

Sintesis Heksapeptida Siklik Analog Pipecolisporin sebagai Kandidat Antimalaria

Nazilah Alifah *, Nety Kurniaty, Rani Maharani

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

nazilahalifah@gmail.com, nety.kurniaty@gmail.com, r.maharani@unpad.ac.id

Abstract. Malaria remains a global challenge with a significant increase in cases in various countries, including Indonesia. The resistance of *Plasmodium falciparum* to conventional antimalarial drugs has created an urgent need for new effective therapies. This study aims to synthesize cyclic hexapeptide analogs based on pipecolisporin (Ile – β -Ala – Trp – Pip – Arg – Pro) as potential antimalarial candidates. The method employed combines Solid Phase Peptide Synthesis (SPPS) to produce linear hexapeptides and Liquid Phase Peptide Synthesis (LPPS) for cyclization. The HATU-HOAt reagent was chosen for its ability to enhance efficiency and reduce the risk of epimerization during synthesis. The analog structure was designed by substituting leucine (Leu) residues with arginine (Arg) to optimize the balance between cationic properties and hydrophobicity relevant to antimalarial activity. The synthesis was carried out until the target compound was obtained, which was then characterized using HR-ToF-MS mass spectrometry, showing the presence of a molecular ion peak at m/z $[M+H]^+$ 735.5688, corresponding to the calculated mass of m/z $[M+H]^+$ 734.90. The results of the study demonstrate that pipecolisporin analogs can be successfully synthesized using this combined method.

Keywords: *Malaria, peptide synthesis, cyclic hexapeptide, SPPS, LPPS.*

Abstrak. Penyakit malaria masih menjadi tantangan global dengan peningkatan angka kasus yang signifikan di berbagai negara, termasuk Indonesia. Resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap obat antimalaria konvensional menimbulkan kebutuhan mendesak akan terapi baru yang efektif. Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis analog heksapeptida siklik berbasis pipecolisporin (Ile – β -Ala – Trp – Pip – Arg – Pro) sebagai kandidat antimalaria. Metode yang digunakan adalah kombinasi Solid Phase Peptide Synthesis (SPPS) untuk membentuk heksapeptida linier dan Liquid Phase Peptide Synthesis (LPPS) untuk proses siklisasi. Reagen HATU-HOAt dipilih karena kemampuannya meningkatkan efisiensi dan mengurangi risiko epimerisasi selama sintesis. Struktur analog dirancang dengan substitusi residu leusin (Leu) menjadi arginin (Arg) untuk meningkatkan keseimbangan antara sifat kationik dan hidrofobitas yang relevan dengan aktivitas antimalaria. Sintesis dilakukan hingga diperoleh senyawa target, yang kemudian dikarakterisasi menggunakan spektrometri massa HR-ToF-MS menunjukkan adanya puncak ion molekul pada m/z $[M+H]^+$ 735.5688, yang sesuai dengan massa yang dihitung pada m/z $[M+H]^+$ 734.90. Hasil penelitian menunjukkan bahwa analog pipecolisporin dapat disintesis dengan baik menggunakan metode kombinasi tersebut.

Kata Kunci: *Malaria, sintesis peptida, heksapeptida siklik, SPPS, LPPS.*

A. Pendahuluan

Malaria masih menjadi salah satu permasalahan kesehatan global yang signifikan, termasuk di Indonesia. Berdasarkan laporan WHO, jumlah kasus malaria secara global meningkat dari 241 juta menjadi 247 juta, dengan estimasi kematian mencapai 619.000 jiwa. Tren serupa terjadi di Indonesia, di mana kasus malaria naik dari 254.055 pada tahun 2020 menjadi 443.530 pada tahun 2022 (Nazhid et al., 2023). Penyakit ini disebabkan oleh infeksi parasit *Plasmodium* yang ditularkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles*. Setelah masuk ke tubuh, parasit menyerang hati dan selanjutnya menginfeksi sel darah merah. Terdapat empat jenis utama *Plasmodium* penyebab malaria, yakni *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax*, dan *P. ovale* (Kemenkes RI, 2019).

Meningkatnya resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap obat antimalaria, termasuk lini pertama seperti klorokuin, pirimetamin, dan meflokuin, menjadi ancaman besar dalam upaya pemberantasan malaria. Bahkan, resistensi terhadap terapi berbasis artemisinin kini telah teridentifikasi, sehingga diperlukan terapi baru dengan mekanisme aksi yang lebih efektif (Murray et al., 2022). Salah satu pendekatan yang menjanjikan adalah pengembangan senyawa berbasis peptida (Craik et al., 2013). Peptida memiliki bioaktivitas unik, selektivitas tinggi, serta kemampuan bioregulator yang signifikan, menjadikannya kandidat kuat untuk terapi antimalaria (Wang et al., 2017).

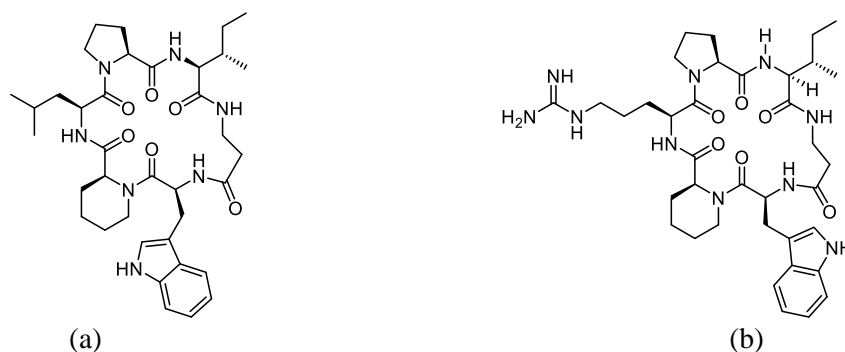
Penelitian sebelumnya telah mengidentifikasi pipecolisporin, sebuah senyawa heksapeptida siklik yang diisolasi dari jamur *Nigrospora oryzae* pada akar *Triticum sp.*, senyawa ini menunjukkan aktivitas antimalaria tinggi terhadap *Plasmodium falciparum* pada konsentrasi 3,21 μM . Namun, kendala seperti ketersediaan bahan alam yang terbatas, rendahnya rendemen, dan kebutuhan bahan kimia yang besar menjadikan sintesis kimia sebagai alternatif yang lebih efisien. Sintesis peptida siklik menawarkan keunggulan berupa efisiensi waktu, peningkatan hasil, dan pelestarian sumber daya alam (Fernández-Pastor, 2021).

Penelitian ini bertujuan mensintesis analog pipecolisporin dengan urutan asam amino Ile – β -Ala – Trp – Pip – Arg – Pro, di mana leusin (Leu) diganti dengan arginin (Arg). Pergantian ini bertujuan meningkatkan aktivitas antimalaria dengan memperbaiki keseimbangan antara sifat kationik dan hidrofobitasnya, yang berperan penting dalam efektivitas kelompok peptida antimikroba (Luong et al., 2020). Metode sintesis yang digunakan adalah kombinasi Solid Phase Peptide Synthesis (SPPS) untuk membentuk peptida linier dan Liquid Phase Peptide Synthesis (LPPS) untuk proses siklisasi. Pendekatan ini memanfaatkan keunggulan SPPS dalam efisiensi sintesis dan LPPS dalam menghasilkan peptida siklik dengan kemurnian tinggi (Maharani et al., 2020). Pemilihan kombinasi HATU/HOAt sebagai reagen kopling bertujuan mempercepat sintesis dan menekan epimerisasi, sehingga menghasilkan produk yang lebih optimal (Al-Warhi et al., 2012).

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah apakah heksapeptida siklik dari senyawa analog pipecolisporin dengan urutan asam amino Ile – β -Ala – Trp – Pip – Arg – Pro dapat disintesis menggunakan metode kombinasi SPPS dan LPPS untuk mendapatkan hasil yang optimal. Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis analog senyawa heksapeptida siklik dengan menggunakan kombinasi metode Solid Phase Peptide Synthesis (SPPS) dan Liquid Phase Peptide Synthesis (LPPS). Manfaat dari penelitian ini meliputi kontribusi terhadap pengetahuan baru dalam bidang sintesis heksapeptida sebagai agen antimalaria, serta pengembangan metode sintesis heksapeptida siklik dengan potensi aktivitas antimalaria.

B. Metode

Penelitian ini menggunakan metode sintesis untuk menghasilkan senyawa heksapeptida siklik sebagai kandidat antimalaria, dengan pipecolisporin (Ile – β -Ala – Trp – Pip – Leu – Pro) sebagai acuan. Sintesis analog pipecolisporin (Ile – β -Ala – Trp – Pip – Arg – Pro) dilakukan di Laboratorium Sentral Universitas Padjajaran menggunakan metode Solid Phase Peptide Synthesis (SPPS) untuk pembentukan heksapeptida linier, dilanjutkan dengan siklisasi menggunakan metode Liquid Phase Peptide Synthesis (LPPS).



Gambar 1. (a) Pipecolisporin, (b) Analog Pipecolisporin

Proses sintesis diawali dengan pengkondisian tabung reaktor, pembukaan sisi aktif resin melalui proses *swelling*, dan pengikatan asam amino pertama pada resin sebagai penyangga fase padat. Setelah itu, dilakukan deproteksi Fmoc yang diverifikasi melalui uji kloranil dengan perubahan warna resin menjadi ungu. Tahapan berikutnya meliputi pengkoplingan bertahap asam amino hingga terbentuk heksapeptida linier, diakhiri dengan pemutusan resin dan penguapan pelarut menggunakan evaporator.

Heksapeptida linier yang dihasilkan dianalisis menggunakan spektrometri massa untuk memverifikasi nilai m/z , sebelum dilanjutkan dengan proses siklisasi. Siklisasi diikuti dengan karakterisasi produk menggunakan spektrometri massa, serta deproteksi gugus pelindung untuk memperoleh produk akhir. Analisis spektrometri massa dilakukan pada setiap tahap untuk memastikan keberhasilan sintesis dan karakterisasi senyawa..

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Dalam sintesis peptida siklik, pemilihan posisi antara Pro (C-terminal) dan Ile (N-terminal) sebagai titik siklisasi merupakan langkah penting untuk membentuk struktur target. Sintesis dimulai dengan peptida linear $\text{NH}_2\text{-Ile-}\beta\text{-Ala-Trp(Boc)-Pip-Arg(Pbf)-Pro-COOH}$ menggunakan metode *Solid Phase Peptide Synthesis* (SPPS), diikuti oleh siklisasi menggunakan *Liquid Phase Peptide Synthesis* (LPPS) (Thieriet *et al.*, 2013). Resin 2-klorotritil klorida (2-CTC) dipilih karena dapat menekan reaksi samping seperti rasemisasi dan pembentukan diketopiperazin, serta memfasilitasi pelepasan peptida dalam kondisi ringan (Jensen *et al.*, 2013).

Tahapan awal melibatkan pengembangan resin 2-CTC menggunakan diklorometana (DCM) untuk membuka gugus aktif resin. Asam amino pertama, Fmoc-Pro-OH, diikat pada resin menggunakan DIPEA sebagai basa, menghasilkan ikatan kovalen stabil antara asam amino dan resin (Wu *et al.*, 2013). Setelah pengikatan, dilakukan proses deproteksi gugus pelindung Fmoc menggunakan larutan piperidin dalam DMF, yang diverifikasi melalui uji kloranil dengan perubahan warna resin menjadi biru. Nilai *loading* resin ditentukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 290 nm, dengan hasil menunjukkan nilai 0,33 mmol/g, yang berada dalam rentang optimal (Chan and White, 2000).

Untuk menghindari reaksi samping, proses penutupan gugus aktif resin (*capping* resin) dilakukan menggunakan campuran DMC, DIPEA, dan metanol (Muhajir *et al.*, 2021). Setelah itu, dilakukan deproteksi Fmoc pada masing-masing asam amino untuk proses kopling berikutnya. Mekanisme deproteksi Fmoc menghasilkan senyawa dibenzofulvena (DBF), yang terdeteksi melalui spektrofotometer UV-Vis. Setiap tahap dikonfirmasi melalui uji kloranil untuk memastikan keberhasilan sintesis, dengan resin siap melanjutkan ke tahapan kopling asam amino berikutnya (Luna *et al.*, 2016).

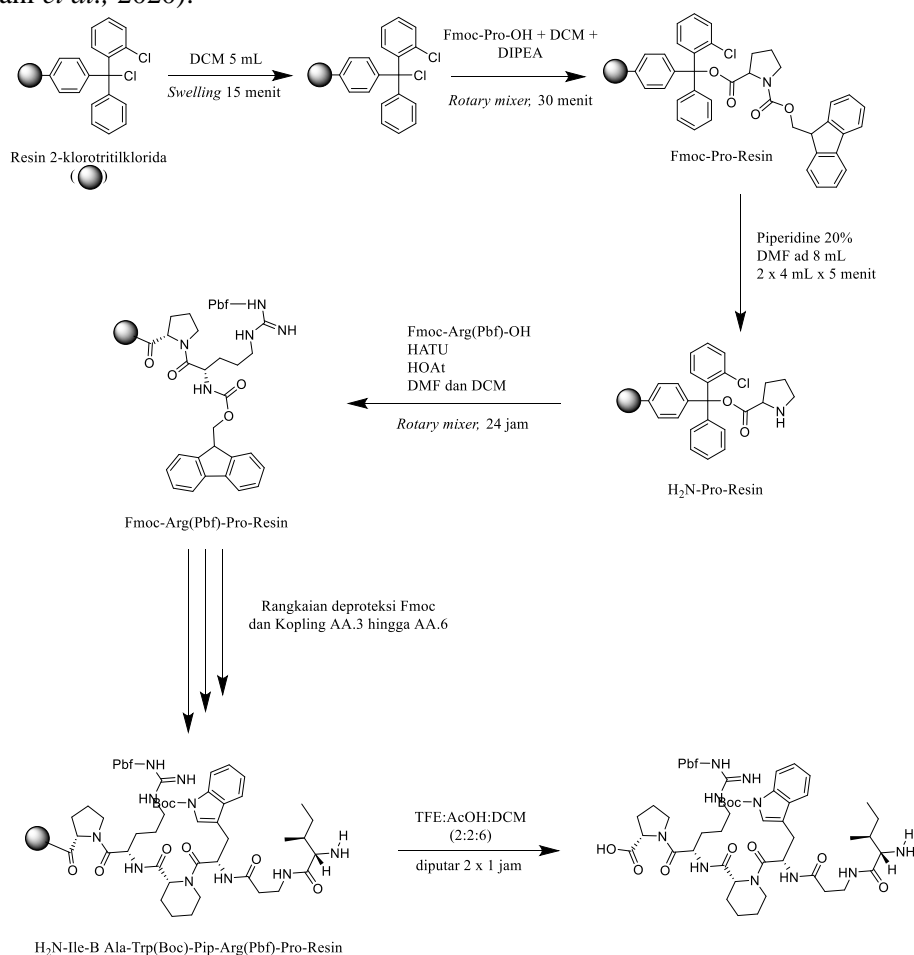
Kopling Asam Amino Linier

Tahap kopling asam amino kedua dilakukan pada $\text{NH}_2\text{-Pro-OH}$ dengan menggunakan reagen HATU dan HOAt. Asam amino kedua, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, dilarutkan dalam campuran DIPEA dan DMF sebelum ditambahkan reagen kopling. Penggunaan HATU bertujuan untuk mengaktivasi gugus karboksilat secara efisien melalui pembentukan ester reaktif, sehingga mempermudah pembentukan

ikatan peptida. Penambahan HOAt membantu menekan rasemisasi dengan membentuk ikatan hidrogen intramolekular, menjaga konfigurasi stereokimia. Kombinasi HATU dan HOAt juga meminimalkan produk samping seperti aspartimida, meningkatkan kemurnian dan efisiensi sintesis (El-Faham and Albericio, 2011)..

Campuran reaksi, dengan perbandingan ekuivalen asam amino, reagen kopling, dan basa sebesar 3:3:6, dimasukkan ke tabung reaktor SPPS dan diaduk semalaman. Setelah kopling selesai, resin dicuci berulang kali menggunakan DMF dan DCM untuk memastikan penghilangan sisa pelarut dan reagen. Keberhasilan kopling dipantau melalui uji kloranil, yang memastikan gugus amina bebas (-NH₂) telah terbentuk setelah pelepasan gugus pelindung Fmoc. Jika hasil uji kloranil menunjukkan warna ungu pada resin, hal ini mengindikasikan gugus Fmoc belum sepenuhnya terlepas, sehingga proses kopling perlu diulang.

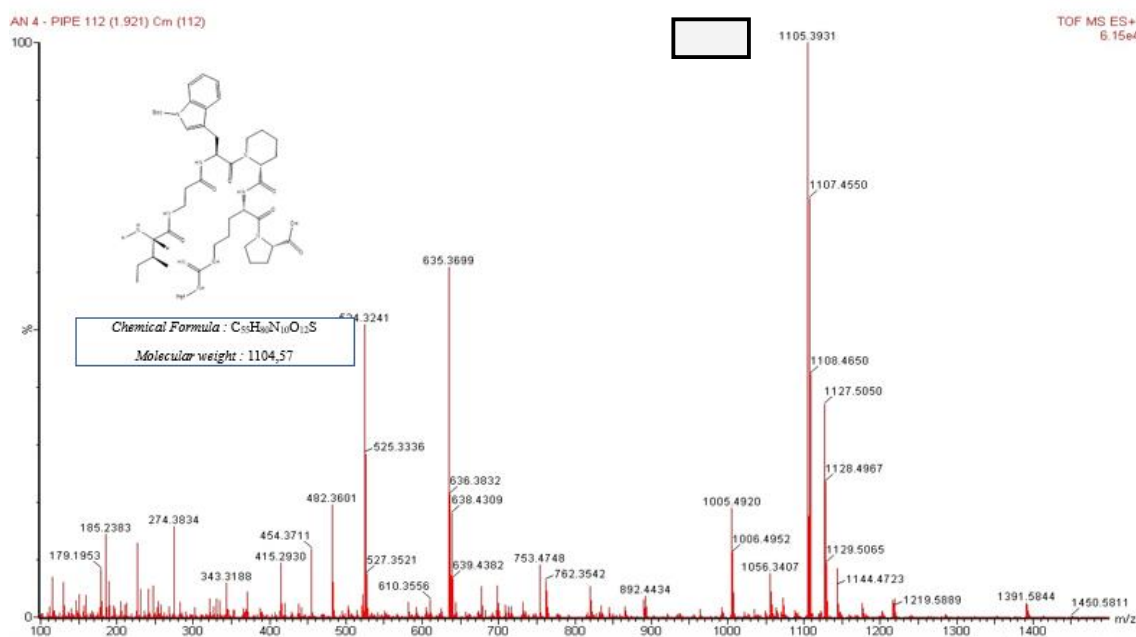
Tahap deproteksi gugus Fmoc dilakukan dengan menggunakan 20% piperidin dalam DMF, diikuti dengan pencucian menggunakan DMF dan DCM untuk memastikan resin benar-benar bersih. Pengujian kloranil setelah deproteksi memastikan gugus amina telah bebas, ditandai dengan perubahan warna resin menjadi ungu-kehitaman. Tahapan ini memastikan kesiapan resin untuk kopling asam amino berikutnya, sehingga proses sintesis peptida dapat dilanjutkan tanpa hambatan (Maharani *et al.*, 2020).



Gambar 2. Skema Sintesis Kopling Asam Amino Linier

Setelah senyawa target heksapeptida linear diperoleh, tahap pelepasan asam amino pada resin dilakukan menggunakan campuran asam asetat, TFE, dan DCM (2:2:6) selama dua jam. Pemilihan reagen TFE bertujuan melindungi kestabilan gugus pelindung Boc pada triptofan dan Pbf pada arginin, mencegah pelepasan gugus pelindung selama proses siklisasi. Filtrat yang diperoleh dipadatkan menggunakan rotary evaporator, menghasilkan krud heksapeptida seberat 26,5 mg. Rendahnya bobot krud yang dihasilkan diduga akibat pengambilan sampel berlebih selama uji kloranil dan waktu pencampuran yang kurang optimal selama proses pelepasan dari resin.

Heksapeptida yang dihasilkan dianalisis menggunakan spektrometer massa Waters QToF MS untuk memastikan pembentukan senyawa target. Teknologi ini memanfaatkan filter massa kuadrupol dan analisator waktu terbang untuk mengidentifikasi rasio massa terhadap muatan (m/z) senyawa. Ion molekul $[M+H]^+$ dengan puncak m/z sebesar 1105,3931 terdeteksi, sesuai dengan massa molekul teoretis senyawa target ($C_{55}H_{80}N_{10}O_{12}S$), yaitu 1105,36. Hal ini mengonfirmasi keberhasilan sintesis heksapeptida linear Ile- β -Ala-Trp(Boc)-Pip-Arg(Pbf)-Pro menggunakan metode *Solid Phase Peptide Synthesis* (SPPS) dengan strategi Fmoc, reagen HATU/HOAt, resin 2-CTC, dan larutan TFE. Senyawa ini siap untuk tahap siklisasi berikutnya.



Gambar 3. Spektrum HR-TOF-MS Senyawa Heksapeptida linier

Siklisasi Heksapeptida Linier

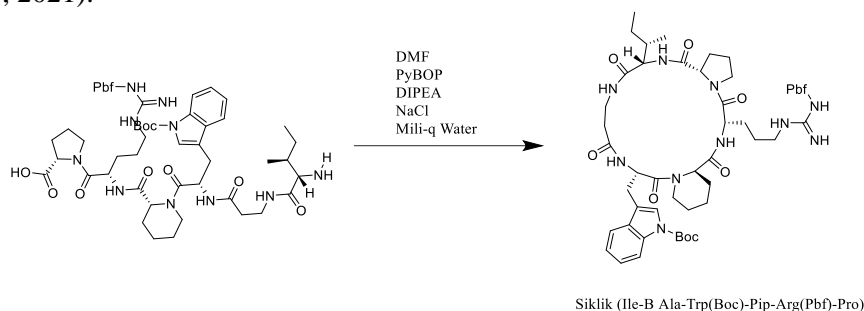
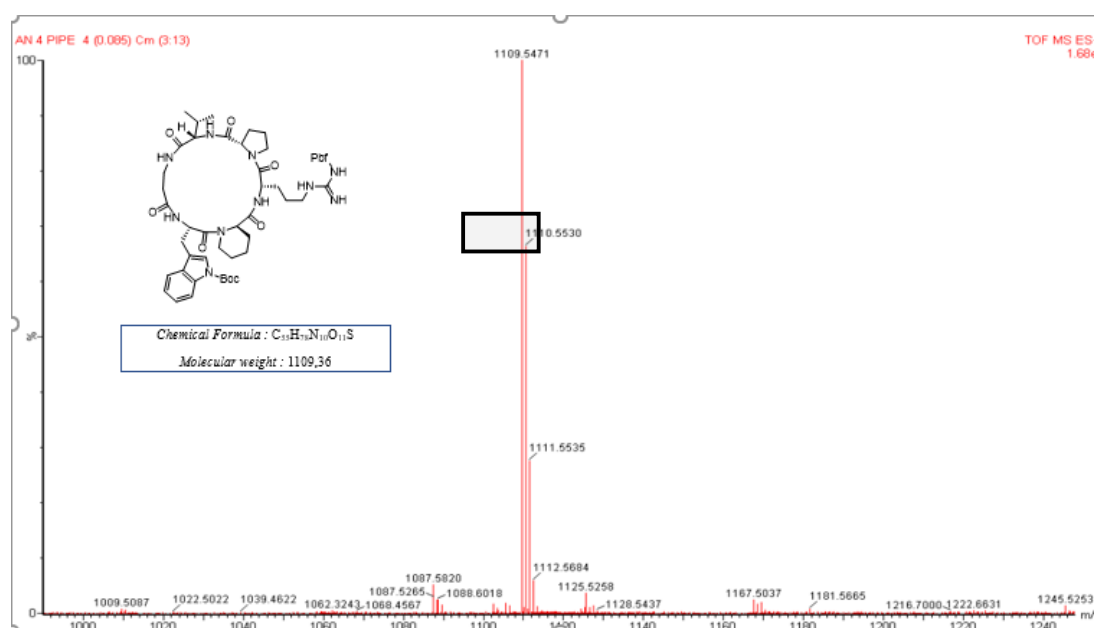
Proses siklisasi peptida linier analog pipecolisporin dilakukan dengan pendekatan head-to-tail menggunakan reagen PyBOP, DIPEA, DMF, NaCl, dan air murni (mili-Q). PyBOP digunakan untuk mengaktifkan gugus karboksil terminal-C, sedangkan DIPEA bertindak sebagai basa untuk menetralkan proton yang dihasilkan selama reaksi, memastikan reaksi berlangsung dalam kondisi basa (Bechtler and Lamers, 2021). DMF dipilih sebagai pelarut polar untuk melarutkan reagen dan menstabilkan intermediet reaktif, sementara NaCl ditambahkan untuk meningkatkan kelarutan peptida dan mengurangi agregasi (Hayes et al., 2021). Siklisasi dilakukan pada suhu ruang selama 3×24 jam menggunakan magnetic stirrer untuk memastikan konversi optimal dari struktur linier menjadi siklik (Wahyuningrum et al., 2012).

Keberhasilan siklisasi diverifikasi menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan pelarut n-heksana:isopropanol (9:1). Peptida linier digunakan sebagai pembanding. Hasil KLT menunjukkan perbedaan mobilitas antara peptida linier dan siklik, dengan peptida siklik menunjukkan mobilitas lebih tinggi karena sifat fisikokimia yang berubah setelah siklisasi.

Tahap pemurnian dilakukan menggunakan metode ekstraksi cair-cair (ECC) dengan larutan NaCl dan etil asetat. Prinsip ECC adalah memisahkan peptida siklik berdasarkan kelarutannya dalam pelarut organik (Distantina, 1988). Fase organik yang mengandung peptida siklik dipisahkan, dan pelarutnya diuapkan menggunakan rotary evaporator untuk mendapatkan produk murni (Hidayah et al., 2016).

Peptida siklik yang dihasilkan dianalisis menggunakan spektrometer massa Waters QToF MS. Hasil analisis menunjukkan puncak ion molekul $[M+H]^+$ dengan m/z 1110,5530 sesuai dengan rumus molekul $C_{55}H_{78}N_{10}O_{11}S$. Data ini mengonfirmasi keberhasilan sintesis heksapeptida siklik Ile- β -Ala-Trp(Boc)-Pip-Arg(Pbf)-Pro melalui metode Liquid Phase Peptide Synthesis (LPPS) (Züllig and

Köfeler, 2021).

**Gambar 4.** Skema Sintesis Siklisasi Heksapeptida linier**Gambar 5.** Spektrum HR-TOF-MS senyawa heksapeptida siklik dengan gugus pelindung

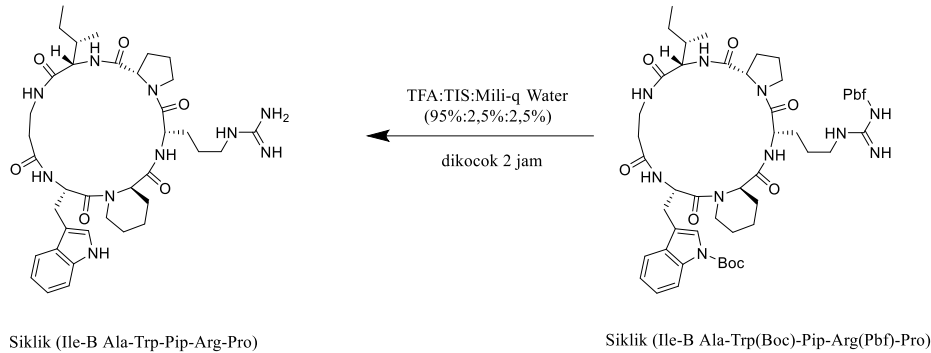
Pemutusan Gugus Pelindung

Sintesis peptida siklik melibatkan penggunaan gugus pelindung seperti Boc (*tert*-butoxycarbonyl) dan Pbf (2,2,4,6,7-pentamethyl-dihydrobenzofuran-5-sulfonyl) untuk mencegah reaksi yang tidak diinginkan selama pembentukan urutan asam amino. Setelah sintesis selesai, gugus pelindung dilepaskan menggunakan campuran reagen TFA:TIS:Mili-Q water. TFA bertindak sebagai agen asam yang kuat untuk memecah ikatan karbonil pada gugus Boc, sementara TIS membantu melarutkan peptida dan mengurangi dampak korosif TFA. Mili-Q water digunakan untuk menetralkan reaksi dan menghentikan efek TFA lebih lanjut (Spears *et al.*, 2021).

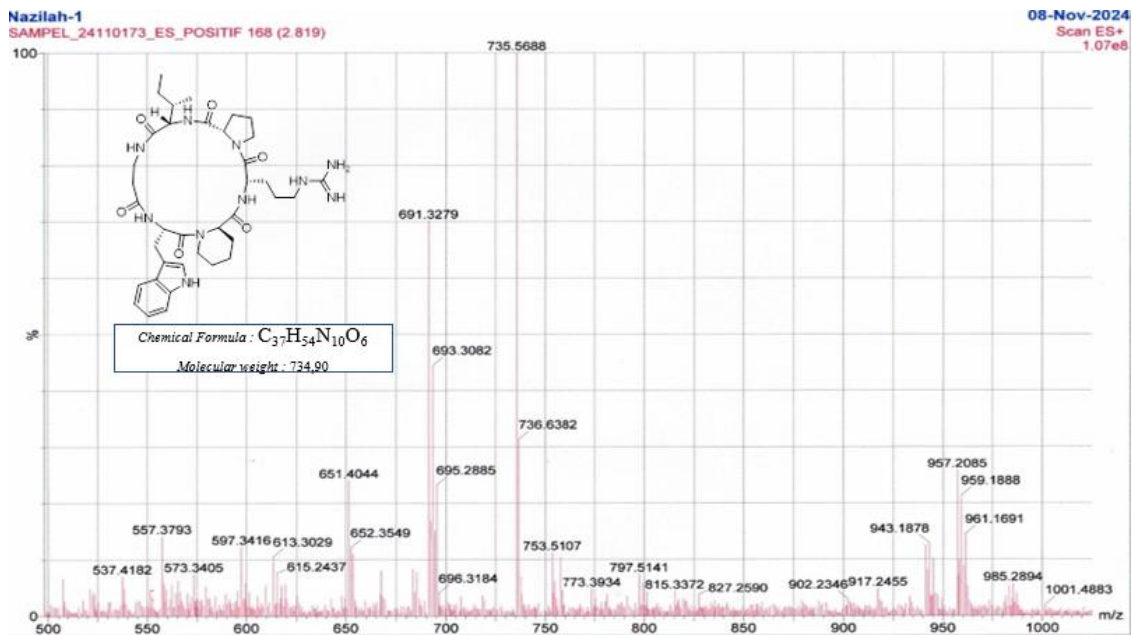
Proses pelepasan gugus pelindung dimulai dengan pencampuran larutan reagen yang diaduk selama dua jam pada suhu ruang menggunakan magnetic stirrer. Untuk gugus Boc, TFA memecah ikatan ester, menghasilkan peptida bebas dengan gugus amino terbuka. Gugus Pbf, yang lebih stabil terhadap kondisi asam, dilepaskan melalui protonasi oleh ion H^+ dari TFA pada gugus sulfonyl, yang memudahkan pemutusan ikatan dengan nitrogen amina (Carpino *et al.*, 1993).

Setelah pelepasan gugus pelindung selesai, campuran larutan heksapeptida diuapkan menggunakan rotary evaporator untuk menghilangkan pelarut, dan produk dianalisis menggunakan spektrometer massa Waters QToF MS. Analisis spektrometer massa menunjukkan puncak ion molekul $[M+H]^+$ dengan m/z 735,5688, sesuai dengan nilai teoretis senyawa target ($C_{37}H_{54}N_{10}O_6$) sebesar 734,90, berdasarkan simulasi ChemDraw. Data ini mengonfirmasi bahwa sintesis heksapeptida siklik Ile- β -Ala-Trp-Pip-Arg-Pro melalui metode *Liquid Phase Peptide Synthesis*

(LPPS) berhasil dilakukan.



Gambar 6. Skema sintesis pemutusan gugus pelindung



Gambar 7. Spektrum HR-TOF-MS senyawa heksapeptida siklik

D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, heksapeptida linear Ile- β -Ala-Trp(Boc)-Pip-Arg(Pbf)-Pro berhasil disintesis menggunakan metode Solid Phase Peptide Synthesis (SPPS) dengan strategi Fmoc, reagen HATU/HOAt, resin 2-CTC, dan larutan TFE. Analisis spektrometer massa menunjukkan puncak ion molekul $[M+H]^+$ dengan m/z sebesar 1105,3931, sesuai dengan massa teoretis senyawa target. Selanjutnya, sintesis peptida siklik dilakukan melalui metode Liquid Phase Peptide Synthesis (LPPS) menggunakan pendekatan head-to-tail. Hasil analisis spektrometer massa mendeteksi puncak ion molekul $[M+H]^+$ dengan m/z sebesar 1110,5530, sesuai dengan rumus molekul C₅₅H₇₈N₁₀O₁₁S, yang mengonfirmasi keberhasilan pembentukan peptida siklik. Proses pelepasan gugus pelindung Boc dan Pbf menggunakan campuran reagen TFA:TIS:Mili-Q water juga berjalan efektif tanpa merusak struktur peptida. Analisis spektrometer massa menunjukkan puncak ion molekul $[M+H]^+$ dengan m/z sebesar 735,5688, mendukung keberhasilan sintesis peptida siklik Ile- β -Ala-Trp-Pip-Arg-Pro sebagai produk akhir dengan struktur yang sesuai dengan desain.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan, baik secara langsung maupun tidak langsung, selama pelaksanaan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada pihak-pihak yang telah memberikan bimbingan dan fasilitas yang sangat membantu dalam menyelesaikan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Al-Warhi, T. I., Al-Hazimi, H. M. A., & El-Faham, A. (2012). Recent development in peptide coupling reagents. *Journal of Saudi Chemical Society*, 16(2), 97–116. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2010.12.006>
- Bechtler, C., & Lamers, C. (2021). Macrocyclization strategies for cyclic peptides and peptidomimetics. *RSC Medicinal Chemistry*, 12(8), 1325–1351. <https://doi.org/10.1039/d1md00083g>
- Carpino, L. A., Shroff, H., Triolo, S. A., Mansour, E. S. M. E., Wenschuh, H., & Albericio, F. (1993). The 2,2,4,6,7-pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl group (Pbf) as arginine side chain protectant. *Tetrahedron Letters*, 34(49), 7829–7832. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)61487-9](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)61487-9)
- Chan, W.C. & White, P.D. (2000) *Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach*. B. D. Hames, ed. Oxford: Oxford University Press.
- Craik, D. J., Fairlie, D. P., Liras, S., & Price, D. (2013). The Future of Peptide-based Drugs. *Chemical Biology and Drug Design*, 81(1), 136–147. <https://doi.org/10.1111/cbdd.12055>
- Distantina, S. (1988). *Ekstraksi cair-cair*.
- El-Faham, A., & Albericio, F. (2011). Peptide coupling reagents, more than a letter soup. *Chemical Reviews*, 111(11), 6557–6602. <https://doi.org/10.1021/cr100048w>
- Fernández-Pastor, I., González-Menéndez, V., Annang, F., Toro, C., Mackenzie, T. A., Bosch-Navarrete, C., Genilloud, O., & Reyes, F. (2021). Pipecolisporin, a novel cyclic peptide with antimalarial and antitrypanosome activities from a wheat endophytic *nigrospora oryzae*. *Pharmaceuticals*, 14(3), 0–8. <https://doi.org/10.3390/ph14030268>
- Hayes, H. C., Luk, L. Y. P., & Tsai, Y. H. (2021). Approaches for peptide and protein cyclisation. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 19(18), 3983–4001. <https://doi.org/10.1039/d1ob00411e>
- Hidayah, W. W., Kusriani, D., & Fachriyah, E. (2016). Isolasi, Identifikasi Senyawa Steroid dari Daun Getih-Getihan (*Rivina humilis* L.) dan Uji Aktivitas sebagai Antibakteri. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 19(1), 32. <https://doi.org/10.14710/jksa.19.1.32-37>
- Jensen, K. J. (2013). Solid-phase peptide synthesis: an introduction. In K. J. Jensen, P. T. Shelton, & S. L. Pedersen (Eds.), *Peptide Synthesis and Applications* (pp. 1–21). Humana Press
- Kemkes RI. (2019). Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Tata Laksana Malaria. Kementerian Kesehatan RI, 8(5), 55. <https://drive.google.com/file/d/1WjOIW0ZqMeWNYBLC1iJ9bpkQGH8JjSli/viewA>. Shimp T. *Periklanan Promosi: Aspek Tambahan Komunikasi Pemasaran Terpadu*. 5th ed. Jakarta: Erlangga; 2000.

- Luong, H. X., Thanh, T. T., & Tran, T. H. (2020). Antimicrobial peptides – Advances in development of therapeutic applications. *Life Sciences*, 260(June), 118407. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118407>
- Luna, O. F., Gomez, J., Cárdenas, C., Albericio, F., Marshall, S. H., & Guzmán, F. (2016). Deprotection reagents in Fmoc solid phase peptide synthesis: Moving away from piperidine? *Molecules*, 21(11), 1–12. <https://doi.org/10.3390/molecules21111542>
- Maharani, R., Octavia, S. M., Zainuddin, A., Hidayat, A. T., Sumiarsa, D., Harneti, D., Nurlelasari, N., & Supratman, U. (2020). Sintesis Tetrapeptida PSWY dan PSKY Fase Padat dan Evaluasi Aktivitas Antioksidannya. *Chimica et Natura Acta*, 8(3), 109. <https://doi.org/10.24198/cna.v8.n3.32205>
- Muhajir, M. I., Hardianto, A., Al-Anshori, J., Sumiarsa, D., Mayanti, T., Nurlelasari, ... & Maharani, R. (2021). Total Synthesis of Nocardiotide A by Using a Combination of Solid-and Solution-Phase Methods. *ChemistrySelect*, 6(45), 12941-12946.
- Murray, C. J., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., Wool, E., Johnson, S. C., Browne, A. J., Chipeta, M. G., Fell, F., Hackett, S., Haines-Woodhouse, G., Kashef Hamadani, B. H., Kumaran, E. A. P., McManigal, B., ... Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- Firdausya, A. N., Suwendar, & Yuniarni, U. (2024). Pereseapan obat ISPA dan kepatuhan pasien pediatri di Puskesmas Riung Bandung. *Jurnal Riset Farmasi*, 4, 21–28. <https://doi.org/10.29313/jrf.v4i1.3767>
- Megaliane, S., Aryani, R., & Darusman, F. (2024). Sediaan Serum Mikroemulsi dan Aplikasinya sebagai Antioksidan Kulit. *Jurnal Riset Farmasi*, 4, 1–6. <https://doi.org/https://doi.org/10.29313/jrf.v4i1.3756>