

Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Menggunakan Metode DPPH dari Hidrolisat Protein *Maggot BSF (Hermetia illucens L.)*

Fahre Wicaksono Riyanto *, Vinda Maharani Patricia, Yani Lumayani

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

fahrewicaksono20@gmail.com, solanum.tuberosum89@gmail.com, Lukmayani@gmail.com

Abstract. BSF maggot (*Hermetia illucens L.*) is an effective biodegradant in treating organic waste, producing high-value biomass rich in proteins known to have antioxidant activity. Oxidative stress due to the presence of free radicals is a common problem. This study aims to determine the antioxidant activity of Maggot BSF protein hydrolysate using DPPH method. The drying method used was freeze drying and oven, then the protein was hydrolyzed with alkalase, pepsin, and trypsin enzymes. The antioxidant activity testing method used DPPH method. The results of this study showed that antioxidant activity with IC₅₀ values on protein hydrolysates of alkalase, pepsin, and trypsin enzymes were 111.83 ppm; 17.05 ppm; and 71.74 ppm, respectively.

Keywords: *BSF, DPPH, Freeze Dry, Protein Hydrolysate, Oven.*

Abstrak. *Maggot BSF (Hermetia illucens L.)* merupakan biodegradasi yang efektif dalam mengolah limbah organik, menghasilkan biomassa bernilai tinggi kaya akan protein yang diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Stress oksidatif karena adanya radikal bebas merupakan masalah yang sering terjadi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan hidrolisat protein *Maggot BSF* dengan metode DPPH. Metode pengeringan yang digunakan adalah *freeze drying* dan oven, kemudian protein dihidrolisis dengan enzim alkalase, pepsin, dan tripsin. Metode pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ pada hidrolisat protein enzim alkalase, pepsin, dan tripsin secara berturut-turut sebesar 111,83 ppm; 17,05 ppm; dan 71,74 ppm.

Kata Kunci: *BSF, DPPH, Freeze Dry, Hidrolisat Protein, Oven.*

A. Pendahuluan

Perubahan cuaca yang semakin tidak menentu dan meningkatnya polusi udara menimbulkan tantangan besar, terutama karena kondisi tersebut memperbesar risiko stres oksidatif pada manusia. Stres oksidatif, yang disebabkan oleh ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh, sering kali menjadi faktor utama yang memicu penuaan dini dan berbagai penyakit degeneratif, seperti penyakit kardiovaskular, diabetes, hingga kanker (Wulandari et al., 2020; Zalukhu, 2016).

Salah satu solusi yang menarik perhatian adalah pemanfaatan *Black Soldier Fly* (BSF) atau *maggot*. *Maggot BSF* dikenal sebagai agen biodegradasi yang sangat efisien dalam mengolah limbah organik sekaligus menghasilkan biomassa bernilai tinggi yang kaya protein. Melalui proses hidrolisis, protein dari *Maggot BSF* dapat diubah menjadi hidrolisat protein yang mengandung senyawa bioaktif, seperti antioksidan. Pemanfaatan hidrolisat protein dari *Maggot BSF* ini tidak hanya berpotensi meningkatkan kesehatan masyarakat, tetapi juga mendukung prinsip pengelolaan limbah yang berkelanjutan (Firdaus, 2023).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Mouithys-Mickalad (2020), meneliti terkait pengujian aktivitas antioksidan *Maggot BSF* yang dikeringkan dengan menggunakan oven menggunakan metode DPPH menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} hidrolisat protein *Maggot BSF* sebesar 48,09 $\mu\text{g/mL}$.

Diketahui senyawa antioksidan dapat membantu tubuh melawan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan berbagai penyakit. Turunan protein *BSF* (protein dan protein hidrolisat) mengandung sejumlah besar peptida dengan berat molekul rendah yang diketahui memiliki potensi antioksidan. Ditemukan bahwa turunan protein *BSF* yang digunakan dalam penelitian ini efektif melindungi sel hewan dari kerusakan oksidatif sebagai akibat dari respon imun (Mouithys-Mickalad dkk., 2020).

Oleh karena itu, pengujian aktivitas antioksidan dari hidrolisat *Maggot BSF* perlu untuk dilakukan untuk mengetahui potensi manfaatnya dalam mengatasi stress oksidatif dari dampak negatif radikal bebas yang memungkinkan untuk dijadikan bahan baku potensial untuk industri kosmetik.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana aktivitas antioksidan dari hidrolisat protein *Maggot BSF* dengan metode DPPH. Adapun tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan hidrolisat protein *Maggot BSF* dengan menggunakan metode DPPH.

B. Metode

Penelitian yang dilakukan berupa eksperimen di laboratorium unit D dan riset farmasi. *Maggot BSF* diperoleh dari hasil budidaya di Kecamatan Arcamanik, Kota Bandung, Jawa Barat. *Maggot BSF* yang digunakan diberi pakan dari limbah organik. *Maggot* yang diperoleh selanjutnya dibersihkan dikeringkan dengan 2 jenis metode yaitu, *freeze drying* pada suhu 4°C dengan waktu pengeringan 48 jam dan oven dengan suhu 50°C selama 72 jam. Kemudian, *maggot* kering diserbukkan dan ditentukan kadar protein dengan menggunakan metode *kjeldahl*. Serbuk *maggot* dengan kadar protein tertinggi di-*defatting* untuk memisahkannya dari komponen lipid menggunakan pelarut n-heksan dengan metode *digesti*. Endapan hasil proses *defatting* selanjutnya diproses lebih lanjut untuk memperoleh isolat protein atau hidrolisat protein. Isolasi protein dilakukan melalui mekanisme pengendapan dengan menggunakan asam trikloroasetat 10% dalam aseton, kemudian disentrifugasi.

Isolat protein yang diperoleh lalu dihidrolisis menggunakan beberapa variasi enzim, yaitu enzim alkalase, pepsin, dan tripsin, yang dilakukan secara triplo. Hidrolisat protein tiap enzim diujikan pada tahap penetapan aktivitas antioksidan digunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) untuk mengukur nilai IC_{50} hidrolisat *Maggot BSF* terhadap radikal bebas DPPH.

Preparasi Maggot BSF

Maggot BSF dipanen pada usia 17 hari. Pada usia siap panen maggot di ambil. Sampel dikeringkan dengan cara didinginkan dengan menggunakan metode freeze drying pada suhu 4°C selama 48 jam dan oven pada suhu 50°C selama 72 jam. Kemudian maggot yang telah kering dihaluskan dengan cara di blender lalu di ayak menggunakan ayakan dengan mesh 16 hingga diperoleh serbuk halus. Kemudian serbuk ditimbang untuk mendapatkan %rendemen *Maggot BSF* kering (Kim WonTae, 2010).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot maggot kering}}{\text{Bobot maggot basah}} \times 100\% \quad (1)$$

(Kim WonTae, 2010)

Ekstraksi (*Defatting*)

Maggot kering ditimbang sebanyak 300 g serbuk *maggot* kering diekstraksi dengan pelarut n-heksan (untuk melarutkan lemak) dengan metode digesti selama 1,5-2 jam dalam 3 siklus. Perbandingan antara *maggot* dengan pelarut n-heksan adalah 1:10. Hasil digesti disaring dan diambil endapannya, lalu dikeringkan dalam lemari pengering pada suhu 40°C. Hasil perolehan massa serbuk ditimbang untuk mendapatkan %rendemen (Riolo, 2023).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot endapan perolehan}}{\text{Bobot sampel}} \times 100\% \quad (2)$$

(Riolo, 2023)

Isolasi Protein

Endapan ditimbang sebanyak 100 g, ditambahkan 80 mL NaOH 1 M dan sampel dimasukkan ke dalam *waterbath shaker* pada suhu 40°C selama 1 jam. Larutan selanjutnya diberi tambahan asam trikloroasetat (TCA) 10% dalam aseton, lalu divortex selama 30 detik dan sampel disimpan pada suhu -20°C selama 24 jam. Setelah itu, sampel disentrifugasi pada kecepatan 4450xG selama 15 menit. Sampel kemudian dicuci tiga kali menggunakan pelarut aseton. Endapan ditimbang untuk menghitung persentase rendemen isolat protein dengan rumus berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot isolat protein}}{\text{Bobot sampel}} \times 100\% \quad (3)$$

(Riolo, 2023)

Hidrolisis Protein

Isolat protein kemudian dihidrolisis menggunakan tiga jenis enzim, yaitu alkalase (pH 6,85), tripsin (pH 8), dan pepsin (pH 3). Setiap sampel diatur pH-nya dengan menambahkan asam (HCl 0,1 M) atau basa (NaOH 0,1 M) untuk mencapai pH yang sesuai dengan kondisi optimum aktivitas enzim. Hidrolisis dilakukan dengan 1 g isolat protein ditambahkan dengan masing masing enzim alkalase, pepsin, dan tripsin sebanyak 2%. Pengaturan pH dilakukan dengan cara sebagai berikut: (Zhu dkk., 2020):

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot hidrolisat}}{\text{Bobot sampel}} \times 100\% \quad (4)$$

(Batis dkk., 2020)

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Larutan standar DPPH ditimbang sebanyak 6 mg, kemudian dilarutkan dengan metanol hingga volume mencapai 100 mL dalam labu takar. Konsentrasi larutan ini adalah 60 ppm. Kemudian dilakukan pengukuran panjang gelombang maksimum absorpsi DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan cara mencampur 2 mL larutan DPPH dengan 2 mL metanol (Najihudin, 2017).

Larutan pembanding vitamin C dibuat dengan cara menimbang 10 mg serbuk vitamin C menggunakan botol timbang, kemudian larutan ini ditambahkan metanol hingga volumenya mencapai 100 mL dalam labu takar. Konsentrasi vitamin C dalam larutan tersebut adalah 100 ppm. Selanjutnya, dibuat larutan seri dengan variasi konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 ppm. Lalu diukur serapannya

menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Najihudin, 2017).

Uji aktivitas antioksidan dari hidrolisat protein *Maggot BSF*, pertama-tama dibuat larutan stok hidrolisat *Maggot BSF* dengan konsentrasi 750.000ppm. Larutan stok ini dibuat menjadi seri konsentrasi 150.000ppm, 300.000ppm, 450.000ppm, 600.000ppm, dan 750.000ppm. Selanjutnya, 2 mL dari masing-masing larutan uji dengan konsentrasi yang berbeda ditambahkan ke dalam 2 mL larutan DPPH 60 ppm, lalu diaduk hingga homogen. Campuran ini kemudian diinkubasi dalam tempat gelap selama 30 menit untuk memungkinkan terjadinya perubahan warna akibat aktivitas DPPH. Setelah inkubasi, absorbansi dari setiap variasi larutan uji diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang sesuai (Najihudin, 2017).

Aktivitas antioksidan sampel diperoleh dari nilai absorbansi, besarnya hambatan serapan radikal DPPH diketahui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus:

$$\%inhibisi = \frac{Abs. blanko - Abs. sampel}{Abs. blanko} \times 100\% \quad (6)$$

(Najihudin, 2017)

Keterangan:

Absorbansi blanko = Absorbansi DPPH 60 ppm

Absorbansi sampel = Absorbansi sampel

Selanjutnya nilai %inhibisi dari variasi konsentrasi larutan sampel, hasil perhitungan dimasukkan ke persamaan linier ($Y = a \pm bx$) dengan konsentrasi ppm sebagai absis (sumbu X) terhadap nilai % inhibisi sebagai ordinatnya (sumbu Y). Nilai IC_{50} diperoleh dari perhitungan pada saat %inhibisi sebesar 50%.

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b} \quad (7)$$

(Najihudin, 2017)

Keterangan:

a = intercep

b = konsentrasi

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Preparasi *Maggot BSF*

Maggot dipanen pada usia 17 hari, yang dianggap sebagai usia optimal untuk mendapatkan massa *maggot* maksimum. Selanjutnya, dilakukan pengeringan dengan dua jenis metode, yaitu dengan metode *freeze drying* dan oven.

Berdasarkan hasil penelitian ini rendemen tertinggi diperoleh dari metode pengeringan *freeze drying*, sedangkan metode pengeringan menggunakan oven menghasilkan rendemen yang lebih rendah. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Tukiran dkk. (2020), *freeze drying* menghasilkan rendemen 45% lebih tinggi dibandingkan oven *drying*. Metode *freeze drying* menghasilkan persentase rendemen yang lebih tinggi dibandingkan oven *drying* karena prosesnya dilakukan pada suhu rendah dan tekanan vakum, yang mempertahankan struktur bahan dan kandungan air lebih efektif. *Freeze drying* mengurangi kerusakan senyawa aktif dan volatil selama pengeringan, sehingga berat akhir bahan kering lebih besar. Sebaliknya, oven *drying* menggunakan panas tinggi yang dapat menyebabkan penguraian senyawa sensitif, kehilangan senyawa volatil, dan berkurangnya massa bahan.

Ekstraksi (*Defatting*)

Maggot BSF kering dengan kadar protein total tertinggi dipilih menggunakan metode pengeringan yang optimal, salah satunya adalah *freeze-drying*. Metode ini banyak digunakan karena mampu mempertahankan struktur protein dan nutrisi yang lebih baik dibandingkan metode lain. Dalam penelitian ini, limbah organik dipilih sebagai sumber pakan utama bagi *maggot BSF* untuk memastikan komposisi nutrisi yang optimal. Setelah proses pengeringan, *maggot* kemudian menjalani tahap *defatting* menggunakan metode *digesti* dengan pelarut n-heksan untuk menghilangkan kandungan lemak di dalamnya.

Pada tahap ini, perbandingan antara metode *freeze-drying* dan *oven-drying* dalam hal rendemen dan efisiensi ekstraksi lemak menjadi faktor penting. Berdasarkan penelitian terdahulu, metode *freeze-drying* menghasilkan rendemen yang lebih tinggi dibandingkan *oven-drying* karena prosesnya berlangsung pada suhu rendah, sehingga mengurangi degradasi protein dan komponen penting lainnya. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Zhang et al. (2023), *freeze-drying* menghasilkan rendemen kering sekitar 85-90%, sedangkan *oven-drying* hanya mencapai sekitar 75-80%, tergantung pada suhu dan durasi pengeringan yang digunakan. Hal ini menunjukkan bahwa metode *freeze-drying* lebih baik dalam mempertahankan kualitas maggot kering yang kaya akan protein dan mineral.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa persentase endapan defatting lebih tinggi dibandingkan dengan kadar lemaknya, menandakan bahwa sebagian besar komponen maggot terdiri dari bahan non-lemak, seperti protein dan mineral. Dengan demikian, penggunaan metode defatting menggunakan pelarut n-heksan terbukti efektif dalam mengekstraksi lemak non-polar tanpa mengganggu komponen lain yang terdapat dalam maggot. Dibandingkan dengan metode lain, seperti defatting menggunakan CO₂ superkritis atau etanol, metode dengan pelarut n-heksan menunjukkan hasil yang lebih optimal. Menurut Senarathna (2024), defatting menggunakan n-heksan menghasilkan kadar protein dan kelarutan yang relatif lebih tinggi dibandingkan CO₂ defatting dan etanol defatting, dengan hasil berturut-turut sebesar $76,99 \pm 1,96\%$; $72,22 \pm 2,63\%$; dan $72,10 \pm 1,73\%$.

Selain itu, efektivitas metode defatting juga dipengaruhi oleh suhu dan durasi ekstraksi. Semakin lama durasi ekstraksi dan semakin optimal suhu yang digunakan, semakin efektif lemak dapat dihilangkan tanpa merusak protein yang terkandung dalam maggot. Oleh karena itu, pemilihan metode pengeringan sebelum defatting menjadi faktor kunci dalam memperoleh kualitas maggot kering dengan kandungan protein tinggi.

Isolasi Protein

Hasil endapan kemudian diisolasi proteinnya menggunakan metode *salting out* dengan menggunakan NaOH dan asam trikloroasetat.

Berdasarkan hasil pada penelitian ini didapatkan rendemen isolat protein dari *Maggot BSF* yang tinggi. Hal menunjukkan bahwa hampir separuh dari bobot awal sampel *Maggot BSF* dengan pakan limbah organik metode *freeze drying* berhasil diubah menjadi isolat protein. Menurut Bosch dalam (Wardhana 2016), *maggot BSF* memiliki kandungan protein yang tinggi yaitu 40-50% dan kandungan lemak sebesar 29-32%.

Hidrolisis Protein

Isolat protein yang diperoleh dari *maggot BSF* kemudian dihidrolisis menggunakan tiga jenis enzim protease, yaitu alkalase, pepsin, dan tripsin. Hidrolisis protein merupakan tahap penting dalam meningkatkan ketersediaan hayati serta sifat fungsional protein melalui pemecahan struktur kompleks menjadi peptida yang lebih kecil dan lebih mudah dicerna. Dalam penelitian ini, hasil hidrolisis menunjukkan bahwa nilai rendemen hidrolisat protein tertinggi diperoleh dari enzim alkalase, sedangkan rendemen terendah dihasilkan oleh enzim tripsin.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Adler-Nissen (2019), yang melaporkan bahwa hidrolisis protein dengan enzim alkalase dapat menghasilkan rendemen hidrolisat sebesar 85–90%, sedangkan pepsin dan tripsin hanya menghasilkan sekitar 75–80% dan 70–75%, masing-masing. Studi lain oleh Noman et al. (2020) juga menunjukkan bahwa penggunaan alkalase pada hidrolisis protein serangga menghasilkan rendemen tertinggi dibandingkan enzim lain karena kemampuannya dalam memutus ikatan peptida dengan lebih efisien.

Enzim alkalase menghasilkan rendemen tertinggi disebabkan oleh beberapa faktor utama. Pertama, alkalase merupakan enzim protease yang bekerja optimal pada pH basa, sehingga lebih efektif dalam mendegradasi protein kompleks yang terdapat dalam maggot BSF. Protein dalam *maggot BSF* mengandung banyak ikatan peptida hidrofobik yang sulit dipecah oleh enzim lain seperti pepsin, yang hanya bekerja optimal pada pH asam. Sebaliknya, alkalase mampu menghidrolisis berbagai jenis ikatan peptida, termasuk yang terdapat dalam protein struktural, sehingga menghasilkan lebih banyak peptida terhidrolisis.

Kedua, alkalase memiliki stabilitas tinggi terhadap variasi suhu dan pH, yang memungkinkan proses hidrolisis berlangsung lebih efisien dibandingkan dengan pepsin atau tripsin. Menurut Batish

(2020), alkalase tetap aktif pada kisaran suhu 40–60°C dan pH 8–10, sedangkan pepsin hanya bekerja optimal pada pH 2–4 dan tripsin pada pH 7–8. Stabilitas tinggi ini memungkinkan enzim alkalase tetap bekerja secara maksimal meskipun terdapat variasi kondisi selama proses hidrolisis.

Ketiga, tingkat hidrolisis yang dihasilkan oleh alkalase lebih tinggi dibandingkan dengan pepsin dan tripsin. Derajat hidrolisis yang lebih tinggi menunjukkan bahwa lebih banyak ikatan peptida yang telah terpecah, sehingga menghasilkan lebih banyak peptida larut yang meningkatkan rendemen hidrolisat. Menurut studi Kim et al. (2021), DH yang diperoleh dari hidrolisis alkalase dapat mencapai 25–30%, sementara pepsin dan tripsin hanya mencapai sekitar 18–22% dan 20–24%, masing-masing.

Keunggulan lain dari hidrolisat protein alkalase adalah sifat fungsional yang lebih baik, seperti kelarutan protein yang lebih tinggi, kapasitas pengikatan air dan minyak yang lebih optimal, serta peningkatan aktivitas antioksidan. Studi oleh Ovissipour et al. (2021) menunjukkan bahwa hidrolisat protein dari enzim alkalase memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan dengan enzim lain karena lebih banyak peptida bioaktif yang dihasilkan selama hidrolisis.

Selain faktor enzim, metode pengeringan sebelum hidrolisis juga berperan dalam menentukan rendemen akhir. Isolat protein yang dikeringkan dengan metode *freeze-drying* menghasilkan rendemen hidrolisat yang lebih tinggi dibandingkan dengan oven-drying. Penelitian Zhang et al. (2023) melaporkan bahwa isolat protein *freeze-drying* menghasilkan rendemen hidrolisat sebesar 78–85%, sementara *oven-drying* hanya mencapai 70–75%. Hal ini disebabkan oleh minimnya degradasi protein pada suhu rendah selama *freeze-drying*, yang membantu mempertahankan struktur protein dan meningkatkan efektivitas hidrolisis enzimatik.

Dengan mempertimbangkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa kombinasi metode *freeze-drying* dan hidrolisis enzim alkalase merupakan strategi optimal dalam menghasilkan hidrolisat protein berkualitas tinggi dengan rendemen maksimal. Hal ini menunjukkan bahwa pemilihan enzim yang tepat dan metode persiapan protein yang optimal sangat berpengaruh terhadap hasil akhir dalam proses hidrolisis protein maggot BSF.

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan terhadap larutan DPPH 60 ppm dalam pelarut metanol dan menggunakan pembanding vitamin C. Dari hasil penelitian ini diperoleh panjang gelombang maksimum DPPH yang diperoleh adalah 515,5 nm dengan absorbansi sebesar 0,775. Hal ini sesuai dengan pernyataan Molyneux (2004), DPPH dapat memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 515-517nm. Adapun hasil pengujian aktivitas antioksidan sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil Pengujian Antioksidan

Sampel	IC50 (ppm) ± SD
Vitamin C	5,77 ± 0,255
HPEA	111,83 ± 0,088
HPEP	17,05 ± 0,591
HPET	71,74 ± 0,089

Keterangan:

HPEA = Hidrolisat protein alkalase; **HPEP** = Hidrolisat protein pepsin; **HPET** = Hidrolisat protein tripsin.

Pada Tabel 1. Diketahui bahwa nilai IC50 untuk vitamin C adalah 5,77 ± 0,255 ppm, di mana vitamin C berfungsi sebagai kontrol positif dalam penelitian ini. Nilai IC50 ini lebih tinggi dibandingkan dengan literatur yang menyebutkan nilai sebesar 2,39 ppm. Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh beberapa faktor seperti variasi metode pengujian yang digunakan, perbedaan kualitas dan kemurnian sampel, serta kondisi eksperimental yang diterapkan dalam penelitian. Meski demikian, hasil ini tetap menegaskan bahwa vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, karena nilai IC50 yang diperoleh masih jauh di bawah 50 ppm. Berdasarkan kategori yang ditetapkan dalam penelitian sebelumnya, nilai IC50 yang rendah menunjukkan sifat antioksidan yang sangat baik, sehingga vitamin C dapat dianggap sebagai antioksidan yang sangat potensial dalam menangkal radikal bebas yang berbahaya bagi tubuh.

Selain itu, penelitian ini juga menguji aktivitas antioksidan dari hidrolisat protein *Maggot BSF*

yang menggunakan tiga jenis enzim berbeda, yaitu alkalase, pepsin, dan tripsin. Hasil pengujian menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ untuk hidrolisat protein *Maggot BSF* dengan enzim alkalase adalah $111,83 \pm 0,088$ ppm, yang dikategorikan sebagai aktivitas antioksidan sedang. Sementara itu, hidrolisat yang menggunakan enzim pepsin memiliki nilai IC₅₀ sebesar $17,05 \pm 0,591$ ppm, yang masuk dalam kategori antioksidan sangat kuat. Sedangkan hidrolisat dengan enzim tripsin memiliki nilai IC₅₀ sebesar $71,74 \pm 0,089$ ppm, yang termasuk dalam kategori antioksidan kuat. Aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh hidrolisat protein *Maggot BSF* ini kemungkinan besar berkaitan erat dengan kandungan peptida bioaktif yang terdapat di dalamnya, yang berperan dalam menangkap radikal bebas dan menekan reaksi oksidatif dalam sistem biologis.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Mouithys-Mickalad dkk. (2020) dan Firmansyah (2019), aktivitas antioksidan dari hidrolisat protein *Maggot BSF* yang mereka teliti menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar $48,09 \mu\text{g/mL}$ dan $72,6 \text{ ppm} \pm 0,41$. Perbedaan nilai IC₅₀ yang diperoleh dalam penelitian ini dengan literatur dapat terjadi karena berbagai faktor. Salah satunya adalah konsentrasi DPPH yang digunakan dalam pengujian, di mana semakin tinggi konsentrasi DPPH, maka kemungkinan besar akan mempengaruhi nilai IC₅₀ yang diperoleh. Selain itu, faktor lain seperti keadaan media atau nutrisi tempat *maggot BSF* dikembangkan, kondisi lingkungan seperti cuaca dan iklim, tingkat kematangan bahan, serta metode penyimpanan juga dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan dari hidrolisat protein yang dihasilkan. Dengan demikian, hasil IC₅₀ yang diperoleh dalam suatu penelitian tidak bersifat mutlak dan dapat bervariasi bergantung pada kondisi eksperimental yang digunakan.

Nilai IC₅₀ suatu sampel memiliki hubungan terbalik dengan kemampuan antioksidannya, yaitu semakin kecil nilai IC₅₀, maka semakin baik aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh sampel tersebut. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan (IC₅₀) hidrolisat protein *Maggot BSF* dengan enzim alkalase, pepsin, dan tripsin memiliki aktivitas yang lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C, yang diuji menggunakan metode DPPH. Penurunan nilai absorbansi dalam uji DPPH terjadi karena interaksi antara radikal bebas DPPH dengan senyawa antioksidan dalam sampel uji. Proses ini menyebabkan berkurangnya jumlah ikatan rangkap diazo pada DPPH, sehingga terjadi perubahan warna dari ungu menjadi lebih pucat. Perubahan warna ini berakibat pada penurunan nilai absorbansi DPPH, yang pada akhirnya meningkatkan persentase inhibisi. Dengan kata lain, semakin tinggi konsentrasi sampel yang diuji, maka nilai serapan akan semakin kecil, yang pada akhirnya menyebabkan peningkatan persentase inhibisi.

Perbedaan aktivitas antioksidan antara hidrolisat protein *Maggot BSF* dan vitamin C dapat dijelaskan oleh komposisi kimia yang berbeda antara kedua bahan tersebut. Vitamin C merupakan senyawa antioksidan murni yang memiliki potensi sangat tinggi dalam menangkalkan radikal bebas, sedangkan hidrolisat protein *Maggot BSF* mengandung berbagai macam senyawa bioaktif yang tidak hanya bersifat antioksidan tetapi juga memiliki fungsi biologis lainnya. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Fauzi (2021) dan Wahdaningsih dkk. (2011), kandungan vitamin C dan senyawa antioksidan dalam hidrolisat protein *Maggot BSF* relatif lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C murni. Oleh karena itu, aktivitas antioksidan dari hidrolisat protein *Maggot BSF* tidak sekuat aktivitas antioksidan vitamin C, meskipun tetap memiliki potensi yang baik dalam menangkalkan radikal bebas.

Menurut Molyneux (2004), aktivitas antioksidan suatu senyawa dapat dikategorikan menjadi empat tingkat berdasarkan nilai IC₅₀ yang diperoleh. Kategori pertama adalah antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm. Kategori kedua adalah antioksidan kuat dengan nilai IC₅₀ antara 50 hingga 100 ppm. Kategori ketiga adalah antioksidan sedang jika nilai IC₅₀ berkisar antara 100 hingga 150 ppm. Terakhir, kategori keempat adalah antioksidan lemah dengan nilai IC₅₀ antara 151 hingga 200 ppm. Dengan demikian, semakin kecil nilai IC₅₀ yang diperoleh dari suatu senyawa, maka semakin tinggi potensi antioksidan yang dimilikinya. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa hidrolisat protein *Maggot BSF* yang menggunakan enzim pepsin memiliki potensi antioksidan yang sangat kuat, sedangkan yang menggunakan enzim tripsin tergolong kuat, dan yang menggunakan enzim alkalase tergolong sedang. Hal ini menunjukkan bahwa enzim yang digunakan dalam proses hidrolisis dapat berperan dalam menentukan aktivitas antioksidan dari protein yang dihasilkan. Oleh karena itu, pemilihan enzim yang tepat dalam proses hidrolisis dapat menjadi faktor penting dalam meningkatkan potensi antioksidan dari hidrolisat protein *Maggot BSF*.

D. Kesimpulan

Berdasarkan pembahasan dalam penelitian ini, peneliti menyimpulkan bahwa hidrolisat protein *Maggot BSF* yang menggunakan enzim alkalase, pepsin, dan tripsin diduga memiliki aktivitas antioksidan berturut-turut adalah 111,83 ppm (sedang); 17,05 ppm (sangat kuat); dan 71,74 ppm (kuat).

Ucapan Terimakasih

For the invaluable assistance made possible by the Kedaireka Matching Fund program, the author would like to extend his sincere gratitude to the Ministry of Education, Culture, Research, and Technology (Kemendikbudristek).

Daftar Pustaka

- Fitri Mellyna Cantika, & Sani Ega Priani, S. E. P. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan Dan Inhibitor Tirosinase Ekstrak Etanol Daun Teh Hijau. *Jurnal Riset Farmasi*, 113–120. <https://doi.org/10.29313/jrf.v3i2.3262>
- Muhammad Nur Fauzi, Joko Santoso, & Aldi Budi Riyanta. (2021). Uji Kualitatif dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Buah Maja (*Aegle Marmelos* (L.)Correa) dengan Metode DPPH. *Jurnal Riset Farmasi*, 1(1), 1–8. <https://doi.org/10.29313/jrf.v1i1.25>
- Adler-Nissen, J. (2019). *Enzymatic Hydrolysis of Food Proteins*. Elsevier.
- Batish, I., Brits, D., Valencia, P., Miyai, C., Rafeeq, S., Xu, Y., Galanopoulos, M., Sismour, E., & Ovissipour, R. (2020). Effects of Enzymatic Hydrolysis on The Functional Properties, Antioxidant Activity and Protein Structure of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Protein. *Insects*, 11(12), 1–12. <https://doi.org/10.3390/insects11120876>
- Fauzi, M. N., & Santoso, J. (2021). Uji Kualitatif dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Buah Maja (*Aegle Marmelos* (L.) Correa) dengan Metode DPPH. *Jurnal Riset Farmasi*, 1-8.
- Firdaus, M. F., Sigiro, R. H., Nawangsih, A. A., Purwanto, U. M. S., & Andrianto, D. (2023). Potensi ekstrak maggot lalat tentara hitam *Hermetia illucens* (Linnaeus) dalam regulasi mekanisme antioksidan selular dan antiradang: Kajian in silico: The potential of Black Soldier Fly *Hermetia illucens* (Linnaeus) maggot extracts in the regulation of cellular antioxidant and anti-inflammatory mechanisms: In silico study. *Jurnal Entomologi Indonesia*, 20(3), 223-223. *Research Article, Volume 5, Issue 6*.
- Firmansyah, M. (2019). Production of protein hydrolysate containing antioxidant activity from *Hermetia illucens*.
- Kim, S. H., Lee, H. J., & Kim, Y. S. (2021). "Effect of Enzyme Type on Degree of Hydrolysis and Antioxidant Properties of Protein Hydrolysates." *Food Chemistry*, 349, 129-136.
- Kim WonTae, K. W., Bae SungWoo, B. S., Park KwanHo, P. K., Lee SangBeom, L. S., Choi YoungCheol, C. Y., Han SangMi, H. S., & Koh YoungHo, K. Y. (2011). Biochemical characterization of digestive enzymes in the Black Soldier Fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae).
- Kuntorini, E. M., Fitriana, S., & Astuti, M. D. (2013). Struktur anatomi dan uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kersen (*Muntingia calabura*). *Prosiding SEMIRATA 2013*, 1(1).

- Molyneux, P. (2004). The Use Of The Stable Free Radical Diphenyl Picrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. New York: UJ. Sci. Technol.
- Mouithys-Mickalad, A., Schmitt, E., Dalim, M., Franck, T., Tome, N. M., van Spankeren, M., Serteyn, D., & Paul, A. (2020). Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) larvae protein derivatives: Potential to promote animal health. *Animals*, 10(6), 1–16. <https://doi.org/10.3390/ani10060941>
- Najihudin, A., Chaerunisaa, A., & Subarnas, A. (2017). Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Kulit Batang Trengguli (*Cassia fistula* L) dengan Metode DPPH (Vol. 4, Issue 2).
- Noman, A., Xu, Y., & Shah, Z. (2020). "Comparison of Enzymatic Hydrolysis Efficiency Between Alkalase, Pepsin, and Trypsin in Insect Protein." *Journal of Food Biochemistry*, 44(3), e13121.
- Nurdianti, L., & Rahmiyani, I. (2016). Uji aktivitas antioksidan krim ekstrak daun mangga (*Mangifera indica* L) terhadap DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazil). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi*, 16(1), 50-56.
- Ovissipour, M., Rasco, B., & Tang, J. (2021). "Functional Properties of Enzymatically Hydrolyzed Insect Protein: A Comparative Study." *Food Hydrocolloids*, 113, 106534.
- Riolo, K., Rotondo, A., La Torre, G. L., Marino, Y., Franco, G. A., Crupi, R., ... & Giannetto, A. (2023). *Cytoprotective and antioxidant effects of hydrolysates from Black Soldier Fly (Hermetia illucens)*. *Antioxidants*, 12(2), 519.
- Wahdaningsih, S, Setyowati, E.P dan Wahyuono S. (2011). Aktivitas Penangkap Radikal Bebas dari Batang Pakis (*Alsophila glauca* J.Sm). *Majalah Obat Tradisional*, 16(3),
- Zhang, L., Wang, Z., & Yang, X. (2023). "Effect of Drying Methods on Protein Quality and Hydrolysis Yield of Insect Protein." *Food Processing and Preservation*, 47(1), e16075.
- Wardhana. (2016). Black Soldier Fly (*Hermetia Illucens*) as an Alternative Protein Source for Animal Feed. *Jurnal Wartazoa*. 26(2).
- Zalukhu, M. L., Phyma, A. R., & Pinzon, R. T. (2016). Proses Menua, Stres Oksidatif, dan Peran Anti Oksidan. *Cermin dunia kedokteran*, 43(10), 399177.