: *Jurnal Penelitian Kimia*, Vol. 14(1), 107-118.

Lee DS, Woo JY, Ahn CB, Je JY (2014). Chitosan–hydroxycinnamic acid conjugates: Preparation, antioxidant and antimicrobial activity, *Food Chemistry*, 148, 97–104.

Lin, H., dan Chou, C. (2004). Antioxidative Activities of Water-Soluble Disaccharide Chitosan Derivatives. *Food Research International* 37, 883–889.

Luan, F., Wei, L., Zhang, J., Tan, W., Chen, Y., Dong, F., Li, Q., and Guo, Z. (2018). Preparation and Characterization of Quaternized Chitosan Derivatives and Assessment of Their Antioxidant Activity, *Molecules*, 23(516): 1-13.

Dai-Hung Ngo*, Se-Kwon Kim, Antioxidant Effects of Chitin, Chitosan, and Their Derivatives, CHAPTER TWO, Advances in Food and Nutrition Research, Volume 73.

Santoso, UT. (2020). Kinerja Metode Mekanika Molekular & Semiempirik untuk Pemodelan Struktur Molekul Kitosan, Seminar Nasional Kimia, Jurusan Kimia FMIPA UNMUL, Samarinda, 25 November 2020.

Shao Y, Gan Z, Epifanovsky Z, Gilbert ATB, Wormit M, Kussmann J, Lange AW, Behn A,Deng J, Feng X,Ghosh D, Goldey M, Horn PR, Jacobson LD, Kaliman I, Khaliullin RZ, Kuś T, Landau A, Liu J, Proynov EI, Rhee YM, Richard RM, Rohrdanz MA, Steele RP, Sundstrom EJ, Woodcock III HL, Zimmerman PM, Zuev D,Albrecht B,Alguire E, Austin B, Beran GJO, Bernard YA, Berquist E,Brandhorst K, Bravaya KB, Brown ST, Casanova D, Chang CM, Chen Y, Chien SH,Closser KD, Crittenden DL, Diedenhofen M, DiStasio Jr. RA, Do H, Dutoi AD, Edgar RG, Fatehi S, Fusti-Molnar L, Ghysels A, Golubeva-Zadorozhnaya A, Gomes J, Hanson-Heine MWD, Harbach PHP, Hauser AW, Hohenstein AG, Holden ZC,Jagau TC, Ji H, Kaduk B, Khistyaev,Jaehoon Kim K, Kim J, King RA, Klunzinger P, Kosenkov D, Kowalczyk T, Krauter CM, Lao KU, Laurent AD, Lawler KV, Levchenko SV, Lin CY, Liu F, Livshits E, Lochan RC, Luenser A, Manohar P, Manzer SF, Mao SP, Mardirossian N, Marenich AV, Maurer SA, Mayhall NJ, Neuscamman E, Oana CM, Olivares-Amaya R, O'Neill DP, Parkhill JA,Perrine TP, Peverati R, Prociuk A, Rehn DR, Rosta E, Russ NJ, Sharada SM, Sharma S, Small DW, Sodt A, Stein T, Stück D, Su YC, Thom AJW, Tsuchimochi T, Vanovschi V, Vogt L, Vydrov O,Wang T, Watson MA,Wenzel J, White A, Williams CF, Yang J, Yeganeh S, Yost SR, You ZQ, Zhang IY, Zhang I, Zhao Y, Brooks BR, Chan GKL, Chipman DM, Cramer CJ, Goddard III WA, Gordon MS, Hehre WJ, Klamt A, Schaefer III HF, Schmidt MW, Sherrill CD, Truhlar DG, Warshel A, Xu X, Aspuru-Guzik A, Baer R, Bell AT, Besley NA, Chai JD, Dreuw A, Dunietz BD, Furlani TR, Gwaltney SR, Hsu CP, Jung Y, Kong J, Lambrecht DS, Liang WZ, Ochsenfeld C, Rassolov VA, Slipchenko LV, Subotnik JE, Voorhis TV, Herbert JM, Krylov AI. (2015). Advances in molecular quantum chemistry contained in the Q-Chem 4 program package, *Mol. Phys*. 113, 184-215.

Sun, T., Xie, W., and Xu, P. (2003). Antioxidant Activity of Graft Chitosan Derivatives, *Macromol. Biosci*., 3, 320–323.

Sun T, Yao Q, Zhou D, and Mao F. (2008). Antioxidant activity of N-carboxymethyl chitosan oligosaccharides, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18, 5774-5776.

Wei, L., Li, Q., Tan, W., Dong, F., Luan, F., and Guo, Z. (2017). Synthesis, Characterization, and the Antioxidant Activity of Double Quaternized Chitosan Derivatives, Molecules, 22(501): 1-11.

Zuhra, C. F., Tarigan, J. B., dan Sihotang, H, (2008). Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (Sauropus androgunus (L) Merr.), Jurnal Biologi Sumatera 3 (1), 7-10.

© Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Universitas Lambung Mangkurat