

Desain Turunan Fluorouinolon Baru sebagai Zat Antibakteri terhadap *S. typhimurium* melalui Komputasi Kimia

Agus Dwi Ananto, Gusti Ayu Putu Sri Erwinayanti, Handa Muliasari

Abstrak

Latar Belakang: Perkembangan kimia komputasi mengalami kemajuan yang sangat cepat beberapa tahun terakhir ini. Hal ini sinergis dengan perkembangan penemuan obat baru yang semakin lama diharapkan semakin efektif dan efisien. Fluorokuinolon memiliki sifat-sifat seperti spektrum antibakteri yang lebar, terserap baik pada saluran cerna, dan masa kerja yang panjang. Penelitian yang mengarah kepada penemuan zat antibakteri baru turunan fluorokuinolon perlu dilakukan.

Metode: Pada penelitian ini digunakan senyawa induk dari fluorokuinolon yang kemudian dilakukan optimasi menggunakan metode yang telah divalidasi sebelumnya, yaitu metode semiempirik PM3. Optimasi geometri dari senyawa induk fluorokuinolon dilakukan dengan menggunakan model *balls and cylinders* yang tersedia pada paket program Hyperchem. Evaluasi persamaan QSAR dilakukan berdasarkan analisis regresi multilinear dan dilakukan menggunakan program *SPSS for Windows* dengan metode *Backward*.

Hasil: Desain senyawa baru didasarkan pada muatan atom dan menggunakan parameter-parameter hidrofobik, elektronik dan sterik. Perhitungan deskriptor dilakukan dengan metode PM3, sedangkan aktivitas senyawa diperoleh dari literatur. Berdasarkan persamaan terbaik, dirancang senyawa baru turunan fluorokuinolon yaitu senyawa dengan substitusi pada atom C no. 7 dengan propil, siklopropil, butyl dan sikloheksil dengan masing-masing harga MIC sebesar 0,331; 0,181; 0,201 dan 0,811. Senyawa turunan fluorokuinolon baru tersebut dianjurkan untuk disintesis di laboratorium guna pembuktian lebih lanjut.

Kesimpulan: Desain senyawa baru turunan fluorokuinolon berdasarkan persamaan terbaik yaitu senyawa dengan substitusi pada atom C no. 7 dengan propil, siklopropil, butyl dan sikloheksil dengan masing-masing harga MIC sebesar 0,331; 0,181; 0,201 dan 0,811.

Katakunci

HKSA, fluorokuinolon, *Salmonella typhimurium*

Fakultas Farmasi Universitas Mataram

*e-mail: agus_da@unram.ac.id

1. Pendahuluan

Perkembangan kimia komputasi mengalami kemajuan yang sangat cepat beberapa tahun terakhir ini. Salah satu disiplin ilmu di bidang 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.

Pada eksperimen laboratorium, untuk dapat menemukan suatu senyawa baru yang berkhasiat tinggi diperlukan beberapa langkah 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. Sebagai salah satu solusi dari masalah di atas adalah diperkenalkannya pemodelan menggunakan komputer.¹

Dalam eksperimen komputer, perhitungan dilakukan dengan resep algoritma yang ditulis dalam bahasa pemrograman. Metoda ini memungkinkan penghitungan sifat molekuler yang kompleks dengan hasil yang berkorrelasi secara signifikan dengan eksperimen.²

Penelitian kimia komputasi dalam bidang terapan dilakukan dengan mempelajari korelasi antara struktur-aktivitas atau struktur-sifat terhadap data percobaan yang telah diperoleh dari penelitian sebelumnya. Konsep terapan ini juga digunakan dalam pengembangan bidang farmakologi molekuler dan kimia medicinal.

Berdasarkan penelitian yang sudah pernah dilakukan secara insilico bahwa setelah dilakukannya perhitungan menggunakan metoda semiempiris yang menghubungkan antara struktur dan aktivitas senyawa turunan fluo-

rokuinolon, maka desain senyawa baru untuk turunan senyawa tersebut sangat dimungkinkan untuk dilakukan.³

Fluorokuinolon memiliki sifat-sifat seperti spektrum antibakteri yang lebar, terserap baik pada saluran cerna, dan masa kerja yang panjang. Salah satu bakteri yang dapat dihambat pertumbuhannya oleh fluorokuinolon adalah *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*), yaitu bakteri penyebab *salmonellosis* (infeksi bakteri *Salmonella*). *Salmonella typhimurium* juga merupakan bakteri yang biasanya terdapat pada kasus keracunan makanan. Infeksi *S. typhimurium* biasanya ditandai dengan diare, demam, perut kram selama 12 sampai 72 jam setelah terinfeksi. Infeksi *S. typhimurium* dapat berakibat fatal jika terjadi pada seseorang yang memiliki sistem kekebalan tubuh yang sedang turun dan tidak diterapi dengan obat antibiotik.⁴ Berdasarkan hal tersebut, penelitian yang mengarah kepada penemuan zat antibakteri baru turunan fluorokuinolon perlu dilakukan.

2. Metode Penelitian

2.1 Bahan dan alat

Sebagai bahan penelitian digunakan data aktivitas antibakteri berupa *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC, $\mu\text{g/mL}$) hasil eksperimen secara *in silico* terhadap satu seri senyawa turunan Fluorokuinolon yang diambil dari literatur yaitu senyawa golongan etil-fluorokuinolon, MIC prediksi = 0,0354 ($\mu\text{g/mL}$), asam etil fluorokuinolon fosfat, MIC prediksi = 2,84. 10-19($\mu\text{g/mL}$), dan isopropil fluorokuinolon MIC prediksi = 0,1085($\mu\text{g/mL}$), serta senyawa asam m-nitro fluorokuinolon sulfonat, MIC prediksi = 1,32.10-15($\mu\text{g/mL}$). Selain itu, penelitian ini juga didasarkan pada data hubungan kuantitatif antara struktur dan aktivitas untuk model persamaan terbaik yang diperoleh dari literatur yaitu $\text{Log MIC} = 2.196 + (48.613 * \text{qC6}) - (26.908 * \text{qC8}) - (0.256 * \mu) + (1.11 * \text{LogP}) + (0.004 * \text{MW}) + (0.003 * \Delta H_f)$.

Penelitian ini dikerjakan dengan menggunakan perangkat komputer 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.

2.2 Prosedur Penelitian

Dalam penelitian dengan analisis Hansch, setiap senyawa dibuat model struktur dua dimensinya menggunakan paket program Hyperchem. 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 paling stabil, 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* dengan metode *Backward*. Berdasarkan persamaan terbaik yang telah diperoleh dari literatur, langkah berikutnya yaitu mendesain senyawa baru dengan tujuan untuk mencari senyawa baru yang merupakan senyawa turunan fluorokuinolon dengan aktivitas yang lebih tinggi dari senyawa sebelumnya. Desain senyawa baru ini dilakukan dengan memodifikasi jenis dan posisi substituen. Posisi substituen difokuskan pada daerah pusat aktif.

Tahap berikutnya yaitu melakukan perhitungan dengan metode semiempirik PM3 dengan batas konvergensi 0,001 kkal/ \AA^3 .mol, metode optimasi dilakukan berdasarkan algoritma Polak-Ribiere terhadap semua senyawa baru yang akan disusun. Berdasarkan perhitungan tersebut akan diperoleh senyawa turunan fluorokuinolon baru yang memiliki aktivitas yang tinggi dan senyawa tersebut dapat diusulkan untuk dilakukan sintesis pada tahapan berikutnya.

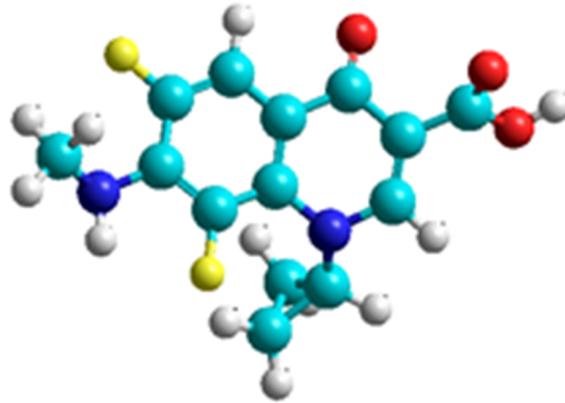
3. Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini digunakan senyawa induk dari fluoroquinolon yang kemudian dilakukan optimasi menggunakan metode yang telah divalidasi sebelumnya, yaitu metode semiempirik PM3. Hasil optimasi geometri dari senyawa induk fluorokuinolon dapat dilihat pada Gambar 1 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 stik yang dapat dilihat pada Gambar 2 dan 3. Gambar berikutnya menggambarkan senyawa induk fluorokuinolon dengan model stik yang dilengkapi dengan muatan bersih atom untuk masing-masing atom yang dapat dilihat pada Gambar 4.

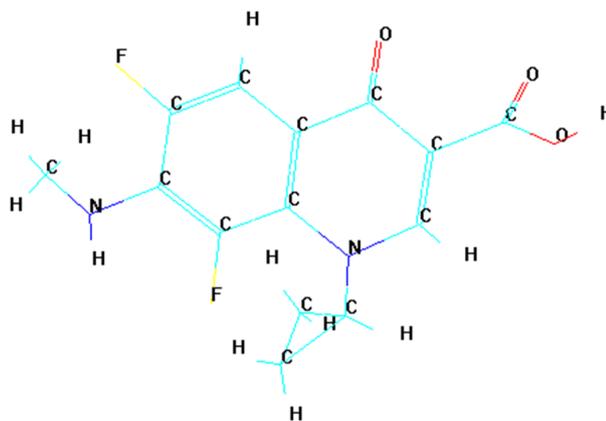
Pada Gambar 4 terlihat bahwa atom F bermuatan negatif. Hal ini disebabkan karena atom F lebih elektronegatif jika dibandingkan dengan atom-atom lain pada senyawa tersebut, sehingga awan elektron pada atom di dekatnya akan tertarik ke arah atom F tersebut.

Pada gugus benzena atom C9 yang terletak dekat dengan atom F19 mempunyai muatan atom berharga positif karena pengaruh elektronegativitas dari atom F19, sedangkan atom C10, C5, C6 dan C8 yang letaknya jauh dari atom F19, tidak mendapat pengaruh elektronegativitas dari atom F19, sehingga mempunyai harga muatan atom negatif.

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



Gambar 1. Hasil optimasi senyawa fluorokuinolon menggunakan metode PM3 dengan model *balls and cylinders*



Gambar 2. Hasil optimasi senyawa fluorokuinolon menggunakan metode PM3 dengan model stik dan simbol nama

SPSS 16 *for Windows* menggunakan metode *backward*. Dalam hal ini analisa dilakukan terhadap deskriptor dari 16 senyawa yang dikaji.

Hasil eksperimen dalam bentuk harga MIC dijadikan sebagai variabel tak bebas, dan seluruh data deskriptor dijadikan sebagai variabel bebas. Persamaan terpilih yang berhasil ditentukan kemudian digunakan sebagai alat untuk menghitung aktivitas antibakteri senyawa turunan Fluorokuinolon baru, yaitu hasil modifikasi teoritik terhadap struktur senyawa Fluorokuinolon.

Parameter parameter yang digunakan sebagai variabel bebas dalam analisis HKSA pada penelitian ini adalah parameter elektronik, parameter sterik dan parameter hidrofobik. Parameter elektronik terdiri dari muatan bersih atom (q), momen dwi kutub (μ), energi hidrasi (EH), polarisabilitas molekular (α), energi total (ET), energi ikatan (Eb), energi atom terisolasi (Eat.is), energi elektronik (Ee) dan interaksi inti-inti (Eint). Parameter sterik terdiri dari luas permukaan (SA), volume (V), refraktivitas molar (RM), massa molekular (MW) dan panas pembentukan (ΔH_f) dan untuk parameter hidrofobik terdiri dari log P. Muatan bersih atom yang digunakan di sini adalah muatan bersih atom dari senyawa induk karbamat, yaitu untuk atom N1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9 dan C10. Variabel terikat yang

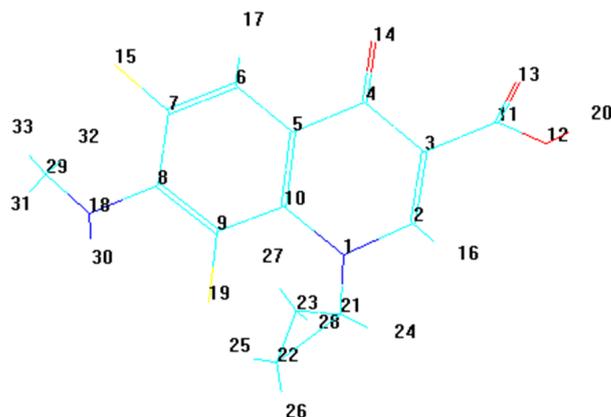
digunakan adalah MIC.

Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya, diperoleh model persamaan terbaik sebagai berikut.

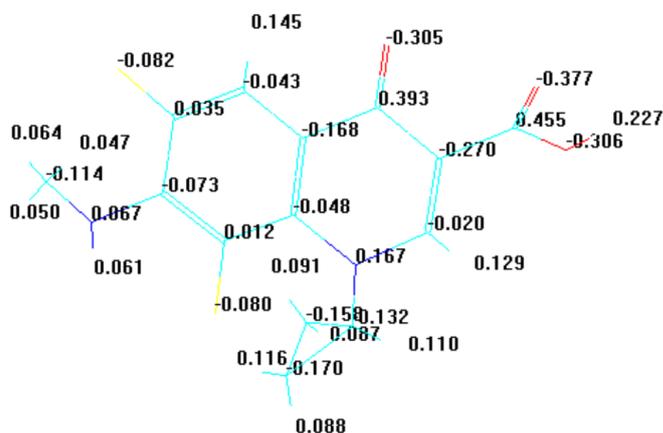
$$\text{Model persamaan terbaik} = 2.196 (48.613 * qC6) - (26.908 * qC8) - (0.256 * \mu) + (1.11 * \text{LogP}) + (0.004 * \text{MW}) + (0.003 * \Delta H_f)^3$$

Log MIC adalah aktivitas Fluorokuinolon dalam bentuk logaritma *Minimum Inhibition Concentration*, qC6 adalah muatan bersih atom C6, qC8 adalah muatan bersih atom C8. Polar adalah polarisabilitas molekular turunan Fluorokuinolon, log P adalah koefisien partisi n-oktanol – air. BM adalah berat molekular dan ΔH_f panas pembentukan.

Data hasil analisis statistik penelitian sebelumnya adalah n (jumlah senyawa yang dikaji) = 16, r (koefisien korelasi) = 0.929, r² (koefisien determinasi) = 0.862, SD (simpangan baku) = 0.254, F hitung = 9.394 dan F tabel = 3.374 maka F hitung/ F tabel = 2.784, serta PRESS (Jumlah kuadrat simpangan data prediksi terhadap data eksperimen) = 0.022. Harga n merupakan jumlah seri senyawa turunan fluorokuinolon yang dianalisis yaitu 16 senyawa. Harga SD adalah standar deviasi yang berharga cukup kecil yaitu 0.254. Harga r² pada model ini adalah 0.862, artinya 86,2% variasi harga Log



Gambar 3. Hasil optimasi senyawa fluorokuinolon menggunakan metode PM3 dengan model stik dan simbol urutan penomoran atom



Gambar 4. Hasil optimasi senyawa fluorokuinolon menggunakan metode PM3 dengan model stik yang dilengkapi dengan muatan bersih atom

MIC senyawa turunan fluorokuinolon diakibatkan oleh variasi harga deskriptor pada model HKSA. Sedangkan 13,8% ditentukan oleh variasi deskriptor lainnya yang tidak digunakan pada penelitian ini. Model QSAR yang diperoleh merupakan model yang mengandung kontribusi struktur elektron dan fenomena sterik pada struktur fluoroquinolon.

Analisis regresi multilinier juga menghasilkan harga F. Harga F menyatakan ukuran perbedaan signifikansi dari model persamaan HKSA yang diperoleh. Harga F hitung adalah 9.394 dengan ratio Fhitung/Ftabel adalah 2.784. (>1). Hal ini berarti $F_{hitung} > F_{tabel}$, maka daerah penerimaan hipotesis nol (H_0) yang menyatakan bahwa tidak ada signifikansi statistik pada model HKSA yang dihasilkan, ditolak. Daerah penerimaan H_1 yang menyatakan adanya signifikansi statistik pada model HKSA yang diterima, maka model HKSA yang diperoleh dapat diterima sebagai model HKSA yang dapat digunakan untuk memprediksi nilai Log MIC turunan fluorokuinolon.

Dari tahapan penelitian sebelumnya, telah diperoleh model persamaan HKSA terbaik. Model persamaan terbaik tersebut selanjutnya digunakan sebagai penuntun

dalam mendesain dan memprediksi aktivitas senyawa baru turunan fluorokuinolon. Dalam mendesain senyawa baru pemilihan struktur senyawa induk didasarkan pada senyawa turunan fluorokuinolon yang mempunyai aktivitas insektisida yang paling baik.

Senyawa baru yang telah didesain tersebut, kemudian dilakukan optimasi geometri menggunakan metode semiempirik PM3, dan dihitung deskriptor-deskriptor senyawa tersebut sebagaimana deskriptor yang digunakan pada model persamaan HKSA terbaik yang diperoleh pada tahap penelitian sebelumnya, yaitu deskriptor $qC6$, $qC8$, μ , $\log P$, MW , ΔH_f . Deskriptor-deskriptor senyawa baru hasil desain yang telah diperoleh dari perhitungan tersebut kemudian dimasukkan ke dalam model persamaan HKSA terbaik untuk menghitung aktivitas biologisnya secara teoritis. Pada penelitian ini, aktivitas biologis senyawa ditunjukkan oleh harga log MIC. Macam-macam substituen senyawa baru turunan fluorokuinolon yang telah berhasil didesain beserta harga log MIC yang telah dihitung menggunakan model persamaan HKSA terbaik disajikan pada Tabel 1.

Berdasarkan pada substitusi pada atom C no. 7 tersebut, diperoleh senyawa baru turunan fluorokuinolon

Tabel 1. Desain senyawa baru dan harga MIC prediksinya yang dihitung dengan model terbaik

Senyawa	Nama	Log MIC
1	Methyl 1-cyclopropyl-6,8-difluoro-4-oxo-7-propyl-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate	0.331183
2	Methyl 1,7-dicyclopropyl-6,8-difluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate	0.181322
3	Methyl 7-butyl-1-cyclopropyl-6,8-difluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate	0.201815
4	Methyl 7-cyclohexyl-1-cyclopropyl-6,8-difluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate	0.811354

dengan aktivitas biologis sebesar 0,33 untuk senyawa 1, yang mana pada atom C no. 7 disubstitusikan dengan gugus propil. Desain yang kedua memiliki aktivitas biologis sebesar 0,181 yang mana substitusi pada atom C no. 7 adalah gugus siklopropil. Pada desain yang ketiga substitusi dilakukan pada atom C no. 7 dengan butyl dan diperoleh aktivitas biologis sebesar 0,2018. Senyawa keempat yang ditawarkan yaitu senyawa dengan substitusi pada atom C no. 7 dengan sikloheksil dan dengan aktivitas biologis sebesar 0,811.

4. Kesimpulan

Desain senyawa baru turunan fluorokuinolon berdasarkan persamaan terbaik yaitu senyawa dengan substitusi pada atom C no. 7 dengan propil, siklopropil, butyl dan sikloheksil dengan masing-masing harga MIC sebesar 0,331; 0,181; 0,201; dan 0,811.

Daftar Pustaka

1. Mudasir M, Tahir I, Putri IPAM. Quantitative Structure and Activity Relationship Analysis of 1,2,4-Thiadiazoline Fungicides Based on Molecular Structure Calculated by Am1 Method. Indonesian Journal of Chemistry. 2003;3(1):39–47.
2. Jensen F. Introduction for Computational Chemistry. John Wiley and Sons; 1999.
3. Ananto AD. Analisis HKSA Senyawa Turunan Fluorokuinolon sebagai Zat Anti Bakteri *S. typhimurium* menggunakan Metoda Semiempiris PM3 [Laporan Penelitian];.
4. Bagian Farmakologi. Farmakologi dan Terapi. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 1995.