

## Evaluation of Anti-inflammatory Effects of Extract Maggot Black Soldier Fly (*Hermetia illucens* L.) in vitro study

Resti Rahayu<sup>1\*</sup>, Rilwan Efendi<sup>1</sup>, Putra Santoso<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

### Article History

Received : November 28<sup>th</sup>, 2024

Revised : Decemerr 20<sup>th</sup>, 2024

Accepted : December 18<sup>th</sup>, 2024

\*Corresponding Author:

**Resti Rahayu,**

Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Andalas, Padang, Indonesia.

Email:

[restirahayu@sci.unand.ac.id](mailto:restirahayu@sci.unand.ac.id)

**Abstract:** Inflammation is the body's normal protective response, but it is often an over-response that can cause tissue damage. Commercial synthetic anti-inflammatory drugs of steroidal and non-steroidal groups have high side effects. So that alternative anti-inflammatory drugs are needed that have low side effects. Maggot *black soldier fly* is a type of insect that has begun to be widely studied to utilize its bioactives as anti-inflammatory, one of which is because it is high in protein. Therefore, this study aims to explore the anti-inflammatory properties of *black soldier fly* maggot extract. Anti-inflammatory testing of maggot extract was carried out using an in vitro heat-induced protein denaturation assay, with diclofenac sodium serving as a commercial drug reference. It was found that maggot extracted with 100% methanol was 5 times more effective than maggot extracted with other methanol concentrations. Amino acid analysis showed increased levels of alanine and arginine, which are believed to contribute to the inhibition of protein denaturation. Thus, maggot extracted with 100% methanol showed better potential as an anti-inflammatory drug.

**Keywords:** amino acids; anti-inflammatory; black soldier fly; diclofenac sodium; protein denaturation.

### Pendahuluan

Inflamasi merupakan respons perlindungan normal tubuh terhadap cedera jaringan, infeksi, atau kerusakan yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia atau mikroba yang berbahaya (Herold dan Mrowka, 2019). Proses inflamasi biasanya ditandai dengan adanya 5 fenomena patologis makroskopis, yaitu *tumor* (pembengkakan jaringan), *kalor* (peningkatan suhu jaringan), *rubor* (kemerahan pada jaringan pembuluh darah), *dolor* (rangsangan nyeri pada jaringan), dan *functio laesa* (gangguan fungsi organ yang terkena) (Ansar dan Ghosh, 2016). Inflamasi merupakan respons tubuh untuk menonaktifkan atau menghancurkan organisme yang menyerang, menghilangkan zat yang mengiritasi, dan menyiapkan tahap untuk perbaikan jaringan.

Silvestrini dan Silvestrini (2016) melaporkan bahwa denaturasi protein merupakan salah satu penyebab terjadinya

inflamasi. Denaturasi protein adalah proses dimana protein kehilangan struktur tersier dan struktur sekundernya oleh senyawa eksternal, seperti asam kuat, basa kuat, garam organik pekat, pelarut organik, dan pemanasan. Apabila protein dalam sel hidup mengalami denaturasi, maka akan menyebabkan kematian sel dan dapat memicu respon inflamasi pada tubuh (Sangiuliano *et al.*, 2014; Umopathy *et al.*, 2010; Chandra *et al.*, 2012), sehingga penggunaan agen yang dapat mencegah denaturasi protein akan bermanfaat untuk pengembangan obat antiinflamasi (Sostres, 2010).

Pengujian aktivitas antiinflamasi secara *in vitro* dapat dilakukan dengan menghambat proses denaturasi protein dari *Bovine Serum Albumin* (BSA) (Dharmadeva *et al.*, 2018; Gunathilake *et al.*, 2018; Eze *et al.*, 2019), yang akan terdenaturasi saat dipanaskan. Metode ini menandai bagian albumin yang rusak saat dipanaskan, sehingga tubuh mengenalinya sebagai material asing (antigen)

yang akan dilawan oleh tubuh melalui inflamasi sehingga kandidat obat harus mampu mempertahankan albumin agar tidak terdenaturasi. Hal ini sejalan dengan kemampuan beberapa obat antiinflamasi komersial yang menunjukkan kemampuannya dalam menghambat denaturasi protein yang disebabkan oleh pemanasan (Gunathilake *et al.*, 2018; Osman *et al.*, 2016; Dharmadeva *et al.*, 2018; Aditya *et al.*, 2015).

Obat antiinflamasi komersial yang sering digunakan berasal dari golongan steroid maupun non steroid (AINS), obat-obatan ini berguna untuk mengurangi pembengkakan dan nyeri peradangan, namun memiliki efek samping terhadap berbagai sistem di dalam tubuh antara lain gangguan mukosa lambung, gangguan sistem ginjal, gangguan sistem kardiovaskuler, gangguan sistem hepar, dan gangguan sistem hematologi (Tonk *et al.*, 2020). Karena adanya efek samping dari penggunaan obat-obatan tersebut, maka perlu dilakukan penelitian terhadap bahan-bahan alami yang berpotensi sebagai antiinflamasi, agar diperoleh sumber obat antiinflamasi yang lebih aman.

Maggot *Black Soldier Fly* merupakan salah satu kandidat obat antiinflamasi alami yang cukup menjanjikan dalam pengembangan bahan untuk keperluan farmasi (Dossey, 2016). Pada penelitian terdahulu (Utari *et al.*, 2023) terbukti bahwa ekstrak maggot mengandung asam lemak linoleate, propionat, palminat, laurat, dan stearate yang memiliki aktivitas sebagai anti inflamasi dan telah terbukti mampu mempercepat penyembuhan luka (Afriani *et al.*, 2023). Selain mengandung asam lemak, maggot juga memiliki kandungan protein yang cukup tinggi yaitu mencapai 58-61% (Rahayu *et al.*, 2023). Protein tersusun atas banyak asam amino, setidaknya ada 20 asam amino yang dikenal sebagai komponen protein pada organisme hidup, diantaranya alanin, arginin, asparagin, asam aspartat, sistein, asam glutamat, glutamin, glisin, histidin, isoleusin, leusin, lisin, metionin, fenilalanin, prolin, serin, treonin, triptofan, tirosin, dan valin, beberapa jenis asam amino tersebut diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi (Salehi *et al.*, 2020). Sejalan dengan hal tersebut, protein yang tinggi pada maggot diduga dapat

menjadi alternatif pengobatan antiinflamasi. Karena perkembangan maggot yang tinggi, maggot menjadi salah satu potensi besar sebagai sumber pengobatan alternatif, sehingga dalam penelitian ini kami bermaksud untuk menyelidiki aktivitas farmakologis ekstrak maggot dengan menggunakan uji penghambatan denaturasi protein dalam mengevaluasi potensi antiinflamasi ekstrak maggot secara *in vitro*, sehingga diharapkan penelitian ini dapat menjadi penelitian dasar untuk pengembangan ekstrak maggot dimasa yang akan datang.

## Bahan dan Metode

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Kulkas, Oven (Memmert), Blender, Timbangan Analitik (OHAUS), Beker Gelas (Pyrex), Gelas Ukur (Pyrex), Batang Pengaduk, Kertas Saring (Whatman), Corong (Pyrex), *Erlenmeyer* (Pyrex), *Rotary Evaporator* (Buchi), *Petridish*, *Freeze Dry* (Buchi), Plastik *Zipper*, Spatula, Kjeldahl (Buchi), Falcon, Vortex, Mikropipet (Thermo Fisher), Tabung Reaksi (Pyrex), Rak Tabung Reaksi, *Aluminium Foil*, pH Meter, Pipet Tetes, Labu Ukur, Mortar, Elisa Reader, sampel Maggot diperoleh di wilayah Gading, Playen, Gunung Kidul, Yogyakarta.

### Bahan kimia dan reagen

Media uji yang digunakan adalah *Bovine Serum Albumin* (BSA), bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol, Aquades, NaOH, Fenolftalein, Kjeldahl Tablet, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HCl, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, NaCl, KCl, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Asam Fosfat dan Kalium Natrium Tatriat.

### Persiapan Ekstrak Maggot

Pembuatan ekstrak Maggot mengacu pada penelitian Mangunsong dan Marsela (2021) dengan modifikasi pada konsentrasi pelarut. Maggot terlebih dahulu dimatikan dengan cara dibekukan dalam *freezer* selama 24 jam, lalu di-*thawing* hingga mencair sekaligus mencuci maggot hingga bersih. Setelah itu Maggot dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 24-48 jam. Setelah kering Maggot digiling hingga halus kemudian ditimbang

sebanyak 300 gram. Masing-masing dimasukkan kedalam *beker glass* dan dimaserasi pada suhu kamar selama 24 jam dengan menggunakan metanol 100%, 75% dan 50% sebanyak 3000 ml dan dipekatkan dengan menggunakan Rotary evaporator pada suhu 40°C kemudian ditampung menggunakan *Freeze dryer*.

### Persiapan Reagen

Pembuatan reagen mengacu pada penelitian Rusli dan Setiani (2020). Buffer fosfat dibuat dengan cara melarutkan 8 gram NaCl, 200 mg KCl, 1,44 gram Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> dan 245 mg KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> dalam 800 mL akuadest. Setelah larut, pH di ukur dan ditepatkan hingga pH 7,4 menggunakan asam fosfat atau NaOH. Pembuatan 0,6% BSA (Bovine Serum Albumin) dibuat dengan melarutkan 0,6 gram BSA kedalam 100 mL akuadest. Larutan biuret dibuat dengan cara menimbang sebanyak 1,5 gram CuSO<sub>4</sub>, 6 gram Kalium Natrium tartrat, dicampurkan dengan NaOH 2N sebanyak 375 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur volume 1 L, lalu ditambahkan akuadest hingga tanda batas.

### Persiapan Larutan Standar

Larutan induk natrium diklofenak dibuat dengan mengukur 50 mg standar natrium diklofenak dan melarutkannya dalam 1 mL metanol dalam labu ukur 10 mL. Larutan ini kemudian diencerkan dengan air suling sesuai dengan kapasitasnya, menghasilkan larutan induk natrium diklofenak dengan konsentrasi 5.000 ppm. Selanjutnya, larutan uji natrium diklofenak dibuat secara seri dengan memipet 0,06, 0,12, 0,36, 0,6, dan 1,2 mL larutan uji 5.000 mg/L ke dalam lima tabung reaksi. Larutan masing-masing tabung kemudian diencerkan hingga 1,5 mL menggunakan larutan buffer fosfat pH 7,4. Ke dalam setiap tabung ditambahkan 1,5 mL larutan BSA 0,6% dan 3 mL biuret. Hal ini menghasilkan serangkaian konsentrasi (50, 100, 300, 500, 1000 mg/L) dengan tiga kali pengulangan. Setiap konsentrasi mengalami pemanasan pada suhu 37°C selama 30 menit, diikuti dengan pemanasan pada suhu 70°C selama 10 menit. Setelah pendinginan, penyerapan larutan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum 540 nm.

### Parameter Pengamatan

#### Penghitungan Rendemen Ekstrak Maggot

Penghitungan menggunakan rumus berikut :

$$\%R = \frac{c}{s} \times 100\%$$

Dimana :

%R : Persentase rendemen

c : Berat ekstrak Maggot

s : Berat sampel tepung Maggot

#### Penghitungan Kadar Protein Ekstrak Maggot

Penentuan kadar protein dilakukan dengan menggunakan seperangkat instrumen Kjeldahl (Buchi) yaitu KjelDigester K-446, KjelSampler K-376 dan KjelMaster K-375. Mengacu pada buku panduan operasional dari Buchi (2018)

#### Analisis Komposisi Asam Amino Ekstrak Maggot

Analisis profil asam amino ekstrak metanol maggot BSF dilakukan dengan menggunakan metode HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Sampel seberat 6 mg dimasukkan ke dalam tabung ulir, kemudian ditambahkan 2 ml HCL 6 N. Tabung ulir yang berisi larutan sampel dialiri gas nitrogen selama 0,5-1 menit dan tabung segera ditutup, lalu dimasukkan ke dalam oven pada suhu 110°C selama 24 jam untuk melakukan tahap hidrolisis. Sampel yang telah dihidrolisis didinginkan pada suhu kamar dan larutan dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu rotary evaporator kemudian tabung ulir dibilas dengan Aquadest sebanyak 2-3 kali dan larutan bilasan digabung ke dalam labu rotary evaporator. Sampel dikeringkan dengan rotary evaporator, setelah kering ditambahkan HCl 0,01 N hingga tepat 10 mL lalu disaring dengan kertas millipore. Tambahkan Buffer Kalium Borat pH 10,4 dengan perbandingan 1:1, kemudian ke dalam vial kosong yang bersih masukkan 5 µl sampel dan tambahkan 25 µl reagen OPA, biarkan selama 1 menit agar derivatisasi berlangsung sempurna. Suntikkan ke dalam kolom HPLC sebanyak 5 µl kemudian tunggu hingga

pemisahan semua asam amino selesai (Babu *et al.*, 2002).

### Uji Aktivitas Anti-inflamasi

Dalam penelitian ini, uji denaturasi protein digunakan untuk menguji potensi antiinflamasi ekstrak maggot secara *in vitro*. Uji ini didasarkan pada penelitian Rusli dan Setiani (2020). Spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm digunakan untuk mengukur serapan larutan. Sebanyak 1,5 mL larutan BSA 0,6%, 1,5 mL larutan buffer fosfat dengan pH 7,4, dan 3 mL biuret dicampurkan untuk membuat larutan. Larutan kontrol positif tidak dipanaskan; larutan kontrol negatif kemudian dipanaskan selama 30 menit pada suhu 37°C, kemudian selama 10 menit pada suhu 70°C. Larutan induk sampel uji dibuat dengan cara menimbang 120 mg sampel dan dilarutkan dalam 10 mL akuades, sehingga diperoleh larutan induk sampel dengan konsentrasi 120.000 ppm. Untuk membuat larutan uji ekstrak maggot BSF, sebanyak empat tabung dipipet dengan 0,05; 0,1; 0,15; 0,2; dan 0,25 mL larutan induk 12.000 mg/L. Kemudian, dengan menggunakan larutan buffer fosfat dengan pH 7,4, 1,5 mL larutan BSA 0,6% dan 3 mL biuret ditambahkan ke dalam setiap tabung. Setelah didinginkan, absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm. Serangkaian konsentrasi 1000, 2000, 3000, 4000, dan 5000 mg/L dibuat dengan tiga kali pengulangan. Setiap konsentrasi dipanaskan selama 30 menit pada suhu 37°C, kemudian selama 10 menit pada suhu 70°C.

### Analisis Data

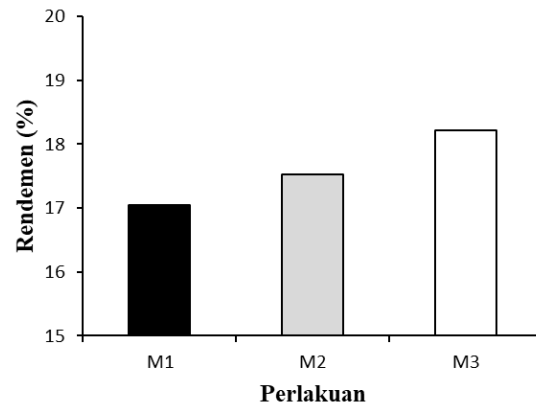
Nilai  $IC_{50}$  dihitung menggunakan persamaan regresi linier antara konsentrasi dan %inhibisi masing masing perlakuan, kemudian data kuantitatif nilai rendemen, nilai protein, %inhibisi,  $IC_{50}$  dan komposisi asam amino yang didapatkan, dianalisis secara deskriptif.

### Hasil dan Pembahasan

#### Rendemen Ekstrak Maggot

Rendemen merupakan perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal, dimana semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menunjukkan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak (Wijaya, Novitasari

dan Jubaidah, 2018). Hasil rendemen ekstrak dari berbagai konsentrasi metanol dapat dilihat pada Gambar 1.

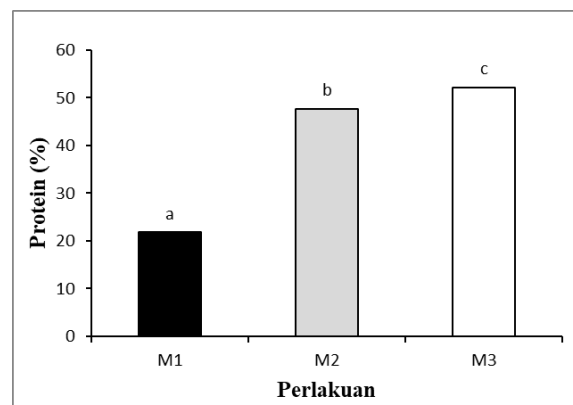


**Gambar 1.** Hasil rendemen maggot yang diekstraksi dengan metanol yang berbeda. Keterangan : M1 (maggot yang di ekstrak dengan metanol 100%), M2 (maggot yang diekstrak dengan metanol 75%), M3 (maggot yang diekstrak dengan metanol 50%).

Rendemen hasil ekstraksi pada ketiga konsentrasi metanol yang berbeda menghasilkan rendemen yang berbeda, perlakuan yang memiliki nilai rendemen tertinggi berturut-turut ialah M3, M2 dan M1.

#### Nilai Protein Ekstrak Maggot

Ekstrak maggot yang diekstrak dengan konsentrasi metanol yang berbeda kemudian dianalisa dengan menggunakan seperangkat alat Kjeldahl (Buchi) untuk melihat kandungan protein yang terdapat pada masing-masing ekstrak tersebut, hasil analisa protein ekstrak maggot dari konsentrasi metanol yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Nilai protein ekstrak maggot yang diekstrak dengan konsentrasi metanol yang berbeda. Keterangan : M1 (maggot yang di ekstrak dengan

metanol 100%), M2 (maggot yang diekstrak dengan metanol 75%), M3 (maggot yang diekstrak dengan metanol 50%).

Pada perlakuan M1, M2 dan M3 memiliki nilai protein yang berbeda. Maggot yang diekstrak dengan metanol 50% memiliki persentase kandungan protein tertinggi yaitu 52,11% diikuti dengan ekstrak metanol 75% dan 100% yang masing-masing memiliki kandungan protein 47,69% dan 21,77%.

### Komposisi dan Konsentrasi Asam Amino pada Setiap Ekstrak Maggot yang Diekstrak dengan Konsentrasi Metanol yang Berbeda

Berdasarkan hasil uji asam amino ekstrak maggot dengan menggunakan metode HPLC (High Performance Liquid Chromatography) diperoleh hasil sebagai berikut:

**Tabel 1.** Komposisi dan Konsentrasi Asam Amino pada Setiap Ekstrak Maggot yang Diekstrak dengan Konsentrasi Metanol yang Berbeda dengan Metode HPLC.

Nama Asam Amino	Konsentrasi Asam Amino (%)		
	M1	M2	M3
Aspartic Acid	0.21	0.92	1.75
Threonine	0.22	0.65	0.91
Serine	0.16	0.73	0.97
Glutamate	0.86	3.21	4.84
Glycine	0.69	1.62	2.11
Alanine	5.17	8.67	10.44
Valine	0.85	1.45	1.74
Methionine	0.1	0.16	0.29
Ileucine	0.55	1.04	1.24
Leucine	0.9	1.67	1.95
Tyrosine	0.16	0.69	0.71
Phenylalanine	0.71	1.15	0.75
Histidine	0.56	0.75	0.87
Lysine	0.53	1.51	1.95
Arginine	2.29	1.09	1.25
Total	13.98	25.32	31.75

Keterangan : M1 (maggot yang di ekstrak dengan metanol 100%), M2 (maggot yang diekstrak dengan metanol 75%), M3 (maggot yang diekstrak dengan metanol 50%).

Hasil analisa HPLC menunjukkan bahwa maggot yang diekstrak dengan konsentrasi metanol yang berbeda memiliki kandungan asam amino yang berbeda pula, konsentrasi asam amino pada ekstrak dengan pelarut 50%, 75% dan 100% berturut-turut adalah 31.75%, 25.32% dan 13.98%.

### Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Maggot dan Natrium Diklofenak

Maggot yang diekstrak menggunakan berbagai konsentrasi metanol dan natrium diklofenak diperiksa untuk mengetahui aktivitas antiinflamasinya, dengan metode penghambatan denaturasi protein. Hasil penghambatan denaturasi protein dari ekstrak maggot dan natrium diklofenak dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2 :

**Tabel 2.** Hasil uji aktivitas antiinflamasi ekstrak maggot

Konsentrasi (ppm)	Inhibisi (%)			IC <sub>50</sub> (µg/ml)		
	M1	M2	M3	M1	M2	M3
1000	94.6	4.3	5.9			
2000	227.0	24.4	15.3			
3000	325.6	37.0	36.4	402.0	1528.5	997.9
4000	410.0	54.8	61.9			
5000	510.4	91.1	100.1			

Keterangan : M1 (maggot yang di ekstrak dengan metanol 100%), M2 (maggot yang diekstrak dengan metanol 75%), M3 (maggot yang diekstrak dengan metanol 50%).

**Tabel 3.** Hasil uji aktivitas antiinflamasi kontrol positif (Natrium diklofenak)

Konsentrasi (ppm)	Inhibisi (%)	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
50	22.09	
100	56.41	
300	82.45	102.82
500	162.52	
1000	408.88	

Pada Tabel 1 dan Tabel 2, dapat dilihat bahwa ekstrak maggot dan natrium diklofenak memiliki kemampuan untuk menghambat denaturasi protein.



## Pembahasan

Ekstrak maggot yang diekstraksi dengan pelarut yang berbeda mendapatkan hasil rendemen yang berbeda (Gambar 1), banyaknya rendemen tergantung dari kelarutan komponen bioaktif dari tepung maggot. Gambar 1 menunjukkan bahwa rendemen tertinggi terdapat pada ekstrak yang diekstrak dengan menggunakan pelarut metanol 50%, sehingga kemungkinan besar senyawa bioaktif yang terkandung dalam tepung maggot lebih bersifat polar, hal ini disebabkan karena pelarut metanol 50% lebih bersifat polar dibandingkan dengan metanol 75% dan 100% hal ini diperkuat oleh Noviyanty *et al* (2019) bahwa semakin tinggi tingkat kepolaran pelarut, maka rendemen yang diperoleh akan semakin meningkat.

Perbedaan rendemen tentunya menghasilkan perbedaan nilai protein yang didapatkan, hal ini juga dievaluasi menggunakan seperangkat alat Kjeldahl (Buchi). Didapatkan hasil nilai protein yang berbeda-beda (Gambar 2), perbedaan nilai protein tersebut terjadi karena polaritas pelarut yang berbeda (Wakeel *et al.*, 2019). Metanol merupakan pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa organik baik yang bersifat polar maupun non polar, hal ini disebabkan karena metanol memiliki gugus polar (-OH) dan gugus nonpolar (-CH<sub>3</sub>) (Dilokekunakul *et al.*, 2020). Metanol memiliki konstanta dielektrik sebesar 33 sedangkan air memiliki konstanta dielektrik sebesar 80 (Agustina, 2017). Konstanta dielektrik menunjukkan tingkat kepolaran, semakin besar konstanta dielektrik maka semakin besar pula kepolaran suatu pelarut, sehingga metanol dengan konsentrasi 50% memiliki kepolaran yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut lainnya. Protein merupakan senyawa polar yang mudah berikatan dengan pelarut polar (Houghton dan Raman, 2012) sehingga metanol 50% mampu menarik lebih banyak protein dibandingkan dengan metanol 100%.

Protein tersusun atas ikatan ikatan asam amino, sehingga perbedaan nilai protein menandakan perbedaan jumlah dan struktur asam amino penyusunnya, yang kemudian dievaluasi menggunakan metode HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Didapatkan hasil analisis asam amino (Tabel ) bahwa rata-rata kandungan asam amino yang tinggi terdapat pada ekstrak maggot dengan

pelarut metanol 50%, hal ini sejalan dengan nilai rendemen dan nilai protein yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak lainnya. Dari 15 asam amino yang berhasil diidentifikasi, diduga Glisin, Alanin, Valin, Metionin, Ileusin, Leusin, Serin, Fenilalanin, Lisin dan Arginin memiliki kemampuan sebagai antiinflamasi (Speer *et al.*, 2020; Salehi *et al.*, 2020; Choi *et al.*, 2017 dan Tamales *et al.*, 2016).

Potensi antiinflamasi yang terdapat pada kandungan ekstrak maggot kemudian dievaluasi menggunakan metode denaturasi protein dan dibandingkan dengan natrium diklofenak (kontrol positif). Didapatkan hasil bahwa natrium diklofenak memiliki daya hambat paling tinggi dalam menghambat denaturasi protein dibandingkan dengan ekstrak maggot. Tingginya kemampuan natrium diklofenak ini sejalan dengan pernyataan Grant *et al* (1970) yang menyatakan bahwa beberapa obat antiinflamasi seperti natrium diklofenak memiliki kemampuan yang tinggi dalam menghambat denaturasi protein, namun karena efek samping natrium diklofenak yang cukup tinggi, maka penggunaan obat ini harus dibatasi. Kemampuan ekstrak maggot untuk menghambat denaturasi protein tidak kalah efektifnya dengan obat komersial ini. Maggot yang diekstrak dengan metanol 100% memiliki daya hambat 5 kali lebih tinggi dibandingkan maggot yang diekstrak dengan pelarut metanol 50% dan 75%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak yang diperoleh dari pelarut 100% memiliki kemampuan untuk mempertahankan protein agar tidak rusak akibat pemanasan.

Perusakan protein ditandai dengan penurunan nilai absorbansi sampel, pengukuran absorbansi pada metode ini menggunakan prinsip pengukuran berdasarkan kekeruhan, semakin banyak protein yang terdenaturasi, semakin rendah nilai absorbansi. Biuret digunakan sebagai penanda protein, apakah terdapat protein dalam suatu sampel atau tidak. Larutan biuret dalam suasana basa bereaksi dengan ikatan peptida dari BSA sehingga terjadi perubahan warna dari larutan biuret yang berwarna biru menjadi ungu. Perubahan warna yang diamati diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Semakin tinggi absorbansi, maka semakin tinggi pula kadar protein yang terkandung dalam bahan tersebut (Jubaidah, Nurhasnawati dan Wijaya,

2016). Pada penelitian ini diketahui bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak, maka semakin tinggi pula nilai absorbansinya. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki kemampuan untuk menstabilkan protein sehingga dapat menghambat denaturasi pada protein sedangkan pada ekstrak dengan konsentrasi rendah akan terjadi denaturasi protein sehingga jumlah protein berkurang dan menyebabkan biuret berubah warna menjadi ungu pucat sehingga nilai absorbansi turun. Nilai absorbansi tersebut dikonversikan ke dalam % inhibisi, sehingga berdasarkan % inhibisi, ekstrak maggot memiliki aktivitas antiinflamasi karena dapat menghambat denaturasi protein >20%. Senyawa yang dapat menghambat denaturasi >20% dianggap memiliki sifat antiinflamasi (Williams *et al.*, 2002). % inhibisi yang dihitung kemudian dianalisis menggunakan persamaan regresi linier antara konsentrasi (X) dan % inhibisi (Y) untuk menentukan kemampuan ekstrak dalam menghambat 50% denaturasi protein ( $IC_{50}$ ).

Berdasarkan Tabel 2, nilai  $IC_{50}$  ekstrak maggot dengan pelarut metanol 100% memiliki nilai  $IC_{50}$  paling rendah (efektifitasnya tinggi) dibandingkan maggot yang diekstrak dengan pelarut 50% dan 75%. Maggot yang diekstrak dengan metanol 100% 5 kali lebih efektif dalam menghambat denaturasi protein namun masih lebih lemah dibandingkan natrium diklofenak (Tabel 3) yang selama ini digunakan sebagai obat antiinflamasi komersial. Nilai  $IC_{50}$  mengacu pada jumlah dosis obat yang dibutuhkan untuk mencegah terjadinya denaturasi protein. Hanya dengan 147,99 ppm natrium diklofenak sudah mampu memberikan efek yang sama dengan 402,06 ppm ekstrak metanol 100%, 3373,38 ppm ekstrak metanol 75% dan 3257,36 ppm ekstrak metanol 50%. Namun meskipun demikian, penggunaan natrium diklofenak yang merupakan obat kimia memiliki efek samping yang tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak maggot alami.

Kemampuan ekstrak maggot dalam menghambat denaturasi protein dikaitkan dengan potensinya sebagai antiinflamasi (Akhter *et al.*, 2022). Potensi ini diduga karena adanya efek yang sinergis antara kandungan yang terdapat pada asam amino masing masing ekstrak. Hal ini dapat dilihat pada komposisi asam amino yang terkandung pada ekstrak

dengan pelarut metanol 50% dan metanol 75% didominasi asam amino alanin dan asam amino glutamat, sedangkan pada ekstrak dengan pelarut metanol 100% didominasi asam amino alanin dan asam amino arginin. Tingginya daya hambat ekstrak dengan pelarut metanol 100% diduga karena adanya efek sinergi antara asam amino alanin dan asam amino arginin dimana asam amino alanin mampu menurunkan respon inflamasi dengan cara menghambat ekspresi inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) dan Cyclooxygenase-2 (COX-2) pada sel makrofag (Choi *et al.*, 2017). Inducible nitric oxide synthase (iNOS) tubuh memainkan peran spesifik dalam menghasilkan nitric oxide (NO), yang diaktifkan terutama oleh berbagai sitokin seperti interleukin-1 (IL-1), tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha), dan interferon-gamma (IFN-gamma) selama respons imun dan peradangan. iNOS menghasilkan NO dalam jumlah yang substansial dan berkelanjutan, yang jika berlebihan, dapat membahayakan sel dan jaringan. NO sendiri berfungsi sebagai pembawa pesan berumur pendek dengan efek yang beragam, dalam konsentrasi rendah NO menunjukkan tindakan antiapoptosis yang protektif (De Palma *et al.*, 2009). Selain itu, NO, melalui aksi yang rumit, mengatur aktivitas sel yang kompeten terhadap kekebalan, yang berpotensi berkontribusi terhadap pembatasan peradangan (Bogdan, 2001). Dampak perlindungan NO terhadap apoptosis melibatkan beberapa mekanisme simultan, termasuk penghambatan aktivitas caspase, pelestarian fungsi mitokondria, dan penghambatan pensinyalan sfingolipid (Clementi, *et al.*, 2003). Studi menunjukkan bahwa arginin berfungsi sebagai substrat untuk enzim sintesis NO (Bersimbaev *et al.*, 2001) membuat suplemen asam amino arginin efektif sebagai donor NO, cocok untuk situasi yang membutuhkan perlindungan sel dari cedera. Akibatnya, menggabungkan arginin dengan asam amino alanin menunjukkan efek sinergis dalam meminimalkan inflamasi yang terjadi.

## Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, diketahui bahwa maggot yang diekstrak dengan metanol 100% memiliki kemampuan 5 kali lebih baik dalam menghambat denaturasi

protein dibandingkan dengan maggot yang diekstrak dengan metanol 50% dan 75%. Hal ini diduga karena adanya peran efek sinergis antara asam amino alanin dan asam amino arginin yang terkandung dalam ekstrak maggot yang diekstrak dengan metanol 100% sehingga memberikan respon antiinflamasi yang lebih baik.

### Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada DRTPM KEMENDIKBUDRISTEK RI yang telah mendanai penelitian ini (Penelitian Tesis Magister No. SK 0459/E5/PG.02.00/2024 dan No. Kontrak 041/E5/PG.02.00.PL/2024 untuk Resti Rahayu). Terima kasih kepada Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, yang telah memberikan dukungan dan sumber daya yang tak ternilai dalam penelitian ini.

### Referensi

- Aditya, M. R. T., Marisa, D., & Suhartono, E. (2015). Potensi antiinflamasi jus buah manggis (*Garcinia mangostana*) terhadap denaturasi protein in vitro. *Berkala Kedokteran*, 11(2), 149-156. <http://dx.doi.org/10.20527/jbk.v11i2.138>.
- Afriani, Y., Rahayu, R., and Santoso, P. (2023). Fatty Acid And Hematology Profile Of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens* L.) Maggot Oil In Wound Healing. *International Journal of Progressive Sciences and Technologies*. 39 (2), pp. 429-433. <http://dx.doi.org/10.52155/ijpsat.v39.2.5523>
- Agustina, E. (2017). Uji aktivitas senyawa antioksidan dari ekstrak daun Tiin (*ficus carica* linn) dengan pelarut air, metanol dan campuran metanol-air. *Klorofil: Jurnal Ilmu Biologi dan Terapan*, 1(1), 38-47. <http://dx.doi.org/10.30821/kfl:jibt.v1i1.1240>.
- Akhter, S., Irfan, H. M., Ullah, A., Jahan, S., Roman, M., Latif, M. B., & Althobaiti, Y. S. (2022). Noscaphine hydrochloride (benzyl-isoquinoline alkaloid) effectively prevents protein denaturation through reduction of IL-6, NF-kB, COX-2, Prostaglandin-E2 in rheumatic rats. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 30(12), 1791-1801. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2022.10.008>
- Alhakmani, F., Kumar, S., & Khan, S. A. (2013). Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 3(8), 623-627. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60126-4](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60126-4)
- Ansar W, & Ghosh S (2016). Inflammation and Inflammatory Diseases, Markers, and Mediators: Role of CRP in Some Inflammatory Diseases. *Biology of C Reactive Protein in Health and Disease*. 67-107. doi:10.1007/978-81-322-2680-2\_4.
- Babu SV, Shareef MM, Shetty AP, & Shetty KT (2002). HPLC method for amino acids profile in biological fluids and inborn metabolic disorders of aminoacidopathies. *Indian J Clin Biochem*. 17(2):7-26. doi:10.1007/BF02867967.
- Bersimbaev, R. I., Yugai, Y. E., Hanson, P. J., & Tzoy, I. G. (2001). Effect of nitric oxide on apoptotic activity in the rat gastrointestinal tract. *European journal of pharmacology*, 423(1), 9-16. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(01\)01095-0](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(01)01095-0)
- Bogdan, C. (2001). Nitric oxide and the immune response. *Nature immunology*, 2(10), 907-916. <https://doi.org/10.1038/ni1001-907>
- Buchi (2018). Operation Manual (Original), Kjelmater K-375 with Kjelmater K-376 / K-377. BÜCHI Labortechnik AG. 11593514 en. [https://assets.buchi.com/image/upload/v1682359306/pdf/Operation-Manuals/OM\\_11593514\\_K-375\\_K-376\\_K-377\\_en.pdf](https://assets.buchi.com/image/upload/v1682359306/pdf/Operation-Manuals/OM_11593514_K-375_K-376_K-377_en.pdf)



- Chandra, S., Chatterjee, P., Dey, P., & Bhattacharya, S. (2012). Evaluation of anti-inflammatory effect of ashwagandha: a preliminary study in vitro. *Pharmacognosy Journal*, 4(29), 47-49. <https://doi.org/10.5530/pj.2012.29.7>
- Choi, Y. H., Choi, Y. S., Kim, Y. K., Rahman, M. S., Pradeep, G. C., Yoo, J. C., & Suh, J. W. (2017). A multifunctional alanine-rich anti-inflammatory peptide BCP61 showed potent inhibitory effects by inhibiting both NF- $\kappa$ B and MAPK expression. *Inflammation*, 40, 688-696. <https://doi.org/10.1007/s10753-017-0515-7>
- Clementi, E., Borgese, N., & Meldolesi, J. (2003). Interactions between nitric oxide and sphingolipids and the potential consequences in physiology and pathology. *Trends in pharmacological sciences*, 24(10), 518-523. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2003.08.008>
- De Palma, C., Di Paola, R., Perrotta, C., Mazzon, E., Cattaneo, D., Trabucchi, E., & Clementi, E. (2009). Ibuprofen-arginine generates nitric oxide and has enhanced anti-inflammatory effects. *Pharmacological research*, 60(4), 221-228. doi:10.1016/j.phrs.2009.06.002
- Dharmadeva, S., Galgamuwa, L. S., Prasadanie, C., and Kumarasinghe, N. (2018). In vitro anti-inflammatory activity of *Ficus racemosa* L. bark using albumin denaturation method. *AYU (An international quarterly journal of research in Ayurveda)*, 39(4), 239-242. DOI: 10.4103/ayu.AYU\_27\_18
- Dilokekunakul, W., Klomkliang, N., Phadungbut, P., Chaemchuen, S. and Supasitmongkol, S. (2020). Effects of functional group concentration, type, and configuration on their saturation of methanol adsorption on functionalized graphite, *Applied Surface Science*. 501. 144121. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.144121>.
- Dossey, A.T. (2016) Insects as Sustainable Food Ingredients, Insects as Sustainable Food Ingredients. doi:10.1016/c2014-0-03534-4.
- Eze, F. I., Uzor, P. F., Ikechukwu, P., Obi, B. C., & Osadebe, P. O. (2019). In vitro and In vivo Models for Anti-inflammation: An Evaluative. *enzyme*, 1(1), 278. DOI: 10.36922/itps.v2i2.775
- Grant, N. H., Alburn, H. E., & Kryzanasuskas, C. (1970). Stabilization of serum albumin by anti-inflammatory drugs. *Biochemical pharmacology*, 19(3), 715-722. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(70\)90234-0](https://doi.org/10.1016/0006-2952(70)90234-0)
- Gunathilake, K. D. P. P., Ranaweera, K. K. D. S., & Rupasinghe, H. V. (2018). In vitro anti-inflammatory properties of selected green leafy vegetables. *Biomedicines*, 6(4), 107. <https://doi.org/10.3390/biomedicines6040107>
- Herold, K., & Mrowka, R. (2019). Inflammation—Dysregulated inflammatory response and strategies for treatment. *Acta Physiologica*, 226(3). doi:10.1111/apha.13284.
- Houghton, P. & Raman, A. (2012). *Laboratory handbook for the fractionation of natural extracts*. Springer Science & Business Media. pp: 24. ISBN 978-1-4613-7662-0
- Jubaidah, S., Nurhasnawati, H. & Wijaya, H. (2016). Penetapan kadar protein tempe jagung (*Zea mays* L.) dengan kombinasi kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) secara spektrofotometri sinar tampak, *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 2(1), pp. 111–119. doi:10.51352/jim.v2i1.55.
- Mangunsong, S. & Marsela, L. (2021). Efek ekstrak metanol maggot (*H. illucens*) terhadap penyembuhan luka terbuka pada tikus (*Rattus norvegicus*), *JKPharm Jurnal Kesehatan Farmasi*, 3(2), pp. 99–104. doi:10.36086/jkpharm.v3i2.1083.
- Noviyanty, A., Salingkat, C.A. & Syamsiar, S. (2019). Pengaruh jenis pelarut terhadap ekstraksi dari kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 5(3), pp. 271–279. doi:10.22487/kovalen.2019.v5.i3.14037.
- Osman, N. I., Sidik, N. J., Awal, A., Adam, N. A. M., & Rezali, N. I. (2016). In vitro xanthine oxidase and albumin denaturation inhibition assay of *Barringtonia racemosa* L. and total phenolic content analysis for potential

- anti-inflammatory use in gouty arthritis. *Journal of inter-cultural ethnopharmacology*, 5(4), 343. doi: 10.5455/jice.20160731025522
- Pace, C. N., Treviño, S., Prabhakaran, E., & Scholtz, J. M. (2004). Protein structure, stability and solubility in water and other solvents. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 359, 1225-1235. doi: 10.1098/rstb.2004.1500
- Rahayu, R., Rahmawati, R., Mairawita, Devianto, D., & Putra, R. E. (2023). Performance of Tropical Fruit Wastes as Oviposition Attractants and Growing Substrates in Rearing Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*). *International Journal Of Agriculture and Biology*, 30(3) 221–228. DOI: 10.17957/IJAB/15.2079
- Rusli, Z. and Setiani, L.A. (2020). Modifikasi Metode Analisis Daya Hambat terhadap Proses Denaturasi Protein yang Diinduksi oleh Panas. *CHEESA: Chemical Engineering Research Articles*, 3(2), p. 55. doi:10.25273/cheesa.v3i2.7499.55-62
- Salehi, S., Koeck, K. & Scheibel, T. (2020). Spider silk for tissue engineering applications. *Molecules*, 25(3), p. 737. <https://doi.org/10.3390/molecules25030737>
- Sangiuliano, B., Pérez, N. M., Moreira, D. F., & Belizário, J. E. (2014). Cell death-associated molecular-pattern molecules: inflammatory signaling and control. *Mediators of inflammation*, 821043. <https://doi.org/10.1155/2014/821043>
- Silvestrini, B. & Silvestrini, M. (2016). Medical Implications of the Relationships among Protein Denaturation, Necrosis and Inflammation: An Intriguing Story. *Intech*, 11(tourism), p. 13. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.108018>.
- Sostres, C., Gargallo, C. J., Arroyo, M. T., & Lanás, A. (2010). Adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs, aspirin and coxibs) on upper gastrointestinal tract. *Best practice & research Clinical gastroenterology*, 24(2), 121-132. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2009.11.005>
- Speer, H., D’Cunha, N. M., Davies, M. J., McKune, A. J., & Naumovski, N. (2020). The physiological effects of amino acids arginine and citrulline: is there a basis for development of a beverage to promote endurance performance? A narrative review of orally administered supplement *Beverages*, 6(1), 11. <https://doi.org/10.3390/beverages601011>
- Tamales, D. A., Dewi, N., & Rosida, L. (2016). Extract of haruan (*channa striata*) extract increasing reepithelialization count in wound healing process on wistar rat’s buccal mucosa. *Journal of Dentomaxillofacial Science*, 1(1), 12-15. <https://doi.org/10.15562/jdmfs.v1i1.17>
- Tonk, R., Tawatia, S., Majeed, S., & Dagar, M. (2020). Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDS): Chemistry, Mechanism and their Adverse events. *American Journal of PharmTech Research*, 208(5), 43-49. doi:10.46624/ajphr.2020.v8.i5.004.
- Umaphathy, E., Ndebia, E. J., Meeme, A., Adam, B., Menziwa, P., Nkeh-Chungag, B. N., & Iputo, J. E. (2010). An experimental evaluation of *Albuca setosa* aqueous extract on membrane stabilization, protein denaturation and white blood cell migration during acute inflammation. *J Med Plants Res*, 4(9), 789-795. DOI: 10.5897/JMPR10.056
- Utari, S., Rahayu, R., & Santoso, P. (2023). Fatty Acid as an Anti-inflammatory Component from Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Prepupa Oil. *International Journal of Progressive Sciences and Technologies*, 40(2), 107-108. doi: 10.52155/ijpsat.v40.2.5524
- Wakeel A, Jan SA, Ullah I, Shinwari ZK, & Xu M (2019). Solvent polarity mediates phytochemical yield and antioxidant capacity of *Isatis tinctoria*. *PeerJ*. 9;7:e7857. doi: 10.7717/peerj.7857.
- Wijaya, H., Novitasari, N., & Jubaidah, S. (2018). Perbandingan metode ekstraksi terhadap rendemen ekstrak daun rambai laut (*Sonneratia caseolaris* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 4(1), 79-83. <https://doi.org/10.51352/jim.v4i1.148>
- Williams, L.A.D., Vasquez, E.A., Milan, P.P., Zebitz, C., & Kraus, W. (2002). *In Vitro* Anti-Inflammatory and Antimicrobial Activities of

Phenylpropanoids from *Piper betle* L. (Piperaceae). In: Rauter, A.P., Palma, F.B., Justino, J., Araújo, M.E., dos Santos, S.P. (eds) *Natural Products in the New Millennium: Prospects and Industrial Application*. Proceedings of the Phytochemical Society of Europe, vol 47. Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-94-015-9876-7\\_22](https://doi.org/10.1007/978-94-015-9876-7_22)