

# Sintesis Tetrapeptida YLYA (Tyr-Leu-Tyr-Ala) sebagai Kandidat Antioksidan dengan Metode *Solid Phase Peptide Synthesis*

Siti Sopiah, Nety Kurniaty, Hilda Aprilia Wisnuwardhani

*Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Bandung, Indonesia*

*email: siti.sopiah7798@gmail.com, netykurniaty@yahoo.com, hilda.aprilia@gmail.com*

**ABSTRACT:** Free radicals are unstable compounds or molecules inside cells and it has one or more electrons in their outer orbitals unpaired, that causes electrons to be reactive. The risk of the impact of free radical reactivity can be reduced by the use of antioxidant compounds. In this study YLYA (Tyr-Leu-Tyr-Ala) tetrapeptides which have antioxidant activity have been successfully synthesized using the Solid Phase Peptide Synthesis (SPPS) method. In this method using 2-chlorotriethyl chloride resin as a solid phase buffer. In this synthesis process, the Fmoc/tBu strategy was chosen as a protective amino acid's group. In the preparation of YLYA tetrapeptides using 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate (HBTU) coupling reagents and Hydroxybenzodiazole (HOBT). After tetrapeptide's formed which attach to the resin, the resin and the protective side group are released use trifluoroacetic acid (TFA) solution in dichloromethane (DCM). YLYA tetrapeptide compounds have been formed which are marked by the results of characterization using a mass spectrophotometer with an m/z value of 529.5621 at the peak of the  $[M+H]^+$  ion. In the RP-HPLC analysis results showed that the YLYA tetrapeptide compound was not pure because there were still minor peaks, the target compound was at the retention time of the 9<sup>th</sup> minute. YLYA tetrapeptide compound have antioxidant activity with an IC<sub>50</sub> value of 4319,522 ppm in the DPPH test

**Keywords:** YLYA tetrapeptide, Solid Phase Peptide Synthesis (SPPS) method, Antioxidant, DPPH

**ABSTRAK:** Radikal bebas merupakan suatu senyawa atau molekul yang tidak stabil di dalam sel dan mempunyai satu atau lebih elektron yang pada orbital luarnya tidak berpasangan, sehingga dapat menyebabkan elektron bersifat reaktif. Resiko dampak reaktifitas radikal bebas tersebut dapat dikurangi dengan penggunaan senyawa antioksidan. Pada penelitian ini tetrapeptida YLYA (Tyr-Leu-Tyr-Ala) yang memiliki aktivitas antioksidan telah berhasil disintesis menggunakan metode *Solid Phase Peptide Synthesis* (SPPS). Pada metode ini menggunakan resin 2-klorotrietil klorida sebagai penyangga fase padat. Pada proses sintesis ini dipilih strategi Fmoc/tBu sebagai gugus pelindung asam amino. Pada penyusunan tetrapeptida YLYA ini menggunakan reagen kopling 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate (HBTU) dan *Hydroxybenzodiazole* (HOBT). Setelah terbentuk tetrapeptida yang menempel pada resin, kemudian dilakukan pelepasan resin dan pelindung gugus samping menggunakan larutan asam trifluoroasetat (TFA) dalam diklorometana (DCM). Senyawa tetrapeptida YLYA telah terbentuk yang ditandai dengan hasil karakterisasi menggunakan spektrofotometer masa dengan nilai m/z 529,5621 pada puncak ion  $[M+H]^+$ . Pada hasil analisis RP-HPLC menunjukkan bahwa senyawa tetrapeptida YLYA belum murni karena masih adanya puncak-puncak minor, senyawa target berada pada waktu retensi menit ke 9. Senyawa tetrapeptida YLYA memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 4319,522 ppm pada uji DPPH.

**Kata Kunci:** Tetrapeptida YLYA, Metode solid phase peptide synthesis (SPPS), Antioksidan, DPPH

## 1 PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan suatu senyawa atau molekul yang tidak stabil di dalam sel dan mempunyai satu atau lebih elektron yang pada orbital luarnya tidak berpasangan, sehingga dapat

menyebabkan elektron bersifat reaktif (Winarsi, 2007). Resiko dampak reaktifitas radikal bebas tersebut dapat dikurangi dengan penggunaan senyawa antioksidan (Amrun, dkk., 2007). Antioksidan dapat menghambat reaksi oksidasi,

dengan menangkap radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel akan dihambat dan tidak dapat menginduksi suatu penyakit (Yulia, dkk., 2015). Salah satu sumber antioksidan yaitu berasal dari peptida.

Peptida merupakan bahan yang selektif dan efektif juga relatif lebih aman serta dapat ditoleransi oleh tubuh, selain itu peptida juga tidak dianggap sebagai benda asing seperti obat kimia karena peptida berasal dari protein (Kusumaningtyas, 2018).

Menurut Khothibul Umam (2015), beberapa peptida bioaktif yang diisolasi dari protein aktomiosin daging babi memiliki aktivitas antioksidan salah satunya adalah fragmen yang memiliki urutan asam amino DLYA (Asp-Leu-Tyr-Ala). Pada penelitian ini dilakukan sintesis senyawa tetrapeptida analog DLYA lainnya yaitu YLYA, dengan cara mengganti salah satu residu asam amino D (Asp) dengan residu asam amino Y (Tyr) sehingga akan disintesis senyawa tetrapeptida YLYA (Tyr-Leu-Tyr-Ala) yang diharapkan dapat memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi karena menurut Zou, *et.al.*, (2016), adanya senyawa asam amino aromatik dan asam amino hidrofobik dapat meningkatkan aktivitas antioksidan.

Senyawa yang memiliki efek antioksidan telah banyak dihasilkan melalui proses isolasi dari bahan alam tertentu. Namun, apabila langsung melakukan isolasi dari bahan alam maka harus memiliki ketelitian dan kecermatan tersendiri, karena senyawa yang terkandung dalam bahan alam sangat kecil, membutuhkan waktu yang lama dan biaya yang cukup tinggi, sehingga kurang efektif dan efisien. Oleh karena itu, perlu dilakukan penyediaan senyawa yang berkhasiat sebagai kandidat antioksidan dengan cara sintesis secara kimia. Pada penelitian ini akan dilakukan metode sintesis kimia senyawa peptida yang memiliki urutan asam amino YLYA. Senyawa peptida hasil sintesis tersebut diharapkan memiliki aktivitas antioksidan. Hasil sintesis kimia tersebut diharapkan menjadi alternatif metode sintesis tetrapeptida YLYA yang lebih aman dari segi kehalalannya dibanding tetrapeptida yang diisolasi dari protein aktomiosin daging babi.

Metode yang digunakan untuk sintesis peptida pada penelitian ini yaitu metode *Solid Phase Peptide Synthesis* (SPPS). Metode ini bersifat otomatis dan menghasilkan peptida sintetik yang

panjang dalam periode waktu yang singkat (Murray, 2003).

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu apakah senyawa tetrapeptida YLYA dapat disintesis menggunakan metode SPPS, serta apakah senyawa tetrapeptida YLYA hasil sintesis adalah benar memiliki aktivitas antioksidan.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mensintesis senyawa tetrapeptida YLYA dengan menggunakan metode SPPS, serta menguji aktivitas antioksidan tetrapeptida YLYA hasil sintesis menggunakan metode peredaman DPPH.

## 2 LANDASAN TEORI

### Asam Amino

Asam amino adalah suatu asam karboksilat yang terdiri dari gugus amino ( $\text{NH}_2$ ), gugus karboksil ( $-\text{COOH}$ ), atom hidrogen ( $-\text{H}$ ), dan gugus radikal ( $-\text{R}$ ) yang terikat pada atom C yang dikenal sebagai karbon . Gugus radikal ( $-\text{R}$ ) merupakan rantai cabang yang membedakan asam amino satu dengan asam amino lainnya (Alhana, 2011).

### Peptida

Peptida merupakan senyawa alami yang tersusun dari monomer-monomer asam amino yang tergabung serta membentuk ikatan melalui ikatan peptida dan atau amida. Secara biologi beberapa peptida bersifat aktif serta berguna untuk meningkatkan kesehatan manusia dan hewan yang sering disebut dengan peptida bioaktif (Kusumaningtyas, 2018).

Suatu peptida merupakan suatu amida yang dibentuk lebih dari satu asam amino. Ikatan amida yang terbentuk diantaranya yaitu gugus  $-\text{amino}$  dari asam amino dan gugus karboksil dari asam amino lain disebut ikatan peptida (Fessenden, 1986).

Peptida bioaktif merupakan potongan-potongan protein spesifik yang dapat mempengaruhi kesehatan serta memiliki efek positif terhadap tubuh. Peptida bioaktif mempunyai potensi sebagai senyawa antihipertensi, antioksidan, antibakteri (Riyadi, 2018).

### Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat memperlambat atau mencegah proses oksidasi

pada senyawa/molekul yang mudah teroksidasi oleh antioksidan, antioksidan dapat melindungi sel dari serangan bahaya radikal bebas oksigen reaktif. Radikal bebas merupakan senyawa yang tidak stabil karena senyawa ini memiliki elektron yang tidak berpasangan. Senyawa tersebut mencuri elektron yang dimiliki oleh makromolekul disekelilingnya untuk membentuk pasangan elektron sehingga tercapai kestabilan atom atau molekul (Winarsi, 2014).

Reaksi tersebut merupakan reaksi berantai, dimana reaksi ini berlangsung terus menerus di dalam tubuh dan akan menimbulkan stress oksidatif apabila tidak dihentikan. maka dari itu resiko dampak reaktifitas radikal bebas tersebut dapat dikurangi dengan penggunaan senyawa antioksidan (Amrun dkk, 2007).

### DPPH

Senyawa DPPH merupakan suatu senyawa radikal bebas yang stabil. DPPH memiliki warna ungu pekat yang dapat memberikan serapan pada panjang gelombang 517 nm, namun adanya aktivitas antioksidan dari senyawa uji maka akan mengakibatkan perubahan warna pada larutan DPPH yang semula berwarna ungu pekat berubah menjadi kuning pucat (*diphenyl picrylhydrazin*) serta nilai serapannya akan sebanding dengan jumlah elektron yang diterima (Wulansari, 2018).

Prinsip metode uji aktivitas antioksidan DPPH yaitu pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif, dengan dilakukannya pengukuran penangkapan radikal DPPH oleh senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga nilai aktivitas peredaman radikal bebas akan diketahui yang dapat dinyatakan dengan nilai  $IC_{50}$  (*Inhibitory Concentration*). Nilai  $IC_{50}$  merupakan besarnya konsentrasi senyawa uji yang mampu meredam radikal bebas sebanyak 50%. Dimana, semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka semakin tinggi aktivitas peredaman radikal bebas (Ridho, 2013).

### Solid Phase Peptide Synthesis (SPPS)

Metode *solid phase peptide synthesis* konsepnya yaitu dengan melakukan pemanjangan peptida yang dihasilkan melalui reaksi penggabungan antara asam amino satu dengan asam amino lainnya, yang selanjutnya diikuti dengan penghilangan gugus pelindung (Stawikowski, *et.al.*, 2013).

## METODOLOGI PENELITIAN

Pada penelitian ini dilakukan sintesis tetrapeptida di Laboratorium Sentral Universitas Padjadjaran Bandung. Asam amino yang digunakan pada penelitian ini yaitu Fmoc-Tyr(tBu)-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Tyr(tBu)-OH, dan Fmoc-Ala-OH. Metode yang digunakan untuk sintesis tetrapeptida YLYA (Tyr-Leu-Tyr-Ala) sebagai kandidat antioksidan adalah metode SPPS.

Metode ini terdiri dari beberapa tahap yaitu pengkondisian tabung, pengembangan resin, Tahap selanjutnya yaitu pengkoplingan asam amino ujung C pertama pada resin yang bertujuan sebagai penyangga fase padat. Setelah itu dilakukan uji kloranil untuk melihat keberhasilan pengkoplingan selanjutnya dilakukan *capping* resin untuk menutupi gugus aktif pada resin. Lalu dilakukan pelepasan gugus pelindung Fmoc. Untuk mengetahui keberhasilan pada proses pelepasan gugus Fmoc maka dapat diuji menggunakan uji kloranil.

Kemudian dilakukan penyusunan asam amino pada fragmen peptida dengan prosedur yang sama pada asam amino selanjutnya sampai terbentuk tetrapeptida. Kemudian dilakukan pelepasan tetrapeptida linier dari resin. Kemudian dilakukan karakterisasi menggunakan spektrometer massa dan dilakukan uji kemurnian menggunakan RP-HPLC (*Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography*). Setelah itu, dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode peredaman DPPH dengan Spektrofotometer UV-Vis sehingga akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai  $IC_{50}$  (*Inhibitory Concentration*).

## 3 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Urutan peptida yang disintesis pada penelitian ini yaitu tyrosin-leusin-tyrosin-alanin (tyr-leu-tyr-ala), yang merupakan kandidat antioksidan. Asam amino yang digunakan telah memiliki gugus pelindung fmoc/tbu, dimana penggunaan asam amino yang telah memiliki gugus pelindung ini memiliki keuntungan yaitu supaya tidak mengganggu reaksi pengerjaan sintesis, menjadi lebih ekonomis dalam hal biaya serta waktu karena tidak adanya lagi reaksi untuk pemasangan gugus pelindung pada asam amino sehingga memudahkan dalam penyusunan dan

mengefektifkan waktu.

### Pengkologian Asam Amino Pertama

Asam amino yang pertama dikopling yaitu asam amino Fmoc-Ala-OH. Proses sintesis tetrapeptida ini dilakukan dengan arah perpanjangan dari ujung-C ke ujung-N, karena mudahnya pemutusan sementara gugus pelindung pada atom N dibandingkan pemutusan sementara gugus pendung pada atom C (Chan dan White, 2000).

Pada sintesis peptida ini resin yang digunakan adalah resin 2-klorotritil klorida sebagai penyangga fasa padat, dimana resin ini merupakan resin yang sering digunakan karena memiliki gugus yang dapat meruah sehingga resin ini bisa mengurangi terjadinya rasemisasi pada setiap tahap sintesis (Maharani, 2016). Karena resin ini dapat meruah maka resin harus dikembangkan terlebih dahulu menggunakan pelarut DCM supaya sisi aktif dari resin tersebut bisa lebih terbuka sehingga asam amino pertama dapat lebih mudah terikat pada sisi aktif dari resin (Sumiarsa, 2019).

Pengikatan asam amino ujung C pada Fmoc-ALa-OH terhadap resin 2-klorotritil klorida dilakukan dengan cara mencampurkan asam amino Fmoc-Ala-OH dengan DIPEA sebagai basa organik serta sebagai reagen pada saat proses pengikatan asam amino dengan resin (Chan & White, 2000).

Pada reaksi pengikatan asam amino pertama yaitu Fmoc-Ala-OH dengan resin 2-klorotritil klorida bisa mencegah terjadinya reaksi rasemisasi karena pada reaksinya tidak melibatkan aktivasi gugus karboksil. Pada tahap ini reaksi yang terjadi yaitu pengambilan hidrogen gugus karboksil pada Fmoc-Ala-OH. Kemudian, terbentuk nukleofil dimana nukleofil tersebut menggantikan atom klorida pada atom karbon kuarter pada resin 2-klorotritil klorida, sehingga asam amino pertama bisa berikatan dengan resin (Chan & White, 2000).

Selanjutnya dilakukan proses *loading resin*. *Loading resin* ini dilakukan dengan cara resin-peptida dilarutkan dalam larutan piperidin 20 %, Kemudian larutan ini didiamkan selama 1 jam, kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 290 nm. Hasil absorbansi dimasukkan dalam persamaan sebagai berikut:

$$\text{Loading resin} = \frac{\text{Abs } \lambda \text{ vol}(2\text{mL})}{5800 \times \text{penimbangan resin}}$$

Hasil *loading resin* yang diperoleh yaitu 0,11 mmol/g, dari nilai ini dapat menandakan bahwa resin dapat mengikat asam amino dengan baik, karena memasuki rentang rata-rata *loading resin* yang baik yaitu berada pada 0,1-1,3 mmol/mg (Maharani, 2016). Apabila *loading resin* terlalu besar menandakan bahwa populasi peptida yang menempel pada resin akan banyak. Hal ini kurang baik karena dapat menyebabkan banyaknya jumlah peptida yang akan saling berdekatan, dan menyebabkan proses penyusunan peptida semakin sulit serta potensi terjadi agregasi semakin besar. Hal tersebut juga dapat mengakibatkan semakin sulitnya reaksi kopling dan deproteksi (Maharani, 2016).

Capping resin dilakukan untuk menutup gugus aktif pada resin 2-klorotritil klorida yang tidak bereaksi dengan gugus metoksi, agar dapat mencegah asam amino selanjutnya bereaksi dengan gugus aktif pada resin yang masih tersisa (Sumiarsa, 2019). Proses capping resin ini dilakukan dengan menggunakan campuran metanol:DCM:DIPEA sebanyak 5 mL yang dimasukkan kedalam tabung reaktor yang telah berisi resin dan asam amino pertama. Pada proses ini metanol akan menutupi sisi aktif pada gugus klorida, peran DCM sebagai pelarut dan DIPEA berperan sebagai basa penarik OH dari metanol agar lebih nukleofil menyerang karbon tersier dari resin 2-klorotritil klorida sehingga metanol akan berikatan dengan resin dan sisi aktif dari resin akan tertutup.

Setelah proses pengkoplingan kemudian dilakukan uji kloranil untuk melihat keberhasilan proses pengkoplingan, sedikit asam amino yang telah dikopling kemudian dilarutkan dengan larutan asetaldehid dan larutan kloranil. Pada tahap ini proses pengkoplingan berhasil karena tidak adanya perubahan warna pada butiran resin (Chan & White, 2000).

Selanjutnya dilakukan deproteksi Fmoc yang bertujuan untuk membuka sisi aktif pada asam amino pertama, supaya asam amino satu dengan asam amino lainnya dapat berikatan (Sumiarsa, 2019). Pada proses deproteksi ini menggunakan larutan basa DBU karena gugus pelindung Fmoc adalah gugus yang labil dalam kondisi basa, maka untuk pelepasannya harus menggunakan senyawa yang bersifat basa (Chan & White, 2000).

Kemudian dilakukan uji kloranil, untuk memastikan keberhasilan proses dengan melihat

adanya perubahan warna pada butiran resin. Pada tahap ini proses deproteksi berhasil dilakukan ditandai dengan adanya perubahan warna pada butiran resin menjadi warna biru. Hal ini karena adanya gugus  $\text{-NH}_2$  bebas yang artinya proses deproteksi Fmoc telah berhasil, sehingga gugus  $\text{NH}_2$  menjadi bebas dan akan berikatan dengan kloranil dan butiran resin akan berubah warna (Sumiarsa, 2019).

### Penyusunan Peptida Linier

Setelah proses deproteksi berhasil, selanjutnya dilakukan pengkoplingan asam amino kedua Fmoc-Tyr(tBu)-OH menggunakan reagen kopling HBTU dan HOBt serta menggunakan reagen basa DIPEA. HBTU merupakan reagen kopling yang sudah menunjukkan performa kopling yang sangat baik, sedangkan HOBt diketahui mampu meningkatkan rendemen, dapat mempercepat reaksi dan mengurangi terjadinya epimerisasi (Sumiarsa, 2019).

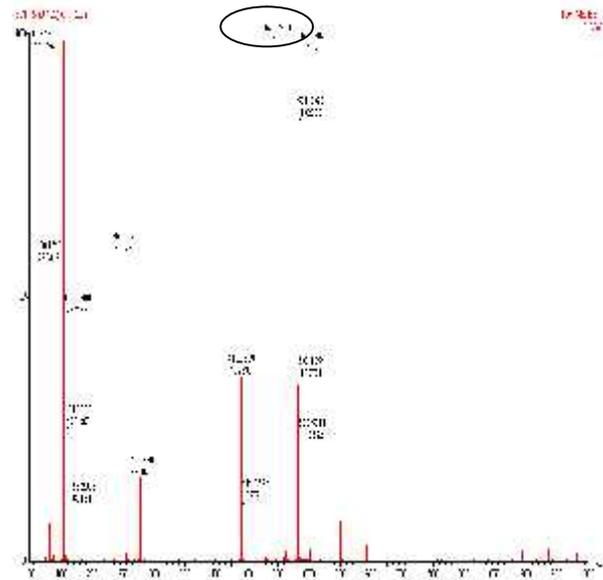
Kemudian dilakukan pengkoplingan selanjutnya dengan prosedur/tahapan yang sama untuk penyusunan asam amino (Fmoc-Tyr(tBu)-OH) dan (Fmoc-Ala-OH) dengan menggunakan reagen kopling HBTU dan HOBt sampai terbentuk susunan tetrapeptida YLYA. Setiap selesai tahap pengkoplingan dan deproteksi harus dilakukan pencucian menggunakan DMF dan DCM untuk menghilangkan pereaksi yang berlebih yang bisa mengganggu proses sintesis asam amino selanjutnya. Proses pengkoplingan dan deproteksi Fmoc asam amino kedua, ketiga dan keempat berhasil dilakukan, berdasarkan hasil dari uji kloranil.

### Pelepasan resin dari tetrapeptida

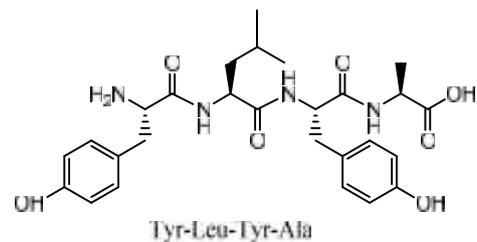
Tujuan dari pelepasan resin yaitu untuk menghasilkan senyawa tetrapeptida linier. Proses pelepasan resin ini menggunakan larutan 95 % TFA dalam aquadest. Resin 2-klorotritil klorida merupakan resin yang labil terhadap asam, sehingga pada pelepasan resin ini menggunakan TFA yang bersifat asam. Resin yang terlepas dari tetrapeptida diharapkan dapat lepas bersamaan dengan gugus tBu pada Tyr(-tBu)-OH. Pada tahap ini resin akan berubah menjadi warna merah bata yang menandakan bahwa resin telah terlepas (Chan & White, 2000). Hasil dari pelepasan resin ini, kemudian dipekatkan dengan evaporator, dan dihasilkan ekstrak yang pekat yang diperoleh sebanyak 114,6 mg.

Karakterisasi senyawa tetrapeptida YLYA

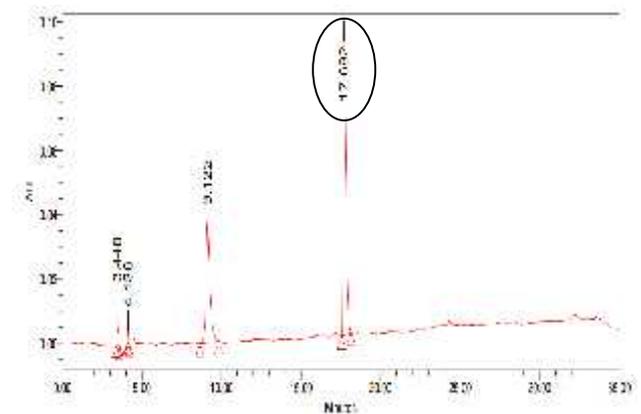
menggunakan metode spektrofotometer masa, untuk memastikan sudah terbentuknya senyawa tetrapeptida hasil sintesis dengan melihat nilai massa/muatan ( $m/z$ ). Pada **Gambar 1** Hasil karakterisasi menunjukkan puncak dengan nilai  $m/z$  529,5621. Puncak ini mengindikasikan munculnya puncak ion molekuler  $[\text{M}+\text{H}]^+$  untuk YLYA sebesar 528,6060. Dari puncak tersebut menunjukkan bahwa senyawa tetrapeptida target berhasil di sintesis.



Gambar 1. Hasil spektrofotometer masa



Gambar 2. Struktur Tetrapeptida YLYA



Gambar 3. Hasil Analisis RP-HPLC

Selanjutnya dilakukan analisis RP-HPLC. Dilihat dari **Gambar 3**, menunjukkan bahwa analisis RP-HPLC senyawa tetrapeptida YLYA yang dihasilkan belum murni, karena masih adanya puncak-puncak minor. puncak-puncak minor tersebut merupakan gugus pelindung yang masih terikat dengan tetrapeptida YLYA yang belum terlepas. Pada gambar dibawah hasil analisis RP-HPLC senyawa tetrapeptida YLYA mempunyai waktu retensi pada menit ke 9, karena senyawa tetrapeptida bersifat polar sehingga akan keluar lebih dulu, sedangkan menit ke 17 menandakan senyawanya bersifat non polar sehingga bukan merupakan senyawa tetrapeptida melainkan senyawa yang belum terdeproteksi.

Senyawa tetrapeptida YLYA kemudian dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode peredaman DPPH. Dari hasil uji peredaman DPPH dapat dibuktikan bahwa senyawa tetrapeptida YLYA mempunyai aktivitas antioksidan karena adanya perubahan warna pada DPPH setelah direaksikan dengan sampel yaitu dari warna violet/ungu menjadi warna kuning yang artinya senyawa tetrapeptida tersebut mampu meredam radikal bebas DPPH karena kemampuannya dalam mengikat elektron bebas yang tidak berpasangan pada senyawa radikal.

Pada uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa senyawa tetrapeptida YLYA memiliki IC<sub>50</sub> sebesar 4319, 522 ppm. yang menunjukkan bahwa senyawa tersebut mampu menghambat 50 % radikal bebas DPPH pada konsentrasi 4319, 522 ppm. Senyawa tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang lemah karena nilainya >150 ppm, maka zat tersebut kurang aktif tetapi masih berpotensi sebagai zat antioksidan. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi (Molyneux, 2004).

Tabel 1. Hasil uji aktivitas senyawa tetrapeptida YLYA

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi rata-rata	IC <sub>50</sub> (ppm)
0	0,8103	0	
1000	0,5817	27,174025	
2000	0,4408	45,69240	4319,522
3000	0,3298	59,531605	
4000	0,2557	71,123505	
5000	0,1820	77,4644	

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa senyawa tetrapeptida YLYA berhasil disintesis menggunakan metode Solid Phase Peptide Synthesis (SPPS) dengan masa 114,6 mg serta ditandai dengan hasil karakterisasi menggunakan spektrofotometer masa dengan nilai m/z 529,5621 pada puncak ion [M+H]<sup>+</sup>, namun senyawa tersebut belum murni karena dari hasil analisis RP-HPLC dapat dilihat masih banyaknya puncak-puncak minor yang menandakan masih ada gugus pelindung yang belum terdeproteksi. Senyawa tetrapeptida YLYA memiliki waktu retensi pada menit ke 9. Senyawa tersebut diuji aktivitas antioksidan dengan metode peredaman DPPH, dan memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 4319,522 ppm.

SARAN

Untuk penelitian selanjutnya disarankan dilakukan pemurnian, kemudian dilakukan siklisasi agar sediaan yang dihasilkan menjadi lebih stabil, untuk uji aktivitas antioksidan juga disarankan menggunakan metode lain yang lebih sensitif untuk senyawa peptida selain metode DPPH.

DAFTAR PUSTAKA

Alhana. (2011). Analisis Asam Amino Dan Pengamatan Jaringan Daging Fillet Ikan Patin (*Pangasius Hypophthalmus*) Akibat Penggorengan [Skripsi], Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Amrun, M.H., Umiyah., Evi, U.U. (2007). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Metanol beberapa Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember, Berk. Penel. Hayati.

Chan, W.C.A., White, P.D. (2000). Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach, Oxford University press, New York, 2: 11-36, 3: 61-72.

Fessenden, R.J., Fessenden, J.S. (1986). Kimia Organik Jilid 2, Erlangga, Jakarta.

Kusumaningtyas, E. (2018). Aplikasi Peptida untuk Meningkatkan Kesehatan dan Produktivitas Ternak, Bogor, Balai Besar Penelitian Veteriner,28(2).

Maharani, R., Yanti, E. F. (2016). Sintesis

- Heptapeptida Linear (H-Tyr-Asp-Pro-Ala-Pro-Pro-Pro-Oh) Dengan Menggunakan Dic/Oksima Sebagai Reagen Pengkopling. (2016). Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Bandung 4(1).
- Molyneux, P. (2004). The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarinn J. Sci. Technol.*, 212-217.
- Murray, R.K. (2003). Biokimia Harper. Dalam: Anna P. Bani., ed. Edisi ke-25. Jakarta, EGC.
- Ridho, A.E. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum (*Cayratia Trifolia*) Dengan Metode Dpph (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). [skripsi]. Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Riyadi H.P. (2018). Peptida Bioaktif Untuk Penurunan Tekanan Darah Dari Hidrolisa Limbah Perikanan : Kajian Pustaka. Departemen Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro, 7(1):3.
- Stawikowski, M., and Fields, G.B. (2013), Introduction to Peptide Synthesis, NIH Public Access. National Institutes of Health.
- Sumiarsa, D., Marpaung, C., Zainuddin, A., Hidayat, T.A., Harneti, D., Maharani., R, dkk. (2019). Sintesis Tetrapeptida PADY menggunakan Metode Fasa Padat dan Aktivitas Antioksidannya, *Jurnal Kimia Valensi*, Universitas Padjadjaran Bandung, Bandung, 5(1).
- Umam, K.A., Triatmojo, S., Erwanto, Y., Artama, W.T. (2015). Komponen Bioaktif Dalam Daging Dan Sifat Fungsionalnya: Sebuah Kajian Pustaka. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak*, Yogyakarta, UGM.
- Wulansari, N.A. (2018) Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium Varingiaefolium*) Sebagai Antioksidan Alami, *Fakultas Farmasi*, Universitas Padjadjaran. 16(2).
- Winarsi, Heri. (2007). Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Kanisius, Yogyakarta
- Winarsi, Heri, M.S. (2014). Antioksidan Daun Kapulaga. Yogyakarta, GRAHA ILMU.
- Yulia, R., Wijaya, S.I. (2015). Senyawa Antioksidan Ekstrak Metanol *Glycine max*