

Sintesis Tetrapeptida Linear Phe-Tyr-Ala-Pro (FYAP) sebagai Kandidat Antioksidan dengan Metode Solid Phase Peptide Synthesis (SPPS)

Rima Nur Aeni & Nety Kurniaty & Diar Herawati & Rani Maharani

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

email: rimanuraeni08@gmail.com, netykurniaty@yahoo.com, diarmunawar@gmail.com, r.maharani@unpad.ac.id

ABSTRACT: Free radicals are a form of reactive compounds known as compounds that have unpaired electrons. There is a compound that can capture free radicals, namely antioxidants which will donate one electron to unstable free radicals so that free radicals can be neutralized. There are bioactive peptides that can be used as antioxidant compounds that have the amino acid composition of Phe-Leu-Ala-Pro (FLAP) isolated from trepang fish, then modify the second amino acid sequence to Phe-Tyr-Ala-Pro (FYAP). In this study, the linear tetrapeptide synthesis of Phe-Tyr-Ala-Pro (FYAP) has been successfully carried out with the solid phase peptide synthesis method using side protectors, namely fmoc and t-Bu and using a buffer in the form of resin, namely 2-chlorotritylcoride resin and coupling reagent, namely HOBt, HBTU, and DIPEA. This research has four stages, namely the stage of synthesis, characterization, purification and activity. The first step is synthesis to produce a sample weight of 161.1 mg. At the stage of characterization of the amino acid composition that was successfully synthesized had a peak fragment at m/z 497.24, then a purity test was carried out and had a time of 2.025. After purification and characterization were carried out, the peak fragment was at m/z 497.24. Then the antioxidant activity test was carried out using the DPPH method and resulted in an inhibition value of 30.38% where the inhibition value indicated that the FYAP compound had low antioxidant activity.

Keywords: Tetrapeptide, Amino acid, Solid phase peptide synthesis, antioxidant.

ABSTRAK : oksigen reaktif yang diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron yang tidak memiliki pasangan. Terdapat suatu senyawa yang dapat menangkap radikal bebas yaitu antioksidan dimana akan mendonorkan satu elektronnya pada radikal bebas yang tidak stabil sehingga radikal bebas dapat dinetralkan. Terdapat peptida bioaktif yang dapat digunakan sebagai senyawa antioksidan yang memiliki susunan asam amino Phe-Leu-Ala-Pro (FLAP) yang diisolasi dari ikan terapang, kemudian dilakukan modifikasi pada urutan asam amino kedua menjadi Phe-Tyr-Ala-Pro (FYAP). Pada penelitian ini telah berhasil dilakukan sintesis tetrapeptida linear Phe-Tyr-Ala-Pro (FYAP) dengan metode solid phase peptide synthesis yang menggunakan gugus pelindung samping yaitu fmoc dan t-Bu serta menggunakan penyangga berupa resin yaitu resin 2-klorotritilkorida dan reagen kopling yaitu HOBt, HBTU, dan DIPEA. Penelitian ini memiliki empat tahap yaitu tahap sintesis, karakterisasi, pemurnian dan uji aktivitas. Tahapan pertama yaitu sintesis menghasilkan bobot sampel 161,1 mg. Pada tahap karakterisasi susunan asam amino yang berhasil disintesis memiliki puncak fragmen pada m/z 497,24, kemudian dilakukan uji kemurnian dan memiliki waktu retensi 2,025. Setelah itu dilakukan pemurnian serta dilakukan karakterisasi yang memiliki puncak fragmen pada m/z 497,24. Lalu dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan menghasilkan nilai inhibisi 30,38% dimana nilai inhibisi tersebut menunjukkan bahwa senyawa FYAP memiliki aktivitas antioksidan yang rendah.

Kata Kunci: Tetrapeptida, Asam amino, sintesis peptida fase padat, Antioksidan.

1 PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan suatu bentuk senyawa oksigen reaktif, dimana secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron yang tidak memiliki pasangan. Radikal bebas merupakan atom, molekul, atau senyawa yang dapat berdiri sendiri dan memiliki elektron tidak berpasangan, maka dari itu bersifat sangat reaktif dan tidak stabil (Sayuti, *et. al.*, 2015). Adapun suatu senyawa yang dapat menangkap radikal bebas yaitu antioksidan. Senyawa antioksidan akan mendonorkan satu elektronnya pada radikal

bebas yang tidak stabil sehingga radikal bebas tersebut dapat dinetralkan (Rahmi, 2017). Antioksidan dibutuhkan oleh tubuh untuk melindungi dari serangan radikal bebas. Tubuh manusia tidak memiliki cadangan antioksidan dalam jumlah yang berlebih, sehingga jika terbentuknya radikal yang berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen (Sayuti, *et. al.*, 2015).

Salah satu senyawa yang dapat digunakan sebagai antioksidan adalah peptida bioaktif yang diharapkan memiliki potensi dalam pengobatan (Xi Jin, *et. al.*, 2019). Susunan asam amino Phe-

Leu-Ala-Pro (FLAP) adalah salah satu peptida yang memiliki manfaat sebagai antioksidan yang diisolasi dari ikan terapan yang mengandung kolagen dalam jumlah yang tinggi (Xi Jin, *et. al.*, 2019).

Modifikasi tetrapeptida antioksidan yang baru akan dilakukan pada asam amino kedua dari FLAP yaitu Leusin (L) menjadi Tirosin (Y) dan akan menghasilkan analog FYAP. Untuk asam amino phenilalanin, alanin dan prolin tetap dipertahankan karena memiliki peranan yang tinggi terhadap aktivitas antioksidan dari senyawa tetrapeptida. Menurut Jin *et al* pada tahun 2019 bahwa asam amino leusin memiliki peranan yang lemah untuk aktivitas antioksidan maka diganti menggunakan asam amino tirosin karena dapat meningkatkan aktivitas antioksidan peptida bioaktif (Rajapakse, *et. al.*, 2005).

Salah satu alternatif untuk mendapatkan urutan asam amino FYAP, yaitu sintesis peptida fase padat yang memiliki keunggulan salah satunya yaitu memiliki waktu sintesis yang lebih singkat serta pemurnian yang dilakukan hanya pada tahap akhir hal tersebut memudahkan proses sintesis menjadi lebih cepat (Maharani, *et. al.*, 2019).

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan, maka rumusan masalah pada penelitian ini apakah senyawa analog FYAP dapat disintesis menggunakan metode SPPS, dan apakah senyawa analog FYAP hasil sintesis dapat digunakan sebagai kandidat antioksidan. Tujuan pada penelitian ini yaitu, mensintesis senyawa tetrapeptida analog FYAP dengan menggunakan metode SPPS, dan menguji aktivitas antioksidan tetrapeptida analog FYAP hasil sintesis. Manfaat dari penelitian ini yaitu mengembangkan senyawa analog FYAP dengan menggunakan metode SPPS dan sebagai ilmu pengetahuan yang baru dari sintesis tetrapeptida FYAP sebagai alternatif yang memiliki aktivitas antioksidan.

2 METODOLOGI

Penelitian sintesis tetrapeptida dilaksanakan di Laboratorium Sentral Universitas Padjajaran Bandung. Pada penelitian ini menggunakan asam amino, yaitu Fmoc-L-Phe-OH, Fmoc-L-Tyr(tBu)-OH, Fmoc-L-Ala-OH, dan Fmoc-L-Pro-OH. Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu *solid phase peptide synthesis* (SPPS) yang memiliki beberapa tahap pengerjaan, yaitu pengkondisian tabung reaktor, pengembangan

resin, pengkoplingan asam amino pertama yaitu Fmoc-L-Pro-(OH), lalu penentuan nilai *loading* resin untuk mengetahui jumlah asam amino selanjutnya yang akan ditambahkan.

Setelah itu dilakukan *capping* resin, dan deproteksi gugus Fmoc pada asam amino pertama. Lalu dilakukan uji kloranil terhadap asam amino yang telah dilakukan deproteksi. Selanjutnya dilakukan penambahan asam amino kedua lalu uji kloranil setelah pengkoplingan kemudian deproteksi gugus Fmoc asam amino kedua lalu dilakukan uji kloranil kembali. Dilakukan pengulangan sampai terbentuk asam amino keempat lalu dilakukan pemutusan resin setelah itu dilakukan evaporasi.

Setelah itu dilakukan uji kemurnian menggunakan RP-HPLC dan uji karakteristik menggunakan spektrometer massa, lalu dilakukan pemurnian menggunakan RP-HPLC semi preparatif dan dilakukan uji karakteristik kembali. Setelah itu dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH secara *in vitro*.

3 PEMBAHASAN DAN DISKUSI

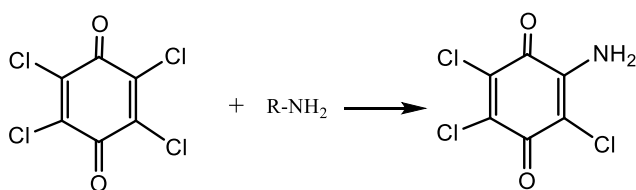
Pengkoplingan Asam Amino Pertama

Dilakukan pengkondisian tabung reaktor sebelum pengkoplingan asam amino pertama dengan tujuan untuk membersihkan tabung dari pengotor dan menyesuaikan suasana tabung yang akan digunakan pada saat sintesis dengan menggunakan DCM (Yulianti, 2020), kemudian dilakukan pengembangan resin 2-klorotritilklorida selama 15 menit agar resin mengembang dan asam amino pertama dapat terikat pada resin. Pengembangan resin menggunakan DCM karena pelarut tersebut dapat mengembangkan resin 2,5 sampai 6,2 kali lipat (Walker dan Rapley, 2008). Setelah itu, ditambahkan asam amino pertama dengan pelarut DCM dan DIPEA sebagai kopling melalui reaksi asam basa dan akan terbentuk nukleofil dimana jika nukleofil terbentuk akan mensubstitusi atom klorida yang akan terikat pada resin 2-klorotritilklorida dan mensubstitusi atom klorida dan akan membentuk ikatan dengan resin melalui reaksi substitusi nukleofilik unimolekuler (Sn1) (Maharani, *et.al.*, 2019).

Asam amino pertama dikopling selama 4 jam, kemudian setelah itu dikeringkan menggunakan *rotary compressor* kemudian ditentukan nilai *loading* resin untuk menentukan penambahan jumlah asam amino yang kedua sampai keempat

(Chan and White, 2000). Nilai *loading* resin yang didapat adalah 0,35 mg. Selanjutnya dilakukan *capping* resin dengan tujuan untuk menutup sisi aktif dari resin sehingga asam amino selanjutnya tidak berikatan dengan resin yang berikatan dengan asam amino pertama. Tahap dilakukannya *capping* resin yaitu dengan membuat campuran antara Metanol : DCM : DIPEA dengan perbandingan (2:7:1) mL. Digunakan metanol karena dapat menutup sisi aktif pada gugus klorida, sehingga akan dapat mencegah asam amino selanjutnya yang ditambahkan tidak bereaksi dengan sisi aktif dari resin (Yulianti, 2020).

Kemudian dilakukan deproteksi gugus Fmoc dengan tujuan agar sisi aktif dari asam amino pertama yaitu prolin terbuka dan dapat berikatan dengan asam amino yang kedua. Fmoc pada asam amino pertama memiliki sifat yang tidak tahan terhadap basa, maka pada tahapan deproteksi ini digunakan pelarut yang bersifat basa yaitu piperidin 20% agar Fmoc dapat terlepas dari asam amino (Maharani, *et al.*, 2019). Selanjutnya dilakukan uji kloranil, tujuannya adalah untuk memastikan bahwa tahapan deproteksi telah berhasil dilakukan Uji kloranil menggunakan pelarut asetaldehida dan kloranil yang akan berikatan dengan $-NH_2$ bebas Keberhasilan uji kloranil dilihat dengan berubahnya warna resin menjadi warna hitam atau hijau muda, berubah warna karena terdapat gugus amina ($-NH_2$) bebas pada gugus amina yang berikatan dengan larutan kloranil.



Gambar 1. Reaksi pengujian gugus asam amino dengan uji kloranil (Maharani, *et al.*, 2016).

Penyusunan Tetrapeptida Linear

Tahapan penyusunan tetrapeptida linear dimulai dengan menambahkan asam amino yang kedua yaitu Fmoc-L-Ala-OH, asam amino yang telah ditimbang dan dimasukkan ke dalam vial kosong lalu ditambahkan dengan reagen HBTU, HOBt, DMF, dan DIPEA. Reagen HBTU dan HOBt merupakan reagen kopling yang akan digunakan pada saat penambahan asam amino selanjutnya.

HBTU berfungsi sebagai reagen kopling yang dapat menunjukkan kinerja yang optimal, lalu ditambahkan HOBt agar rendemen dari hasil sintesis meningkat (Valeur dan Bradley, 2009). Digunakan reagen kopling HBTU dan HOBt untuk meminimalisir terjadinya rasemisasi, lalu DMF digunakan untuk media kopling yang dibantu dengan DIPEA untuk meningkatkan praaktivasi residu asam karboksilat (Warhi, *et al.*, 2012). Setelah asam amino kedua larut kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaktor lalu dilakukan pengkoplingan selama 18 jam dengan tujuan agar peptida lebih banyak yang berikatan, jika pengkoplingan dilakukan terlalu lama akan menyebabkan asam amino dapat terpotong dari resin (Warhi, *et al.*, 2012). Setelah dilakukan pengkoplingan, tabung reaktor yang berisi peptida dikeringkan dengan cara dicuci menggunakan DCM dan DMF secara duplo, dicuci dengan DMF karena pelarut tersebut digunakan pada saat pengkoplingan selain itu karena pelarut tersebut sangat baik melindungi asam amino, dan dilakukan secara duplo agar peptida kering dengan optimal (Chan and White, 2000). Asam amino kedua akan berikatan dengan ($-NH_2$) bebas yang ada pada gugus amina dan akan menghasilkan reaksi samping (*dicyclohexylurea*) dimana molekulnya insolubel dan reaksi samping tersebut dapat dihilangkan dengan DMF (Warhi, *et al.*, 2012).

Setelah pengkoplingan dilakukan uji kloranil untuk membuktikan bahwa asam amino kedua telah terkopling dengan ditandai tidak berubah warna, hal ini dikarenakan larutan kloranil tidak akan berikatan dengan ($-NH_2$) bebas pada gugus amina yang dilindungi oleh fmoc (Maharani, *et al.*, 2019). Selanjutnya dilakukan deproteksi gugus fmoc pada asam amino yang kedua dan dilakukan uji kloranil kembali. Untuk tahap selanjutnya adalah tahap pengulangan penyusunan asam amino ketiga dan keempat memiliki prosedur yang sama, dimulai pada pengkoplingan asam amino, uji kloranil, deproteksi Fmoc, dan uji kloranil sehingga terbentuk tetrapeptida linear pada resin.

Pemutusan Resin dan Gugus Rantai Samping Tetrapeptida

Terhadap tetrapeptida linear yang telah terbentuk secara linear, selanjutnya dilakukan pemutusan resin tujuannya supaya resin lepas dari peptida dan akan menghasilkan tetrapeptida tanpa resin. Pertama-tama dibuat campuran reagen TFA 95% :

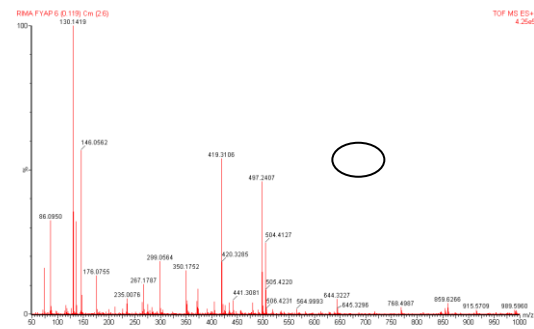
aquades (9,5:0,5) kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaktor bersisi resin dan diputar selama 1 jam agar memastikan seluruh senyawa tetrapeptida telah lepas dari resin. Tujuan digunakannya reagen TFA 95% karena TFA memiliki gugus bermuatan positif, dimana gugus ini dapat melepaskan resin pada gugus tetrapeptida karena bersifat asam, sedangkan resin bersifat basa, lalu digunakan konsentrasi tinggi dimaksudkan agar gugus rantai sampai *t*-Bu pada asam amino Tyr dapat terlepas dengan baik. Pada reaksi ini digunakan air sebagai *scavenger* karbokation yang terbentuk setelah pelepasan peptida dari resin (Sumiarsa, *et al.*, 2019:93). Setelah campuran TFA:Aquades dimasukkan ke dalam tabung reaktor yang berisi resin maka resin berubah warna dari kuning menjadi merah gelap. Setelah itu resin disaring dan ditampung ke dalam vial, lalu dipisahkan sedikit demi sedikit dalam *rotary evaporator* dengan menambahkan DCM ke dalam vial yang berisi tetrapeptida agar sampel cepat menguap, hal tersebut dilakukan hingga bau TFA yang menyengat tidak tercium. Dilakukan evaporasi hingga sampel berwarna coklat tua dan bertekstur lengket, pada penelitian ini sampel masih mengandung air dan setelah semua sampel selesai dievaporasi lalu dimasukkan ke dalam desikator dengan tujuan karena desikator mengandung desikan yang memiliki fungsi dapat menghilangkan air (Yulianti, 2020). Hasil sampel tetrapeptida pada penelitian ini memiliki bobot sebesar 161,1 mg.

Karakteristik Menggunakan Spektrometer Massa

Pada penelitian ini dilakukan karakteristik menggunakan spektrometer massa dengan tujuan untuk mengidentifikasi senyawa hasil sintesis yaitu tetrapeptida linear FYAP dengan mengetahui nilai m/z (massa/muatan). Prinsip dari spektrometer massa yaitu sampel senyawa dalam keadaan gas akan ditembakkan oleh energi elektron dengan kekuatan yang tinggi (energi potensial ionisasi rata – rata 185-300 kkal/mol) dimana akan menyebabkan elektron dari molekul organik tidak stabil dan akan menjadi bagian fragmen yang kecil atau ion lain.

Spektrometer massa akan mendeteksi hasil dari pemecahan ion molekul dan dapat dibaca dalam bentuk spektrum massa dimana aliran antara massa fragmen dalam m/z (Suhartati, 2017). Pada penelitian ini hasil spektrometer

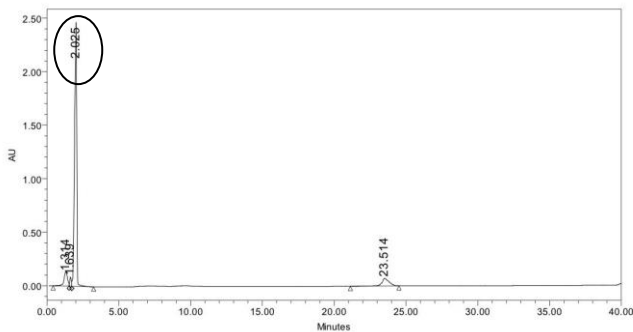
massa menunjukkan adanya puncak ion molekul $[M+H]$ pada m/z 497,24, nilai tersebut menunjukkan bobot molekul dari senyawa yang dianalisis. Hal tersebut dilihat dari hasil simulasi menggunakan *chemdraw* yaitu didapat bobot molekul senyawa tetrapeptida linear FYAP adalah 496,56 sehingga nilai puncak ion yang didapat menggunakan karakteristik spektrometer massa adalah senyawa tetrapeptida linear FYAP.



Gambar 2. Spektrogram senyawa FYAP

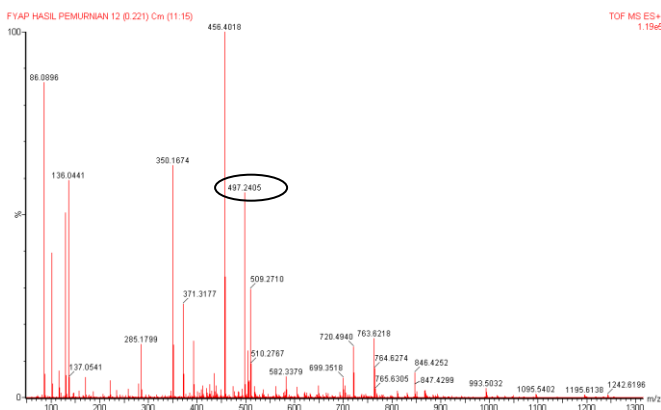
Pengujian RP-HPLC dan HPLC Semi Preparatif

Setelah melakukan karakteristik menggunakan spektrometer massa dimana senyawa yang merupakan senyawa FYAP muncul pada kromatogram, kemudian dilakukan pengujian kemurnian menggunakan RP-HPLC dan pemurnian menggunakan HPLC semi preparatif. RP-HPLC (*Reverse phase high performance liquid chromatography*) menggunakan kolom fase balik C18 dengan menggunakan eluen gradient air : asetonitril, dengan menggunakan detektor UV-Vis yang dideteksi pada panjang gelombang 210 nm karena deteksi peptida dalam RP-HPLC umumnya pada panjang gelombang 210 nm atau 220 nm (Aguilar, 2010). Detektor UV-Vis memiliki kelebihan yaitu selektif, sensitif, prinsip dari detektor ini adalah mengukur absorbansi analit pada panjang gelombang sinar UV atau tampak, dimana besar absorbansi akan sebanding dengan konsentrasi (Aguilar, 2010). Hasil yang diperoleh berdasarkan analisis RP-HPLC menunjukkan bahwa senyawa yang dianalisis belum murni yang ditandai masih adanya puncak minor yang terbentuk. Pada **Gambar** memiliki waktu retensi 2,025.



Gambar 3. Kromatogram senyawa FYAP

Karena pada pengujian kemurnian menggunakan RP-HPLC masih belum cukup murni, maka dilakukan pemurnian menggunakan RP-MPLC (*Reverse Phase Medium Pressure Liquid Chromatography*) semi preparatif. Tujuan dilakukan pemurnian menggunakan RP-HPLC semi preparatif agar pengotor yang masih ada pada sampel dapat berkurang. Pada pemurnian ini menggunakan kolom fase balik C-18 yang dielusi menggunakan eluen asetonitril:aquades:metanol selama 40 menit dengan laju alir 1 mL/menit, kemudian hasil pemisahan ditampung berdasarkan serapan UV dengan panjang gelombang 210 nm. Menunjukkan hasil pemisahan yang cukup baik, pada menit ke-13 diduga merupakan senyawa sampel yaitu tetrapeptida linear FYAP, namun masih terdapat pengotor pada sampel. Kemudian sampel hasil pemisahan yang ditampung pada menit ke-13 dilakukan karakteristik kembali menggunakan spektrometer massa dan memiliki puncak ion molekul $[M+H]^+$ pada m/z 497,24, nilai tersebut menunjukkan bobot molekul dari senyawa yang dianalisis.



Gambar 4. Spektrogram massa senyawa FYAP hasil pemurnian

Uji Aktivitas Antioksidan Tetrapeptida Linear

Pengujian aktivitas antioksidan bertujuan untuk

mengetahui aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh senyawa tetrapeptida linear FYAP secara *in vitro* dengan menggunakan metode DPPH. Pemilihan metode DPPH pada pengujian ini karena lebih efisien, mudah, sederhana, serta cepat dalam pengujiannya dengan pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan panjang gelombang 517 nm. Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antioksidan terhadap tetrapeptida linear FYAP, pada pengujiannya serbuk DPPH yang telah dilarutkan menggunakan metanol dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditutup menggunakan alumunium foil dan ditambahkan senyawa tetrapeptida, ditutup menggunakan alumunium foil agar DPPH terhindar dari sinar matahari karena DPPH bersifat mudah terurai oleh cahaya sehingga apabila terkena cahaya akan menyebabkan berkurangnya absorbansi (Yulianti, 2020). Pada pengujian aktivitas antioksidan dibuat variasi konsentrasi dalam 42800 ppm yaitu 0 ppm; 1600 ppm; 8000 ppm; 10000 ppm; dan 15000 ppm. Berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh yaitu 26583,5 ppm, bahwa senyawa tetrapeptida linear FYAP memiliki aktivitas antioksidan yang lemah, menurut Armala (2009) bahwa tingkat kekuatan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan terhadap DPPH yaitu aktivitasnya lemah jika memiliki nilai $IC_{50} > 150 \mu\text{g/mL}$.

Peptida antioksidan yang optimal untuk suatu aktivitas farmakologi umumnya mengandung 5-20 asam amino (Chen, *et al.*, 1996). Sifat antioksidan yang optimal lebih banyak berhubungan dengan komposisi, struktur, dan hidrofobisitas asam aminonya (Wang dan De Mejia, 2005). Pada penelitian ini bahwa senyawa analog tetrapeptida linear FYAP memiliki aktivitas yang lemah dibandingkan senyawa tetrapeptida linear FLAP sebagai pembanding yang memiliki nilai IC_{50} 9353,4 ppm, hal ini dapat disebabkan karena perubahan urutan asam amino tetrapeptida yang menghasilkan aktivitas antioksidan yang berbeda, dimana keterkaitan peptida dan ciri struktural spesifik dari peptida telah diklaim dapat mempengaruhi aktivitas antioksidannya (Saito, *et al.*, 2003). Adapun mekanisme dari peptida bioaktif antara lain seperti peningkatan penangkapan radikal bebas dengan transfer elektron langsung atau interaksi dengan target hidrofobik (Herlina, *et al.*, 2019). Sebagai contoh, pada penelitian sebelumnya yaitu oleh

Nagasawa pada tahun 2001 bahwa asam amino tertentu dapat meningkatkan atau menurunkan sifat antioksidan saat digabungkan. Namun pada penelitian ini senyawa tetrapeptida linear FYAP yang menunjukkan ikatan peptida atau konformasi struktural asam amino dapat menurunkan aktivitas antioksidan dari asam amino yang menyusunnya. Oleh sebab itu, konformasi peptida memiliki dua sifat yaitu mampu menunjukkan efek sinergis dan dapat pula menunjukkan efek antagonis (Septiana, 2019). Faktor lain yang dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan antara lain metode yang digunakan pada saat mensintesis, berat molekul peptida, dan konsentrasi peptida.

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan pembandingan vitamin C. Digunakan vitamin C, tujuan dilakukan pembandingan menggunakan vitamin C untuk melihat tingkat aktivitas antioksidan dari senyawa tetrapeptida linear FYAP, berdasarkan hasil yang diperoleh bahwa nilai IC50 dari vitamin C yaitu 6,6057 ppm. Berdasarkan hasil yang diperoleh bahwa aktivitas antioksidan dari sampel lebih lemah dari pembandingan.

4 KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian sintesis tetrapeptida *Phe-Tyr-Ala-Pro* telah berhasil dilakukan menggunakan metode *solid phase peptide synthesis* (SPPS) dengan memperoleh hasil karakteristik menggunakan spektrometer massa yang menunjukkan adanya puncak ion molekul [M+H] pada m/z 497,24 dan memiliki waktu retensi, 2,025. Kemudian pada uji aktivitas antioksidan memiliki aktivitas yang lemah yaitu memiliki nilai % inhibisi 30,38%.

ACKNOWLEDGE

Penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada Universitas Islam Bandung dan Lab Sentral Universitas Padjadjaran yang telah membantu penulis dalam penelitian tugas akhir ini.

DAFTAR PUSTAKA

Aguilar, I.M. (2010). Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography, Meth, Enzymol.
Armala, M.M. (2009). Aktivitas Antioksidan dan

Komponen Bioaktif Keong Ipong – Ipong (*Cosmos caudatus* H.B.K) dan profil KLT. [Skripsi]. Fakultas Farmasi, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.

Chan, W.C, White. P.D. (2000). Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach, Oxford University Press, New York.

Chen, H.M., Muramoto, K., Yamauchi, F., Nokihara, K. (1996). Antioxidant Activity of Design Peptides Based On The Antioxidative Peptide Isolated From Digests Of A Soybean Protein. *J Agric Food Chem*, 44..

Herlina, N., Mustopa, Z.A., Surachma, S.R., Triratna, L., Kartina, G., & Alfisyahrin, N.W. (2019). Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Peptida Susu Kambing Hasil Hidrolisis dengan Protease *Lactobacillus Plantarum* S31. Jurusan Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. *Jurnal Biologi Indonesia* 15(1).

Maharani, R., Yanti, F.E. (2016). Sintesis Heptapeptida Linear (H-Tyr-Asp-Pro-Ala-Pro-Pro-Pro-OH) Dengan Menggunakan DIC/Oksima Sebagai Reagen Pengkopling. Bandung, Universitas Padjajaran, 4(1).

Maharani, R., Octavia, S., Zainuddin, A., Hidayat, A., Sumiarsa, D., Harneti, D., Nurlelasari., Supratman., U. (2019). Sintesis Tetrapeptida PSSY dengan Metode Fasa Padat. Bandung, Universitas Padjajaran, 7 (2).

Mandila, S.P., N. Hadijati. (2013). Identifikasi Asam Amino Pada Cacing Utra (*Tubifex* sp.) yang Diekstrak dengan Pelarut Asam Asetat dan Asam Laktat. *UNESA J. of Chemistry*, 2(1):103-109.

Rajapakse, N., Mendis, E., Byun, H.G., Kim, S.K. (2005). Purification and In Vitro Antioxidative Effects Of Giant Squid Muscle Peptides On Free Radical-Mediated Oxidative System. *J Nutr Biochem*, 16.

Rahmi, H. (2017). Riview: Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Sumber Buah-buahan di Indonesia. *Jurnal Agrotek Indonesia* 2(1):34. Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian, Universitas Singaperbangsa Karawang, Karawang.

Saito, K., Jin, D.H., Ogawa, T., Muramoto, K., Hatakeyama, E., Yasuhara T. (2003).

- Antioxidant Properties Of Tripeptide Libraries Prepared by The Combinatorial Chemistry. *J Agric Food Chem*, 51.
- Sayuti, K., Yenrina, R. (2015). *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Andalas University Press, Padang.
- Septiana, A. (2019). *Karakteristik Peptida Bioaktif Antioksidan Dari Hidrolisat Proetin Susu Kedelai*. [Skripsi]. Program Studi Kimia, Fakultas Sains Dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Suhartati, T. (2017). *Dasar – dasar Spektrofotometer UV-Vis dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Anugrah Utama Raharja, Bandar Lampung.
- Sumiarsa, D.C., Marpaung, A., Zainuddin, A.T., Hidayat, D., Harneti, Nurlelasari, et al. (2019). *Sintesis Tetrapeptida PADY Menggunakan Metode Fase Padat dan Uji Aktivitas Antioksidannya*. *Jurnal Kimia Valensi*, Vol. 5. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Padjadjaran Bandung. Hal. 89-91.
- Valeur, E., Bradley, M. (2009). *Amide Bond Formation: Beyond The Myth of Coupling Reagents*. *Chem. Soc. Rev.*
- Walker, J.M., Rapley, R. (2008). *The Manipulation Of Nucleic Acid: Basic Tools and Technique in Molecular BioTmethods Handbook Second Edition*. Humana Press, NJ, USA.
- Wang, W.Y., and De Mejia, E.G. (2005). *A New Frontier In Soy Bioactive Peptides That Mayprevent Age-Related Chronic Diseases*. *Compr Ref Food Sci Food*, 4.
- Warhi, T., Hazimi, H., Faham, A. (2012). *Recent Development In Peptide Coupling Reagents*. *Journal Of Saudi Chemical Society*, 16.
- Xi Jin, H., Xu, P., Li, Y., Zhang, W., Xie, H. (2019). *Preparation and Evaluation of Peptides with Potential Antioxidant Activity by Microwave Assisted Enzymatic Hydrolysis of Collagen from Sea Cucumber *Acuadina Molpadioides* Obtained from Zhejiang Province in China*. Zhejiang Provincial Engineering Technology Research Center of Marine Biomedical Product, School of Food and Phamracy. Zhejiang Ocean University, China.
- Yulianti, R. (2020). *Sintesis Tetrapeptida (Ser-Leu-Tyr-Ala) Sebagai Kandidat Antioksidan Dengan Metode Solid Phase Peptide Synthesis*. [Skripsi]. Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung.
- Fauzi, Nur Muhammad. (2021). *Uji Kualitatif dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Buah Maja (*Aegle Marmelos (L.)Correa*) dengan Metode DPPH*. *Jurnal Riset Farmasi*, 1(1), 1-8.