

Sintesis Tetrapeptida Linear (DPAP) Menggunakan Metode Sintesis Peptida Fasa Padat (SPPS) Dan Aktivitas Insektisidanya Terhadap Ulat Krop Kubis***Synthesis of A Linear Tetrapeptide (DPAP) Using Solid Phase Peptide Synthesis (SPPS) Methode and Insecticidal Activity Toward Cabbage Cluster Caterpillar***Eka Fitri Yanti^{1,2}, Rani Maharani^{3*}¹Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Bondowoso, Jl. Diponegoro No.247 Bondowoso²Program studi Studi Farmasi Stikes Harapan Bangsa Jember, Jl. Slamet Riyadi No.64 Patrang-Jember³Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Padjadjaran Jl. Raya Bandung Sumedang KM.21, Jatinangor

*Corresponding Author: r.maharani@unpad.ac.id

Received: 2020-1-15

Received in revised: 2020-4-30

Accepted: 2020-5-1

Available online: 2020-5-31

Abstract

Crop cabbage worm (*Crocidolomia pavonana*) is one of the pests that has a bad effect on the cabbage production in Indonesia. One of the efforts that has been applied to control this pest is by using bayrusil. However, the bayrusil can cause negative effects such as poisoning and environmentally polluting effects. To prevent the undesired effects, it has been developed the use of environmentally friendly insecticide and one of them is the use of insecticidal peptide. Tripsin-modulating oostatic factor (TMOF) and its analogues is one of the peptides that has an insecticidal activity. The aim of this research is to synthesise a linear tetrapeptide (DPAP) an analogues of TMOF and to test insecticidal activities against crop cabbage worm. A DPAP has been synthesised by Solid Phase Peptide Synthesis on 2-chlorotrytil chloride resin. Fmoc strategy was applied on the synthesis and a combination DIC/Oxime was employed in the coupling reaction. The tetrapeptidyl resin was cleaved by TFA:water:EDT (90:5:5). The peptide was purified by reverse-phase column chromatography and characterized by TOF ES-MS spectroscopy. A linear peptide was biologically tested towards the *C. pavonana*, showing percentage of mortality values at 1000 ppm.

Keywords: Tetrapeptide, TMOF, Solid phase peptide synthesis, 2-chlorotrytil chloride, *Crocidolomia pavonana*.

Abstrak (Indonesian)

Ulat krop kubis (*Crocidolomia pavonana*) merupakan salah satu hama yang dapat menurunkan produksi kubis di Indonesia. Salah satu upaya pengendalian hama ulat krop kubis adalah penggunaan bayrusil. Namun hal ini memiliki dampak negatif yaitu dapat menimbulkan pencemaran udara, gangguan kesehatan dan residu pada produk pangan. Salah satu upaya untuk mengurangi dampak tersebut adalah penggunaan insektisida yang ramah lingkungan seperti insektisida golongan peptida. Tripsin-modulating oostatic factor (TMOF) dan analog merupakan salah satu peptida yang memiliki aktivitas insektisida. Tujuan dari penelitian ini adalah menyintesis linear tetrapeptida (DPAP) yang merupakan analog dari TMOF serta menguji aktivitas insektisida terhadap ulat krop kubis. DPAP telah berhasil disintesis menggunakan metode sintesis peptida fasa padat pada resin 2-klorotritilklorida. Dalam sintesis DPAP digunakan strategi gugus pelindung Fmoc dan kombinasi DIC/Okxime sebagai reagen kopling. Pelepasan peptida dari resin menggunakan TFA:air:EDT (90:5:5), dimana peptida di murnikan menggunakan metode kromatografi kolom terbalik dan dikarakterisasi dengan spektroskopi TOF ES-MS.

Kata Kunci: Tetrapeptida, TMOF, sintesis peptida fasa padat, 2-klorotritilklorida, *Crocidolomia pavonana*.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang terdiri dari beribu-ribu pulau dengan kekayaan hasil alamnya yang memiliki banyak manfaat. Penggunaan bahan alam dipercaya dapat menyembuhkan penyakit, sehingga masyarakat banyak memanfaatkan sebagai pengobatan (Aeni dkk., 2017). Selain itu bahan alam juga dimanfaatkan pada sektor pertanian. Indonesia yang beriklim tropis sangat cocok untuk bidang pertanian. Data menunjukkan lebih dari 26,13 juta rumah tangga memiliki usaha di bidang pertanian. Jika dibandingkan dengan data tahun 2003, jumlah tersebut mengalami penurunan sebesar 5,04 juta rumah tangga (BPS, 2013). Bidang usaha di bidang pertanian sangatlah luas dan tentunya menjadikan hasil pertanian sangat banyak dan beragam. Salah satu hasil pertanian yang melimpah adalah kubis (*Brassica oleracea*).

Berdasarkan Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian pada tahun 2013, produksi kubis di Indonesia pada tahun 2000-2011 mengalami peningkatan sebesar 2,05%. Namun, di pulau Jawa pada tahun 2011 justru mengalami penurunan sebesar 0,33%. Salah satu penyebab penurunan produksi kubis tersebut adalah hama ulat krop kubis (*Crociodolomia pavonana*). Ulat krop kubis dapat menyebabkan penurunan produksi kubis sebesar 65,0% (Sari dan Prijono, 2004). Bahkan pada musim kemarau penurunan produksi kubis mencapai 100% (Uhan, 2007).

Upaya yang sudah dilakukan petani dalam mengendalikan ulat krop kubis adalah penggunaan insektisida sintesis, seperti bayrusil yang merupakan golongan pestisida karbamat (Anonim, 1993). Namun hal ini memiliki dampak negatif yaitu dapat menimbulkan pencemaran udara, gangguan kesehatan dan residu pada produk pangan (Indraningsih, 2008).

Salah satu upaya untuk mengurangi dampak tersebut adalah dengan mengoptimalkan penggunaan bahan alam yang tersedia (Sohilait dkk., 2013). Sehingga penggunaan bahan alam yang memiliki aktivitas insektisida sangatlah mungkin karena lebih ramah lingkungan dan berpotensi mengalami degradasi secara alami (Arnason dkk., 1993). Salah satu insektisida yang dapat digunakan adalah insektisida dari golongan peptida yaitu *trypsin-modulating oostatic factor* (TMOF). TMOF dan beberapa analognya telah terbukti memiliki aktivitas insektisida pada larva nyamuk (Borovsky, 2003) dan larva *Tobacco budworm* (*Heliothis virescens*; Lepidoptera) (Nauen dkk., 2002) yang bekerja melalui penghambatan biosintesis tripsin.

TMOF merupakan suatu decapeptida (Pro-Pro-Pro-Pro-Pro-Ala-Pro-Asp-Tyr) yang dapat diisolasi dari ovarium nyamuk *Aedes aegypti* betina (Borovsky dkk., 1993). Namun, Produksi TMOF lebih efisien dengan sintesis dibandingkan dengan mengisolasi dari ovarium nyamuk *A. aegypti* betina untuk beberapa alasan di antaranya yaitu prosedur kerja yang cukup panjang sehingga membutuhkan waktu yang cukup lama.

TMOF telah berhasil disintesis dengan menggunakan metode sintesis peptida fasa larutan (Borovsky dan Nauen, 2007). Namun sintesis TMOF dan analog menggunakan metode sintesis fasa larutan memiliki beberapa kelemahan, misalnya membutuhkan material awal banyak, secara teknis menghabiskan banyak waktu karena setiap tahap reaksi membutuhkan pemurnian, dan efisiensi kopling kurang dari 90% (Walker dan Rapley, 2008). Sintesis peptida juga dapat dicapai menggunakan metode sintesis peptida fasa padat. Sintesis peptida fasa padat merupakan suatu teknik sintesis peptida menggunakan penyangga padat. SPPS memiliki beberapa keuntungan diantaranya tidak dibutuhkan pemurnian pada setiap tahap reaksi, sehingga waktu sintesis yang dibutuhkan lebih sedikit (Scott, 2009).

TMOF dan analog (YDPAPPP, PP, PPPPPP, APPPPPP) telah berhasil disintesis menggunakan metode SPPS. TMOF dan analog hasil sintesis menunjukkan aktivitas insektisida dengan persentase mortalitas sebesar 13,33%, 30%, 23,33%, 30% dan 23,33% terhadap *Crociodolomia pavonana* (Maharani dkk., 2015; Maharani dan Yanti, 2016; Maharani dkk., 2016). Berdasarkan (Borovsky, 2003), analog tetrapeptida DPAP (H-Asp-Pro-Ala-Pro-OH) dari TMOF memberikan aktivitas insektisida terhadap larva nyamuk yang cukup signifikan. Sehingga pemilihan analog DPAP diharapkan memiliki aktivitas insektisida yang lebih baik dibandingkan TMOF dan analog lainnya yang telah disintesis.

Senyawa DPAP disintesis menggunakan metode sintesis fasa padat dengan strategi Fmoc, seperti yang diaplikasikan pada sintesis TMOF dan analog ((YDPAPPP, PP, PPPPPP, APPPPPP). Senyawa DPAP hasil sintesis akan dimurnikan menggunakan kromatografi fasa terbalik dan dikarakterisasi dengan spektroskopi massa. Sintesis senyawa tetrapeptida DPAP menggunakan metode SPPS belum pernah dilakukan, sehingga diharapkan dapat memberikan informasi baru tentang insektisida dari golongan peptida yang lebih mudah disintesis.

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung sintesis peptida fasa padat, *freeze dryer*, *rotary evaporator*, *shaking incubator*, desikator, *analytical* (RP-HPLC), spektrometer massa, dan alat gelas yang umum digunakan di laboratorium. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah resin 2-klorotritil klorida, diklorometana (DCM), dimetilformamida (DMF), *N-N*-diisopropilkarbodiimida (DIC), *N-N*-diisopropiletilamina (DIPEA), Fmoc-prolin-OH, Fmoc-alanin-OH, Fmoc-asam aspartat(*t*-Bu)-OH, *trifluoroacetic acid* (TFA), etil 2-siano-2-(hidroksiimino)asetat/oksima, eter, *n*-heksana, metanol, piperidin, kloroform, asam asetat, kloranil, asetaldehid, silica GF₂₅₄, ODS RF18, plat ODS, plat silica GF₂₅₄ dan larva *Crociodolomia pavonana* instar pertama.

Prosedur kerja

Penempelan asam amino pertama pada resin

Sebanyak 0,5 g resin 2-klorotritil klorida (1,0-1,6 mmol klorida/g resin) disuspensikan kedalam ke dalam larutan DCM, kemudian dikocok selama 5 menit dan disaring. Larutan 0,5 mmol Fmoc-P-OH dan 1,25 mmol DIPEA dilarutkan dalam 4 mL DCM ditambahkan ke resin yang kemudian dikocok selama 30 menit pada suhu ruang. Resin disaring, kemudian dicuci dengan DMF dan DCM. Sebanyak 5 mL campuran larutan DCM/metanol/DIPEA (80:15:5) di tambahkan ke resin yang kemudian dikocok selama 10 menit. Resin di saring dan perlakuan diulangi sekali lagi. Resin dicuci dengan DMF dan DCM lalu disaring.

Pelepasan gugus pelindung Fmoc

Reagen pelepas gugus pelindung Fmoc (piperidin 25% dalam DMF(v/v)) ditambahkan hingga resin terendam dan campuran reaksi dikocok selama 2 menit yang kemudian reagen pelepas gugus pelindung dikeluarkan dengan cara filtrasi. Reagen pelepas gugus pelindung yang baru ditambahkan kembali, dikocok, dan dikeluarkan. Perlakuan ini dilakukan hingga 4-5 kali. Lepasnya gugus pelindung Fmoc ditandai dengan tidak adanya noda pada uji KLT di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm. Setelah itu resin dicuci dengan DMF dan DCM.

Penyusunan fragmen peptida

Sebanyak 0,8077 g Fmoc-Alanin-OH (4 ekuivalen) dan 0,3682 g oksima (4 ekuivalen) ditambahkan 5 mL DMF dan dikocok hingga larut. Sebanyak 0,4456 mL DIC (4 ekuivalen) ditambahkan

dan diaduk secara menyeluruh hingga larutan berwarna kuning dan larutan tidak panas. Larutan dicampurkan dengan resin dalam tabung sintesis dan diaduk perlahan selama 24 jam (overnight). Keberhasilan sintesis ditunjukkan dengan uji kloranil. Hasil uji negatif (reaksi kopling sempurna) ditunjukkan dengan larutan tidak berwarna dengan butiran resin berwarna kekuning-kuningan. Selanjutnya resin dicuci menggunakan DMF dan DCM. Lalu dilanjutkan ke tahap pelepasan gugus Fmoc. Urutan asam amino berikutnya yaitu, Fmoc-prolin-OH dan Fmoc-Asp(*t*-bu)-OH, disusun menggunakan prosedur kopling dan pelepasan gugus pelindung Fmoc hingga didapatkan rantai peptida yang sesuai.

Pelepasan Peptida Dari Gugus Samping dan Resin

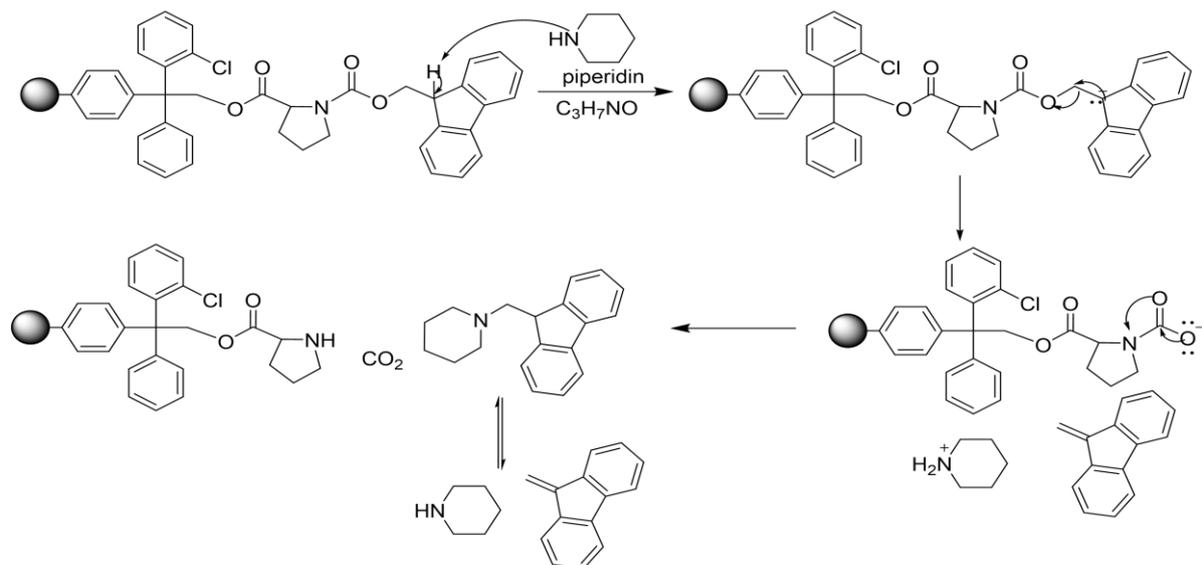
Peptida yang telah disusun kemudian dilepas dari resin menggunakan 10 mL campuran TFA : air : EDT (90:5:5) dalam diklorometana dan diaduk selama 45 menit pada suhu ruang. Lepasnya peptida dari resin ditandai dengan berubahnya warna resin menjadi merah terang. Resin disaring dan dicuci menggunakan 7 mL TFA campuran TFA : air : EDT (90:5:5) dalam diklorometana. Filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan rotary evaporator. Padatan peptida yang diperoleh kemudian dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer massa.

Uji Aktivitas Biologi Terhadap Ulat Krop Kubis

Uji ini bertujuan untuk menentukan korelasi antara konsentrasi sampel dengan tingkat kematian dari larva *C.pavonana*. Sampel diujikan pada konsentrasi 1000 ppm. Dua pasang daun kubis dengan ukuran 4x4 cm direndam dalam campuran larutan dan dikeringkan. Setelah larutan diuapkan, dua pasang daun ditempatkan dalam cawan petri dengan diameter 9 cm dan dibungkus dengan kertas saring. Kemudian setelah 10 detik, larva *C. pavonana* instar pertama ditempatkan pada setiap cawan petri. Setiap hari larva diberi makan daun tanpa perlakuan hingga mencapai instar 4. Observasi selesai setelah perlakuan selama 48 jam hingga larva mencapai instar ke 4.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintesis senyawa tetrapeptida (DPAP) dilakukan dengan menggunakan metode sintesis peptida fasa padat dengan strategi Fmoc. Skema sintesis peptida dengan metode SPPS dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu *loading resin*, deproteksi gugus pelindung, kopling dan pelepasan peptida dari resin (*cleavage*), seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 3. Reaksi pelepasan gugus Fmoc dari asam amino sehingga membentuk gugus amino bebas (Chan dan White, 2000).

Reaksi pengikatan asam amino pada resin dilakukan selama 4 jam. Hal ini bertujuan untuk memaksimalkan pengikatan asam amino pada resin. Tahap selanjutnya adalah menambahkan metanol, yang bertujuan untuk menutup gugus aktif resin yang belum berikatan dengan asam amino dengan gugus metoksi. Pengikatan gugus metoksi ini bertujuan agar asam amino selanjutnya tidak terikat pada gugus aktif resin yang masih tersisa, melainkan perpanjangan rantai peptida pada asam amino prolin yang telah terikat pada resin.

(254 nm). Hal ini dikarenakan gugus pelindung Fmoc memiliki dua cincin benzena dengan elektron π yang terdelokalisasi diantara kedua cincin benzena tersebut. Delokalisasi elektron π menyebabkan gugus pelindung Fmoc berpendar di bawah sinar UV (254 nm).

Penyusunan Peptida Linear

Penyusunan rantai peptida menggunakan kombinasi reagen kopling DIC/oksimia. Penggunaan reagen kopling DIC/oksimia dipilih karena memiliki

Tabel 1. Uji aktivitas insektisida senyawa DPAP terhadap *C. Pavonana*

perlakuan	0 jam		24 jam		48 jam		72 jam		96 jam		Mortaliti (%)
	Hidup	mati	Hidup	mati	Hidup	mati	Hidup	mati	Hidup	mati	
Kontrol	30	0	30	0	30	0	30	0	29	1	3,33
DPAP	30	0	30	0	30	0	28	2	28	2	13,33

Pelepasan gugus pelindung Fmoc

Pelepasan gugus pelindung Fmoc dilakukan dengan menambahkan 20% piperidin dalam DMF selama 30 menit. Reaksi (Gambar 3) dimulai dengan pengambilan atom hidrogen dari cincin fluorena oleh piperidin yang berperan sebagai basa, sehingga terbentuk intermediet aromatik siklopentadiena. Intermediet ini mudah terurai menjadi senyawa dibenzofulvena dan karbonkdioksida, sehingga dihasilkan suatu gugus amino bebas (Chan dan White, 2000).

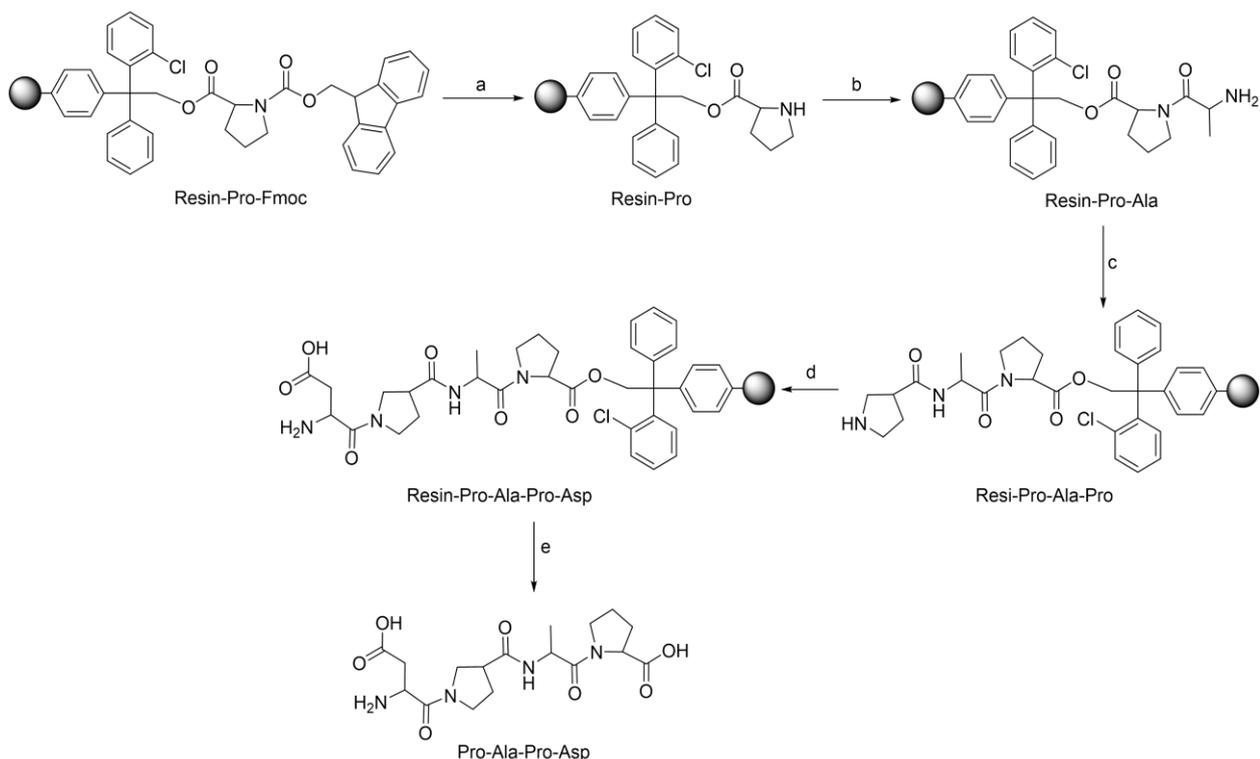
Lepasnya gugus pelindung Fmoc dapat dimonitoring dengan tidak adanya noda pada kromatografi lapis tipis (KLT) dibawah sinar UV

kemampuan menekan rasemisasi dan memiliki efisiensi kopling tinggi. Langkah pertama yang dilakukan yaitu menambahkan reagen kopling oksima ke asam amino kedua (Fmoc-Ala-OH), serta melarutkan kedua campuran tersebut dalam pelarut DMF. Selanjutnya DIC ditambahkan ke dalam campuran reaksi dan dikocok hingga terjadi perubahan warna, suhu dan kekentalan. Perubahan ini menunjukkan bahwa ester aktif oksima asam amino Fmoc-Ala-OH telah terbentuk.

Keberhasilan kopling ditunjukkan dengan berubahnya warna resin menjadi biru pada uji kloranil. Hal ini disebabkan gugus NH (amina sekunder) telah bereaksi dengan kloranil. Sedangkan

pada uji KLT kesempurnaan reaksi ditandai dengan munculnya noda pada panjang gelombang 254 nm yang berasal dari gugus pelindung Fmoc dari asam amino kedua. Hasil identifikasi uji kloranil dan KLT yang saling mendukung menunjukkan reaksi kopling sudah sempurna. Langkah selanjutnya adalah deproteksi Fmoc menggunakan piperidin 20% dalam DMF.

Senyawa tetrapeptida dilepaskan dari resin menggunakan 10 mL campuran TFA : air : EDT (90:5:5) dalam diklorometana selama 45 menit. Lepasnya peptida dari resin ditandai dengan berubahnya warna resin menjadi merah terang. Filtrat yang diperoleh disaring dan dipekatkan, sehingga didapatkan krud sebanyak 205 mg. Selanjutnya, sampling sedikit krud dari peptida untuk dilakukan uji



Gambar 4. Skema sintesis DPAP (a) 25% piperidin dalam DMF, 30 menit (b) (1) Fmoc-Pro, DIC/oksimia, DMF (2) 25% piperidin dalam DMF, 30 menit (c) (1) Fmoc-Ala, DIC/oksimia, DMF (2) 25% piperidin dalam DMF, 30 menit (d) Fmoc-Asp, DIC/oksimia, DMF (2) 25% piperidin dalam DMF, 30 menit (e) TFA:air:EDT (90:5:5)

Penambahan dua asam amino selanjutnya dilakukan dengan tahapan reaksi yang sama dengan sebelumnya (kopling dan deproteksi Fmoc). Skema sintesis senyawa tetrapeptida DPAP secara lengkap ditunjukkan pada Gambar 4.

Pelepasan Peptida Dari Gugus Samping dan Resin

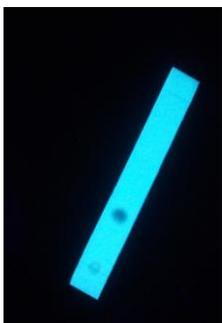
Sebelum pelepasan peptida dari resin, dilakukan sampling resin-Pro-Ala-Pro-Asp-NH ditambahkan beberapa tetes TFA : air : EDT (90:5:5) dalam diklorometana. Kemudian larutan dianalisis menggunakan TOF ES-MS yang memberikan puncak ion molekul senyawa DPAP $[M+H]^+$ pada 399,0171. Adanya puncak senyawa DPAP menunjukkan sintesis berhasil sehingga peptida siap untuk dilepaskan dari resin.

KLT yang bertujuan kemurnian peptida yang dihasilkan.

Hasil uji KLT menunjukkan banyaknya noda sehingga menunjukkan senyawa peptida belum murni, sehingga dilakukan pemurnian menggunakan kromatografi fasa terbalik dengan ODS (oktadesil) yang bersifat non polar. Penggunaan kromatografi fasa terbalik karena peptida yang memiliki banyak gugus polar berpotensi membentuk ikatan hidrogen dengan gugus silanol pada silika gel dan terbentuk ekor yang lebar, sehingga peptida akan sulit terpisah dari pengotornya.

Oleh sebab itu digunakan ODS yang merupakan gugus non polar (C_{18}). Pada struktur ODS masih memiliki gugus SiO yang berpotensi berikatan hidrogen dengan peptida. Namun dalam hal ini

ditambahkan TFA pada eluen yang bertujuan untuk memprotonasi gugus silan sehingga menekan adanya ikatan hidrogen (Chan dan White, 2000).

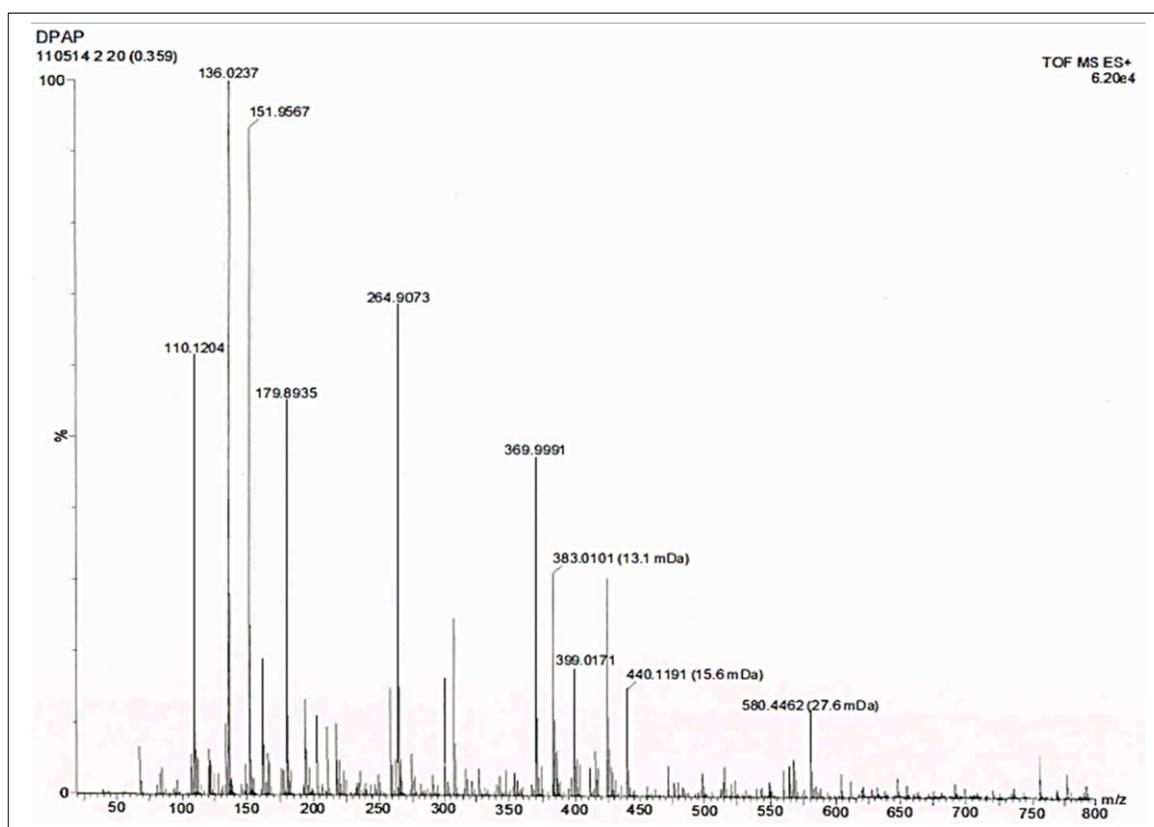


Gambar 5. Hasil uji KLT dengan ODS dari DPAP

Peptida hasil pemurnian selanjutnya diuji KLT menunjukkan adanya satu noda yang berarti peptida telah murni (Gambar 5). Senyawa peptida murni yang didapatkan berupa serbuk putih dengan berat 86,4 mg.

senyawa tetrapeptida PADY. Kedua senyawa tetrapeptida ini hanya memiliki satu asam amino yang berbeda yaitu tirosin pada PADY digantikan dengan prolin pada DPAP. Pada sintesis PADY menunjukkan adanya puncak ion molekul $[M+H]^+$ pada 465,1917 dan $[M+Na]^+$ 487,1471 (Sumiarsa dkk., 2019). Dengan demikian, hasil karakterisasi spektroskopi massa telah dapat memastikan bahwa senyawa target (DPAP) telah berhasil disintesis menggunakan metode SPPS dengan rendemen 10,85%.

Senyawa peptida H-Pro-Ala-Pro-Asp-NH murni kemudian dilakukan uji hayati terhadap ulat krop kubis (*C. pavonana*). Konsentrasi senyawa peptida yang digunakan adalah 1000 ppm dengan dosis 200 μ L yang dioleskan pada daun kubis berukuran 4x4 cm. Observasi dilakukan selama 48 jam hingga larva mencapai instar ke 4. Persentasi mortalitas penghambatan pertumbuhan ulat krop kubis oleh senyawa peptida sebesar 13,33% (Tabel 1). Hasil ini



Gambar 6. Hasil analisis spektrofotometer massa (TOF ES-MS) senyawa H-Pro-Ala-Pro-Asp-NH yaitu adanya puncak ion molekul $[M+H]^+$ pada 399,0171.

Peptida murni tersebut selanjutnya di analisis menggunakan TOF ES-MS, larutan dianalisis menggunakan TOF ES-MS yang memberikan puncak ion molekul $[M+H]^+$ pada 399,0171 (Gambar 6). Data tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya yaitu

menunjukkan bahwa senyawa peptida H-Pro-Ala-Pro-Asp-NH tidak efektif dalam mengontrol dan menghambat pertumbuhan ulat krop kubis (*C. pavonana*).

KESIMPULAN

Senyawa tetrapeptida linear (DPAP) berhasil disintesis menggunakan metode sintesis peptida fasa padat (SPPS) dengan rendemen yang dihasilkan sebesar 10,85%. Keberhasilan sintesis ditunjukkan dengan analisis menggunakan TOF ES-MS yang memberikan puncak ion molekul senyawa DPAP $[M+H]^+$ pada 399,0171. Senyawa tetrapeptida linear (DPAP) tidak efektif dalam mengontrol dan menghambat pertumbuhan larva ulat krop kubis (*C. pavonana*) dengan persentasi mortalitas 13,33%.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada Indonesian Toray Science Foundation (ITSF) yang telah memberikan hibah penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Arnason, J. T., Mackinnon, S., Durst, A., Philogene, B. J. R., Hasbun, C., Sanchez, P., Poveda, L., Roman, L. S., Isman, M. B., Satasook, C., Towers, G. H. N., Wiriyachitra, P., and McLaughlin, J. L., 1993. Insecticides in Tropical Plants with Non-neurotoxic Modes of Action. *Conference Proceedings*. Phytochemical Potential of Tropical Plants, Downum K.R., Romeo J.T., Stafford H.A.: Springer, Boston, MA, 107-131.
- Borovsky, D., 2003. Trypsin-Modulating Oostatic Factor: a Potential New Larvicide for Mosquito Control. *J. Experimental Bio.*, 206 (21), 3869-3875.
- Borovsky, D., Carlson, D. A., Griffin, P. R., Shabanowitz, J., and Hunt, D. F., 1993. Mass Spectrometry and Characterization of *Aedes Aegypti* Trypsin Modulating Oostatic Factor (TMOF) and Its Analogs. *Insec Biochem. Molec. Biol.*, 23 (6), 703-712.
- Borovsky, D., and Nauen, R., 2007. Biological and Biochemical Effect Of Organo-Synthetic Analogues Of Tripsin Modulating Oostatic Factor (TMOF) on *Aedes aegypti*, *Heliothis virescent* and *Plutella xylostella*, *Pestycydy*, 3 (4), 17-26.
- BPS., 2013. *Data Sosial Ekonomi [Laporan Bulanan]*, Badan Pusat Statistik, Republik Indonesia, Jakarta.
- Chan, W. C., and White, P. D., 2000. *Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis*. New York: Oxford University Press.
- Aeni H.M., N., Soekamto, N. H., dan Firdaus., 2017. Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Kloroform Kulit Batang *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia* dengan Metode *Bhrine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Indo. J. Chem. Res.*, 4 (2), 382-385.
- Indraningsih, 2008. Pengaruh Penggunaan Insektisida Karbamat Terhadap Kesehatan Ternak dan Produknya, *Wartazoa*, 18 (2), 101-114.
- Anonim, 1993. *Budidaya Tanaman Kubis*. Lembar Informasi Pertanian (LIPTAN) BIP Irian Jaya, Jayapura.
- Maharani, R., Hardianto, A., Ishmayana, S., Yanti, E. F., M, D. I. M., Sihotang, D., Puspitasari, L. T., and Dono, D., 2016. Synthesis Of Three Analogues Of Trypsin-Modulating Oostatic Factor (TMOF) And Screening Of Their Insecticidal Properties Towards Cabbage Cluster Caterpillar, *Inter. J. Scientific & Tech. Res.*, 5 (05), 147-150.
- Maharani, R., dan Yanti, E. F., 2016. Sintesis Heptapeptida Linear (H-Tyr-Asp-Pro-Ala-Pro-Pro-OH) Dengan Menggunakan DIC/Oksima Sebagai Reagen Pengkopling. *Al-Kimia*, 4 (1), 1-12.
- Maharani, R., Yanti, E. F., M, D. I. M., and Sihotang, D., 2015. Synthesis of Trypsin-modulating Oostatic Factor (TMOF) and its analogues by Solid-phase Peptide Synthesis Using DIC/Oxyma as Coupling Reagent, *Procedia Chem.*, 17, 125-131.
- Nauen, R., Sorge, D., Sterner, A., and Borovsky, D., 2002. TMOF-Like Factor Controls the Biosynthesis of Serine Proteases in the Larval Gut of *Heliothis virescens*, *Archives of Insect Biochem. and Phy.*, 49, 65.
- Sari, N. J., and Prijono, D., 2004. Perkembangan dan Reproduksi *Crocidolomia pavonana* (F.) (Lepidoptera: Pyralidae) pada Pakan Alami dan Semi Buatan, *Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*, 4 (2): 53-61.
- Scott, P. J. H., 2009. *Linker Strategies in Solid-Phase Organic Synthesis*, Wiley & Sons Ltd. Chichester.
- Sohilait, M. R., Sohilait, H. J., dan Fransina, E., 2013. Sintesis Senyawa Tabir Surya 3,4-metilendioksi Isoamil Sinamat Dari Minyak Kulit LAwang. *Indo. J. Chem. Res.*, 1 (1), 1-5.
- Sumiarsa, D., Marpaung, C., Zainuddin, A., Hidayat, A. T., Harneti, D., Nurlelarsi, Supratman, U., dan Maharani, R., 2019. Sintesis Tetrapeptida PADY menggunakan Metode fasa Padat dan Aktivitas Antioksidannya, *J. Kimia Valensi*, 5 (1), 87-96.

Uhan, T. S., 2007. Efikasi Ekstrak Kasar Baculovirus *Crocildolomia Pavonana* terhadap Ulat Krop Kubis di Rumah Kaca, *Hort*, 17 (3), 253-260.

Walker, J. M., and Rapley, R., 2008. *Molecular Biomethods Handbook, 2nd Edition*. Humana Press. Totowa.