



UNIVERSITAS INDONESIA

STUDI STRUKTUR *SELF-ASSEMBLY* PEPTIDA AMPIFIL

TESIS

**IRWANSYAH
0806421823**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU KIMIA
DEPARTEMEN KIMIA
DEPOK
JULI 2010**



UNIVERSITAS INDONESIA

STUDI STRUKTUR *SELF-ASSEMBLY* PEPTIDA AMPIFIL

TESIS

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar magister sains

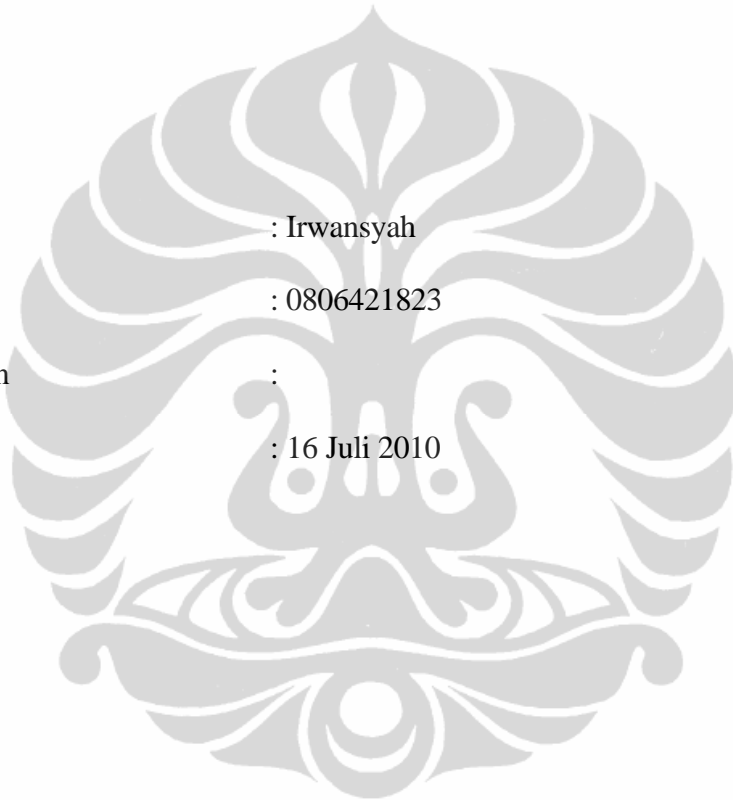
**IRWANSYAH
0806421823**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU KIMIA
DEPARTEMEN KIMIA
DEPOK
JULI 2010**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Irwansyah
NPM : 0806421823
Tanda Tangan :
Tanggal : 16 Juli 2010



HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :
Nama : Irwansyah
NPM : 0806421823
Program Studi : Magister Ilmu Kimia
Judul Tesis : Studi Struktur *Self-Assembly* Peptida Ampifil

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Sains pada Program Studi Ilmu Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Riwandi Sihombing ()
Pembimbing II : Prof. Dr. Wahyudi Priyono Suwarso, Dipl.chem ()
Ketua Penguji : Prof. Dr. Soleh Kosela, M.Sc ()
Sekretaris Penguji : Dr. Ivandini Tribidasari, M.Sc
()
Anggota Penguji : Dr. Emil Budianto ()
Anggota Penguji : Dr. Endang Saepudin ()

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 16 Juli 2010

KATA PENGANTAR/UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, saya dapat menyelesaikan tesis ini. Penulisan tesis ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister Sains Ilmu Kimia pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan tesis ini, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan tesis ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada:

- (1) Dr. Riwandi Sihombing dan Prof. Dr. Wahyudi Priyono Suwarso, selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan saya dalam penyusunan tesis ini;
- (2) Seluruh Dosen dan karyawan Departemen Kimia FMIPA-UI
- (3) Keluarga (kakak dan adik-adik) saya yang telah memberikan bantuan dukungan material dan moral;
- (4) Sahabat-sahabat di NTU yang telah banyak memberikan masukan dalam diskusi-diskusi singkat dan membantu melakukan karakterisasi ; dan
- (5) Sahabat-sahabat, mahasiswa S2 dan S1 Kimia UI yang telah banyak membantu hingga tesis ini selesai ditulis
- (6) Prasmita K Rangkuti, yang banyak memberikan semangat selama penulis melaksanakan penelitian.
- (7) Irfan Hilmy dan Aziiz Surahman, sahabat yang telah menyediakan akomodasi bagi penulis selama berada di Depok.
- (8) Iman Abdullah, sahabat yang banyak membantu dalam hingga tesis ini siap disidangkan.

Akhir kata, saya berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga tesis ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Penulis

2010

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Irwansyah
NPM : 0806421823
Program Studi : Magister Ilmu Kimia
Departemen : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Tesis

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :
Studi Struktur *Self-Assembly* Peptida Ampifil

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : 16 Juli 2010
Yang menyatakan

(Irwansyah)

ABSTRAK

Nama : Irwansyah
Program Studi : Magister Ilmu Kimia
Judul : Studi Struktur *Self-Assembly* Peptida Ampifil

Tujuh peptida ampifil berhasil disintesis dengan metode sintesis peptida fasa padat. Studi dengan AFM menunjukkan bahwa enam dari tujuh peptida ampifilik melakukan self-assembly dalam pelarut air membentuk struktur nanofiber. Meskipun memiliki muatan yang berbeda, kemampuan self-assembly peptida ampifilik hanya dipengaruhi oleh jenis *linker* dan panjang alkil. Peptida ampifilik memperlihatkan kemampuan sebagai material *low molecular weight gelator* (LMWG). Lima dari tujuh peptida ampifilik memiliki nilai *minimum gelation concentration* (MGC) kurang dari 1%(w/v).

Kata Kunci : AFM, *low molecular weight gelator*, *minimum gelation concentration*, peptida ampifilik, self-assembly.
xi+69 halaman ; 34 gambar; 1 tabel
Daftar Pustaka : 41 (1996-2010)

ABSTRACT

Name : Irwansyah
Program Study : Master of Chemistry
Title : Study of Self-assembly Structure of Peptide Amphiphile

Seven peptide amphiphiles were successfully synthesized using solid phase peptide synthesis method. AFM study showed that six out of seven peptide amphiphiles self-assembling into nanofibers structure. Even though peptide amphiphiles have different charge, self-assembly properties of peptide amphiphile depends only on linker type and alkyl chain length. Peptide amphiphiles also showed its capability as low molecular weight gelator (LMWG). Five out of seven peptide amphiphiles have minimum gelation concentration (MGC) lower than 1% (w/v)

Key Words : AFM, low molecular weight gelator, minimum gelation concentration, peptide amphiphile, self-assembly.
xi+69 pages ; 34 pictures; 1 table
Bibliography : 41 (1996-2010)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINILITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vi
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
1.5. Batasan Penelitian	4
1.6. Hipotesa	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. <i>Self-assembly</i> Molekul	5
2.2. <i>Self-assembly</i> Peptida	8
2.3. Strategi Fabrikasi Material Menggunakan <i>Self-assembly</i> Peptida	9
2.4. Sistem <i>Self-assembly</i> Peptida Berdasarkan Jenis Molekul Pembangun	12
2.5. Sintesis Peptida Fasa Padat	13
2.5.1. Gugus Pelindung α -amina	13
2.5.2. Gugus Pelindung Karboksil	15
2.5.3. Metode Kopleng: Pembentukan Ikatan Peptida	15
3. METODE PENELITIAN	18
3.1. Pelaksanaan Penelitian	18
3.2. Desain Penelitian	18
3.3. Bahan Kimia	18
3.4. Sintesis Peptida Ampifil.....	18
3.4.1. Preparasi Resin	19
3.4.2. Deproteksi Gugus Fmoc	19
3.4.3. Kopleng Asam Amino.....	19
3.4.4. <i>Capping</i>	20
3.4.5. Reaksi pemisahan asam amino dari resin (<i>Cleavage</i>)	20
3.5. <i>Self-assembly</i> Peptida Ampifil.....	20
3.6. Penentuan <i>Minimum Gelation Concentration</i>	20
4. PEMBAHASAN	22
4.1. Sintesis Peptida Ampifil.....	22
4.2. MALDI-Tof MS	25
4.3. FTIR	28

4.4.	<i>Self-assembly</i> Peptida Ampifil.....	31
4.5.	Pembentukan Hidrogel	36
5.	KESIMPULAN DAN SARAN	40
5.1.	Kesimpulan	40
5.2.	Saran	40
DAFTAR REFERENSI		41



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1. Desain motif <i>self-complementary ionic peptide</i>	2
Gambar 2.1. Dua macam pendekatan untuk menghasilkan material dengan keteraturan tinggi pada skala nano	6
Gambar 2.2. Ilustrasi Efek Entropi Pada <i>Self-assembly</i>	7
Gambar 2.3 Skema perbedaan ESA dan DySA	8
Gambar 2.4. Berbagai Arsitektur Peptida dan Potensi Aplikasinya	10
Gambar 2.5. Desain molekul ampifil oleh Kunitake.	12
Gambar 2.6. Skema Solid Phase Peptide Synthesis.	14
Gambar 2.7 Struktur Cbz-glisin (kiri), t-Boc-glisin (tengah) dan Fmoc-glisin (kanan)	15
Gambar 2.8 Struktur t-butil ester (kiri) dan benzil ester dari glisin (kanan).	16
Gambar 2.9. Struktur DIC (kiri) dan DCC (kanan).	16
Gambar 2.10. Struktur reagen posfonium	17
Gambar 4.1. Struktur Peptida Ampifil.	22
Gambar 4.2. Mekanisme reaksi deproteksi gugus Fmoc	23
Gambar 4.3. Skema reaksi kopling	24
Gambar 4.4. Skema reaksi sintesis peptida ampifil 1.	26
Gambar 4.5. Spektrum MALDI-Tof MS Peptida Ampifil 1	27
Gambar 4.6. Spektrum MALDI-Tof MS Peptida Ampifil 7.	27
Gambar 4.7. Spektrum FTIR Peptida Ampifil 1, 2 dan 3.	29
Gambar 4.8. Vibrasi amida I dan amida II.	29
Gambar 4.9. Spektra FTIR Peptida Ampifil 1 dan 4.	30
Gambar 4.10. Spektra FTIR Peptida Ampifil 1 dan 5.	30
Gambar 4.11. Spektra FTIR Peptida Ampifil 1 dan Peptida Ampifil 6.	31
Gambar 4.12. Spektra FTIR Peptida Ampifil 1 dan Peptida Ampifil 7.	31
Gambar 4.13. <i>Height Profile</i> AFM Peptida Ampifil 1	32
Gambar 4.14. <i>Height Profile</i> AFM Peptida Ampifil 2.	33
Gambar 4.15. <i>Height Profile</i> AFM Peptida Ampifil 3.	33
Gambar 4.16 <i>Height Profile</i> AFM peptida ampifil 4.	34
Gambar 4.17. <i>Height Profile</i> AFM peptida ampifil 5.	35
Gambar 4.18. <i>Height Profile</i> AFM peptida ampifil 6	35
Gambar 4.19. <i>Height Profile</i> AFM Peptida Ampifil 7.	36
Gambar 4.20. Hidrogel Peptida Ampifil 1.	37
Gambar 4.21. Ilustrasi Pembentukan Gel.	38

DAFTAR LAMPIRAN

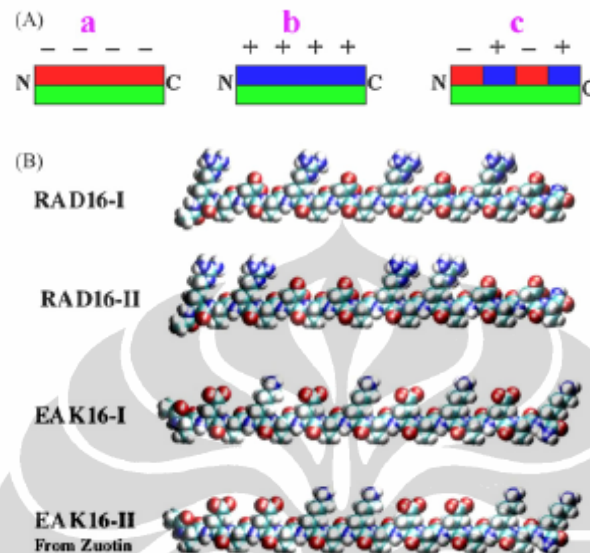
Lampiran 1. Skema Penelitian.	45
Lampiran 2. Spektrum MALDI-Tof MS PA1.	45
Lampiran 3. Spektrum MALDI-Tof MS PA2.	46
Lampiran 4. Spektrum MALDI-Tof MS PA3.	46
Lampiran 5. Spektrum MALDI-Tof MS PA4.	47
Lampiran 6. Spektrum MALDI-Tof MS PA5.	47
Lampiran 7. Spektrum MALDI-Tof MS PA6.	48
Lampiran 8. Spektrum MALDI-Tof MS PA7.	48
Lampiran 9. Spektrum FTIR PA1.	49
Lampiran 10. Spektrum FTIR PA2.	50
Lampiran 11. Spektrum FTIR PA3.	51
Lampiran 12. Spektrum FTIR PA4.	52
Lampiran 13. Spektrum FTIR PA5.	53
Lampiran 14. Spektrum FTIR PA6.	54
Lampiran 15. Spektrum FTIR PA7.	55
Lampiran 16. Gambar AFM <i>Self-assembly</i> PA1.	56
Lampiran 17. Gambar AFM <i>Self-assembly</i> PA2.	58
Lampiran 18. Gambar AFM <i>Self-assembly</i> PA3.	60
Lampiran 19. Gambar AFM <i>Self-assembly</i> PA4.	62
Lampiran 20. Gambar AFM <i>Self-assembly</i> PA5.	64
Lampiran 21. Gambar AFM <i>Self-assembly</i> PA6.	66
Lampiran 22. Gambar AFM <i>Self-assembly</i> PA7.	68

1.1. Latar Belakang

Self-assembly molekul merupakan pendekatan yang sangat berguna dalam fabrikasi arsitektur supramolekul (S. Zhang, 2003). Proses *self-assembly* merupakan peristiwa yang mudah dijumpai di alam, seperti pembentukan gumpalan molekul lipid dalam air, pembentukan protein hemoglobin dari empat polipeptida hemoglobin serta pembentukan ribosom dari protein ribosomal dan RNA. Meskipun dimediasi oleh ikatan lemah non kovalen seperti ikatan hidrogen, ikatan ionik (interaksi elektrostatik), interaksi hidrofobik, interaksi van der Waals, *self-assembly* mampu membangun konformasi struktur yang sangat stabil dan mempengaruhi interaksinya dengan molekul-molekul lain. Semua biomolekul, termasuk peptida dan protein berinteraksi dan mengorganisasi dirinya (*self-organized*) membentuk struktur yang memiliki keteraturan tinggi yang sangat erat kaitannya dengan fungsinya masing-masing. Dengan mempelajari proses *self-assembly* yang melahirkan pembentukan struktur supramolekul di alam, kita dapat menerapkan proses *self-assembly* tersebut pada molekul-molekul sintetik membentuk struktur baru dengan fungsi-fungsi tertentu.

Tantangan dalam *self-assembly* molekul adalah mendesain molekul pembangun (*building block*) yang mampu mengalami pengorganisasian secara spontan membentuk struktur makroskopik yang teratur dan stabil (S. Zhang, Marini, Hwang, & Santoso, 2002). Salah satu molekul pembangun yang sangat potensial dalam *self-assembly* adalah asam amino. *Self-assembly* peptida pertama kali ditemukan oleh Shuguang Zhang pada 1989, saat melakukan penelitian struktur Z-DNA (Yanlian et al., 2009; Xiubo Zhao, Pan, & Lu, 2008). Dalam penelitiannya, Shuguang Zhang mengidentifikasi protein yang kemudian disebut sebagai protein zuotin. Protein ini memiliki urutan residu peptida yang sangat khas, terdiri dari 16 asam amino dengan motif n-AEAEAKAKAEAEAKAK-c atau biasa disingkat EAK16-II. Peptida ini memiliki dua sisi yang berbeda, yaitu sisi hidrofobik dan sisi hidrofilik. Peptida ini juga disebut sebagai *self-complementary ionic peptide* sebagai akibat adanya rantai samping bermuatan positif dan negatif pada strukturnya. Penemuan EAK16-II menginspirasi Shuguang Zhang untuk mendesain motif peptida lainnya yang dapat melakukan *self-assembly*, seperti RAD16-I, RAD16-II, EAK16-I. Desain *self complementary ionic peptide* oleh Shuguang zhang diperlihatkan pada

Gambar 1.1. Setidaknya terdapat tiga tipe molekul yang dapat didesain berdasarkan sisi hidrobik dan hidrofiliknya, yaitu peptida dengan sisi hidrofilik negatif, peptida dengan sisi hidrofilik positif, dan peptida dengan sisi hidrofilik positif-negatif.



Keterangan: A = tiga motif peptida *self-complementary ionic*

B = contoh peptida *self-complementary ionic*

[Sumber: (Yanlian et al., 2009)]

Gambar 1.1. Desain motif *self-complementary ionic peptide*

Asam amino merupakan molekul pembangun (*building block molecule*) pada peptida dan protein. Dengan adanya kemajuan pada proses sintesis peptida, para ilmuwan dapat dengan mudah mensintesis berbagai macam peptida yang memiliki perbedaan dalam hal komposisi dan urutan asam amino untuk meniru proses alam. Dengan tersedianya dua puluh asam amino alami, kimiawan dapat dengan mudah mendesain berbagai macam molekul serta mempelajari sifat *self-assembly* yang dimilikinya. Penggunaan biomolekul sebagai molekul pembangun struktur supramolekul merupakan rute baru untuk menghasilkan material fungsional dan dapat melengkapi material lainnya yang sudah ada seperti keramik, paduan logam dan polimer sintetik (S. Zhang et al., 2002). *Self-assembly* dengan menggunakan biomolekul juga memiliki sejumlah potensi aplikasi seperti perbaikan jaringan (*tissue repair*) terutama dengan adanya kemampuan molekul amfifil membentuk hidrogel, *drug delivery*, dan modifikasi suatu permukaan dengan molekul biologi

(*biological engineering surface*) (Yanlian et al., 2009; Xiaojun Zhao, 2009; Ruan et al., 2009; Koutsopoulos, Unsworth, Nagai, & S. Zhang, 2009; Nagai, Unsworth, Koutsopoulos, & S. Zhang, 2006).

1.2. Perumusan Masalah

Selain menggunakan molekul *self-complementary ionic peptide*, desain *building block* molekul yang mampu melakukan *self-assembly* dapat diperoleh dari molekul ampifil yang berbasis peptida. Meskipun secara umum molekul ampifil memiliki dua bagian yang berbeda yaitu bagian hidrofilik dan hidrofobik, namun belum ada satupun studi yang mempelajari efek jenis molekul pembangun bagian hidrofilik dan hidrofobik tersebut terhadap sifat *self-assembly* dan kemampuan gelator yang dimilikinya. Untuk mempelajari efek jenis molekul pembangun bagian hidrofilik dan hidrofobik, penggunaan molekul asam amino dapat menjadi cara yang efisien. Bagian hidrofilik molekul ampifil dapat diperoleh dari asam amino yang memiliki rantai samping bermuatan positif dan negatif, sementara bagian hidrofobik dapat diperoleh dari asam amino yang memiliki gugus hidrofobik. Karena jenis asam amino yang memiliki rantai samping hidrofobik sangat bervariasi maka sifat hidrofobik molekul ampifil dapat dengan mudah dikontrol dan dipelajari sifat *self-assembly* yang dimilikinya. Selain dengan melakukan seleksi asam amino, sifat hidrofilik dan hidrofobik molekul ampifil dapat dilakukan dengan menambahkan molekul asam lemak pada struktur ampifil. Tersedianya variasi asam lemak yang memiliki jumlah karbon yang berbeda ikut memberikan alternatif dalam melakukan kontrol sifat hidrofilik dan hidrofobik peptida ampifil.

Pada penelitian ini molekul pembangun yang didesain merupakan suatu peptida ampifil yang tersusun oleh molekul asam amino dan molekul asam lemak. Sejumlah desain molekul ampifil terbukti dapat melakukan *self-assembly* membentuk struktur *nanotube* dan *nanovesicle* (von Maltzahn, Vauthey, Santoso, & S. Zhang, 2003; Santoso, Hwang, Hartman, & S. Zhang, 2002). Sintesis peptida dilakukan dengan menggunakan metode sintesis fasa padat Fmoc-asam amino (*fmoc solid phase peptide synthesis*), suatu metode sintesis peptida yang efektif, cepat dan sederhana.

Penelitian dilakukan dalam tiga tahap utama, sintesis molekul peptida ampifil, karakterisasi dan proses *self-assembly*. Skema detail desain penelitian dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mempelajari proses *self-assembly* molekul peptida ampifil yang memiliki perbedaan panjang rantai alkil, muatan asam amino serta komposisi asam amino. Sebagai tambahan, penelitian ini juga mempelajari apakah molekul ampifil yang dihasilkan dapat bertindak sebagai hidrogelator atau tidak.

1.4. Manfaat Penelitian

Sesuai dengan tujuannya, penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan suatu jenis molekul yang bersifat *low molecular weight gelator* (LMWG). Selain itu, studi *self-assembly* peptida ampifil dapat memberikan gambaran bagaimana cara mendesain molekul ampifil untuk mendapatkan struktur *self-assembly* yang diinginkan.

1.5. Batasan Penelitian

Penelitian ini hanya melakukan studi *self-assembly* pada peptida ampifil yang memiliki 2 jenis asam amino pada tiap struktur ampifil. Struktur ampifil yang memiliki lebih dua jenis asam amino dalam struktur ampifil berada diluar wilayah penelitian. Meskipun melakukan studi pembentukan gel, sifat mekanik gel sebagai material tidak menjadi objek penelitian. Pembentukan gel hanya fokus pada penentuan *minimum gelation concentration* (MGC).

1.6. Hipotesa

Struktur peptida ampifil mempengaruhi proses *self-assembly* dan sifat hidrogelator yang dimilikinya.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

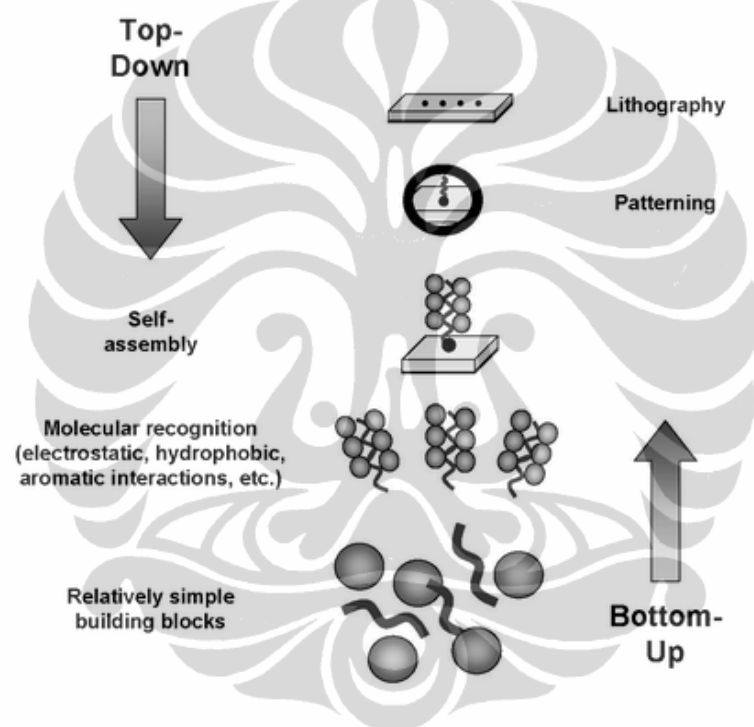
2.1. *Self-assembly* Molekul

Self-assembly merupakan peristiwa yang banyak ditemui di alam baik secara makroskopik maupun mikroskopik, seperti bergerombolnya ikan-ikan di laut dan burung-burung di udara hingga butiran minyak yang jatuh ke air (S. Zhang, 2002). Pada tahun 1983, Aaron Klug melaporkan bahwa *tobacco mosaic virus* mampu melakukan *self-assembly*, *self-nucleating*, dan *self-checking* (Percec, Ungar, & Peterca, 2006). Segera setelah itu ahli kimia menemukan bahwa prinsip yang sama dapat diterapkan pada molekul sintetik. Semua proses tersebut menjelaskan berkumpulnya sejumlah entitas membentuk suatu struktur yang teratur tanpa adanya instruksi dari luar.

Pembentukan secara spontan struktur yang teratur pada skala nano atau objek makro yang memiliki keteraturan pada skala nano merupakan isu utama dalam bidang nanoteknologi. Untuk mendapatkan struktur dengan keteraturan tinggi pada skala nano, terdapat dua pendekatan yang dapat digunakan yaitu pendekatan *bottom-up* dan pendekatan *top-down*. Dengan pendekatan *bottom-up*, molekul sederhana berinteraksi satu sama lain dalam cara yang terkoordinasi membentuk struktur supramolekular. Proses *molecular recognition* dan *self-assembly* mengarahkan bagaimana molekul-molekul sederhana tersebut mengenali satu sama lain, berasosiasi dan membentuk nanostuktur 1D, 2D, dan 3D (Gazit, 2007). Sementara itu, pada pendekatan *top-down*, struktur akhir yang diinginkan diperoleh dari pemotongan atau pembentukan pola tertentu suatu material berukuran besar (Lim, Moon, & Lee, 2009). Pendekatan *top-down* biasanya diperoleh melalui pembentukan pola pada skala nano (*patterning*) dengan metode litografi. **Gambar 2.1** memperlihatkan perbedaan antara pendekatan *top-down* dan pendekatan *bottom-up* dalam pembentukan nanomaterial.

Secara molekular, *self-assembly* molekul didefinisikan sebagai pengorganisasian secara spontan molekul-molekul dalam kondisi kesetimbangan termodinamik membentuk struktur dengan keteraturan tinggi dan stabil melalui sejumlah interaksi non kovalen. *Self-assembly* juga dapat didefinisikan sebagai

pengorganisasian secara spontan molekul-molekul yang tidak teratur menjadi struktur yang teratur sebagai konsekuensi interaksi lokal dan spesifik diantara komponen-komponennya (Lim et al., 2009). Interaksi non kovalen yang terlibat dalam proses *self-assembly* molekul melibatkan ikatan hidrogen, ikatan ionik, dan gaya van der Waals. Meskipun setiap interaksi tersebut relatif lebih lemah dibandingkan ikatan kovalen, struktur yang stabil dapat terbentuk karena adanya interaksi kolektif dalam struktur *self-assembly*. Kunci utama dalam proses *self-assembly* molekul adalah adanya sifat saling melengkapi secara kimia (*chemical complementary*) dan kesesuaian struktur (*structure compability*).



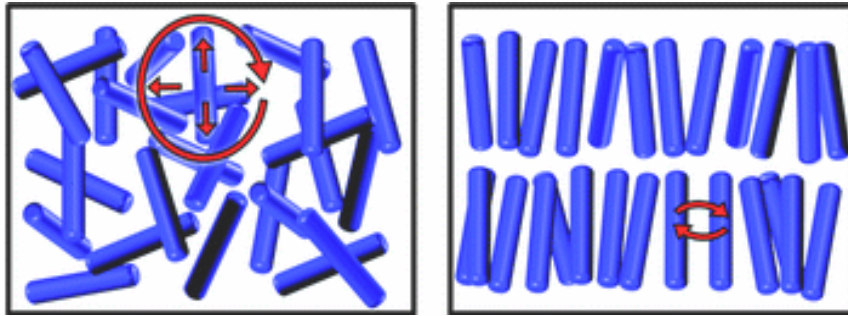
[Sumber:(Gazit, 2007)]

Gambar 2.1. Dua macam pendekatan untuk menghasilkan material dengan keteraturan tinggi pada skala nano

Secara termodinamik, proses *self-assembly* dapat dibedakan menjadi dua sistem, yaitu *equilibrium self-assembly (ESA)* dan *dynamic self-assembly (DySA)* (Grzybowski, Wilmer, Jiwon Kim, Browne, & Bishop, 2009).

a. *Equilibrium self-assembly (ESA)*

Pada kesetimbangan termodinamik, *self-assembly* menyusun komponen sistem menjadi struktur dengan energi potensial terendah. Pada keadaan ESA, tidak terjadi aliran energi antara sistem dengan lingkungan setelah terjadinya *self-assembly*. ESA dapat digerakkan secara terpisah oleh energi dan entropi atau kombinasi keduanya. Energi yang terlibat dalam proses ESA meliputi ikatan hidrogen, gaya van der Waals serta gaya elektrostatik. Sementara itu ESA yang digerakkan oleh entropi lebih sering terjadi pada sistem yang memiliki muatan elektrostatik sejenis. Meskipun memiliki gaya tolak akibat muatan yang sama, molekul dapat melakukan *self-assembly* karena perubahan entropi sistem bernilai positif. **Gambar 2.2** merupakan ilustrasi efek entropi yang mendorong terjadinya *self-assembly*. Entropi sebelum *self-assembly* lebih rendah dibandingkan setelah terjadinya *self-assembly* karena sebelum *self-assembly* (meskipun terlihat lebih tidak teratur) derajat kebebasan rotasi dan translasi tidak sebebaskan setelah proses *self-assembly*. Setelah *self-assembly*, molekul memiliki kemampuan untuk berdifusi lebih bebas dalam struktur *self-assembly*.



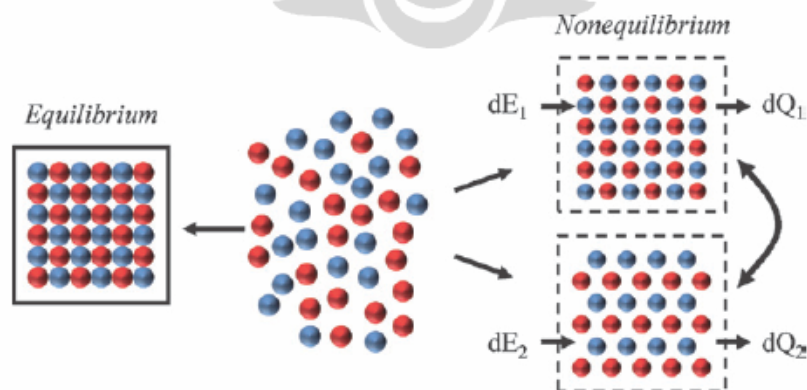
[Sumber: (Grzybowski et al., 2009)]

Gambar 2.2. Ilustrasi efek entropi pada *self-assembly*

b. *Dynamic self-assembly* (DySA)

Struktur *self-assembly* pada kondisi ESA dibatasi oleh karakteristiknya yang statis. Pada sistem biologi terdapat banyak struktur *self-assembly* yang dapat merespon perubahan yang terjadi terhadap lingkungannya. Untuk dapat melakukan *self-heal*, *self-replicate* dan respon terhadap stimulus eksternal, sistem biologi harus membebaskan dirinya dari ESA membentuk keadaan meta stabil yang bergantung pada pasokan energi luar. Hingga saat ini teori mengenai DySA masih terus dikembangkan. Namun kesimpulan yang dapat disampaikan dari sejumlah laporan penelitian yang ada adalah DySA memiliki nilai lebih dibandingkan ESA, karena DySA merupakan satu-satunya jenis *self-assembly* yang dapat digunakan untuk membuat “material cerdas”, yang dapat beradaptasi mengubah struktur internal.

Gambar 2.3 memperlihatkan perbedaan antara sistem ESA dan DySA.



[Sumber: (Grzybowski et al., 2009)]

Gambar 2.3 Skema perbedaan ESA dan DySA

2.2. Self-Assembly Peptida

Self-assembly molekul didefinisikan sebagai pengorganisasian molekul secara spontan pada kondisi kesetimbangan termodinamik membentuk struktur tertentu sebagai akibat interaksi non kovalen. Penggunaan peptida sebagai molekul pembangun sistem supramolekular berasal dari kemampuan interaksi nonkovalen yang terdapat dalam struktur peptida yaitu ikatan hidrogen. Selain ikatan hidrogen, interaksi yang melibatkan sistem struktur aromatik juga dapat menginduksi terjadinya *self-assembly* molekul (Ma et al., 2010; Cheng, Castelletto, Moulton, Newby, & Hamley, 2010; Orbach et al., 2009; Wang, Zhimou Yang, Patanavanich, Bing Xu, & Chau, 2008). Interaksi yang melibatkan struktur aromatik berasal dari terbentuknya *phi-phi stacking*. Variasi struktur yang terbentuk dapat dilakukan dengan melakukan berbagai modifikasi pada struktur peptida. Sejumlah material berbasis *self-assembly* peptida telah dilaporkan oleh berbagai group riset mulai dari mono asam amino, dua asam amino hingga struktur peptida yang lebih kompleks (Cheng et al., 2010; Z. Yang et al., 2004; Schnepf, Gonzalez-McQuire, & Mann, 2006; Rechtes & Gazit, 2004; Jangbae Kim et al., 2010; Yan, Zhu, & Li, 2010; Chen et al., 2010; Gupta et al., 2007).

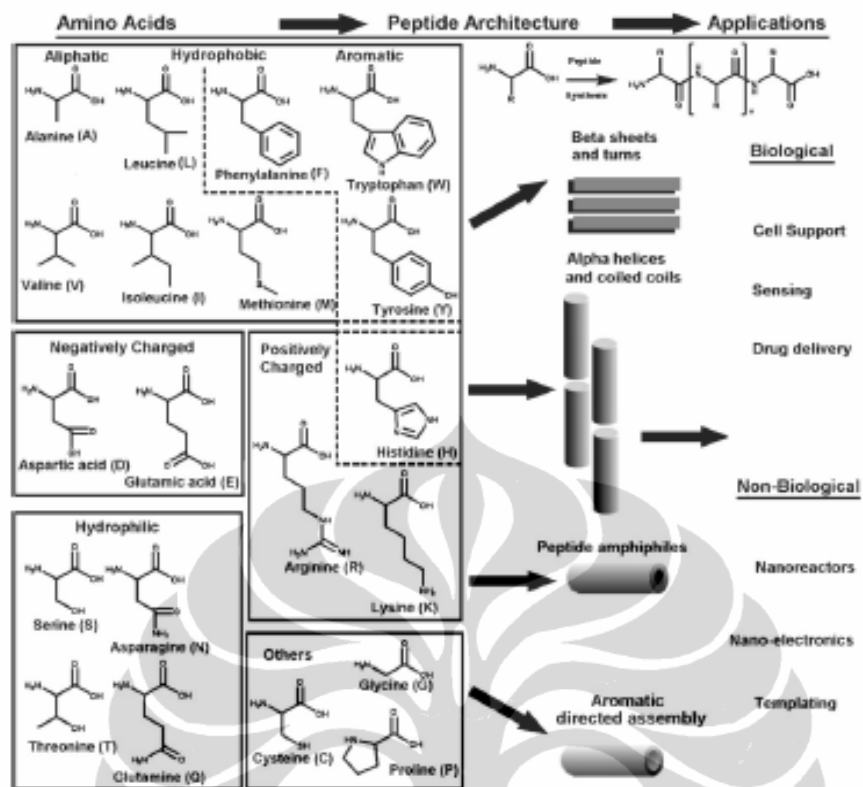
Untuk menghasilkan nanostruktur berbasis *self-assembly* peptida, pemilihan asam amino menjadi hal yang sangat penting. Urutan asam amino menyediakan struktur primer yang biasanya dinyatakan dalam kode satu huruf. Sifat asam amino sangat tergantung pada gugus samping yang dimilikinya. Asam amino dengan gugus samping hidropobik alifatik digunakan untuk meningkatkan sifat hidrofobik peptida, sementara asam amino dengan gugus samping hidrofobik aromatik sering digunakan untuk menghasilkan interaksi phi-phi. Asam amino yang memiliki gugus samping hidrofilik tidak bermuatan digunakan untuk menghasilkan ikatan hidrogen, sementara asam amino dengan gugus samping bermuatan digunakan untuk menghasilkan interaksi muatan-muatan yang dapat membantuk terjadinya *self-assembly* atau bahkan mencegah terjadinya *self-assembly*. Asam amino lainnya seperti glisin digunakan untuk menghasilkan daya fleksibilitas tinggi dibandingkan asam amino lainnya. Sebaliknya dengan menggunakan asam amino prolin akan dihasilkan struktur dengan rigiditas tinggi. Asam amino sistein menawarkan reaktifitas kimia yang khas karena dapat digunakan sebagai target untuk modifikasi

kimia dan *crosslinking* interpeptida. Asam amino sistein dapat digunakan untuk berikatan permukaan nanopartikel emas (AuNP).

2.3. Strategi Fabrikasi Material Menggunakan *Self-assembly* Peptida

Secara umum, terdapat dua strategi penggunaan sistem *self-assembly* peptida untuk fabrikasi suatu material, yaitu sistem *self-assembly* peptida alami dan sistem *self-assembly* peptida non alami (Ulijn & A. M. Smith, 2008). Sistem *self-assembly* peptida alami menggunakan unit konformasi dasar yang secara alami ada pada protein yaitu β sheet, α heliks dan *coiled coil*. Sementara sistem *self-assembly* peptida non alami menggunakan bantuan molekul lain yang terhubung secara kovalen dengan asam amino, seperti rantai alkil, membentuk suatu peptida ampifil, atau suatu gugus aromatik untuk membentuk interaksi π - π diantara gugus aromatik. **Gambar 2.4** memperlihatkan strategi pembentukan berbagai kemungkinan arsitektur peptida dan potensi aplikasi yang dimilikinya.

Struktur β sheet parallel dan anti parallel pertama kali diidentifikasi oleh Pauling dan Corey pada 1950. Zhang pertama kali mendemonstrasikan penggunaan struktur β sheet dalam mendesain *soft material* pada awal 1990-an. Struktur β sheet terdiri dari banyak rantai peptida yang memiliki susunan sedemikian rupa sehingga memungkinkan terjadinya ikatan hidrogen antara gugus amida dan karbonil. Struktur β sheet dapat diarahkan sehingga semua C-terminal berada pada salah satu ujung struktur yang menghasilkan struktur parallel. Jika N-terminal dan C-terminal saling berlawanan arah maka terbentuk struktur antiparalel. Struktur β sheet telah lama diketahui kemampuannya melakukan assembly membentuk struktur fibrous, seperti yang terdapat pada *amyloid disease* yaitu Alzheimer dan Parkinson (Ulijn & A. M. Smith, 2008). Sejumlah struktur hirarki yang berbeda dapat dibentuk dengan menggunakan β -sheet peptida (*tape, ribbon, fibril dan fibre*). Bentuk lain β sheet selain parallel dan anti parallel adalah β -hairpin yang terdiri dari dua urutan β sheet terhubung oleh suatu urutan pembelok sehingga ujung asam amino tidak berinteraksi dengan peptida lainnya.



[Sumber: (Ulijn & A. M. Smith, 2008)]

Gambar 2.4. Berbagai Arsitektur Peptida dan Potensi Aplikasinya

Selain menggunakan β sheet, struktur lain yang digunakan untuk tujuan *self-assembly* adalah α heliks, yang biasa digunakan sebagai komponen *coiled-coil*. Struktur *coiled-coil* terdiri dari setidaknya dua heliks yang berasosiasi untuk menjauhkan permukaan hidrofobiknya.

Strategi fabrikasi material melalui *self-assembly* peptida non alami meliputi dua jenis molekul yaitu, peptida amfifilik dan peptida yang memiliki gugus aromatik. Peptida amfifilik terdiri dari oligopeptida yang termodifikasi oleh suatu rantai alkil hidrofobik sehingga menghasilkan suatu molekul dengan ujung hidrofilik dan ujung hidrofobik, mirip molekul lipid. Dengan melakukan variasi muatan yang digunakan pada bagian peptida atau dengan menempatkan rantai alkil pada N-terminal maupun C-terminal, molekul amfifilik dapat melakukan *self-assembly* pada berbagai kondisi. Salah satu kunci utama *self-assembly* molekul peptida amfifilik adalah pembentukan daerah β -sheet pada bagian inti (*core*) peptida, dekat dengan rantai alkil. Pencegahan terjadinya ikatan hidrogen pada empat asam amino pertama setelah rantai alkil akan

mencegah terjadinya gel yang resisten secara mekanik dan lebih menyukai pembentukan misel (Paramonov, Jun, & Hartgerink, 2006). Desain molekul ampifil secara umum telah dilakukan oleh Kunitake (Kokkoli et al., 2006). **Gambar 2.5** menunjukkan desain molekul ampifil berdasarkan Kunitake.

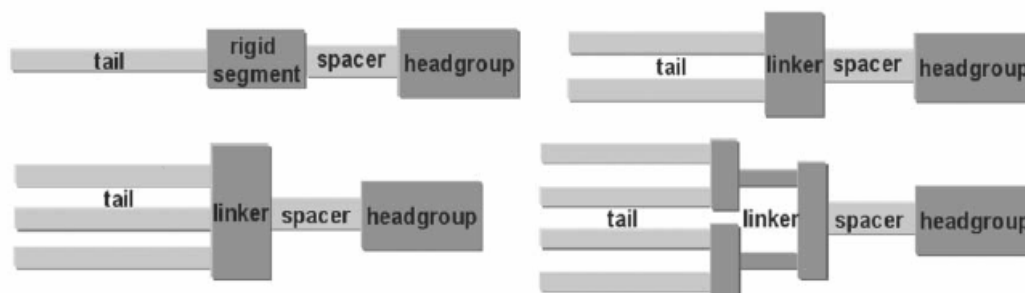
Selain menggunakan rantai alkil, bagian N-terminal peptida juga dapat dimodifikasi dengan gugus aromatik. Penelitian dibidang peptida aromatik berasal dari dua penemuan yang berbeda. Pertama, telah diketahui bahwa urutan inti asam amino pada beberapa peptide amiloid adalah di-fenilalanin, yang dapat melakukan *self-assembly* membentuk peptida nanotube melalui kombinasi ikatan hidrogen dan π - π *stacking* cincin fenil. Kedua, telah dilaporkan bahwa kopling berbagai macam gugus aromatik seperti karbobenziloksi, naftalen, atau 9-fluoroenilmetoksikarbonil (fmoc) pada peptida sederhana dapat membantuk *self-assembly* melalui π - π *stacking* dan menghasilkan gel yang stabil. Morfologi dan dimensi nano struktur yang diperoleh dipengaruhi oleh rute *self-assembly* dan sifat kimiawi molekul pembangun.

2.4. Sistem *self-assembly* Peptida berdasarkan Jenis Molekul Pembangun

Sistem *self-assembly* dengan menggunakan peptida sebagai molekul pembangun dikelompokkan kedalam empat kategori (S. Zhang, 2002), yaitu:

a. Tipe I

Self-assembly peptida tipe I disebut juga *molecular lego*. Tipe ini membentuk membentuk struktur β - *sheet* dalam larutan akua karena memiliki dua jenis permukaan yang berbeda, hidrofilik dan hidropobik. Sifat khas yang dimiliki peptida ini adalah dapat membentuk ikatan ionik yang komplementer dengan pengulangan yang teratur pada permukaan hidrofilik. Sisi ionik komplementer tersebut dibagi menjadi beberapa modulus yaitu modulus I, modulus II, modulus III dan seterusnya. Klasifikasi ini berdasarkan permukaan hidrofilik molekul yang memiliki residu asam amino bermuatan positif dan negatif yang saling bergantian. Modulus I memiliki pola - + - + - + - +, modulus II - - + + - - + +, modulus IV - - - - + + + +.



[Sumber: (Kokkoli et al., 2006)]

Gambar 2.5. Desain molekul ampifil oleh Kunitake

b. Tipe II

Self-assembly peptida tipe II dikembangkan sebagai “*molecular switches*” karena peptida tersebut dapat dengan drastis mengubah strukturnya. Peptida DAR16-IV yang memiliki 16 residu asam amino yang memiliki struktur β sheet pada temperatur ambient, namun dapat mengalami perubahan membentuk α heliks pada temperatur tinggi. Selain perubahan temperatur, perubahan struktur dari β sheet menjadi α heliks juga dapat diinduksi oleh perubahan pH.

c. Tipe III

Tipe III disebut juga *molecular paint* atau *molecular velcro*. Tipe ini lebih cenderung melakukan *self-assembly* pada suatu permukaan dibandingkan membentuk struktur *self-assembly* diantara mereka sendiri. Peptida tipe ini membentuk monolayer pada suatu permukaan untuk pembentukan *pattern cell* yang spesifik atau untuk berinteraksi dengan molekul lain. Peptida jenis ini memiliki tiga bagian yang berbeda. Pertama, bagian terminal yaitu ligan yang menggabungkan berbagai gugus fungsional sehingga mudah dikenali oleh molekul lain atau sel. Kedua, *linker* yang tidak hanya memberikan kebebasan interaksi pada jarak tertentu dari permukaan tetapi juga menyediakan fleksibilitas atau rigiditas. Ketiga, *surface anchor*, yaitu gugus kimia pada peptida yang dapat bereaksi dengan substrat membentuk ikatan kovalen.

d. Tipe IV

Tipe IV merupakan jenis peptida mirip surfaktan (*surfactant-like peptide*), yang dapat mengalami *self-assembly* membentuk nanotubes dan nanovesicles dengan diameter rata-rata 30-50 nm. Peptida jenis ini tersusun dari tujuh hingga delapan

asam amino, memiliki bagian hidrofilik yang terusun dari asam aspartat dan bagian hidrofobik tersusun oleh asam amino alanin, valin atau leusin. Panjang setiap peptida berkisar 2 nm, mirip dengan ukuran posfolipid. Pembentukan *self-assembly* pada struktur peptida tipe IV mirip seperti yang terjadi pada lipid, yaitu pengemasan bagian hidropobik secara rapat. Namun, pada peptida surfaktan interaksi ini diperkuat dengan ikatan hidrogen diantara molekul peptida.

2.5. Sintesis Peptida Fasa Padat

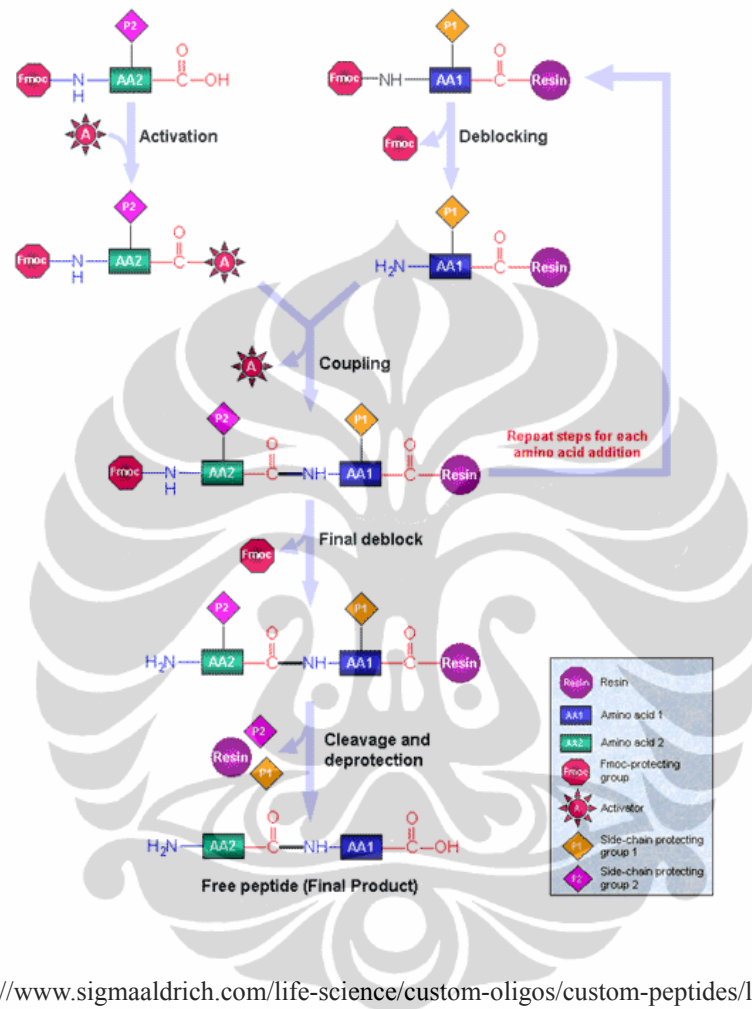
Gagasan untuk melakukan sintesis peptida fasa padat (*Solid Phase Peptide Synthesis*) pertama kali dikemukakan oleh Merrifield pada 1963 (White, Peter D., 2000; Jones, 2002; Doonan, 2002; Benoiton, 2006). Sintesis peptida fasa padat dilakukan berdasarkan penambahan asam amino yang terproteksi gugus amino dan rantai sampingnya secara berurutan pada suatu support polimer yang tidak larut. Gugus yang labil terhadap asam yaitu Boc dan gugus yang labil terhadap basa, Fmoc digunakan sebagai gugus pelindung. Setelah gugus pelindung ini dihilangkan, asam amino terproteksi berikutnya ditambahkan ke dalam reaksi dengan menggunakan suatu reagen pengaktif (*kopling reagent*). Peptida yang dihasilkan terikat dengan resin melalui suatu linker, melalui C-terminal asam amino dan dapat dipisahkan untuk menghasilkan suatu peptida asam atau peptida amida, tergantung pada jenis linker yang digunakan. **Gambar 2.6** memperlihatkan skema umum proses sintesis peptida fasa padat.

Pada sintesis peptida fasa padat, gugus pelindung rantai samping peptida dipilih sedemikian rupa sehingga saat deproteksi gugus samping dilakukan, peptida juga akan terlepas dari resin.

2.5.1. Gugus Pelindung α -Amina

Kemajuan paling penting dalam bidang sintesis peptida dilakukan oleh Bergmann dan Zervas pada 1932. Mereka memperkenalkan benziloksikarbonil sebagai gugus pelindung pada amina, sering disingkat sebagai Cbz atau notasi satu huruf, Z (berasal dari nama Zervas). Asam amino yang dilindungi dalam bentuk benzoiloksikarbonil merupakan suatu ester karbamat yang memiliki atom nitrogen yang tidak bersifat nukleofilik dan tidak reaktif dalam pembentukan ikatan peptida.

Hal yang terpenting lainnya adalah gugus pelindung ini mudah dideproteksi dengan HF cair, namun tidak mempengaruhi ikatan peptida yang ada dalam struktur.

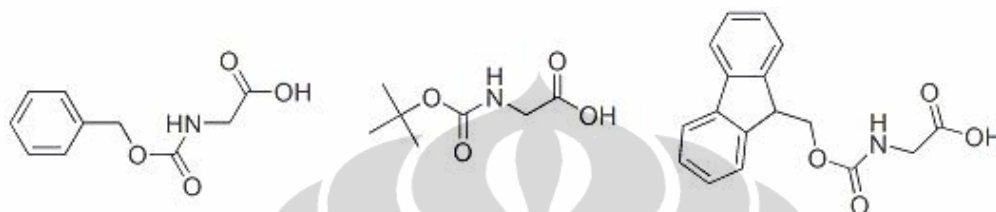


[Sumber: (“<http://www.sigmaaldrich.com/life-science/custom-oligos/custom-peptides/learning-center/solid-phase-synthesis.html>,” n.d.)]

Gambar 2.6. Skema Solid Phase Peptide Synthesis

Gugus pelindung lain yang sering digunakan sebagai gugus pelindung amina adalah t-butiloksikarbonil (t-Boc). Gugus ini mudah dideproteksi dengan menggunakan asam trifluoroasetat (TFA), suatu kondisi yang lebih lembut dibandingkan dengan kondisi deproteksi Cbz. Ketersediaan dua gugus pelindung ini memberikan kemudahan strategi sintesis peptida yang mengandung lisin. Gugus α -amino dapat diproteksi dengan t-Boc, sementara amino rantai samping diproteksi dengan Cbz. Selama sintesis, α -amino dapat dideproteksi dengan TFA, tanpa mempengaruhi rantai samping yang diproteksi Cbz.

Selain Cbz dan t-Boc, gugus pelindung amina lainnya yang sering digunakan adalah 9-florenilmetoksikarbonil (Fmoc), yang diperkenalkan oleh Carpino. Dibandingkan dua gugus pelindung sebelumnya yang labil terhadap asam, Fmoc bersifat labil terhadap basa. Gugus pelindung Fmoc dihilangkan dengan piperidin (20% dalam DMF). **Gambar 2.7** memperlihatkan struktur asam amino yang diproteksi oleh gugus Cbz, t-Boc dan Fmoc.



[Sumber: Penulis]

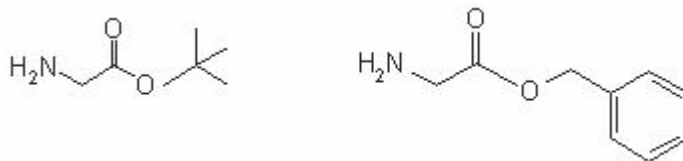
Gambar 2.7 Struktur Cbz-glisin (kiri), t-Boc-glisin (tengah) dan Fmoc-glisin (kanan)

2.5.2. Gugus pelindung Karboksil

Proteksi terhadap gugus karboksil biasanya dilakukan dengan mengubah gugus karboksil menjadi ester. Ester ini harus bersifat non reaktif dalam proses pembentukan ikatan peptida tetapi mudah dihilangkan selama proses pemanjangan rantai peptida atau pembentukan produk akhir yang terdeproteksi. Terdapat dua jenis turunan ester yang sering digunakan sebagai gugus pelindung, yaitu benzil ester dan t-butyl ester. Gugus benzil dapat dihilangkan dengan HF, sementara t-butyl dihilangkan dengan asam trifloroasetat (TFA). **Gambar 2.8** memperlihatkan struktur benzil ester dan t-butyl ester dari glisin.

2.5.3. Metode kopling: Pembentukan Ikatan Peptida

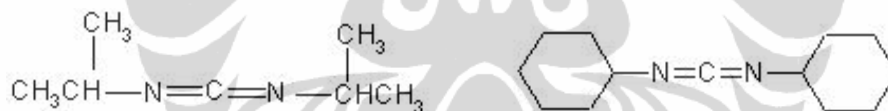
Metode pembentukan ikatan amida melibatkan pengaktifan gugus karboksilat asam amino. Langkah ini biasanya ditempuh dengan melibatkan aktivasi *in situ* gugus karboksil. Sejumlah metode aktivasi gugus karboksil telah dikembangkan, diantaranya dengan menggunakan reagen karbodiimida dan reagen posfonium.



[Sumber: Penulis]

Gambar 2.8 Struktur t-butyl ester (kiri) dan benzil ester dari glisin (kanan)

Reagen karbodiimida yang sering digunakan adalah DIC (1,3-diisopropilkarbodiimida) dan DCC (1,3-disikloheksilkarbodiimida). Struktur kedua senyawa ini terdapat pada **Gambar 2.9**. Asam amino yang terproteksi gugus Fmoc, bereaksi dengan 0,5 ekivalen DIC/DCC menghasilkan anhidrida simetris. Sementara itu reagen Posfonium bereaksi dengan asam amino yang terproteksi gugus Fmoc menghasilkan ester benzotriazol. Jenis reagen posfonium yang dapat digunakan adalah PyBOP, TBTU, HBTU, dan HATU. **Gambar 2.10** memperlihatkan struktur berbagai reagen posfonium.



[Sumber: Penulis]

Gambar 2.9. Struktur DIC (kiri) dan DCC (kanan)



[Sumber: Penulis]

Gambar 2.10. Struktur reagen posfonium



BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1. Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilakukan mulai Januari hingga Mei 2010. Sintesis dan karakterisasi dilakukan di *Nanochemistrylab 1, School of Materials Science and Engineering (MSE), NTU*.

3.2. Desain Penelitian

Penelitian terdiri dari dua tahap utama yaitu sintesis peptida ampifil dan studi *self-assembly*. Sintesis peptida ampifil dilakukan dengan metode sintesis peptida fasa padat (*solid phase peptide synthesis*). Karakterisasi produk sintesis dilakukan dengan *Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometer* (MALDI-Tof MS), dan *Fourier transform infra red* (FTIR), sementara itu karakterisasi *self-assembly* dilakukan dengan *Atomic force microscopy* (AFM).

Lampiran 1 memperlihatkan skema penelitian.

3.3. Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan dalam sintesis peptida ampifil adalah N- α -Fmoc-glisin (Fmoc-gly-OH), N- α -Fmoc-L-valin (Fmoc-Val-OH), N- α -Fmoc-L-prolin (Fmoc-Pro-OH), N- α -Fmoc-L-fenilalanin (Fmoc-Phe-OH), N- α -Fmoc-L-asam asparat α -t-butyl ester (Fmoc-Asp-OtBu), Fmoc-Asp(OtBu)-Wang resin (resin loading 0,7mmol/gram), Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-Wang resin (resin loading 0,7mmol/gram), N,N-Diisopropiletilamin (DIPEA), O-Benzotriazol-N,N,N',N'-tetrametil-uronium-heksafloro-posfat (HBTU), piperidin, asam trifloroasetat (TFA), Triisopropilsilan (TIS), N-Metil-2-pirolidon (NMP), Diklorometana (DCM), asam oktanoat, asam dodekanoat, asam palmitat, wafer Si dan NaOH. Semua asam amino dilarutkan dalam NMP dengan konsentrasi 0,2 molar. Larutan pengaktif HBTU dibuat dengan konsentrasi 0,4 molar dalam NMP.

3.4. Sintesis Peptida Ampifil

Sintesis peptida ampifil dilakukan dalam skala 200 μ mol. Terdapat 7 peptida ampifil yang disintesa, yaitu C16-GGGGDD-COOH (PA1), C12-GGGGDD-COOH (PA2), C8-GGGGDD-COOH (PA3), C16-VVVVDD-COOH (PA4), C16-FFFFDD-COOH (PA5), C16-PPPPDD-COOH (PA6) dan C16-GGGGKK-COOH. Peptida ampifil 1 sampai dengan 6 disintesa dengan menggunakan Fmoc-Asp(OtBu)-Wang resin sebagai material awal, sementara peptida ampifil 7 menggunakan Fmoc-Lys(Boc)-Wang resin.

Secara umum prosedur sintesis peptida ampifilik meliputi beberapa tahap yaitu, preparasi resin, deproteksi gugus Fmoc, kopling asam amino, *capping* dengan rantai asam lemak, dan reaksi pemutusan dari resin (*cleavage*).

3.4.1. Preparasi Resin

Sejumlah 0,285 gram Fmoc-Asp(OtBu)-Wang resin dimasukkan kedalam reaktor sintesis (*Disposable PP reaction vessels (syringe with a frit)*). Sejumlah 3 mL NMP ditambahkan dalam reaktor kemudian dikocok selama 2 jam. Semua sintesis peptida ampifil menggunakan Fmoc-Asp(OtBu)-Wang resin kecuali peptida ampifil 7 menggunakan Fmoc-Lys(Boc)-Wang resin.

3.4.2. Deproteksi Gugus Fmoc

Sebanyak 4 mL larutan deproteksi ditambahkan ke dalam reaktor sintesis dan dikocok selama 5 menit. Semua larutan kemudian dibuang dari reaktor dan resin dicuci dengan 2 x 3 mL NMP.

3.4.3. Kopling Asam Amino

Sebanyak 4 mL Fmoc-asam amino 0,2M; 2mL DIPEA 1,6M dan 2 mL dimasukkan kedalam reaktor sintesis kemudian dikocok selama 30 menit. Setelah reaksi berlangsung semua larutan dikeluarkan dari reaktor dan hanya menyisakan resin. Resin kemudian dicuci dengan 2 x 3 ml NMP. Reaksi diulangi dengan menambahkan 4 mL Fmoc-asam amino 0,2 M; 2 mL DIPEA 1,6M dan 2 mL HBTU 0,4 M kedalam reaktor sintesis diikuti dengan pengocokan selama 30 menit dan pencucian resin dengan 2 x 3 ml NMP. Reaksi dilanjutkan dengan deproteksi gugus fmoc dan kopling asam amino berikutnya hingga urutan asam amino yang diinginkan tercapai.

3.4.4. Capping

Sebanyak 4 mL asam palmitat 0,2M; 2 mL DIPEA 1,6 M dan 2 mL HBTU 0,4 M ditambahkan ke dalam reaktor sintesis kemudian dikocok selama 30 menit. Setelah reaksi berlangsung semua larutan dikeluarkan dari reaktor. Resin kemudian dicuci dengan 2 x 3 mL NMP. Reaksi diulangi sekali lagi. Setelah resin dicuci dengan NMP, resin dicuci dengan DCM dan dikeringkan dalam *freeze drier*.

3.4.5. Reaksi pemisahan asam amino dari resin (*cleavage*)

Resin yang sudah sudah direaksikan dipindahkan ke dalam tabung sentrifugasi. Sebanyak 5 mL larutan pemisah (komposisi larutan pemisahan asam amino dari resin adalah adalah TFA: air: TIS = 96 : 2 : 2 (%v)) ditambahkan ke dalam tabung sentrifugasi dan dikocok selama 2 jam. Campuran disaring dan filtrat dikumpulkan kemudian kedalamnya ditambahkan 10 mL eter dingin. Filtrat kemudian disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 2000 putaran per menit. Endapan yang diperoleh dipisahkan dari cairan di atasnya dan kedalamnya

ditambahkan air sebanyak 15mL dan disimpan pada suhu -20°C . Kristal yang diperoleh kemudian diliofilisasi selama 2 hari. Sampel peptida ampifil kemudian dikarakterisasi dengan MALDI-Tof MS dan FTIR.

3.5. *Self-assembly* Peptida Ampifil

Larutan stok peptida ampifil dibuat dengan melarutkan 1 mg peptida ampifil dalam 500 μL air, penambahan beberapa μL NaOH 0,1 M dilakukan sehingga peptida larut sempurna. Sebanyak 50 μL alikuot diencerkan dengan penambahan air hingga volume 1 mL. Sebanyak 1 μL larutan ini diteteskan di atas permukaan wafer Si (1 cm x 1 cm) yang sebelumnya telah dibersihkan dengan plasma dan tetesan dibiarkan mengering. Tofografi wafer Si kemudian diamati dengan menggunakan *atomic force microscopy* (AFM).

3.6. Penentuan *Minimum Gelation Concentration* (MGC)

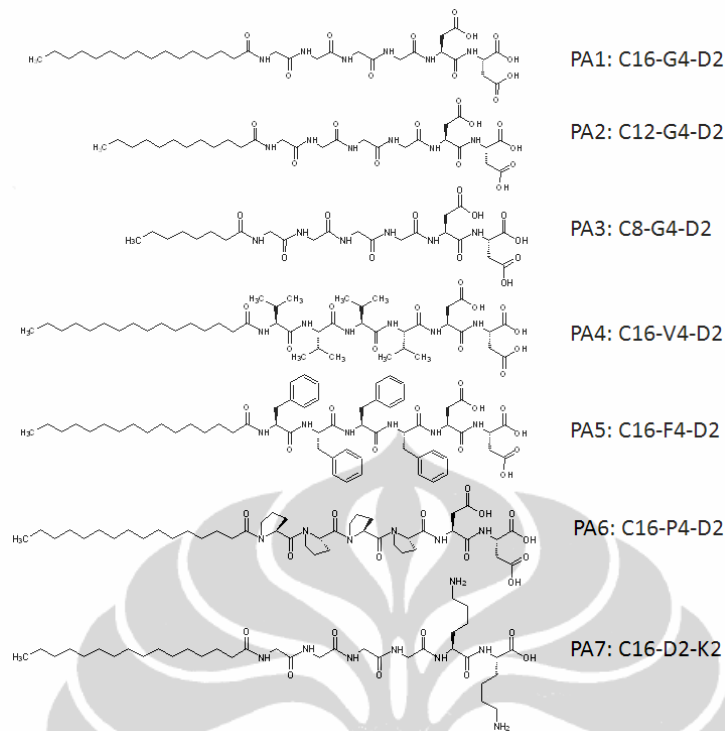
Sejumlah tertentu (mg) peptida ampifil didispersikan dalam 200 μL air dalam vial bervolume 2 mL sehingga menghasilkan konsentrasi 0,2; 0,4; 0,6 dan 0,8% (w(mg)/v(mL)). Campuran dipanaskan dengan *gun heater* dan kemudian didinginkan mencapai suhu ruang. Pembentukan gel dilakukan dengan membalikkan vial. Vial yang menghasilkan gel kemudian ditambahkan air sebanyak 50 μL kemudian diikuti pemanasan dan proses pendinginan. Penambahan 50 μL air dilanjutkan hingga dihasilkan cairan kental (*viscous*).



BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Sintesis Peptida Ampifil

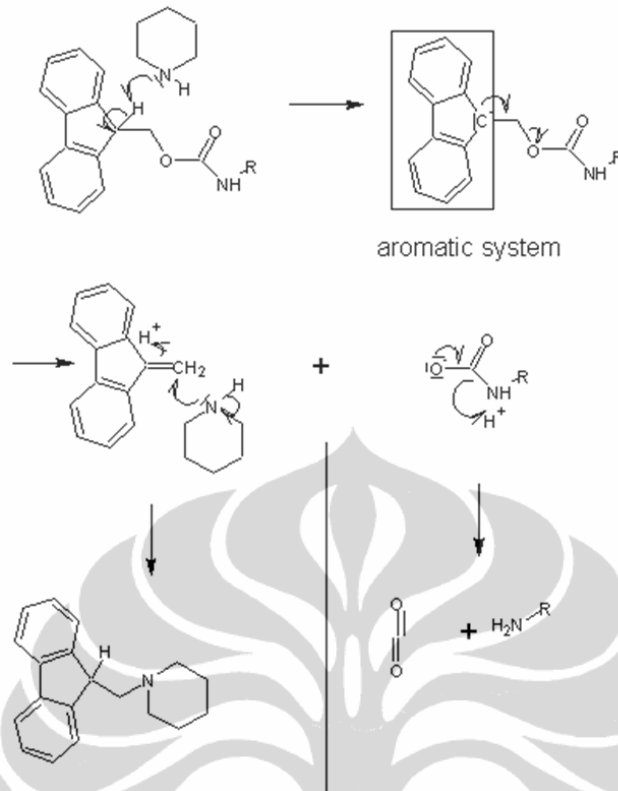
Sintesis fasa padat peptida ampifil terdiri dari dua tahap, yang dilakukan secara berulang setiap penambahan satu residu asam amino, yaitu deproteksi dan kopling. Peptida ampifilik 1 (PA1, C16-GGGGDD-COOH) sampai peptida ampifil 6 (PA6, C16-PPPPDD-COOH) disintesis dengan menggunakan *support* padat Fmoc-Asp(OtBu)-Wang resin dengan loading 0,7 mmol per gram. Artinya, setiap gram *support* padat (resin) mengikat 0,7 mmol Fmoc-Asp(OtBu)-OH, sehingga untuk sintesis skala 200 μmol , jumlah resin yang diperlukan adalah 200/700 gram (1 mmol = 1000 μmol). Sementara itu, sintesis peptida ampifil 7 (PA7, C16-GGGGKK-COOH) menggunakan *support* padat (resin) Fmoc-Lys(Boc)-Wang resin. Struktur peptida ampifil 1 hingga peptida ampifil 7 ditunjukkan pada **Gambar 4.1**.



[Sumber: Penulis]

Gambar 4.1. Struktur Peptida Ampifil

Sebelum sintesis dimulai, sejumlah 3 mL NMP ditambahkan kedalam reaktor reaksi yang telah diisi dengan resin dengan tujuan mengembangkan resin (*resin swelling*), melalui difusi pelarut (NMP) kedalam struktur resin yang terbuat dari polimer. Proses *swelling* resin berlangsung dengan bantuan pengocokan selama 2 jam. Sebelum direaksikan dengan asam amino (reaksi kopleng), deproteksi gugus fmoc dilakukan pada Fmoc-Asp(OtBu)-Wang Resin dengan menggunakan basa piperidin sehingga menghasilkan gugus amina bebas. Gugus amina yang dihasilkan kemudian akan bereaksi dengan asam amino yang teraktifasi melalui proses kopleng. Mekanisme reaksi deproteksi gugus fmoc dari suatu asam amino ditunjukkan pada **Gambar 4.2**. Proses deproteksi gugus fmoc pada Fmoc-Asp(OtBu)-Wang Resin, tidak mempengaruhi gugus pelindung OtBu pada rantai samping asam aspartat, karena gugus ini hanya sensitif terhadap asam.



[Sumber: ("http://en.wikipedia.org/wiki/Peptide_synthesis," n.d.)]

Gambar 4.2. Mekanisme reaksi deproteksi gugus Fmoc

Reaksi kopling pertama pada PA1 dilakukan dengan mereaksikan Fmoc-Asp(OtBu)-OH dengan resin yang sudah mengalami deproteksi gugus Fmoc. Gugus karboksilat Fmoc-Asp(OtBu)-OH diaktivasi dengan senyawa pengaktif gugus karboksilat, HBTU. Skema reaksi reaksi kopling ditunjukkan pada **Gambar 4.3**. Reaksi dilakukan dalam suasana basa, dengan penambahan DIPEA kedalam campuran reaksi. Semua reaksi kopling pertama pada sintesis peptida yang menggunakan support padat Fmoc-Asp(OtBu)-Wang resin adalah dengan menggunakan Fmoc-Asp(OtBu)-OH. Reaksi kopling pertama menghasilkan dua asam aspartat yang terikat pada wang resin. Sebelum direaksikan dengan asam amino selanjutnya, deproteksi gugus fmoc kembali dilakukan sehingga menghasilkan gugus amina bebas.



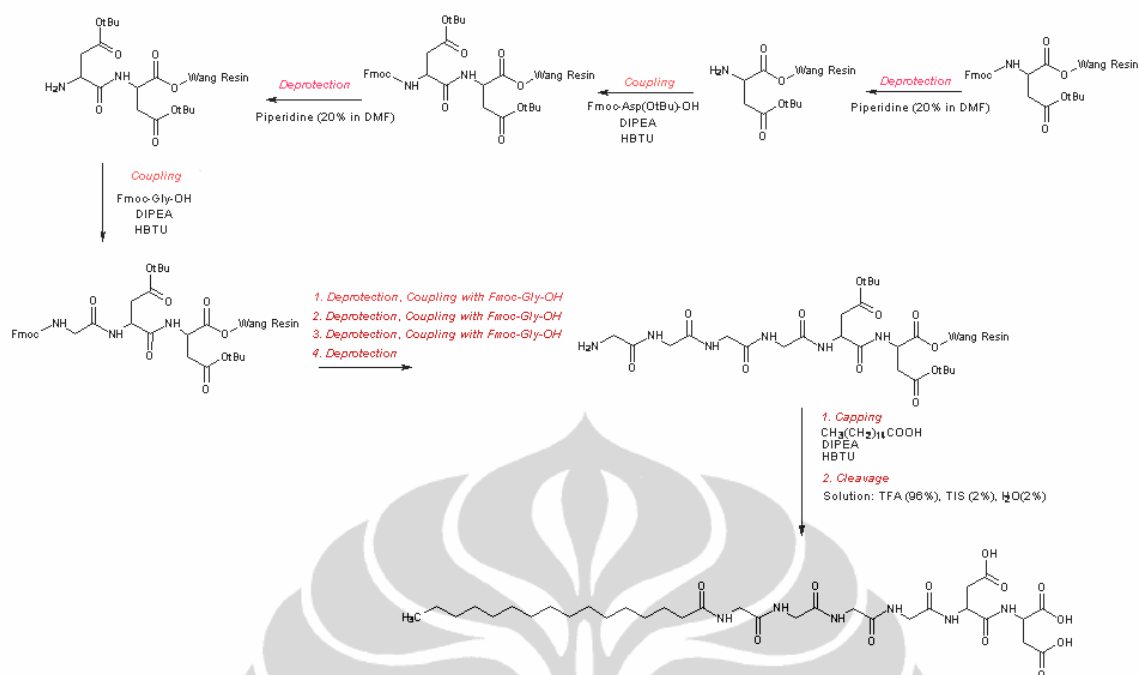
[Sumber: Penulis]

Gambar 4.3. Skema reaksi kopling

Reaksi kopling kedua hingga kelima pada peptida ampifil 1, peptida ampifil 2 dan peptida ampifil 3 dilakukan dengan mereaksikan asam amino glisin (Fmoc-Gly-OH). Sementara pada sintesis peptida ampifil 4, residu glisin diganti dengan valin (Fmoc-Val-OH), peptida ampifil 5 menggunakan asam amino fenilalanin (Fmoc-Phe-OH), dan peptida ampifil 6 menggunakan asam amino prolin (Fmoc-Pro-OH).

Gambar 4.4 memperlihatkan skema reaksi sintesis peptida ampifil 1.

Berdasarkan **Gambar 4.4**, molekul terakhir yang direaksikan dengan peptida adalah asam palmitat (PA1, PA4 s.d PA7). Reaksi ini disebut sebagai reaksi *capping*. Reaksi *capping* pada PA2 dan PA3 berturut-turut dilakukan dengan mereaksikan molekul asam dodekanoat dan oktanoat pada molekul peptida. Peptida ampifil dilepaskan dari resin melalui reaksi pemisahan (*cleavage*). Proses pemisahan dilakukan dengan mereaksikan resin yang mengikat peptida ampifil dengan asam trifluoroasetat 94%. Selama proses pemisahan, spesi kationik yang sangat reaktif dihasilkan dari gugus pelindung rantai samping atau dari *linker* resin. Spesi ini dapat bereaksi dengan asam amino yang mengandung gugus fungsional kaya elektron seperti tirosin, triptofan, sistein, dan metionin. Karena alasan inilah dalam larutan pemisah ditambahkan berbagai senyawa yang bersifat nukleofilik. Senyawa yang sering digunakan adalah air atau 1,2-etanaditiol (EDT). Setelah reaksi pemisahan asam amino dari resin selesai dilakukan, peptida biasanya diendapkan dengan penambahan dietil eter dingin. Produk peptida ampifil yang diperoleh dilakukan karakterisasi dengan menggunakan MALDI-Tof MS (matriks CHCA) dan FTIR (KBr pellet).



[Sumber: Penulis]

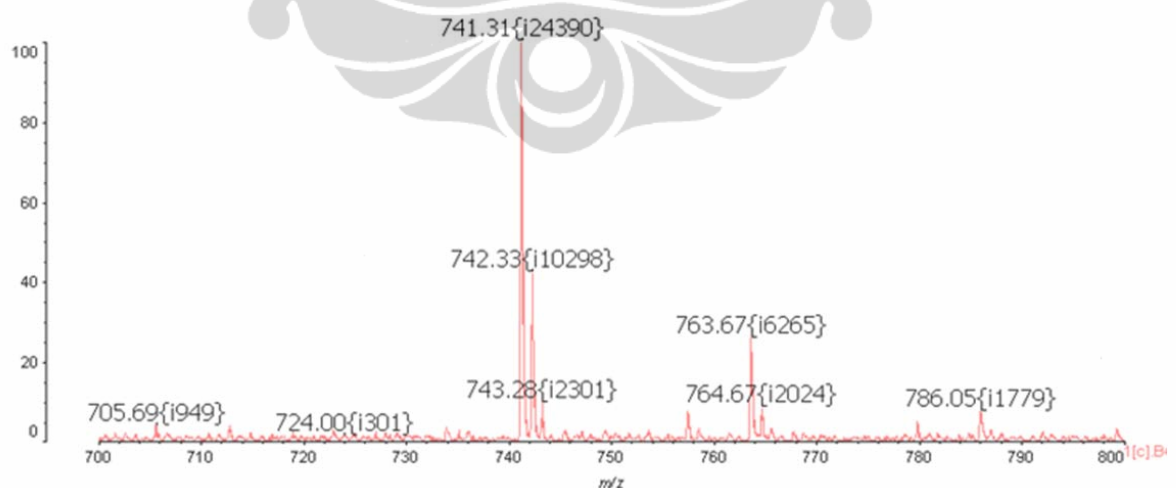
Gambar 4.4. Skema reaksi sintesis peptida ampifil 1.

4.2. MALDI-Tof MS

MALDI-Tof MS merupakan alat yang sangat berguna dalam bidang kimia peptida, terutama karena keunggulannya dalam kecepatan preparasi dan analisis, sensitifitas tinggi dan toleransinya terhadap sampel heterogen (Siuzdak, 1996). Spektra MALDI-Tof MS peptida ampifil direkam dari larutan peptida ampifil 1% (w/v) pada pH=8. pH larutan diatur dengan penambahan NaOH 0,1M. Sampel peptide ampifil ditetaskan pada pelat sampel MALDI-Tof MS bersama dengan suatu larutan matriks CHCA dan dibiarkan mengering (mengkristal). Penggunaan matriks pada MALDI-Tof MS merupakan inti dari prinsip MALDI-Tof (Hillenkamp, 2007). Matriks merupakan molekul organik yang mengabsorb laser dan berada dalam konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan molekul analit.

Gambar 4.5 merupakan spektrum MALDI-Tof MS peptida ampifil 1. Peptida ampifil 1 memiliki nilai $m/z = 714,80$. Puncak-puncak pada 741,31; 763,67 dan 786,05 secara berturut-turut merupakan puncak yang bersesuaian dengan $[M+\text{Na}]^+$, $[M-\text{H}+2\text{Na}]^+$ dan $[M-2\text{H}+3\text{Na}]^+$. Peptida ampifil memiliki gugus karboksilat yang mudah mengalami ionisasi dan selanjutnya bereaksi dengan ion Na^+

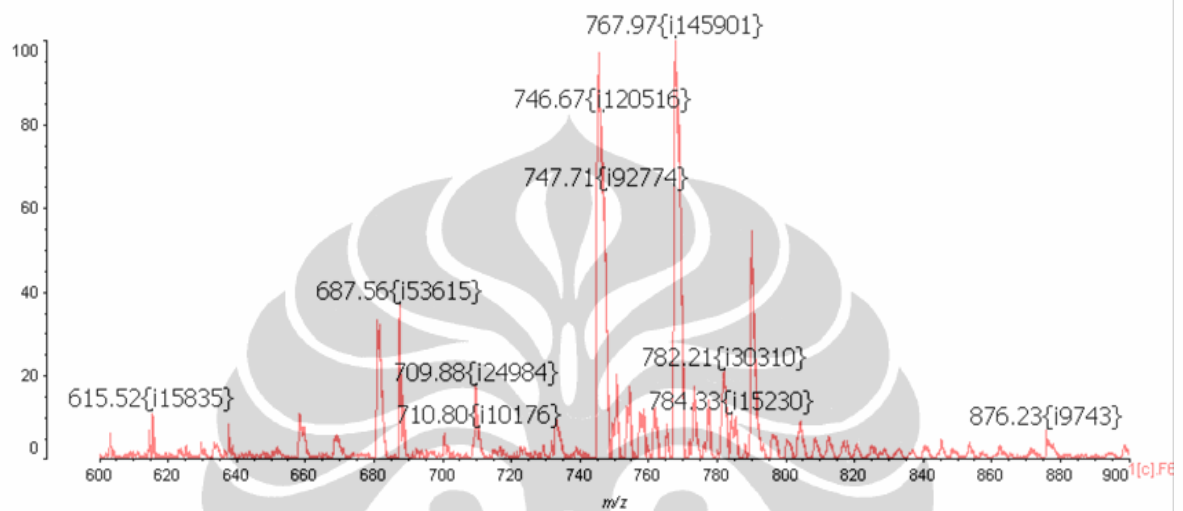
yang terdapat dalam larutan membentuk garam. Penggantian satu ion H^+ akan menghasilkan suatu anion bermuatan minus satu (-) dan bereaksi dengan satu ion Na^+ menghasilkan spesi netral. Spesi netral ini kemudian mengalami protonasi oleh proton yang berasal dari matriks menghasilkan ion bermuatan +. Jadi, puncak $[M+Na]^+$ sebenarnya berasal dari $[M-H+Na+H]^+$. Proses yang serupa juga terjadi apabila terdapat penggantian dua proton oleh dua ion Na^+ dan selanjutnya mengalami protonasi oleh proton dari matriks. Sehingga puncak $[M-H+2Na]^+$ sebenarnya berasal dari $[M-2H+Na+H]^+$. Karena peptida ampifil 1 memiliki tiga gugus karboksilat, maka terdapat tiga proton yang dapat tergantikan oleh ion Na^+ . Puncak $[M-2H+3Na]^+$ sebenarnya berasal dari $[M-3H+3Na+H]^+$. Ketiga puncak tersebut bukan merupakan puncak tunggal namun mengalami pemisahan membentuk suatu puncak multiplet sebagai akibat adanya distribusi isotop. Dalam struktur peptida terdapat atom-atom yang berada dalam isotop. Sebagai contoh, puncak 741,31 memiliki merupakan multiplet dari puncak 742,33 dan 743,28. Peptida ampifil 2 hingga peptida ampifil 6 memiliki tiga gugus karboksilat yang dapat mengalami ionisasi dan digantikan oleh ion Na^+ , sehingga pada umumnya akan memiliki spektra MALDI-Tof MS yang mirip dengan peptida ampifil 1. **Lampiran 2** hingga **Lampiran 8** memperlihatkan spektrum MALDI-Tof MS peptida ampifil 1 hingga peptida ampifil 7.



[Sumber: Penulis]

Gambar 4.5. Spektrum MALDI-Tof MS Peptida Ampifil 1

Gambar 4.6 memperlihatkan spektrum MALDI-Tof MS peptida ampifil 7. Struktur peptida ampifil 7 hanya memiliki 1 gugus karboksilat sehingga hanya terjadi satu kali pergantian ion H^+ oleh ion Na^+ . Puncak pada m/z 747,67; 767,97; dan 782,21 secara berturut-turut merupakan puncak yang berasal dari $[M+H]^+$, $[M+Na]^+$, $[M+K]^+$.



[Sumber: Penulis]

Gambar 4.6. Spektrum MALDI-Tof MS Peptida Ampifil 7

4.3. FTIR

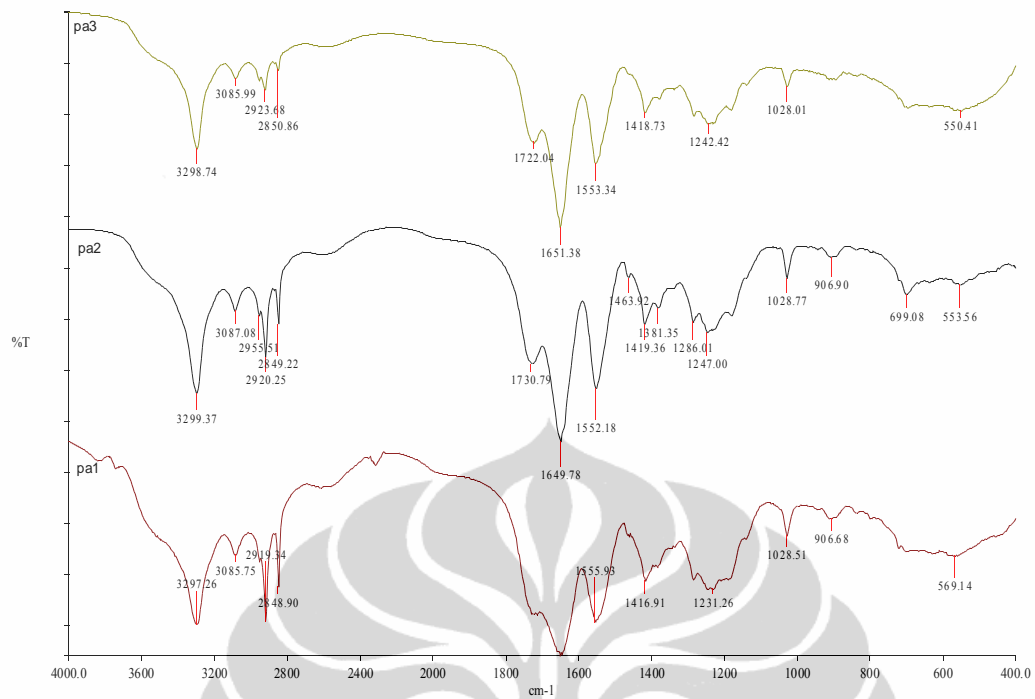
Spektra FTIR peptida ampifil 1, 2 dan 3 ditunjukkan pada **Gambar 4.7**. Peptida ampifil 1 memiliki pita amida I dan amida II berturut-turut pada $1650,86\text{ cm}^{-1}$ dan $1555,98\text{ cm}^{-1}$. Sementara itu pita amida I dan amida II pada peptida ampifil 2 berada pada $1649,78\text{ cm}^{-1}$ dan $1552,18\text{ cm}^{-1}$. Peptida ampifil 3 memiliki pita amida I dan amida II pada $1651,38\text{ cm}^{-1}$ dan $1553,34\text{ cm}^{-1}$. Serapan pada pita amida I berasal dari vibrasi ulur (*stretching*) ikatan $C=O$ pada gugus amida, sedangkan serapan pada pita amida II berasal dari vibrasi tekukan (*bending*) ikatan $N-H$ (**Gambar 4.8**). Secara umum, ketiga peptida ampifil memiliki pola spektra FTIR yang mirip, karena secara struktural gugus fungsi yang terdapat pada ketiga peptida ampifil tersebut sama dan hanya berbeda dalam hal panjang rantai alkil. Puncak

serapan pada daerah sekitar 1720-1740 cm^{-1} merupakan puncak khas vibrasi C=O yang berasal dari gugus karboksilat. Struktur peptide ampifil memiliki dua macam gugu karbonil yaitu karbonil pada karboksilat dan karbonil pada amida.

Selain pita serapan amida I dan amida II, puncak yang khas yang terdapat pada peptide adalah pita amida A. Pita amida A peptide ampifil 1, 2 dan 3 berturut-turut adalah 3297,26 cm^{-1} ; 3299,37 cm^{-1} ; 3298,74 cm^{-1} . Serapan pada 2970-2950 cm^{-1} /2880-2860 cm^{-1} berasal dari vibrasi ulur metil ($-\text{CH}_3$) C-H (simetri/antisimetri). Serapan pada 2935-2915 cm^{-1} /2865-2845 cm^{-1} berasal dari vibrasi ulur metilen ($-\text{CH}_2-$) C-H (simetri/antisimetri). Serapan pada 1470-1430 cm^{-1} /1380-1370 cm^{-1} berasal dari vibrasi tekuk metil C-H (simetri dan antisimetri). Serapan pada 1485-1445 cm^{-1} berasal dari vibrasi tekuk metilen.

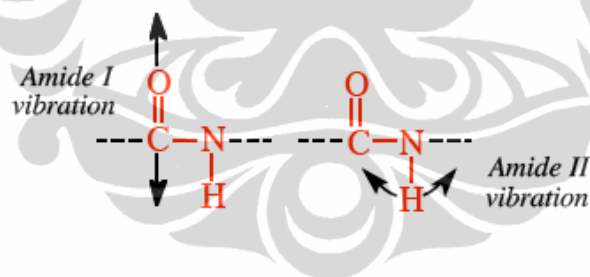
Gambar 4.9 menunjukkan spektra FTIR peptide ampifil 1 dan peptide ampifil 4. Secara struktural perbedaan antara peptide ampifil 1 dan peptide ampifil 4 hanya pada gugus samping asam amino. Pergantian residu glisin dengan residu valin memberikan serapan yang lebih nyata pada daerah serapan metil dan metilen.

Gambar 4.10 memperlihatkan perbedaan spektra FTIR peptide ampifil 1 dan peptide ampifil 5. Peptide ampifil 5 memiliki residu fenilalanin sehingga akan muncul puncak-puncak khas gugus aromatik. Puncak serapan pada daerah 743,62 cm^{-1} dan 697,43 cm^{-1} berasal dari gugus fenil (aromatik monosubstitusi). Vibrasi ulur C-H aromatik muncul pada daerah 3064 cm^{-1} dan 3030 cm^{-1} .



[Sumber: Penulis]

Gambar 4.7. Spektre FTIR Peptida Ampifil 1, 2 dan 3.

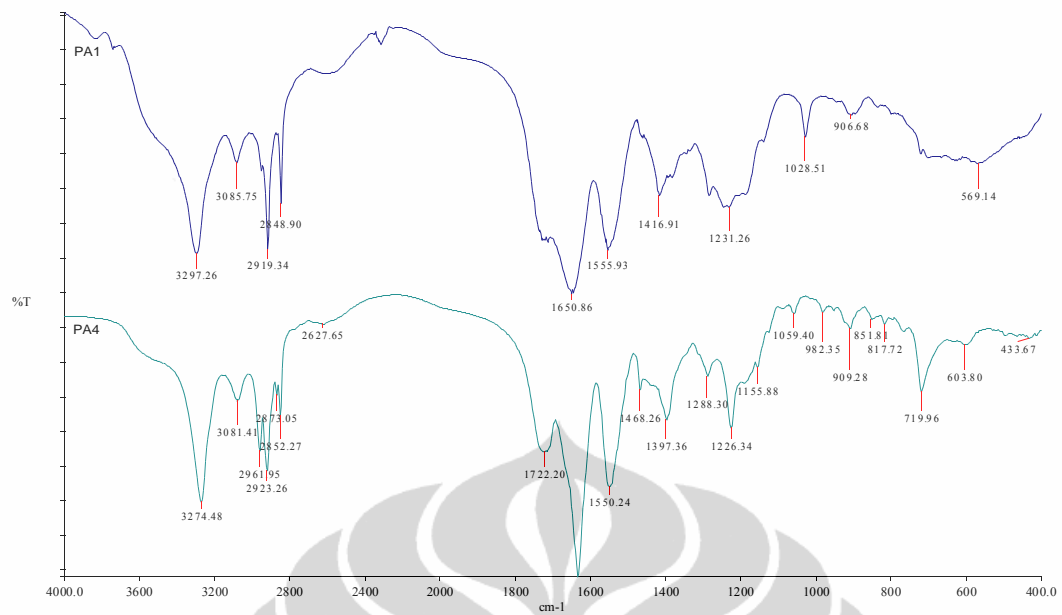


[Sumber: Gallagher]

Keterangan: Kiri: vibrasi uluran C=O yang menghasilkan pita amida I

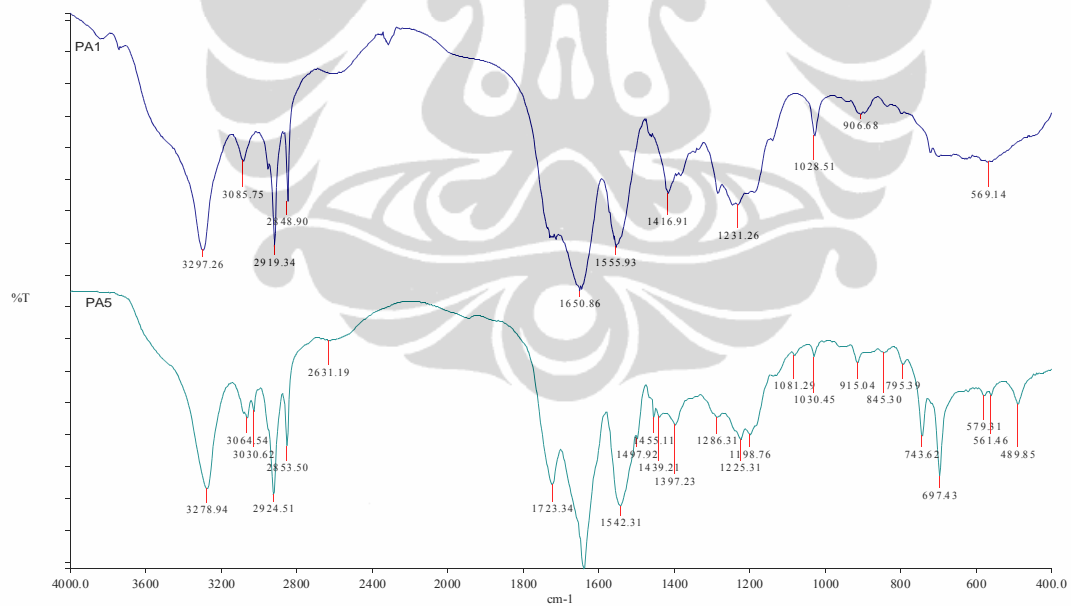
Kanan: vibrasi tekukan N-H yang menghasilkan pita amida II

Gambar 4.8. Vibrasi amida I dan amida II



[Sumber: Penulis]

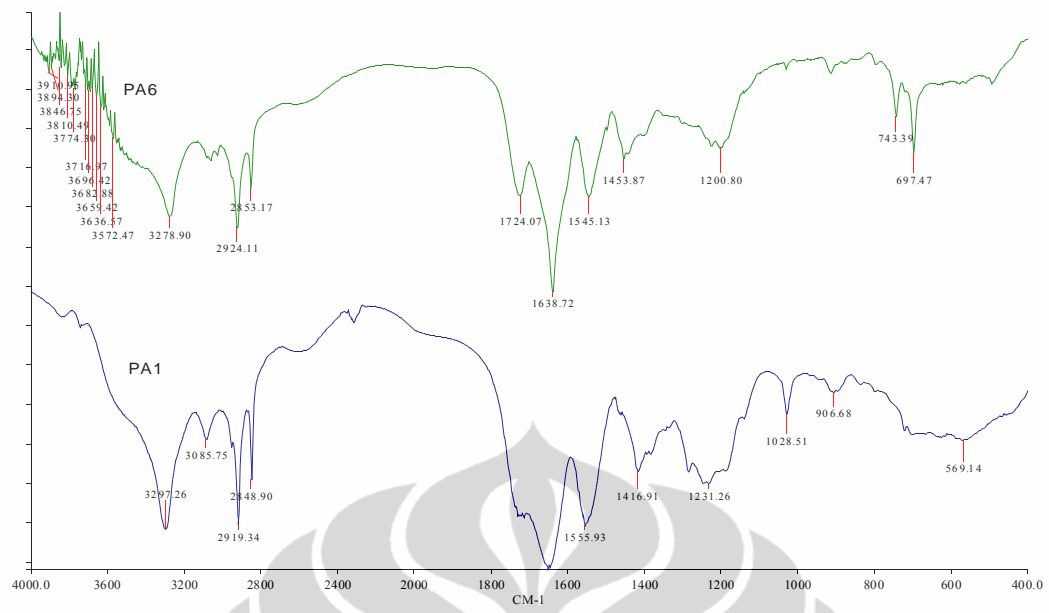
Gambar 4.9. Spektra FTIR Peptida Ampifil 1 dan 4.



[Sumber: Penulis]

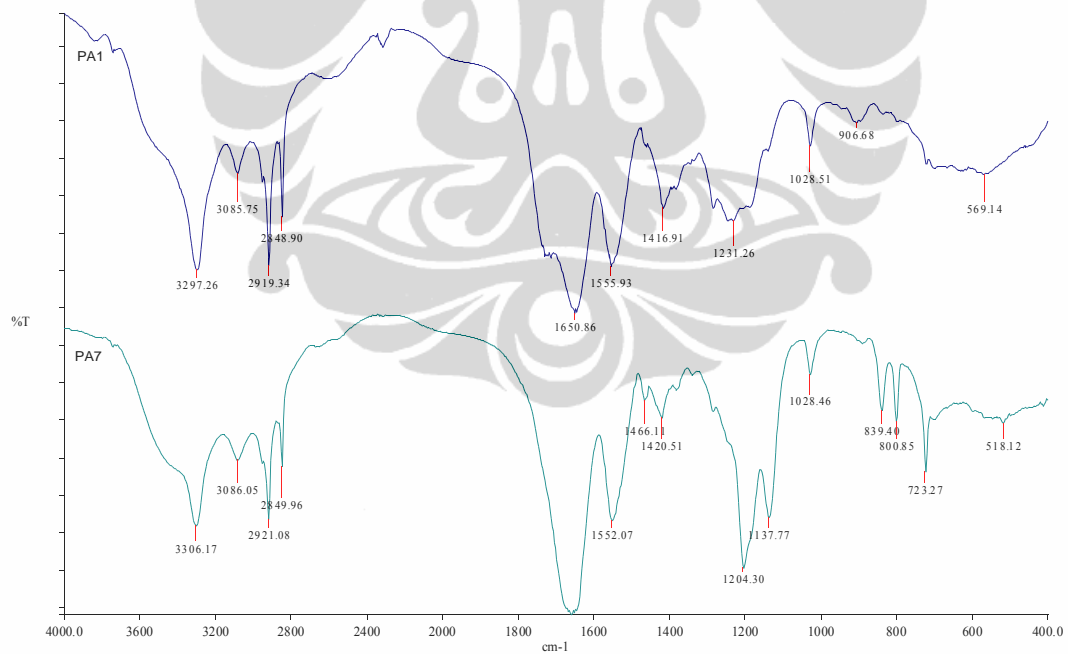
Gambar 4.10. Spektra FTIR Peptida Ampifil 1 dan 5

Spektra FTIR peptida ampifil 6 dan peptida ampifil 7 ditunjukkan secara berturut-turut pada **Gambar 4.11** dan **Gambar 4.12**.



[Sumber: Penulis]

Gambar 4.11. Spektra FTIR Peptida Ampifil 1 dan Peptida Ampifil 6



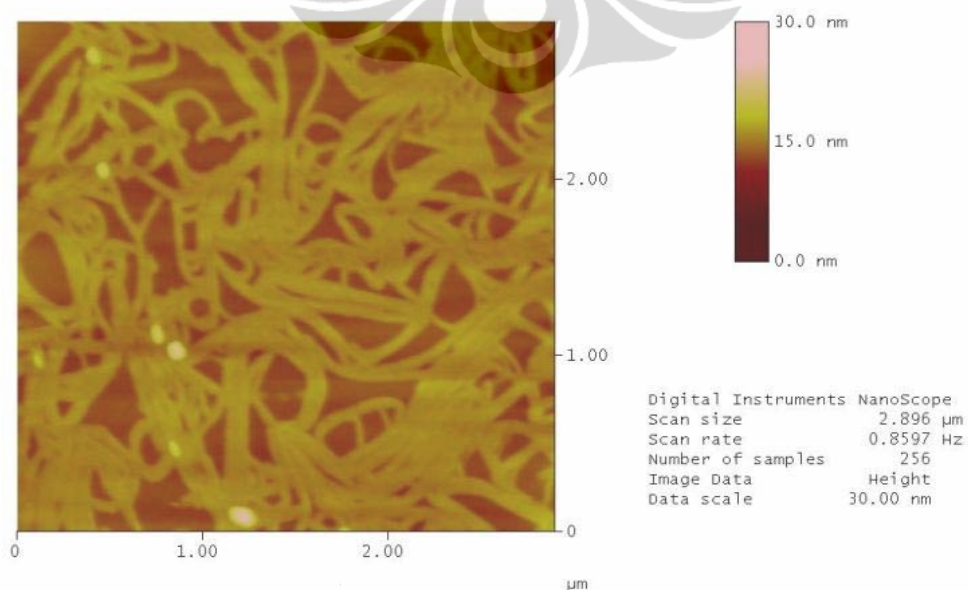
[Sumber: Penulis]

Gambar 4.12. Spektra FTIR Peptida Ampifil 1 dan Peptida Ampifil 7

4.4. *Self-assembly* peptida ampifil

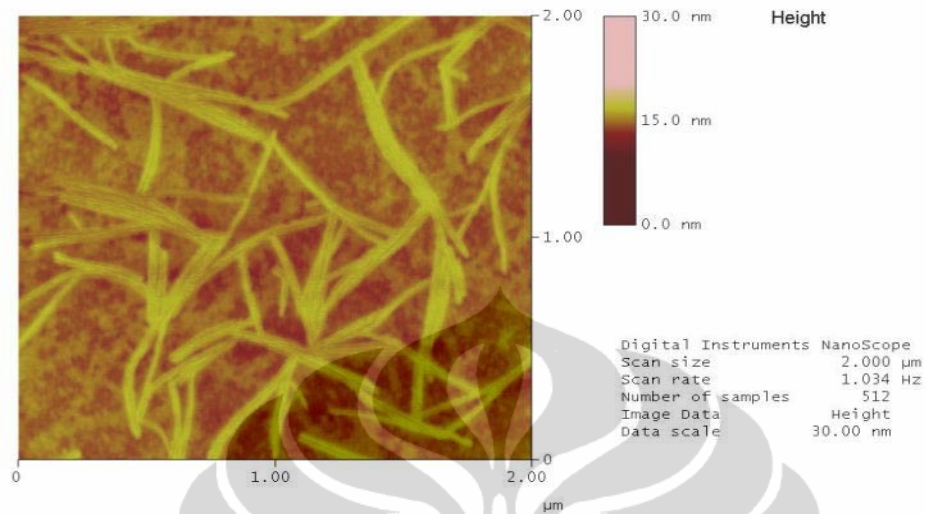
Self-assembly peptida ampifil dilakukan dengan membuat larutan stok peptida ampifil 0,5% (w/v) dalam 500 μL pelarut air. Sebanyak 50 μL Larutan stok peptida ampifil kemudian diencerkan hingga volume 1 mL. Sebanyak 1 μL larutan ini kemudian ditetaskan pada wafer Si dan dibiarkan mengering.

Gambar 4.13 merupakan *height profile* AFM peptida ampifil 1. Tampak bahwa peptida ampifil 1 melakukan *self-assembly* membentuk nanofiber. Fiber yang dihasilkan memiliki dimensi lebar 75 nm dan tinggi 3 nm. Berdasarkan dimensi ini, dapat dipastikan nanofiber yang terbentuk merupakan suatu *nanobelt*. **Gambar 4.14** menunjukkan proses *self-assembly* pada peptida ampifil 2. Berdasarkan *section analysis*, dimensi fiber yang terbentuk oleh peptida ampifil memiliki lebar 52 nm dan tinggi 1,9 nm. **Gambar 4.15** memperlihatkan *self-assembly* peptida ampifil 3. Sayangnya, *section analysis* pada nanostruktur yang terbentuk oleh sulit dilakukan karena fiber yang terbentuk membentuk suatu gumpalan (agregat) dan mempersulit untuk mendapatkan fiber tunggal. Ketiga struktur *self-assembly* tersebut memiliki kesamaan pada lengkungan yang terdapat pada fiber. Lengkungan pada fiber disebabkan karena ketiga struktur tersebut memiliki residu glisin yang memberikan daya fleksibilitas tinggi. Tanpa adanya rantai samping pada asam amino glisin, tidak ditemui rintangan sterik seperti pada asam amino lainnya. Karena ketiga peptida ampifil tersebut memiliki perbedaan dalam hal panjang rantai alkil, maka akan ditemui perbedaan ketinggian yang cukup signifikan yaitu sekitar 1 nm.



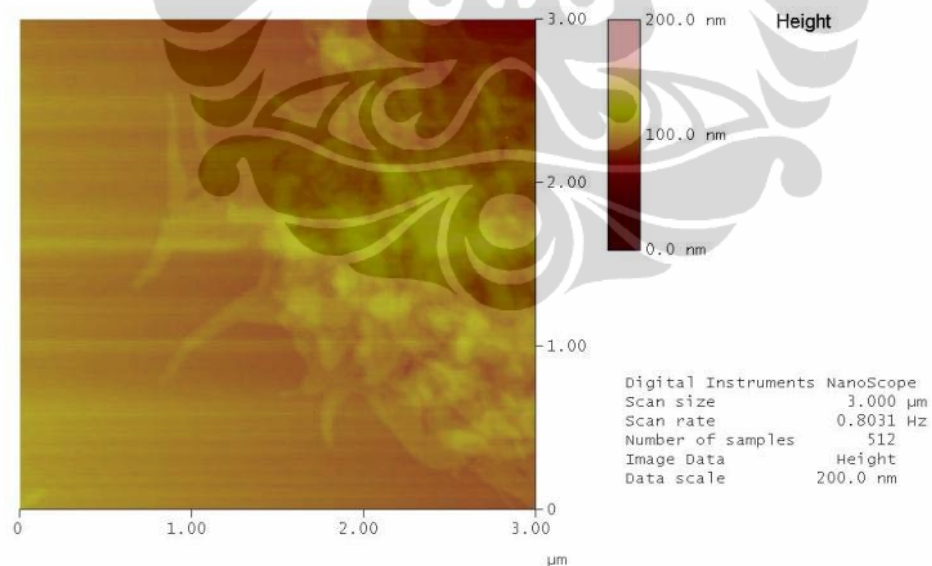
[Sumber: Penulis]

Gambar 4.13. Height Profile AFM Peptida Ampifil 1



[Sumber: Penulis]

Gambar 4.14. Height Profile AFM Peptida Ampifil 2

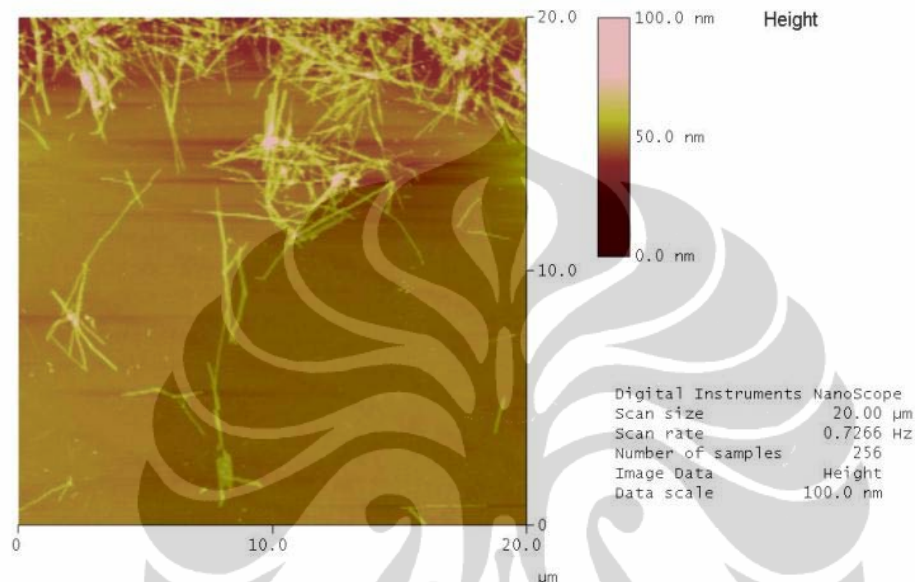


[Sumber: Penulis]

Gambar 4.15. Height Profile AFM Peptida Ampifil 3

Gambar 4.16 merupakan *height profile* AFM peptida ampifil 4. Berbeda dengan peptida ampifil 1, peptide ampifil 4 memiliki fiber yang lebih kaku.

Perubahan karakter fiber yang terjadi pada peptida ampifil 4 terjadi karena terdapat residu valin yang menggantikan residu glisin. Residu valin memiliki gugus samping yang lebih sterik dibandingkan glisin sehingga struktur yang dimiliki tidak memiliki daya fleksibilitas tinggi. Berdasarkan *section analysis*, dimensi fiber yang dimiliki peptide ampifil 4 adalah 105 nm x 6 nm.



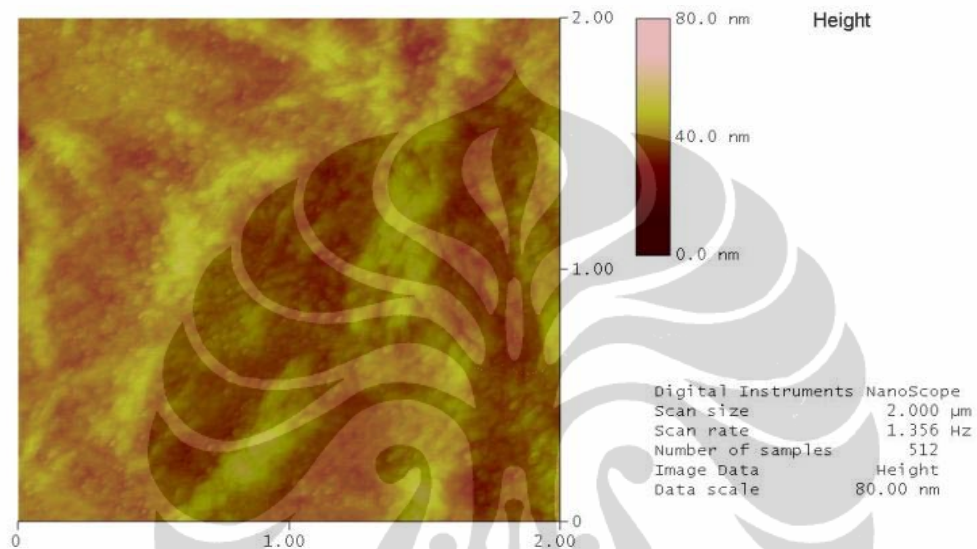
[Sumber: Penulis]

Gambar 4.16 *Height Profile* AFM peptida ampifil 4.

Gambar 4.17 memperlihatkan *height profile* AFM peptida ampifil 5. Berdasarkan gambar tersebut peptida ampifil 5 tidak membentuk struktur fiber namun membentuk suatu bola (*sphere*). Pada peptida ampifil 5 terdapat residu fenilalanin yang memiliki gugus samping cincin aromatic. Keberadaan cincin aromatic ini menghalangi pembentukan ikatan hidrogen diantara molekul peptide, sehingga sebagai konsekuensinya bagian hidrofobik akan menjauhkan diri sedemikian rupa dari pelarut yang bersifat polar dan menghasilkan suatu struktur yang berupa bola misel.

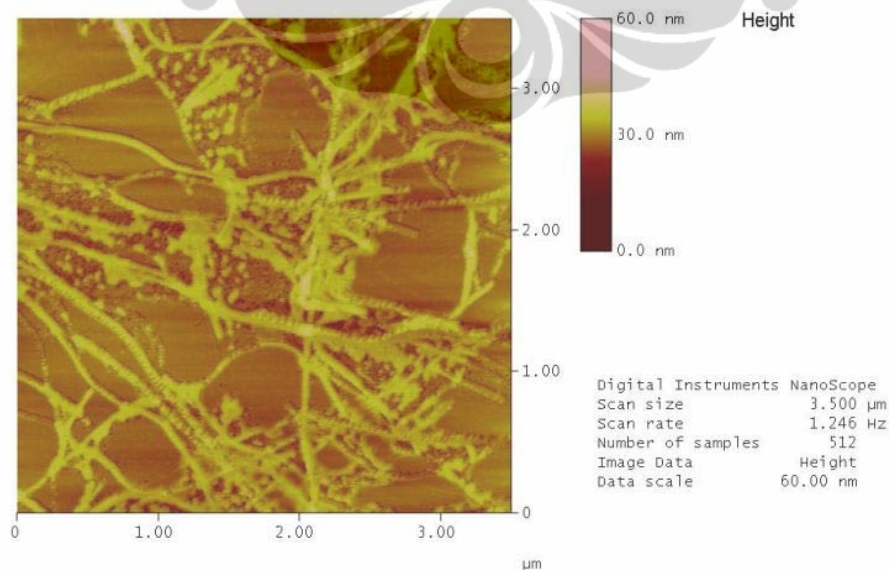
Gambar 4.18 memperlihatkan *height profile* AFM peptide ampifil 6. Berdasarkan gambar tersebut peptida ampifil 6 membentuk struktur fiber dengan dimensi 86 nm x 6 nm. Sama seperti peptide ampifil 1 sampai 4, peptide ampifil 6 membentuk fiber *nanobelt*. Sementara itu, *self-assembly* peptide ampifil 7 ditunjukkan pada **Gambar 4.19**. Berdasarkan gambar tersebut tampak bahwa peptida

ampifil 7 melakukan *self-assembly* membentuk fiber. Fiber yang dihasilkan memiliki kesamaan dengan fiber yang dihasilkan oleh peptida ampifil 1 yaitu memiliki fleksibilitas tinggi. Meskipun memiliki muatan total positif pada bagian hidrofilik, peptida ampifil 7 tetap mampu melakukan *self-assembly*. Hal ini menandakan bahwa *self-assembly* peptide ampifil dapat dilakukan pada peptida ampifil bermuatan positif ataupun peptida ampifil bermuatan negatif.



[Sumber: Penulis]

Gambar 4.17. Height Profile AFM peptida ampifil 5

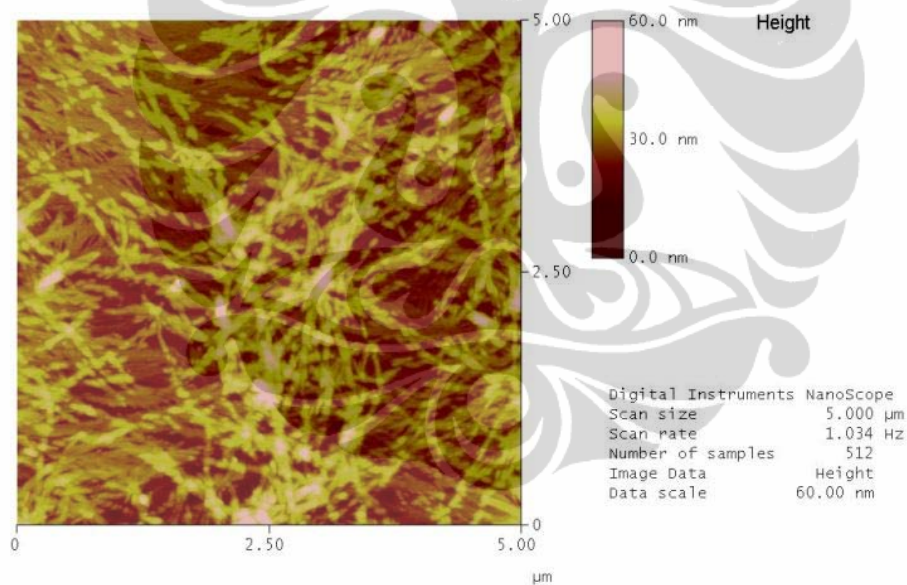


[Sumber: Penulis]

Gambar 4.18. Height Profile AFM peptida ampifil 6

4.5. Pembentukan Hidrogel

Gel sebagai bagian dari *soft material* mendapatkan perhatian yang sangat special karena memiliki potensi aplikasi dalam berbagai bidang seperti *drug delivery*, kosmetik, sensor optik. Karena potensi aplikasi inilah, kebutuhan akan molekul yang mampu menghasilkan gel menjadi sangat besar. Selain menggunakan polimer sebagai molekul pembentuk gel (gelator), molekul bermassa rendah juga dapat berfungsi sebagai gelator, yang dikenal sebagai *low molecular weight gelator* (LMWG) (Hirst, Escuder, Miravet, & D. Smith, 2008).



[Sumber: Penulis]

Gambar 4.19. Height Profile AFM Peptida Ampifil 7

Penelitian ini melakukan studi potensi peptida ampifil sebagai LMWG. Untuk dikatakan sebagai LMWG yang efektif, gelator harus memiliki nilai *minimum gelation concentration* (MGC) atau konsentrasi terendah molekul dapat menghasilkan gel berada pada kisaran 0,2-0,7% (w/v) (Kar, Debnath, D. Das, Shome, & P. Das, 2009). Gel yang berasal dari LMWG disiapkan dengan

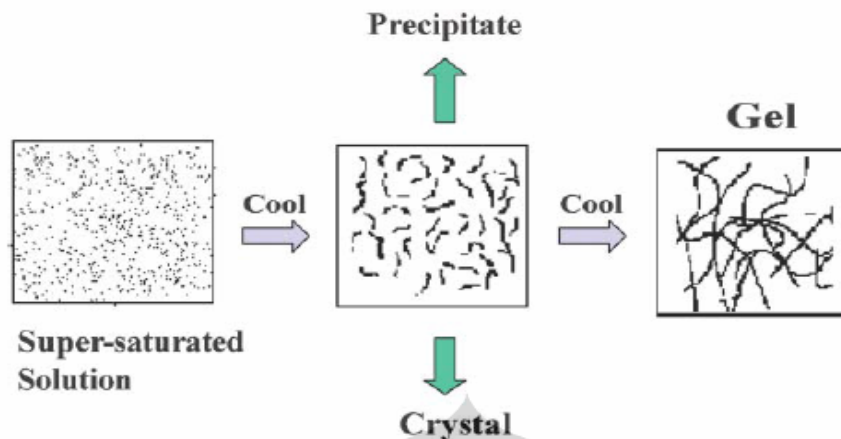
memanaskan gelator dalam suatu pelarut tertentu diikuti dengan pendinginan yang menghasilkan larutan superjenuh pada suhu ruang. Untuk mengetahui apakah terjadi pembentukan gel atau tidak pada suatu larutan, pengamatan dilakukan secara fisik dengan membalikkan vial. Jika terjadi pembentukan gel, material tidak akan jatuh, sementara jika hanya menghasilkan cairan yang kental (*viscous*), maka ketika vial dibalikkan cairan tersebut akan segera jatuh. **Gambar 4.20** memperlihatkan foto optik gel yang terbentuk dari peptida ampifil 1, sementara **Gambar 4.21** mengilustrasikan skema pembentukan gel yang berasal dari LWMG. Berdasarkan **Gambar 4.20**, gel terbentuk apabila konsentrasi peptida melebihi 0,2% (w/v). **Tabel 4.1** merangkumkan nilai *minimum gelation concentration* (MGC) peptida ampifil 1 sampai peptida ampifil 7.

Berdasarkan **Gambar 4.21**, apabila larutan panas superjenuh didinginkan, molekul-molekul mulai berkondensasi dan terdapat tiga situasi yang mungkin, yaitu (1) agregasi dengan keteraturan tinggi menghasilkan suatu kristal atau lebih dikenal dengan proses kristalisasi, (2) agregasi secara random menghasilkan endapan amorfous, atau (3) proses agregasi intermediet menghasilkan suatu gel. Proses pembentukan gel melibatkan *self-association* molekul gelator membentuk agregat *long polymer-like fibrous* yang saling bersilangan selama proses agregasi membentuk satu matriks yang menjerat molekul pelarut melalui proses tegangan permukaan. Proses ini mencegah aliran pelarut akibat gaya gravitasi dan massa yang muncul sebagai padatan (Sangeetha & Maitra, 2005).



[Sumber: Penulis]

Gambar 4.20. Hidrogel Peptida Ampifil 1



[Sumber: (Sangeetha & Maitra, 2005)]

Gambar 4.21. Ilustrasi Pembentukan Gel

Berdasarkan **Tabel 4.1** dapat ditarik sebuah kecenderungan, semakin panjang rantai alkil, nilai MGC peptida ampifil semakin kecil (lihat MGC PA1, PA2, dan PA3). Peptida ampifil 3 memiliki MGC diatas 1% (w/v). Perbedaan jenis linker pada peptida ampifil yang memiliki panjang alkil yang sama mengakibatkan perbedaan yang bervariasi. Peptida ampifil 4 yang memiliki residu valin menurunkan nilai MGC. Residu valine meningkatkan sifat hidrofobik peptida ampifil dengan adanya alkil pada gugus samping asam amino. Residu valin juga dilaporkan memiliki kemampuan pembentukan β -sheet yang lebih besar dibandingkan glisin. (Pashuck, Cui, & Stupp, 2010) Sementara residu fenilalanin pada peptida ampifil 5 mengakibatkan tidak terjadinya pembentukan gel. Peristiwa ini dapat dipahami bahwa keberadaan gugus aromatik dalam struktur peptida menghalangi terjadi ikatan hidrogen antara molekul peptida sehingga tidak terbentuk struktur fiber. Peptida yang mengandung residu fenilalanin dilaporkan memiliki kemampuan membentuk gel yang lebih besar jika dilarutkan dalam pelarut yang memiliki struktur aromatik. (Kar et al., 2009) Pada pembentukan nanofiber pembentukan β -sheet diantara molekul peptida memainkan peranan penting dalam mengarahkan molekul sehingga tidak membentuk struktur misel (Paramonov, Jun, & Hartgerink, 2006). Peptida ampifil 6 dan peptida ampifil 7 memiliki nilai MGC yang mirip dengan dibandingkan peptida ampifil 1 dan peptida ampifil 4.

Tabel 4.1. MGC Peptida Ampifil

Peptida Ampifil	MGC, % (w/v)	Keterangan
PA1, C16-GGGGDD-COOH	0,32	Gel
PA2, C12-GGGGDD-COOH	0,42	Gel
PA3, C8-GGGGDD-COOH	-	MGC > 1%
PA4, C16-VVVVDD-COOH	0,28	Gel
PA5, C16-FFFFDD-COOH	-	Non gelator
PA6, C16-PPPPDD-COOH	0,36	Gel
PA7, C16-GGGGKK-COOH	0,35	Gel

**BAB 5**

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Penelitian yang dilakukan menghasilkan beberapa kesimpulan, yaitu:

1. Peptida ampifil 1 sampai 7 berhasil disintesis dengan metode sintesis peptida fasa padat,
2. Struktur *self-assembly* dan sifat hidrogelator peptida ampifil dipengaruhi oleh struktur peptida ampifil,
3. Peptida ampifil membentuk struktur nanofiber kecuali peptida ampifil 5 yang memiliki residu fenilalanin,
4. Peptida Ampifil memiliki potensi sebagai *low molecular weight gelator*.

5.2. Saran

Sejumlah saran yang dapat diajukan untuk penelitian lebih lanjut adalah melakukan:

1. Studi sifat mekanik gel yang dihasilkan dari *low molecular weight gelator* peptida ampifil,
2. Studi aplikasi gel peptida ampifil sebagai biomaterial,
3. Studi kinetika pembentukan gel peptida ampifil.

DAFTAR REFERENSI:

- Benoiton, N. L. (2006). *Chemistry of peptide synthesis*. Boca Raton : Taylor & Francis/CRC Press.
- Chen, L., Morris, K., Laybourn, A., Elias, D., Hicks, M. R., Rodger, A., Serpell, L., et al. (2010). *Self-assembly Mechanism for a Naphthalene–Dipeptide Leading to Hydrogelation*. *Langmuir*, 26(7), 5232-5242. doi:10.1021/la903694a
- Cheng, G., Castelletto, V., Moulton, C. M., Newby, G. E., & Hamley, I. W. (2010). Hydrogelation and *Self-assembly* of Fmoc-Tripeptides: Unexpected Influence of Sequence on Self-Assembled Fibril Structure, and Hydrogel Modulus and Anisotropy. *Langmuir*, 26(7), 4990-4998. doi:10.1021/la903678e
- Doonan, S. (2002). *Peptides and proteins*. Wiley-Interscience.
- Gazit, E. (2007). Self-assembled peptide nanostructures: the design of molecular building blocks and their technological utilization. *Chemical Society Reviews*, 36(8), 1263-1269.
- Grzybowski, B. A., Wilmer, C. E., Kim, J., Browne, K. P., & Bishop, K. J. M. (2009). *Self-assembly: from crystals to cells*. *Soft Matter*, 5(6), 1110-1128.
- Gupta, M., Bagaria, A., Mishra, A., Mathur, P., Basu, A., Ramakumar, S., & Chauhan, V. (2007). *Self-assembly* of a Dipeptide- Containing Conformationally Restricted Dehydrophenylalanine Residue to Form Ordered Nanotubes. *Advanced Materials*, 19(6), 858-861. doi:10.1002/adma.200601774
- Hillenkamp, F. (2007). *MALDI MS : a practical guide to instrumentation, methods and applications*. Weinheim: Wiley-VCH, c2007.
- Hirst, A. R., Escuder, B., Miravet, J., & Smith, D. (2008). High-Tech Applications of Self-Assembling Supramolecular Nanostructured Gel-Phase Materials: From Regenerative Medicine to Electronic Devices. *Angewandte Chemie International Edition*, 47(42), 8002-8018. doi:10.1002/anie.200800022
- http://en.wikipedia.org/wiki/Peptide_synthesis. (n.d.). .

- <http://www.sigmaaldrich.com/life-science/custom-oligos/custom-peptides/learning-center/solid-phase-synthesis.html>. (n.d). .
- Jones, J. (2002). *Amino acid and peptide synthesis* (2nd ed.). Oxford ; New York : Oxford University Press.
- Kar, T., Debnath, S., Das, D., Shome, A., & Das, P. (2009). Organogelation and Hydrogelation of Low-Molecular-Weight Amphiphilic Dipeptides: pH Responsiveness in Phase-Selective Gelation and Dye Removal†. *Langmuir*, 25(15), 8639-8648. doi:10.1021/la804235e
- Kim, J., Han, T. H., Kim, Y., Park, J. S., Choi, J., Churchill, D. G., Kim, S. O., et al. (2010). Role of Water in Directing Diphenylalanine Assembly into Nanotubes and Nanowires. *Advanced Materials*, 22(5), 583-587. doi:10.1002/adma.200901973
- Kokkoli, E., Mardilovich, A., Wedekind, A., Rexeisen, E. L., Garg, A., & Craig, J. A. (2006). *Self-assembly* and applications of biomimetic and bioactive peptide-amphiphiles. *Soft Matter*, 2(12), 1015-1024.
- Koutsopoulos, S., Unsworth, L. D., Nagai, Y., & Zhang, S. (2009). Controlled release of functional proteins through designer self-assembling peptide nanofiber hydrogel scaffold. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(12), 4623-4628. doi:10.1073/pnas.0807506106
- Lim, Y., Moon, K., & Lee, M. (2009). Recent advances in functional supramolecular nanostructures assembled from bioactive building blocks. *Chemical Society Reviews*, 38(4), 925-934.
- Ma, M., Kuang, Y., Gao, Y., Zhang, Y., Gao, P., & Xu, B. (2010). Aromatic–Aromatic Interactions Induce the *Self-assembly* of Pentapeptidic Derivatives in Water To Form Nanofibers and Supramolecular Hydrogels. *Journal of the American Chemical Society*, 132(8), 2719-2728. doi:10.1021/ja9088764
- von Maltzahn, G., Vauthey, S., Santoso, S., & Zhang, S. (2003). Positively Charged Surfactant-like Peptides Self-assemble into Nanostructures. *Langmuir*, 19(10), 4332-4337. doi:10.1021/la026526+

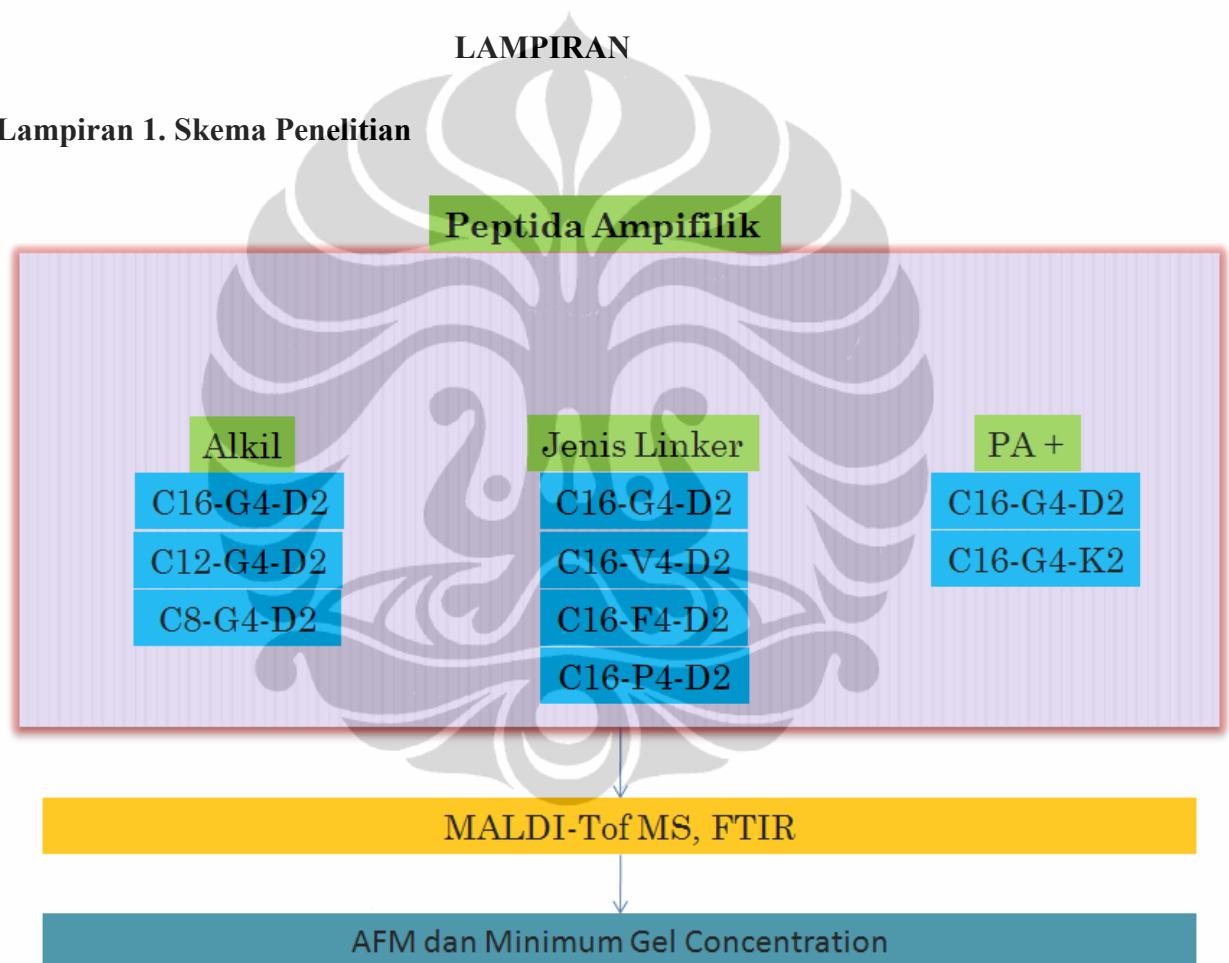
- Nagai, Y., Unsworth, L. D., Koutsopoulos, S., & Zhang, S. (2006). Slow release of molecules in self-assembling peptide nanofiber scaffold. *Journal of Controlled Release*, 115(1), 18-25. doi:10.1016/j.jconrel.2006.06.031
- Orbach, R., Adler-Abramovich, L., Zigerson, S., Mironi-Harpaz, I., Seliktar, D., & Gazit, E. (2009). Self-Assembled Fmoc-Peptides as a Platform for the Formation of Nanostructures and Hydrogels. *Biomacromolecules*, 10(9), 2646-2651. doi:10.1021/bm900584m
- Paramonov, S. E., Jun, H., & Hartgerink, J. D. (2006). *Self-assembly of Peptide–Amphiphile Nanofibers: The Roles of Hydrogen Bonding and Amphiphilic Packing*. *Journal of the American Chemical Society*, 128(22), 7291-7298. doi:10.1021/ja060573x
- Pashuck, E. T., Cui, H., & Stupp, S. I. (2010). Tuning Supramolecular Rigidity of Peptide Fibers through Molecular Structure. *Journal of the American Chemical Society*, 132(17), 6041-6046. doi:10.1021/ja908560n
- Percec, V., Ungar, G., & Peterca, M. (2006). CHEMISTRY: *Self-assembly in Action*. *Science*, 313(5783), 55-56. doi:10.1126/science.1129512
- Reches, M., & Gazit, E. (2004). Formation of Closed-Cage Nanostructures by *Self-assembly of Aromatic Dipeptides*. *Nano Letters*, 4(4), 581-585. doi:10.1021/nl035159z
- Ruan, L., Zhang, H., Luo, H., Liu, J., Tang, F., Shi, Y., & Zhao, X. (2009). Designed amphiphilic peptide forms stable nanoweb, slowly releases encapsulated hydrophobic drug, and accelerates animal hemostasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(13), 5105-5110. doi:10.1073/pnas.0900026106
- Sangeetha, N. M., & Maitra, U. (2005). Supramolecular gels: Functions and uses. *Chemical Society Reviews*, 34(10), 821-836.
- Santoso, S., Hwang, W., Hartman, H., & Zhang, S. (2002). *Self-assembly of Surfactant-like Peptides with Variable Glycine Tails to Form Nanotubes and Nanovesicles*. *Nano Letters*, 2(7), 687-691. doi:10.1021/nl025563i
- Schnepp, Z. A. C., Gonzalez-McQuire, R., & Mann, S. (2006). Hybrid Biocomposites Based on Calcium Phosphate Mineralization of Self-

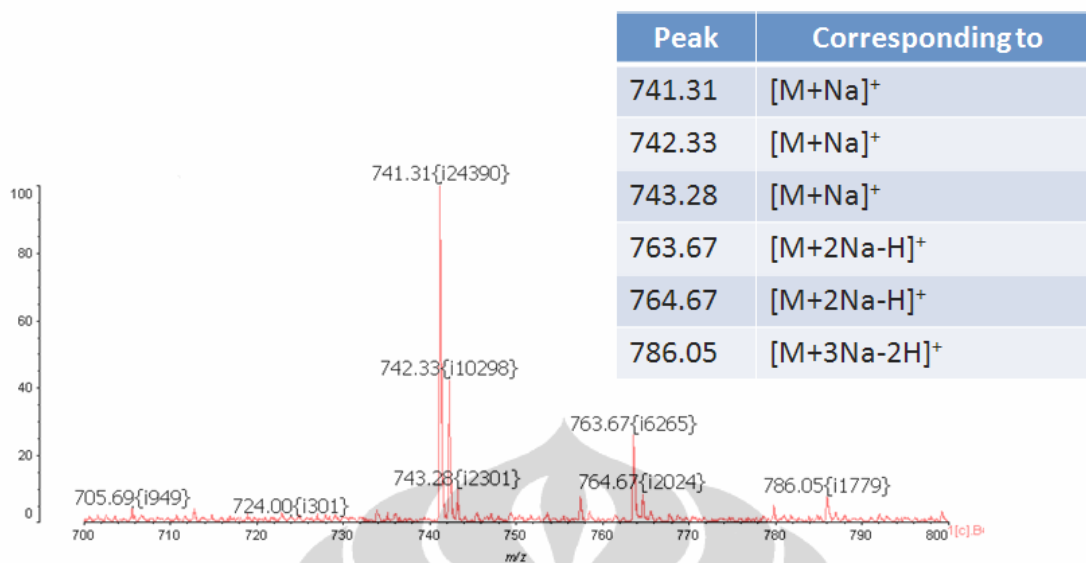
- Assembled Supramolecular Hydrogels. *Advanced Materials*, 18(14), 1869-1872. doi:10.1002/adma.200502545
- Siuzdak, G. (1996). *Mass Spectrometry for Biotechnology*. ACADEMIC PRESS.
- Ulijn, R. V., & Smith, A. M. (2008). Designing peptide based nanomaterials. *Chemical Society Reviews*, 37(4), 664-675.
- Wang, W., Yang, Z., Patanavanich, S., Xu, B., & Chau, Y. (2008). Controlling *self-assembly* within nanospace for peptide nanoparticle fabrication. *Soft Matter*, 4(8), 1617-1620.
- White, Peter D., C. W. C. (2000). *Fmoc solid phase peptide synthesis : a practical approach / edited by Weng C. Chan and Peter D. White*. New York : Oxford University Press.
- Yan, X., Zhu, P., & Li, J. (2010). *Self-assembly* and application of diphenylalanine-based nanostructures. *Chemical Society Reviews*. doi:10.1039/b915765b
- Yang, Z., Gu, H., Fu, D., Gao, P., Lam, J., & Xu, B. (2004). Enzymatic Formation of Supramolecular Hydrogels. *Advanced Materials*, 16(16), 1440-1444. doi:10.1002/adma.200400340
- Yanlian, Y., Ulung, K., Xiumei, W., Horii, A., Yokoi, H., & Shuguang, Z. (2009). Designer self-assembling peptide nanomaterials. *Nano Today*, 4(2), 193-210. doi:10.1016/j.nantod.2009.02.009
- Zhang, S. (2002). Emerging biological materials through molecular *self-assembly*. *Biotechnology Advances*, 20(5-6), 321-339. doi:10.1016/S0734-9750(02)00026-5
- Zhang, S. (2003). Fabrication of novel biomaterials through molecular *self-assembly*. *Nat Biotech*, 21(10), 1171-1178. doi:10.1038/nbt874
- Zhang, S., Marini, D. M., Hwang, W., & Santoso, S. (2002). Design of nanostructured biological materials through *self-assembly* of peptides and proteins. *Current Opinion in Chemical Biology*, 6(6), 865-871. doi:10.1016/S1367-5931(02)00391-5
- Zhao, X. (2009). Design of self-assembling surfactant-like peptides and their applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 14(5), 340-348. doi:10.1016/j.cocis.2009.07.002

Zhao, X., Pan, F., & Lu, J. R. (2008). Recent development of peptide *self-assembly*.
Progress in Natural Science, 18(6), 653-660. doi:10.1016/j.pnsc.2008.01.012

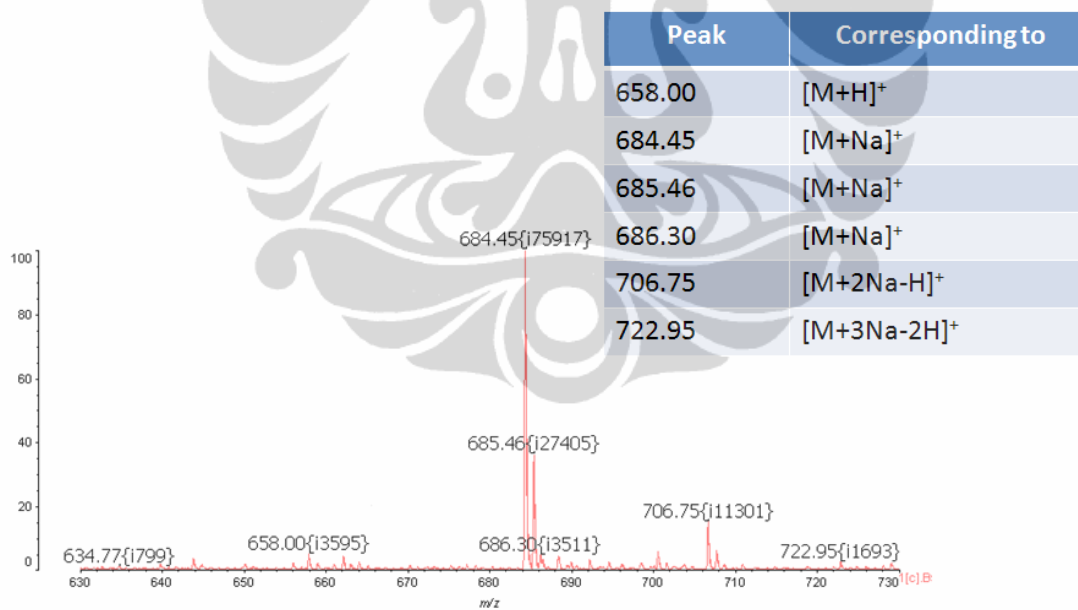
LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Penelitian

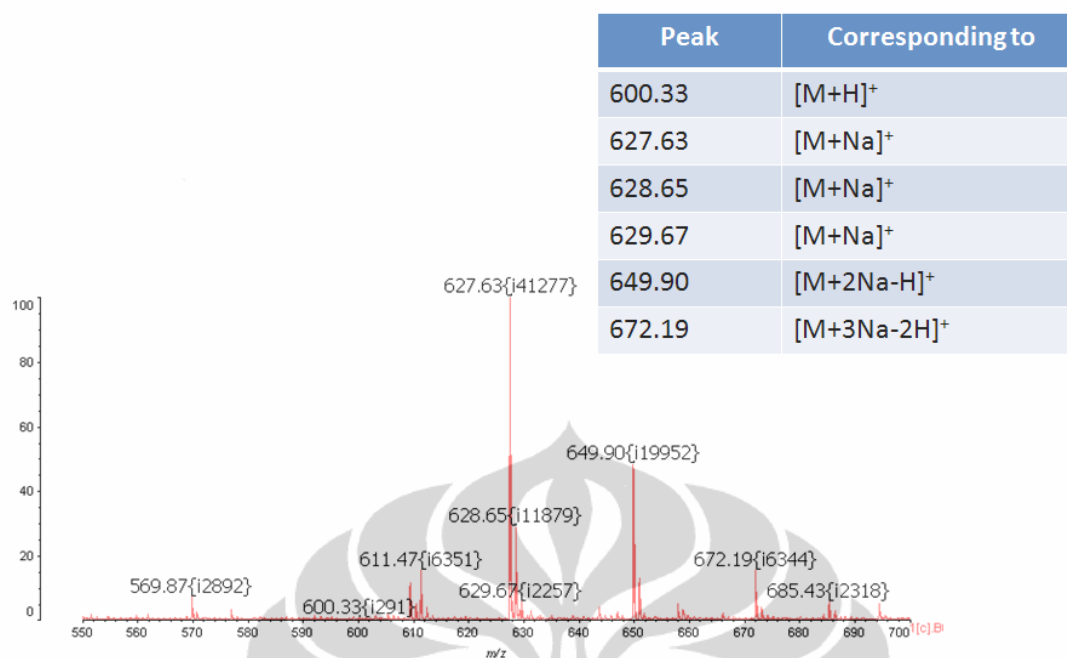




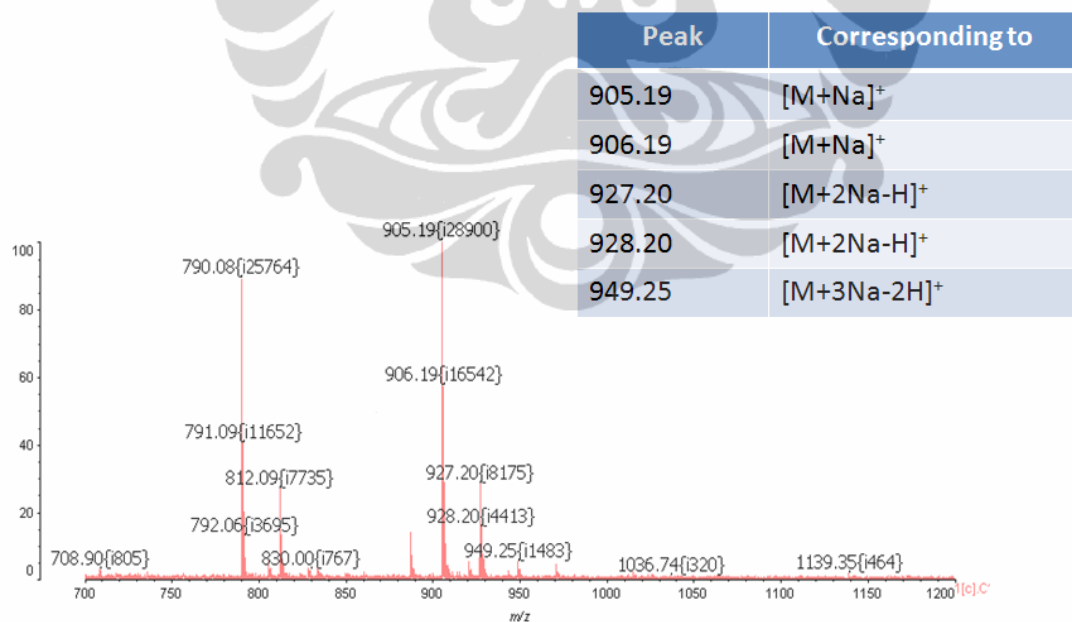
Lampiran 2. Spektrum MALDI-Tof MS PA1



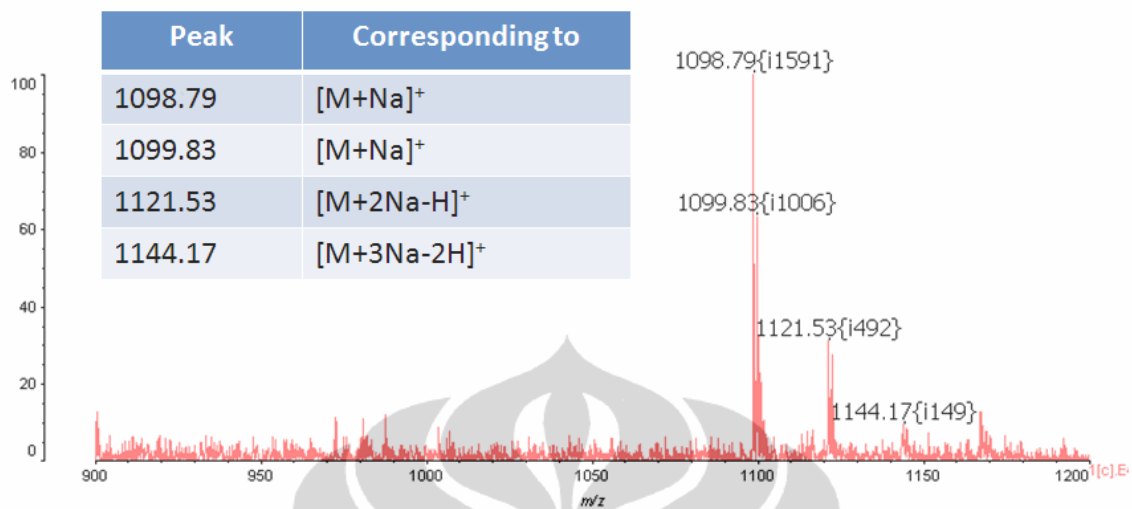
Lampiran 3. Spektrum MALDI-Tof MS PA2



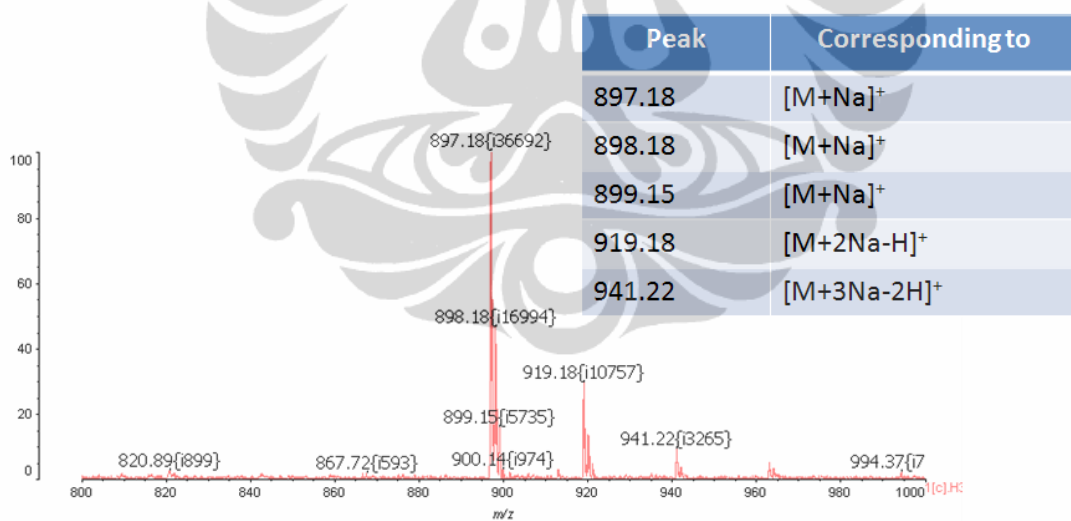
Lampiran 4. Spektrum MALDI-Tof MS PA3



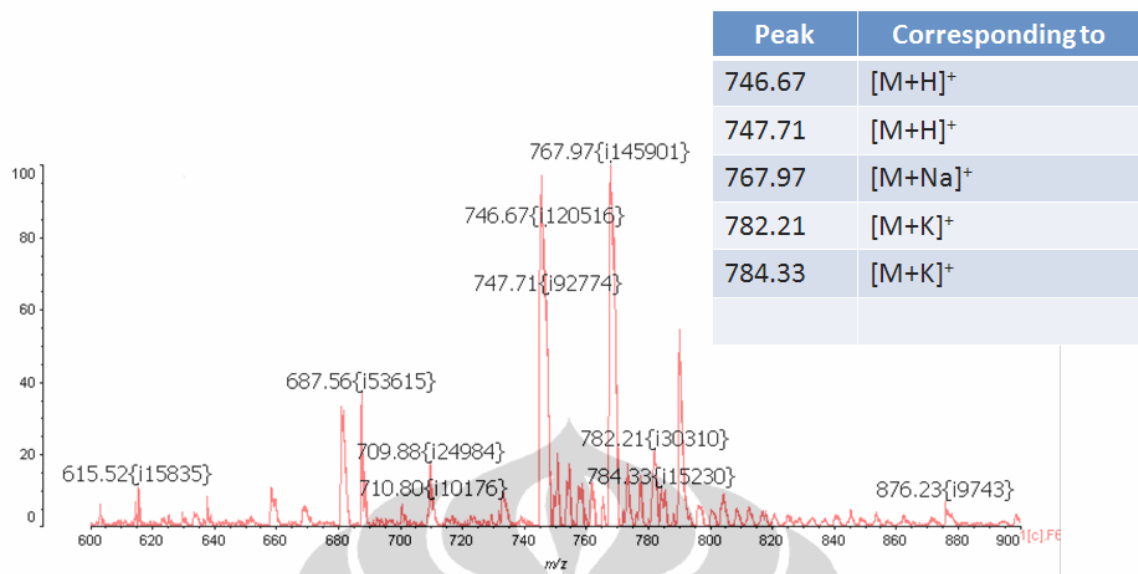
Lampiran 5. Spektrum MALDI-Tof MS PA4



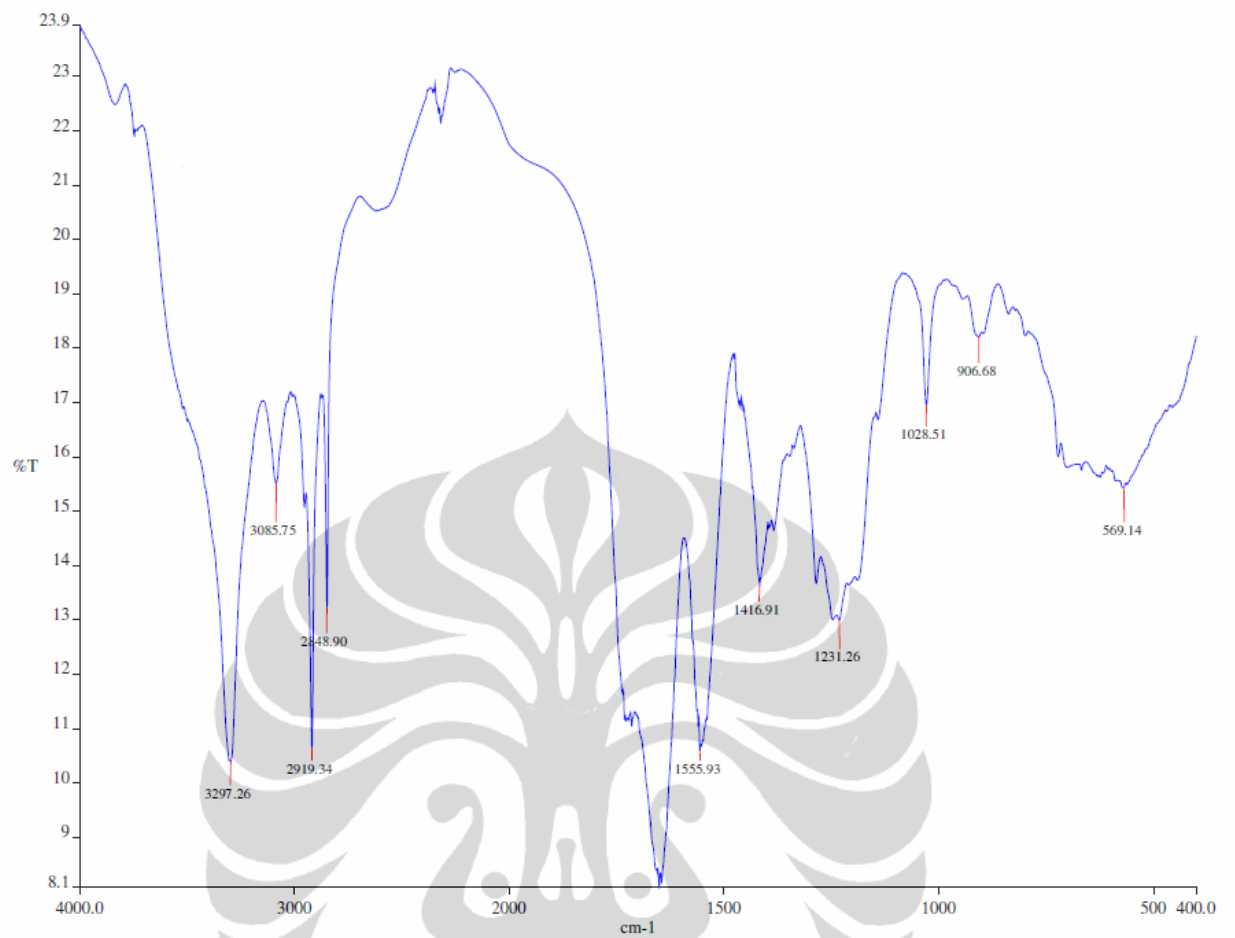
Lampiran 6. Spektrum MALDI-ToF MS PA5



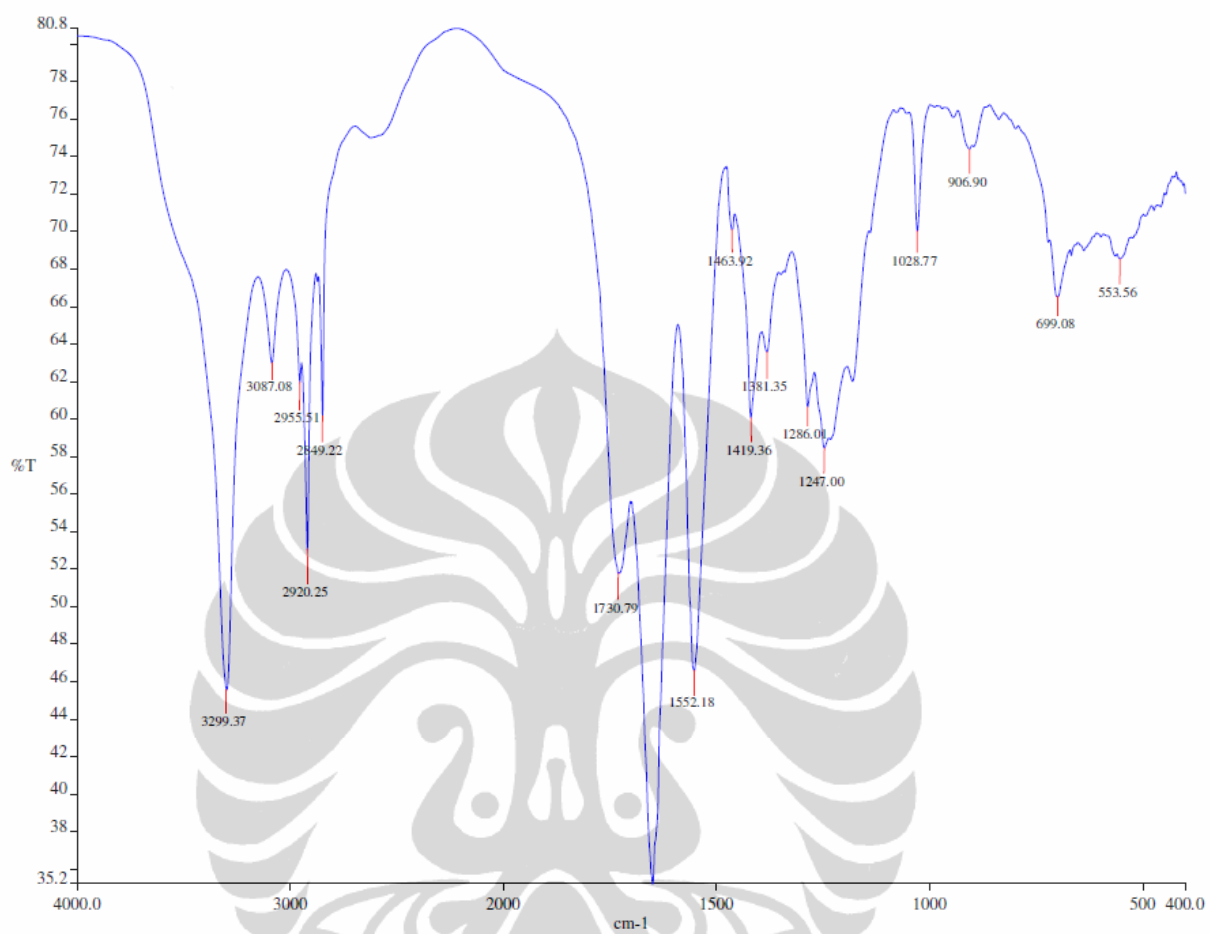
Lampiran 7. Spektrum MALDI-ToF MS PA6



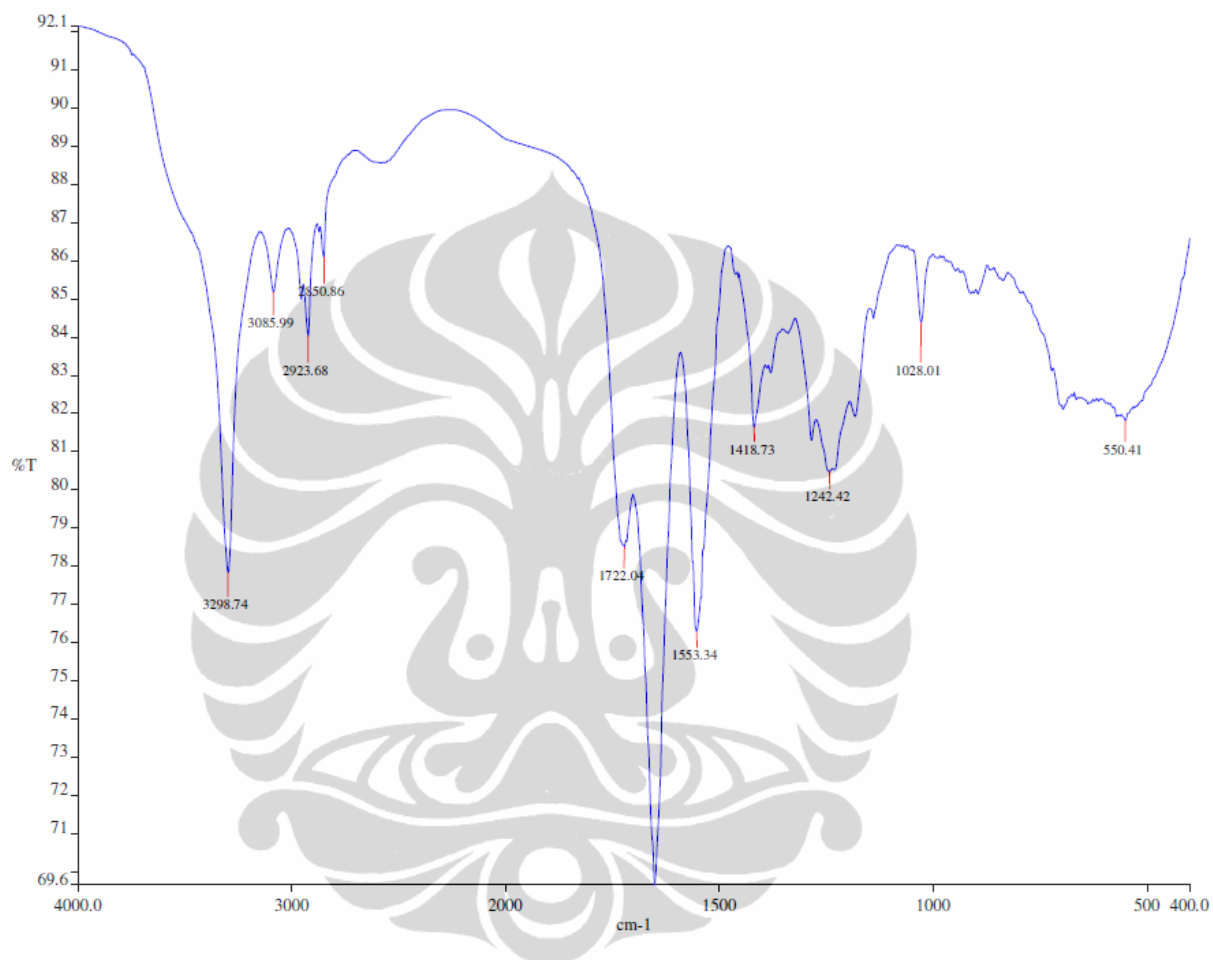
Lampiran 8. Spektrum MALDI-Tof MS PA7



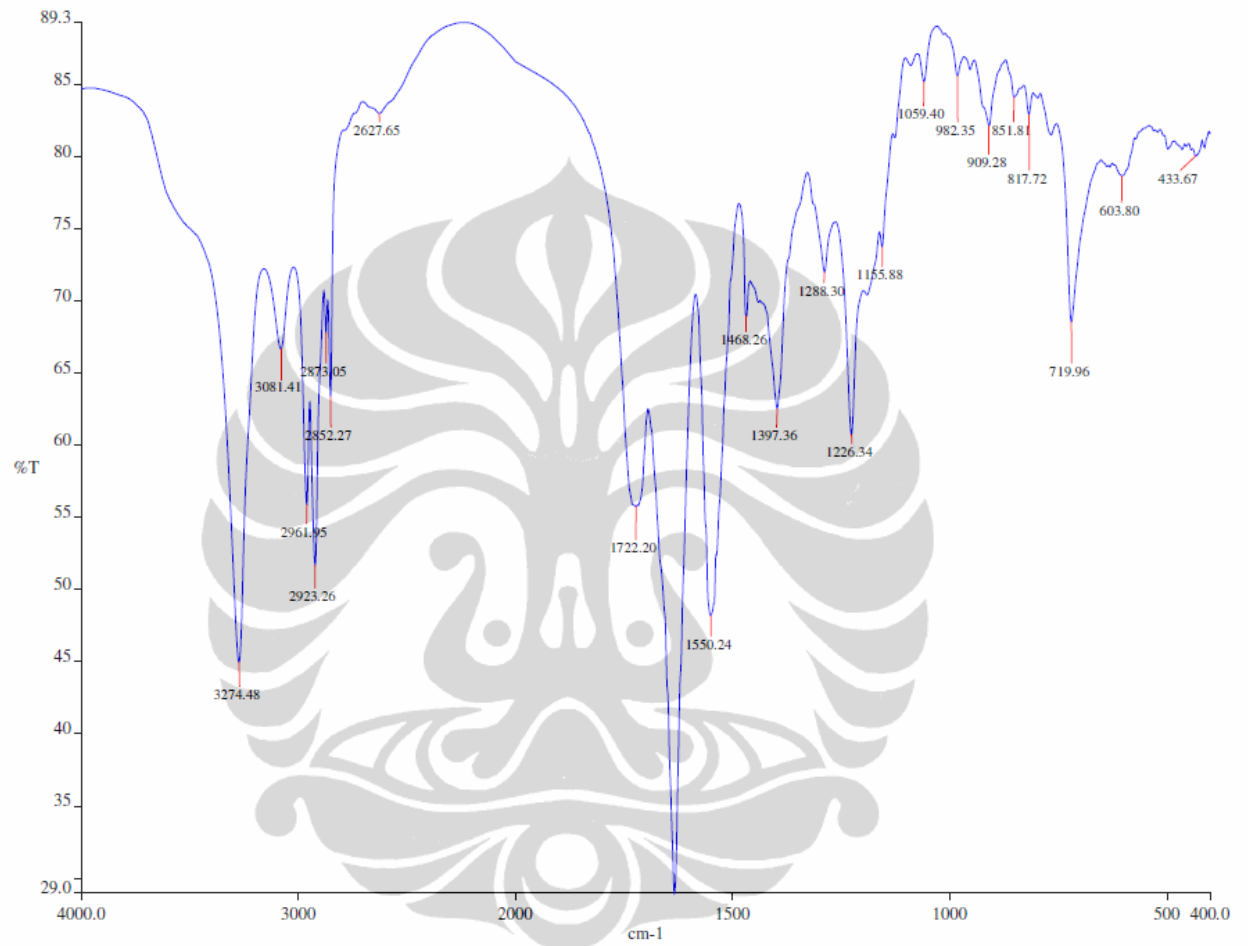
Lampiran 9. Spektrum FTIR PA1



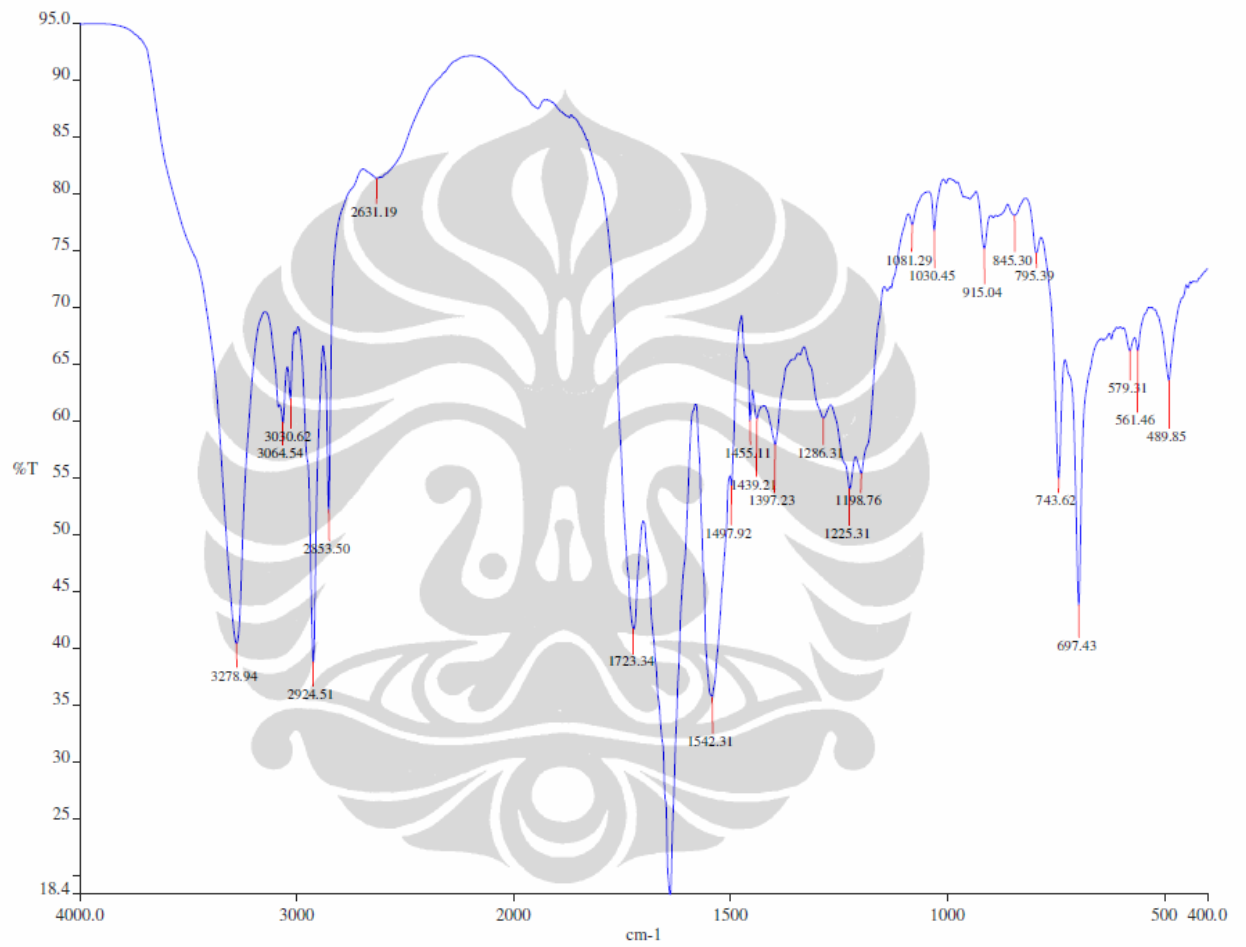
Lampiran 10. Spektrum FTIR PA2



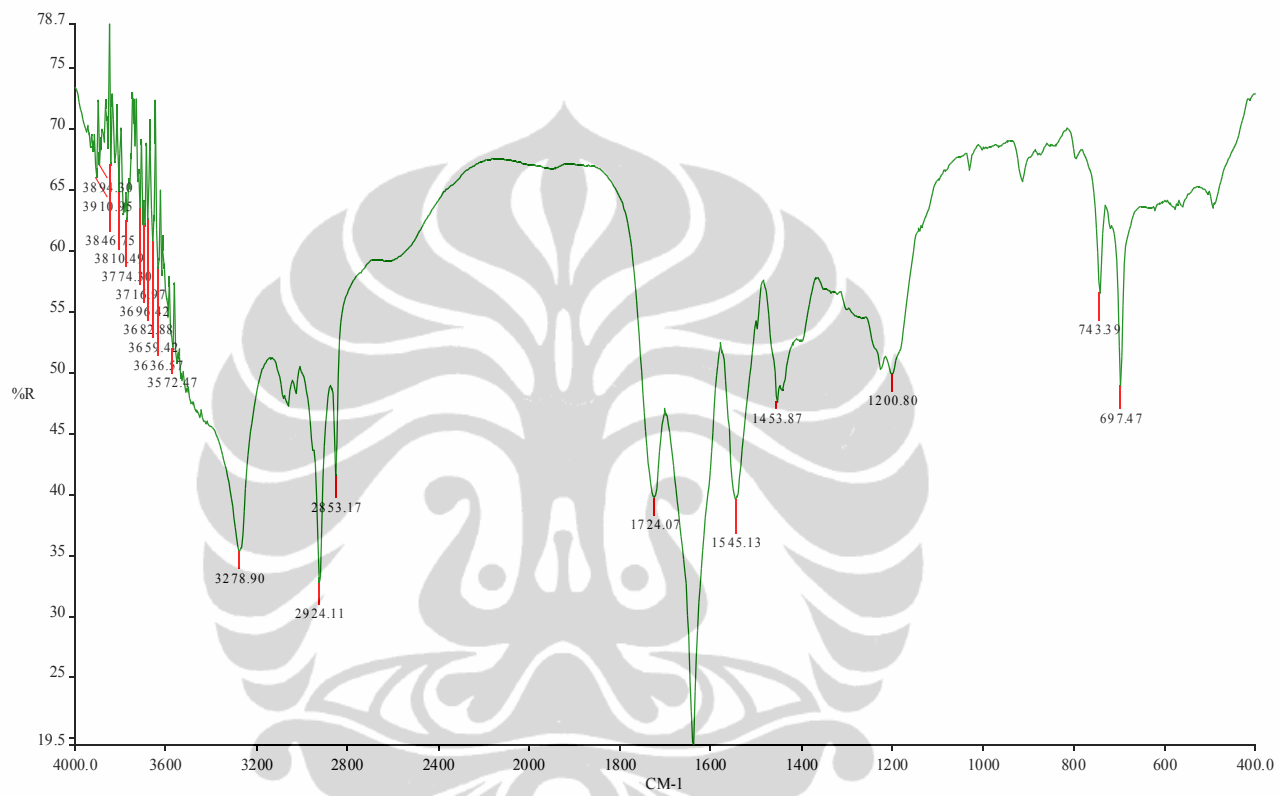
Lampiran 11. Spektrum FTIR PA3



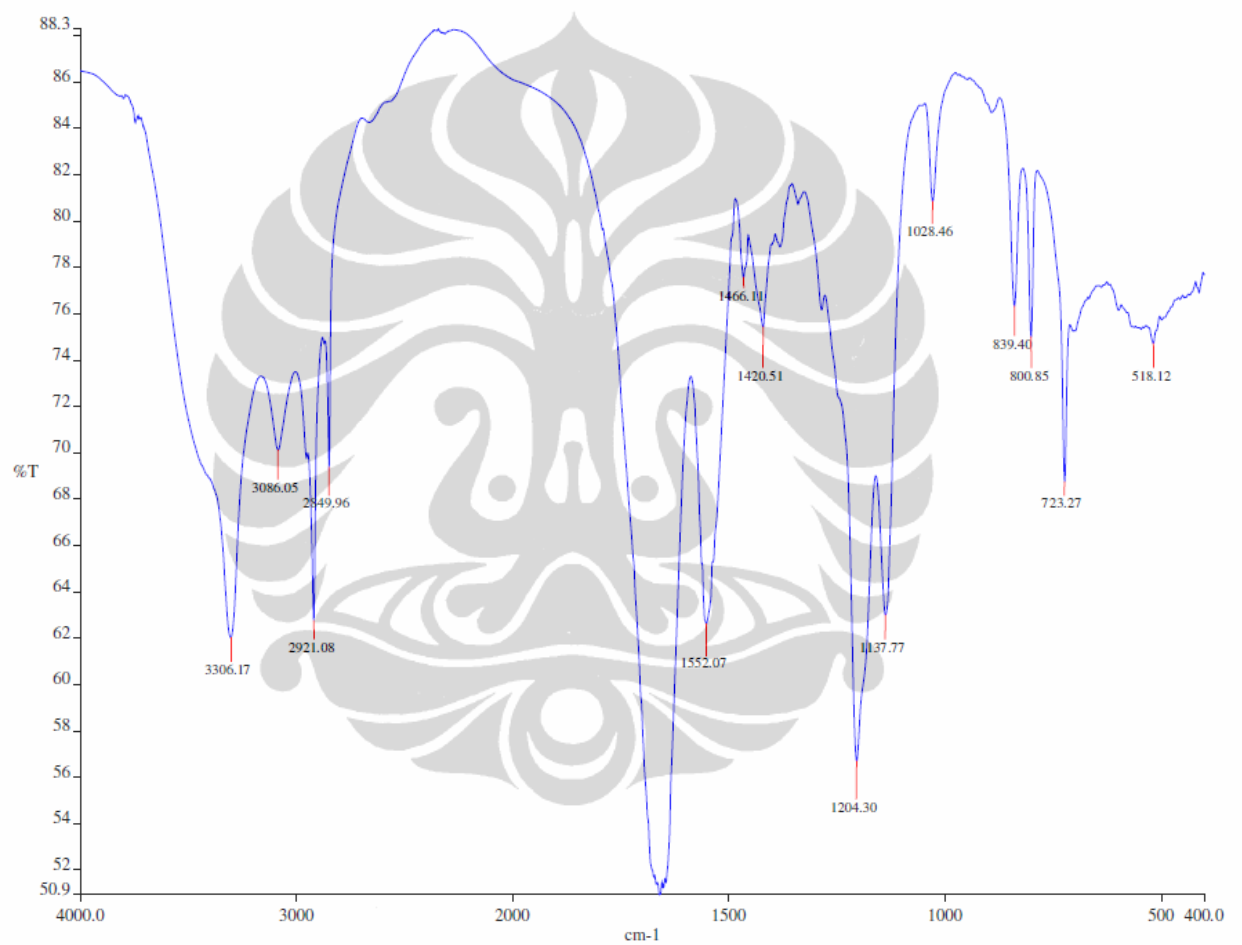
Lampiran 12. Spektrum FTIR PA4



Lampiran 13. Spektrum FTIR PA5

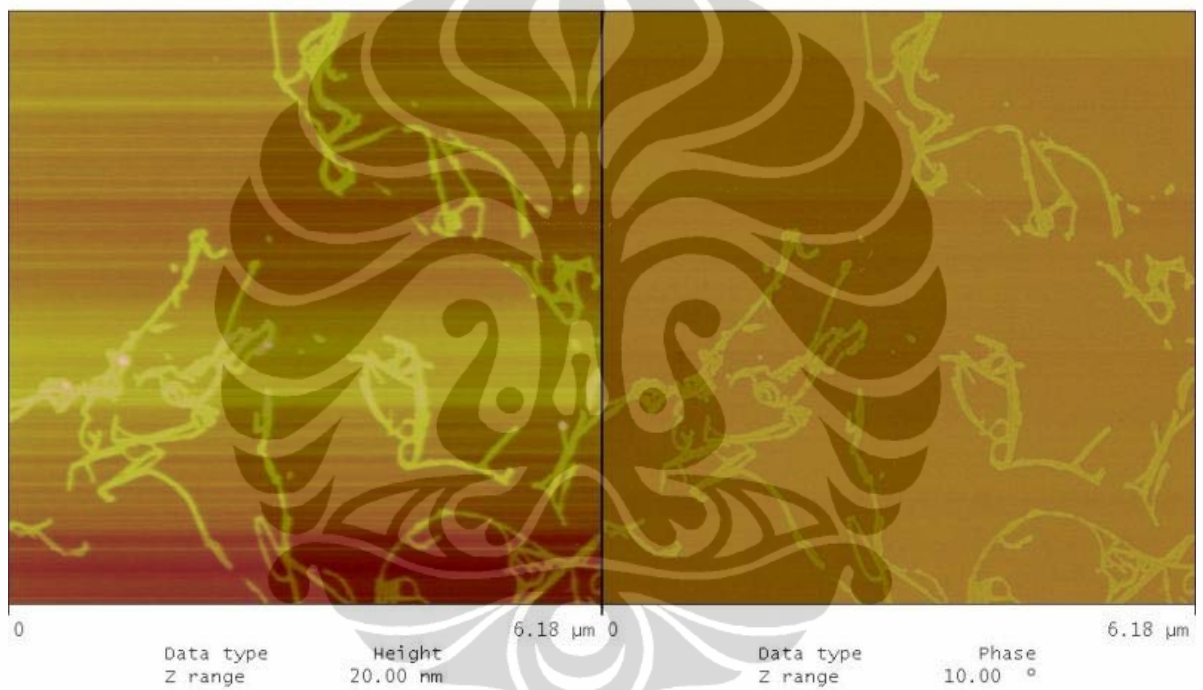


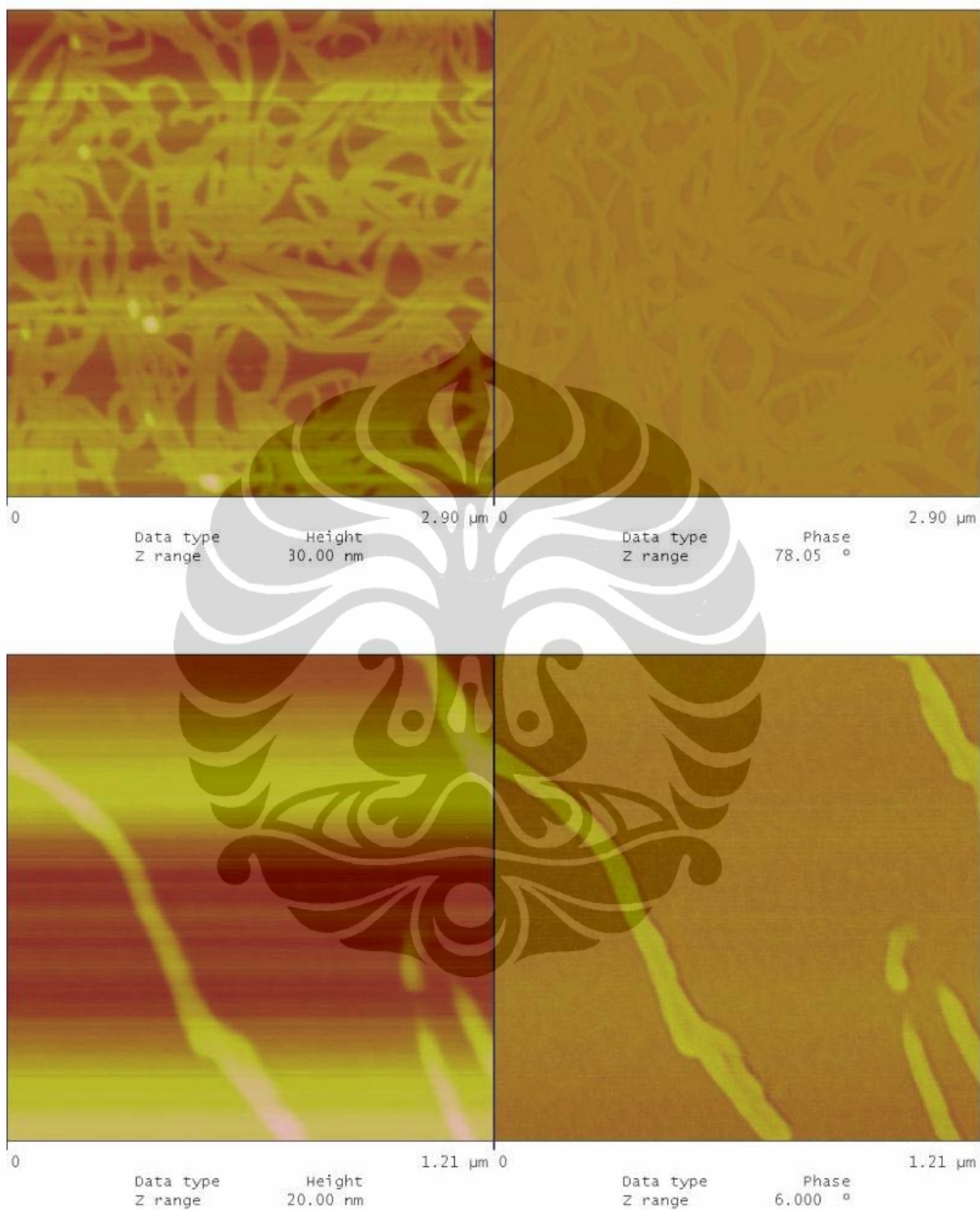
Lampiran 14. Spektrum FTIR PA6

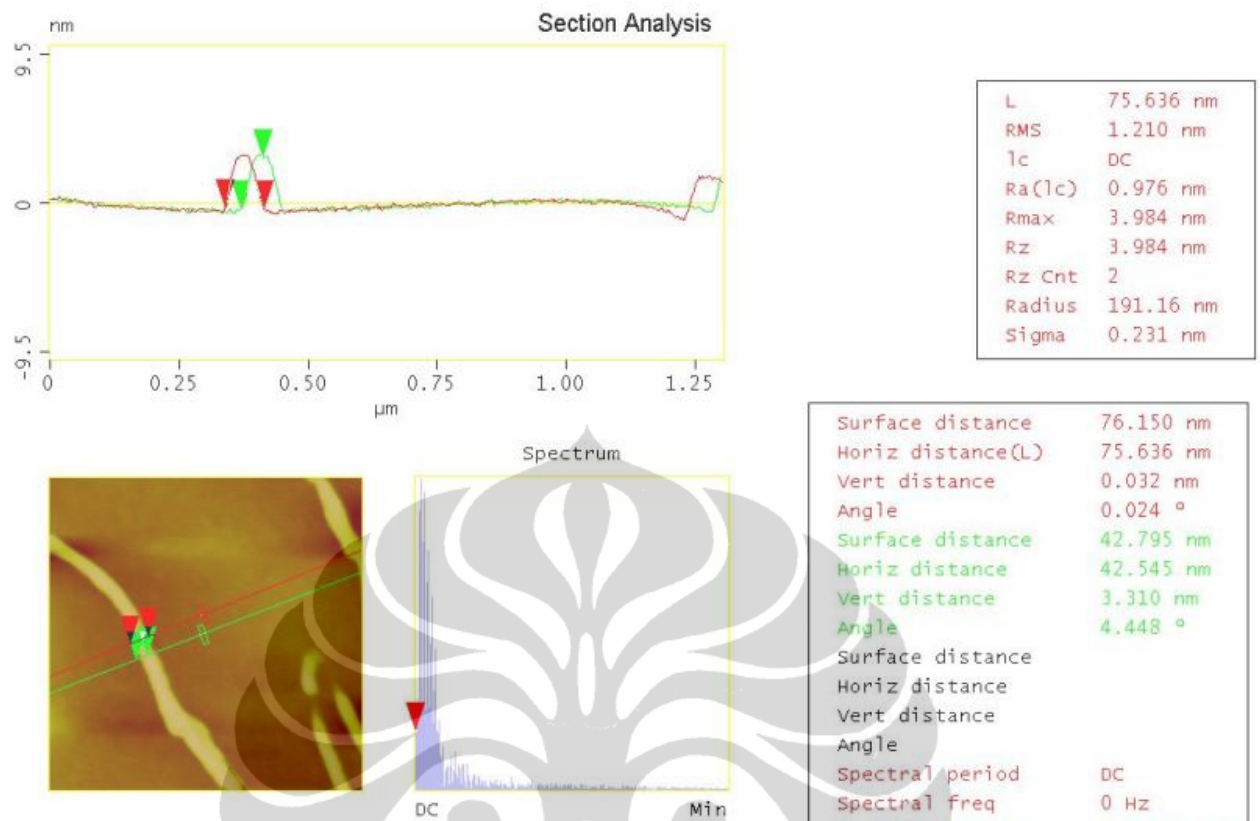


Lampiran 15. Spektrum FTIR PA7

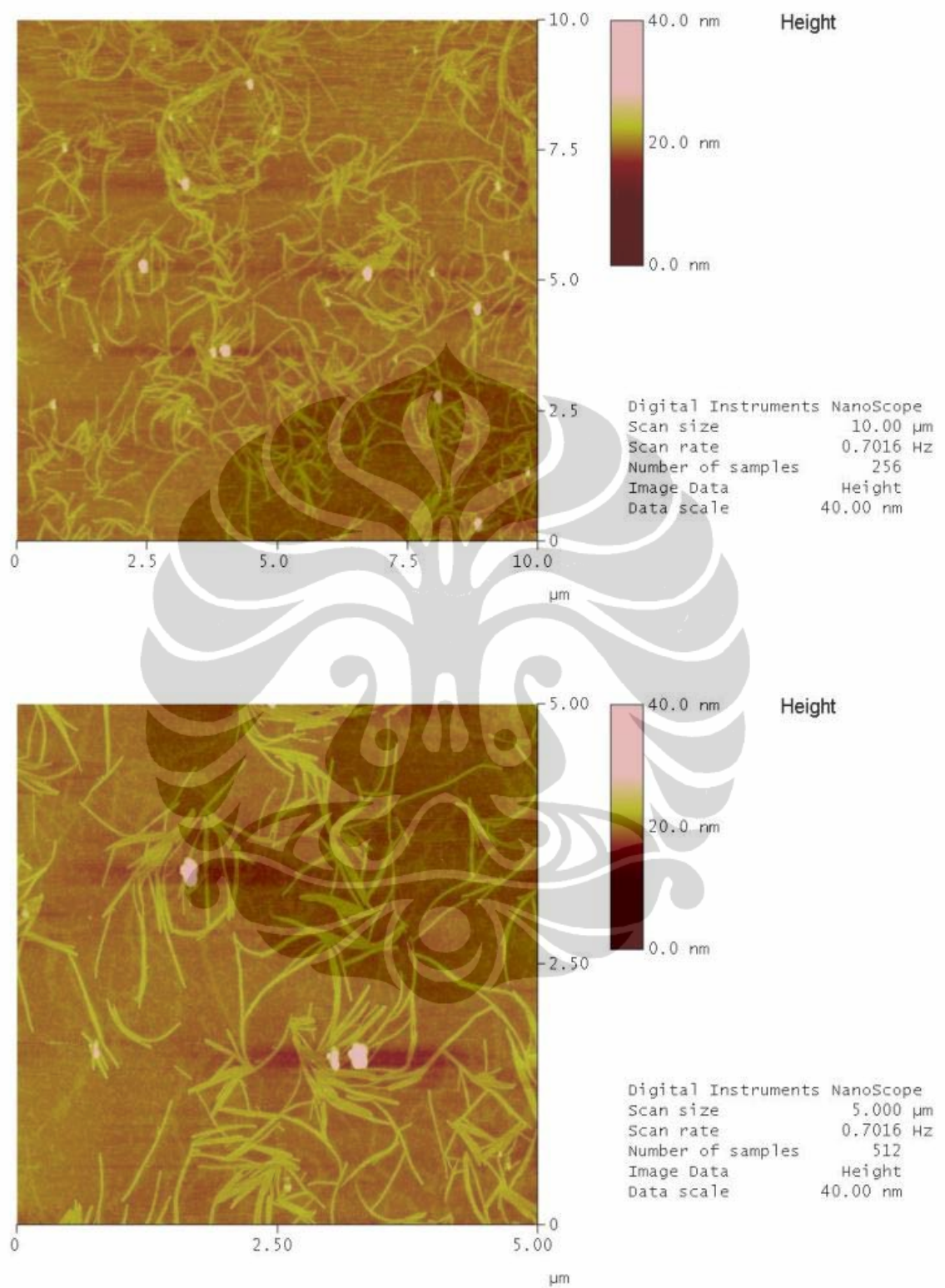
Lampiran 16. Gambar AFM *Self-assembly* PA1

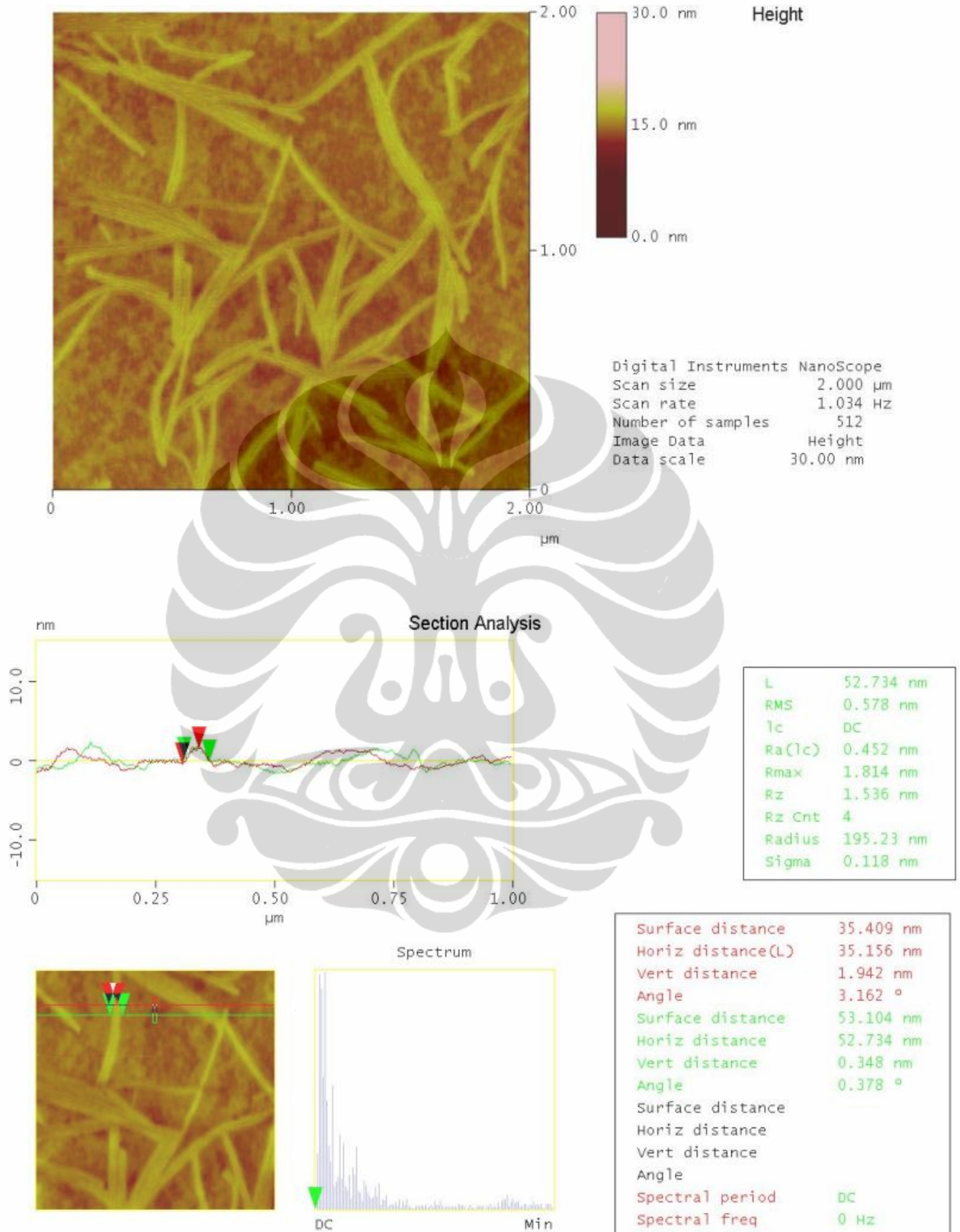


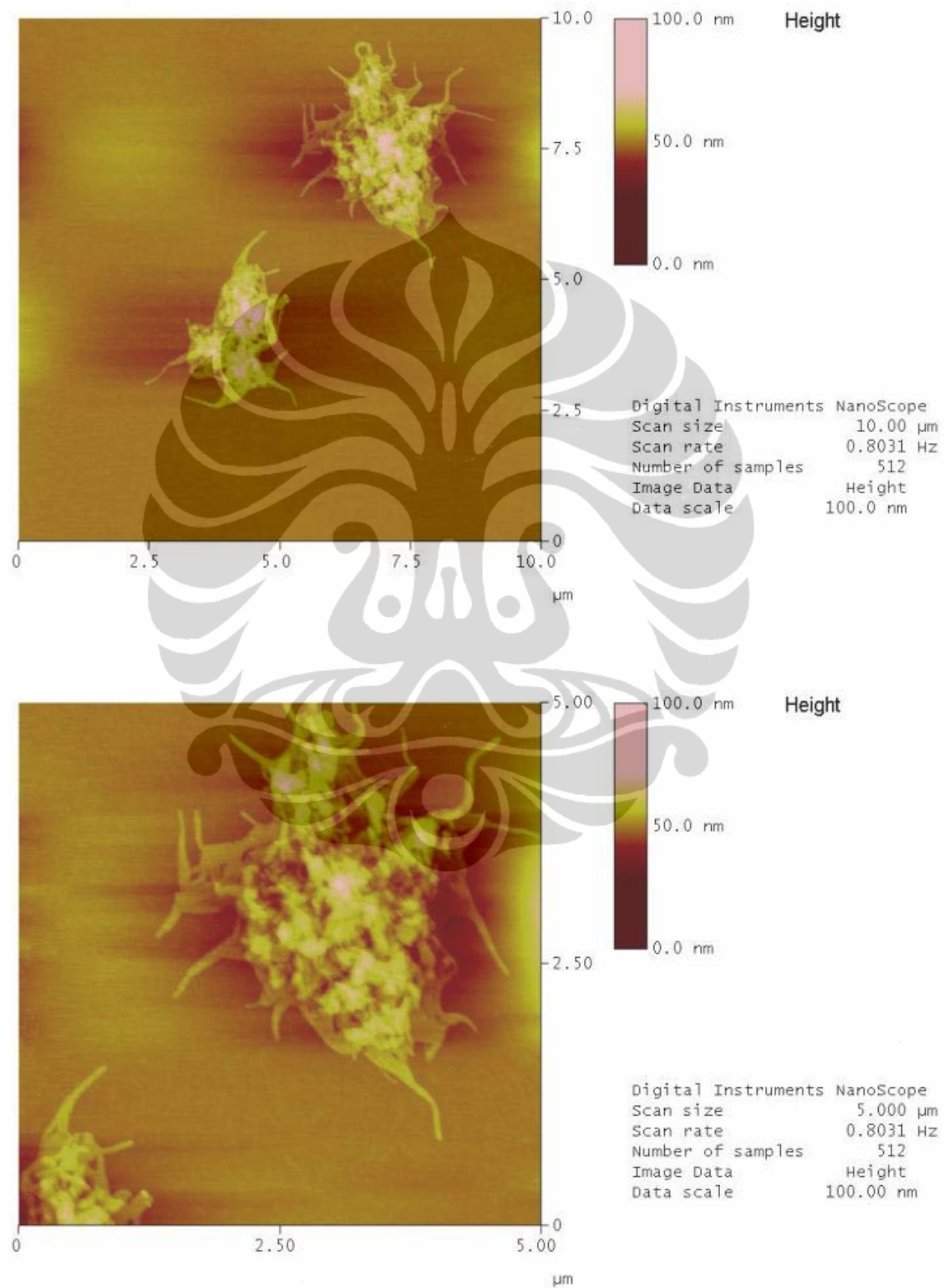


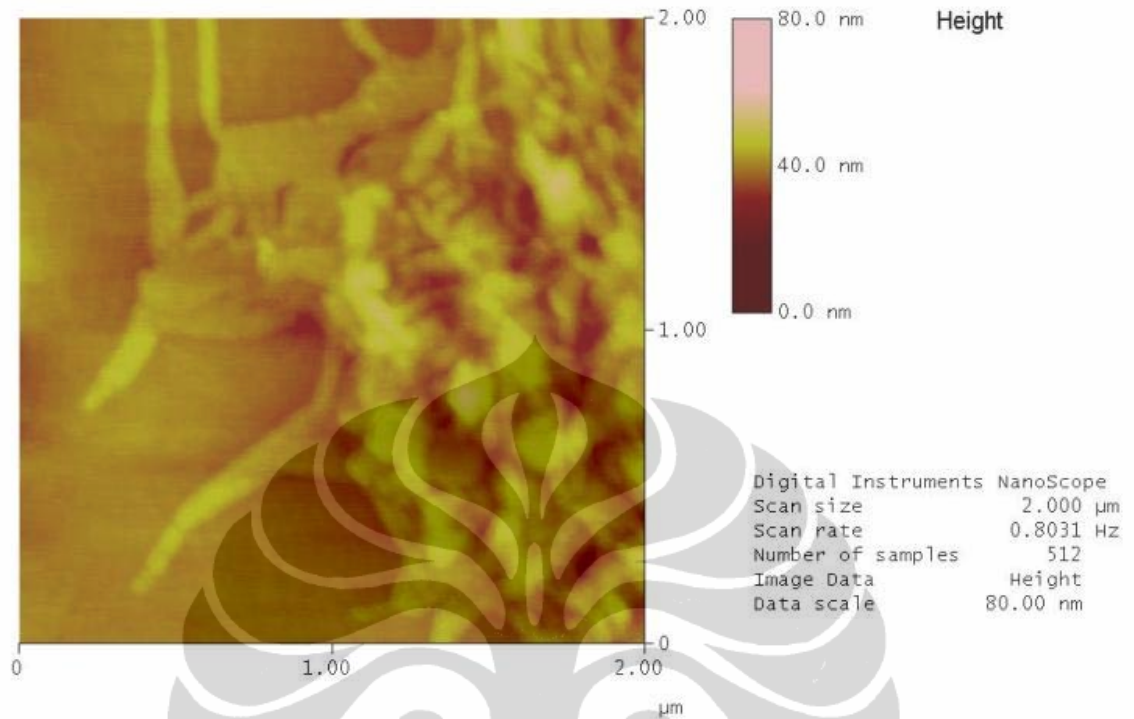


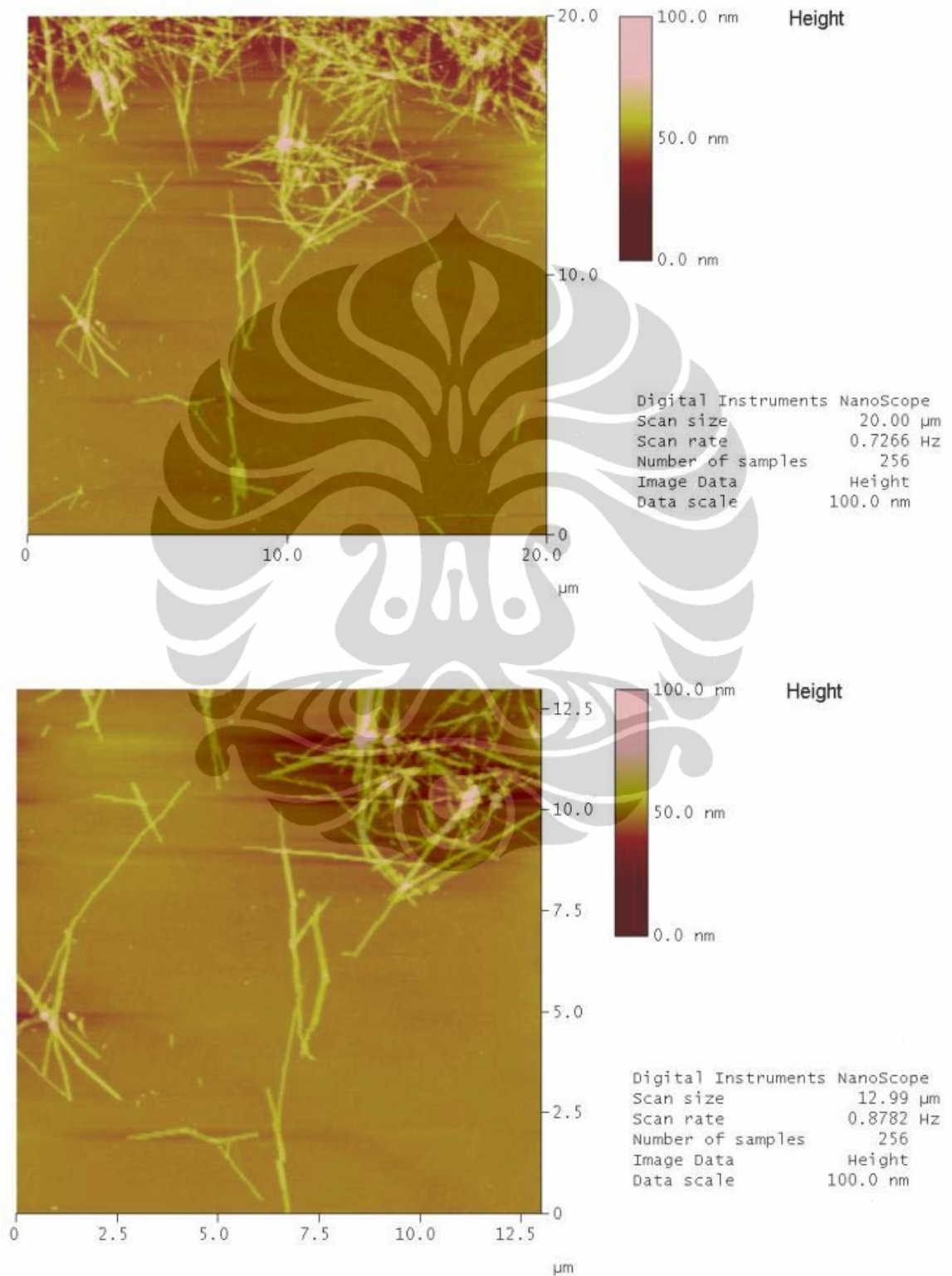
Lampiran 17. Gambar AFM *Self-assembly* PA2

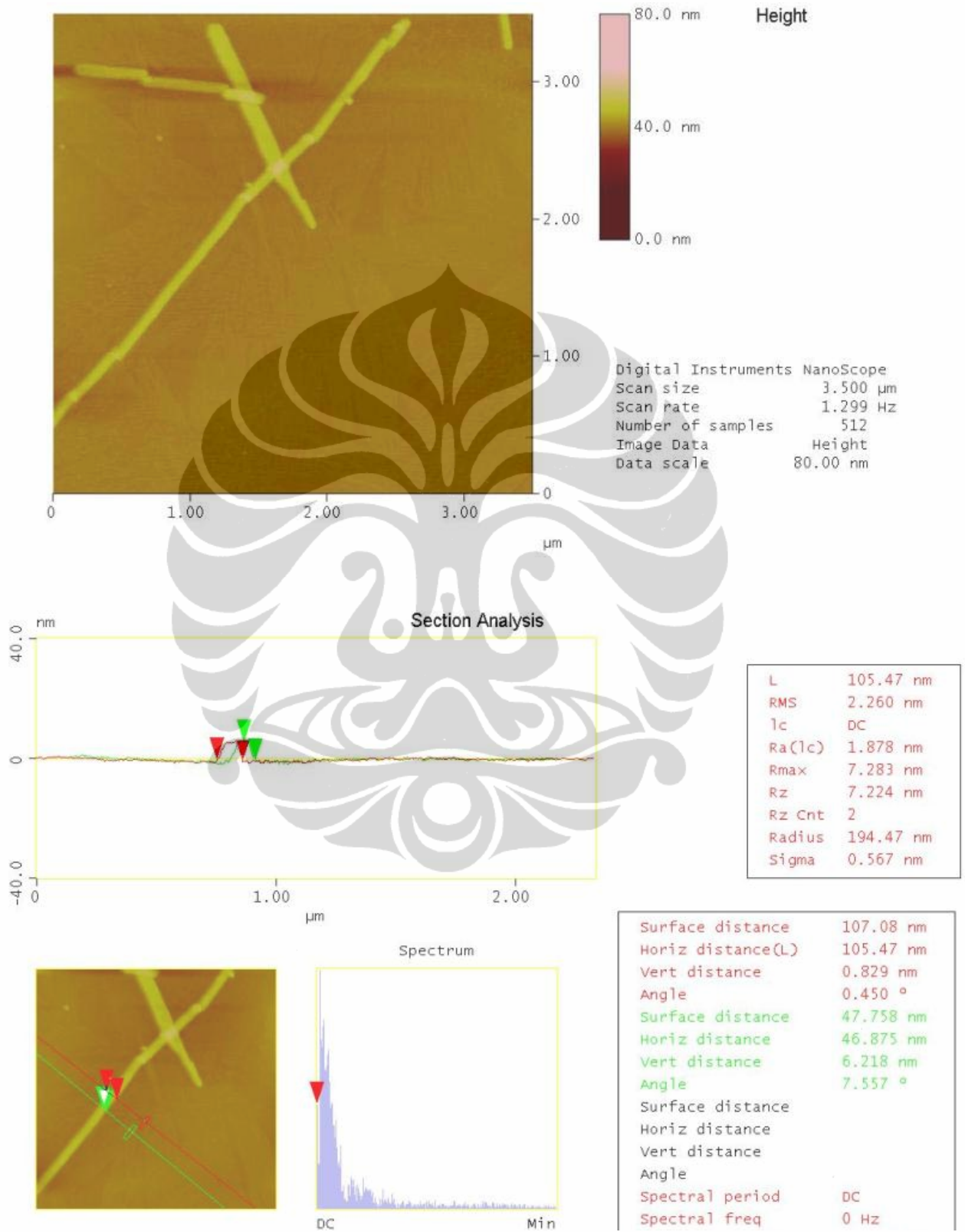


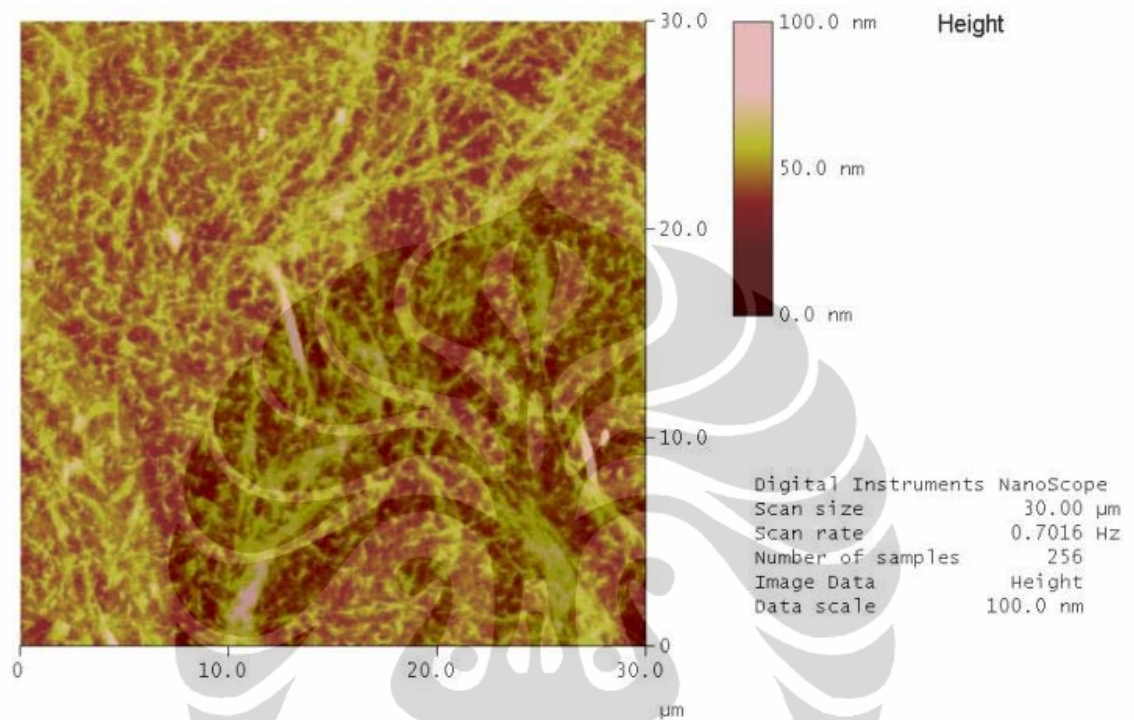


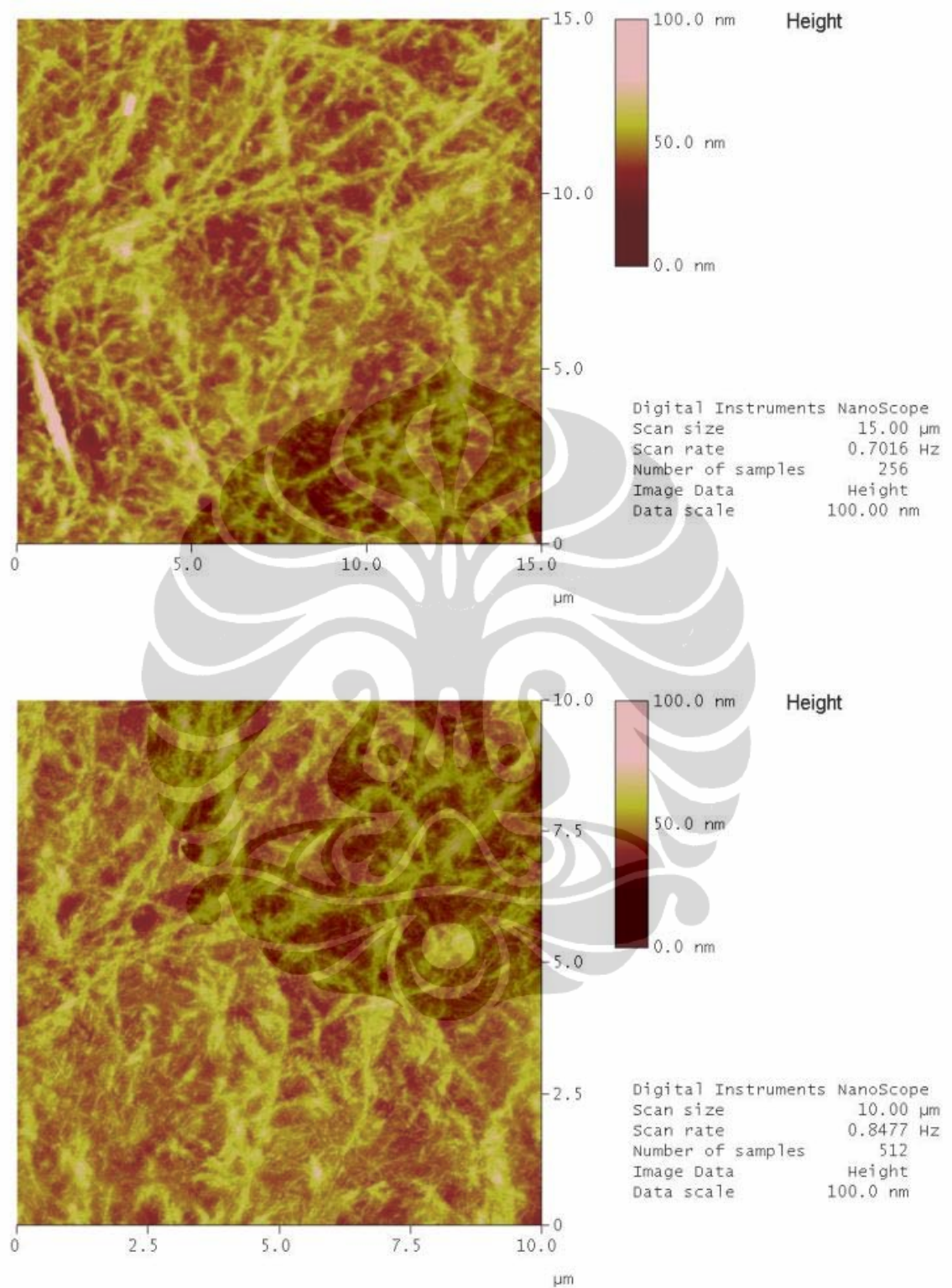
Lampiran 18. Gambar AFM Self-assembly PA3

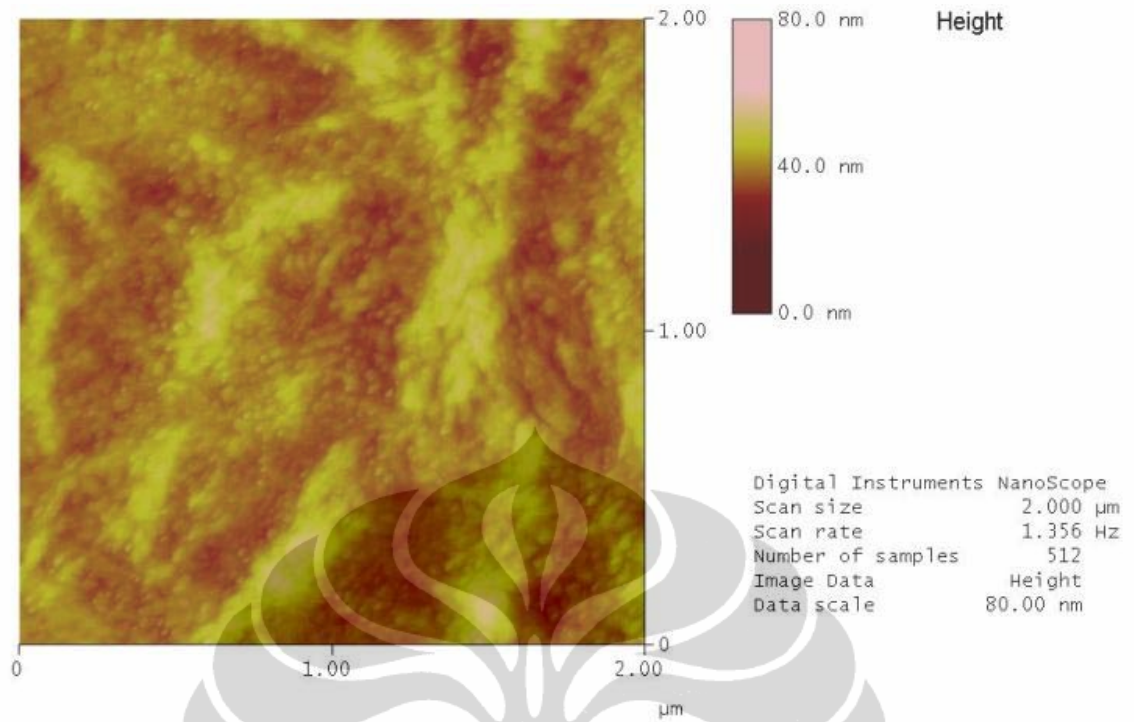


Lampiran 19. Gambar AFM Self-assembly PA4

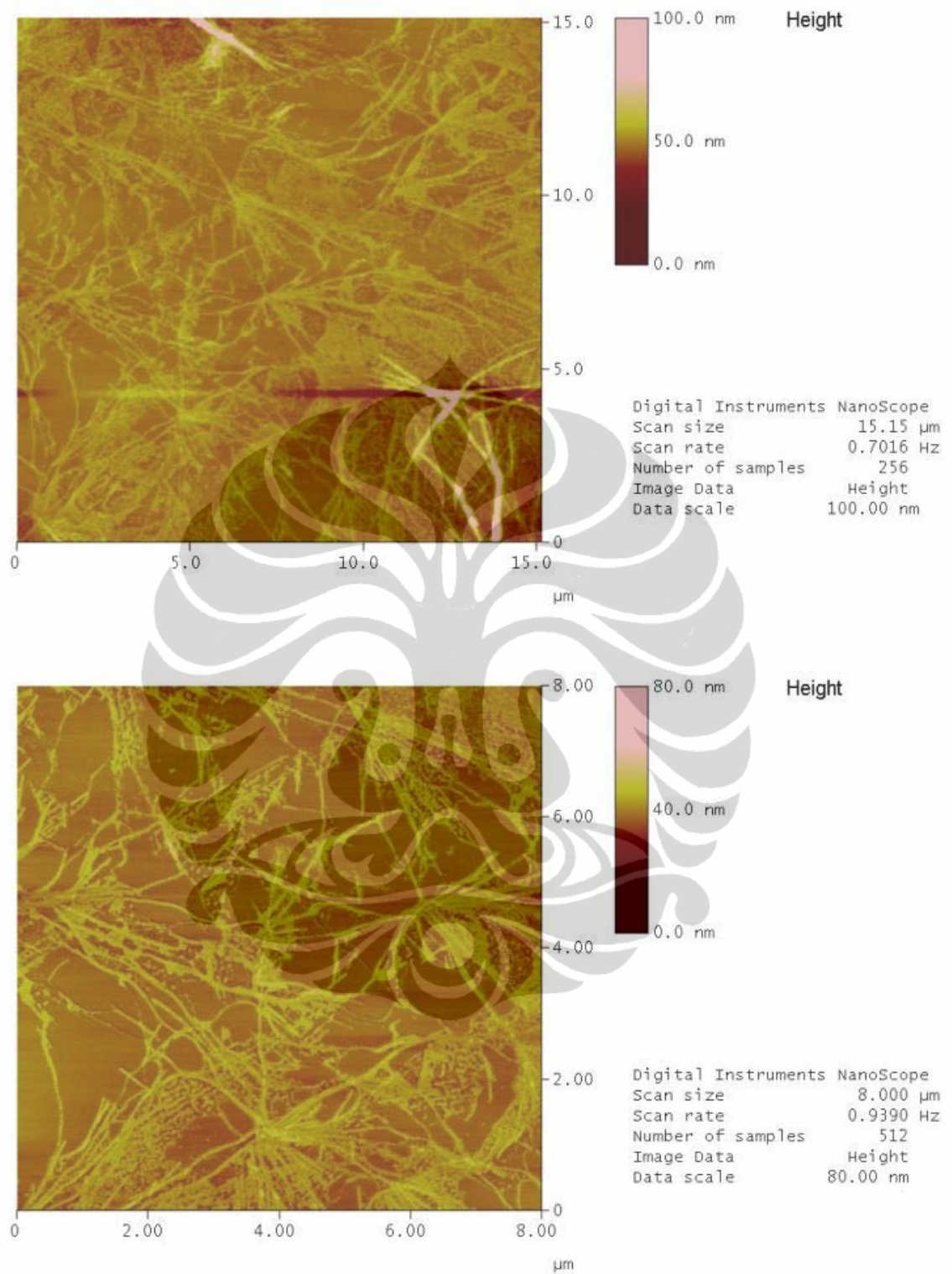


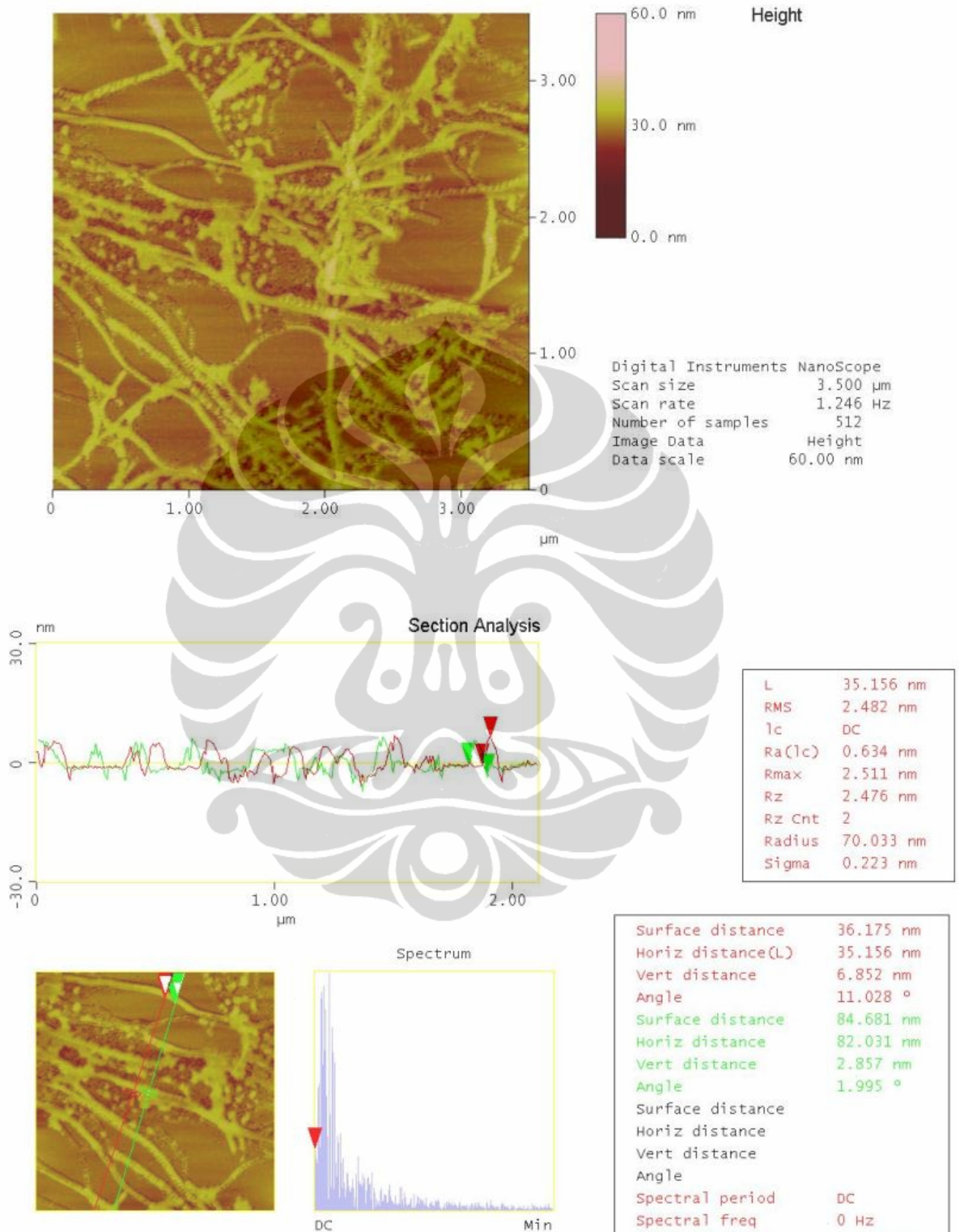
Lampiran 20. Gambar AFM *Self-assembly* PA5





Lampiran 21. Gambar AFM *Self-assembly* PA6





Lampiran 22. Gambar AFM *Self-assembly* PA7

