



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

Sulistiyani^{1*}, Muhamad Fajar Firdaus¹, Ria Heni Sigiro¹, Abdjad Asih Nawangsih²,
Ukhradiya Magharaniq Safira Purwanto¹, Dimas Andrianto¹

¹Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University
Jalan Bungur, Gedung Departemen Biokimia IPB, Dramaga, Bogor 16680, Indonesia

²Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, IPB University
Jalan Kamper, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680, Indonesia

(diterima November 2022, disetujui November 2023)

ABSTRAK

Potensi larva (*maggot*) lalat tentara hitam (*black soldier fly*/BSF, *Hermetia illucens* (Linnaeus)) sebagai sumber biofarmaka khususnya antioksidan dan atau antiinflamasi belum diteliti lebih lanjut. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi senyawa dalam ekstrak *maggot* BSF yang berpotensi mengaktifkan mekanisme persinyalan antioksidan. *Maggot* BSF yang telah diberi pakan limbah pertanian diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut air, metanol, dan aseton. Analisis dengan *liquid chromatography-mass spectrometry* (LC-MS/MS) terdeteksi 40 senyawa kimia, yaitu 15 dari ekstrak air, 13 dari ekstrak metanol, dan 12 dari ekstrak aseton. Sebagian besar (90%) dari senyawa tersebut memiliki skor bioavailabilitas baik ($= 0,55$ atau lebih) dengan toksisitas relatif rendah ($500 \text{ mg/Kg} < \text{LD}_{50} < 5000 \text{ mg/Kg BB}$). Penambatan molekuler memprediksi 26 senyawa bioaktif berpotensi mengaktifkan mekanisme antioksidan di dalam sel via faktor transkripsi NRF2, lebih baik daripada aktivator NRF2 komersil. Senyawa terbaik adalah senyawa larut air dengan PubChem CID: 73775828. Senyawa ini mengikat protein Keap-1 (PDB ID: 6FFM) yang menghambat persinyalan NRF2 dengan energi bebas Gibbs (ΔG) = -6,08 Kkal/mol dan konstanta disosiasi (Kd) = $3,58 \times 10^{-5} \mu\text{M}$. Adapun penghambatan peradangan via NF-kappa B terbaik ditunjukkan oleh senyawa larut air *verpamide A* yang mengikat enzim inhibitor NF-kappa B kinase (IKK2) (PDB ID: 4KIK) dengan ΔG = -5,024 kkal/mol; Kd = $0,207 \times 10^3 \mu\text{M}$. Potensi ini lebih baik dari yang ditunjukkan oleh aspirin. Dengan demikian, ekstrak *maggot* BSF merupakan sumber biofarmaka yang berpotensi mengaktifkan persinyalan antioksidan selular dan menghambat terjadinya inflamasi.

Kata kunci: aktivator NRF2, inhibitor NF-kappa B kinase, limbah pertanian, penambatan molekuler

ABSTRACT

The potential of black soldier fly (*Hermetia illucens* (Linnaeus), BSF) maggots as the source of biopharmaca, has not been extensively studied. This research aimed to identify bioactive compounds in BSF maggot extract that potentially activate antioxidant signaling mechanism. BSF maggots fed with vegetable waste were extracted based on maceration method with water, methanol, and

*Penulis korespondensi: Sulistiyani. Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University
Jalan Bungur, Gedung Departemen Biokimia, IPB University, Dramaga, Bogor 16680, Tel: 0251-8423267, E-mail: sulistiyani@apps.ipb.ac.id

acetone as solvents. Forty bioactive compounds were identified by *liquid chromatography-mass spectrometry*: 15 were in the aqueous extract, 13 were from methanolic extract, and 12 were in the acetone extract. Most of those compounds (90%) were having high bioavailability score (= 0.55 or more) and relatively low toxicity ($500 \text{ mg/Kg} < \text{LD}_{50} < 5000 \text{ mg/Kg BW}$). Molecular docking predicted that there were 26 bioactive compounds potential to activate cellular antioxidant signaling through activation of NRF2 transcription factor, better than the commercial NRF2 activator. The aqueous extract compound with PubChem CID: 73775828 was the best one that inhibited NRF2 signaling by binding to Keap-1 protein (PDB ID: 6FFM) with Gibbs free energy (ΔG) = -6.08 Kcal/mol and dissociation constant (K_d) = $3.58 \times 10^{-5} \mu\text{M}$. Whereas inhibition of inflammation via NF-kappa B signaling was shown by an aqueous extract compound verpacamide A which bound inhibitor NF-kappa B kinase (IKK2) (PDB ID: 4KIK) with ΔG = -5.024 kcal/mol; K_d = $0.207 \times 10^3 \mu\text{M}$. This potency was better than that of aspirin. In conclusion, BSF maggot extracts are source of bio-pharmaca with potential cellular antioxidant and anti-inflammatory activity.

Key words: molecular docking, NF-kappa B kinase inhibitor, NRF2 activator, vegetable waste

PENDAHULUAN

Hermetia illucens (Linnaeus) atau yang lebih dikenal dengan sebutan *black soldier fly* (BSF) merupakan salah satu serangga asal Benua Amerika yang telah dikembangkan sebagai teknologi biokonversi limbah organik menjadi produk pupuk kompos (Čičková et al. 2015). Pemanfaatan tersebut makin populer karena serangga ini bukan hama sehingga relatif aman jika ditinjau dari segi kesehatan manusia (Li et al. 2011). Larva (*maggot*) BSF banyak digunakan sebagai pakan ternak karena kandungan nutrisi yang baik antara lain protein 44,26%, lemak 29,65%, dan beberapa mineral Mn, Zn, Cu, P, Ca, Mg, Na, dan K (Wardana 2016). Selain protein dan lemak, *maggot* BSF mengandung pula komponen biologis aktif yang bersifat antioksidan, antimikroba, dan modulator kekebalan pada hewan (Mlcek et al. 2014; Lee et al. 2018; Silva et al. 2018; Vogel et al. 2018; Rabani et al. 2019). Minyak *maggot* BSF, terutama asam laurat, menunjukkan aktivitas antibakteri (Zeitz et al. 2015; Schiavone et al. 2017). Zat bioaktif potensial dari ekstrak air *maggot* BSF mampu meningkatkan ekspresi peptida antimikroba (*antimicrobial peptide*, AMP) (Muller et al. 2017). Penelitian Kim et al. (2020) menunjukkan bahwa kapasitas antioksidan total (berdasarkan kemampuan reduksi Cu^{2+} menjadi Cu^{+}) dari minyak *maggot* BSF sebesar 1,32 mmol/l lebih tinggi dibandingkan dengan minyak jagung dan minyak kelapa.

Ekstrak *maggot* dari larva *Lucilla seriata* Meigen (sejenis lalat rumah) dilaporkan mampu menekan peradangan dan stres oksidatif dalam

studi menggunakan kultur sel makrofag RAW246.7 dan studi *in vivo* menggunakan hewan model mencit untuk penyakit radang usus besar (*colitis*) (Wang et al. 2019). Mekanisme ekstrak larva lalat tersebut dilaporkan memengaruhi regulasi ekspresi *nuclear factor-erythroid-2 related factor* (NRF2) (Wang et al. 2021). Faktor transkripsi NRF2 ini pada gilirannya mengendalikan ekspresi gen berbagai enzim antioksidan, seperti glutathion peroksidase, katalase, dan superoksida dismutase (SOD) (Tong et al. 2006; He et al. 2020). *Maggot* BSF juga mengandung senyawa flavonoid (Shumo et al. 2019b). Senyawa flavonoid, seperti kuersetin, kaempferol, dan lainnya dilaporkan memiliki sifat anti-inflamasi dengan menghambat *nuclear factor-kappa B* (NF-kB) secara *in vivo* dan *in vitro* (Choy et al. 2019). Hal ini membuka peluang pengembangan *maggot* BSF sebagai sumber bahan alami untuk kesehatan hewan atau manusia khususnya dalam menanggulangi penyakit degeneratif/noninfeksius akibat stres oksidatif.

Potensi ekstrak *maggot* BSF, khususnya yang diberi pakan limbah pertanian, dalam pengendalian aktivitas NRF2 terkait stres oksidatif maupun persinyalan NF-kB dalam peradangan masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan mengidentifikasi senyawa dalam ekstrak *maggot* BSF yang berpotensi mengaktifkan mekanisme persinyalan antioksidan seluler melalui penghambatan asosiasi NRF2 dengan protein regulator negatifnya, yaitu *Kelch-like ECH-associated protein 1* (Keap-1), dan penghambatan aktivitas enzim inhibitor NF-kB kinase (IKK2) yang berperan dalam regulasi persinyalan radang via aktivasi NF-kB. Hipotesis dari penelitian ini

adalah terdapatnya senyawa aktif yang dapat menghambat asosiasi NRF2 dengan protein Keap-1 terkait respons antioksidan dan yang menghambat enzim IKK2 terkait antiperadangan. Informasi tentang senyawa aktif pada ekstrak *maggot* BSF yang menghambat asosiasi Keap-1/NRF2 dan aktivitas enzim IKK2 secara molekuler menjadi dasar kajian untuk mendukung pemanfaatan *maggot* BSF sebagai sumber antioksidan dan antiinflamasi alami.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Rumah Maggot dusun Gunung Batu, Desa Sindangjaya, Cipanas, Kabupaten Cianjur dan di Laboratorium Biokimia, Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University. Analisis senyawa metabolit menggunakan instrument LC-MS/MS yang terdapat di Pusat Laboratorium Forensik (Sentul, Bogor). Penelitian dimulai dari bulan Januari sampai Agustus 2022.

Pembiakan *maggot* BSF

Larva (*maggot*) diperbanyak dari lalat BSF yang dikembangbiakkan dalam kandang berukuran 2 m × 3 m dengan rerata temperatur ruangan 14–17 °C (Gambar 1). Setelah lalat BSF bertelur (\pm membutuhkan waktu 2 minggu), telur ditetaskan di bak penampungan (3–4 hari). Selanjutnya, *maggot* dipelihara dengan pemberian substrat limbah pertanian berupa cacahan sisa sayur-mayur, seperti tomat, seledri, pakcoy, kembang kol, brokoli, dan wortel dan sisa parutan kelapa selama 18–21 hari hingga fase pra-pupa (Gambar 2).

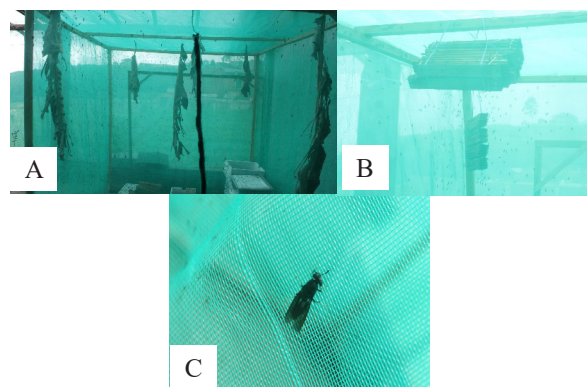
Pembuatan simplisia, analisis proksimat, dan ekstraksi bertingkat tepung *maggot* BSF

Maggot BSF dibekukan dalam *freezer* selama 24 jam, lalu dikering-anginkan pada suhu ruang (27–28 °C). Sebanyak 1,237 g *maggot* BSF dikeringkan dalam oven 60 °C selama 24 jam lalu diserbukkan dan diperoleh tepung simplisia sebanyak 202,32 g. Analisis proksimat tepung *maggot* BSF dilakukan di Laboratorium Terpadu, Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, IPB University. Selanjutnya, simplisia diekstraksi

secara maserasi bertingkat menggunakan 3 macam pelarut, yaitu aseton, metanol, dan akuades (Yantina 2016). Semua filtrat hasil maserasi dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50 °C.

Analisis LC-MS/MS

Ekstrak *maggot* BSF dianalisis menggunakan *ultra performance liquid chromatography* (UPLC) dan tandem *mass spectrometry* (MS/MS) sesuai metode Muchammad (2019). Kromatografi menggunakan kolom jenis C18 HSS berukuran 1,8 μ m 2,1 x 100 mm), suhu kolom 50 °C dengan fase geraknya air + ammonium format 5 mM-acetonitril (A) + 0,05% asam format (B), dan laju alir: 0,2 ml/menit selama 23 menit. Sampel



Gambar 1. Kondisi kandang *maggot black soldier fly* (BSF). A: area perkembangan BSF dewasa dan penetasan telur; B: tempat BSF dewasa meletakkan telur; dan C: lalat BSF dewasa.

Figure 1. The black soldier fly maggot (BSF) cage. A: area for egg hatching and developmental into mature BSF; B: place where the adult BSF lays eggs; C: adult BSF.



Gambar 2. *Maggot black soldier fly* berumur 18–21 hari.

Figure 2. Black soldier fly maggots of 18–21 days-old.

yang telah disaring dengan filter 0,2 μm diinjeksi sebanyak 5 μl . Sistem MS yang digunakan, ialah *electrospray ionization (positive mode)* dengan rentang analisis 50–1200 m/z, suhu sumber 100 °C, suhu desolvasi 350 °C, *cone gas flow* 0 l/jam, *desolvation gas flow*: 793 l/jam, *collision energy*: 4 volt (energi rendah), dan *rampt collision energy*: 25–60 volt (energi tinggi).

Preparasi dan analisis stabilitas ligan

Struktur tiga dimensi (3D) ligan diperoleh dari *PubChem* dengan situs <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> berformat (*sdf). Preparasi dilakukan terhadap ligan bawaan (*PubChem* CID 134823961) hasil kristalografi protein Keap-1 (PDB ID: 6FFM) dan ligan alami yang tertambat pada enzim IKK2 (PDB ID: 4KIK) berupa senyawa sintetik staurosporine (KSA700) (Liu et al. 2013). Untuk ligan pembanding digunakan KI696 (inhibitor Nrf2/Keap-1 komersial) (CID 118170767), dimetil fumarat (antiinflamasi Tecfidera®), TPCA-1 (Presscot et al. 2018), aspirin (Frelin et al. 2003), dan wedelolaktin (Ali et al. 2016). Ligan uji yang dipakai berasal dari senyawa ekstrak *maggot (H. illucens)*, yaitu 5 macam ligan dari penelusuran pustaka, yaitu luteolin, apigenin, kuersetin, rutin, kaempferol (Shumo et al. 2019b), dan 40 ligan uji yang didapatkan dari hasil LC-MS/MS ekstrak *maggot* BSF. Struktur 3D ligan uji dan pembanding dioptimasi geometrinya pada perangkat lunak *YASARA structure Version 19.9.17*. Selanjutnya, disimpan dalam format (*pdb) (Jain & Nicholls 2008).

Preparasi dan analisis stabilitas reseptor

Analisis *in silico* menggunakan struktur 3D dua macam reseptor, yaitu protein Keap-1 (PDB ID: 6FFM) dan enzim IKK2 (PDB ID: 4KIK). Struktur 3D reseptor diunduh pada situs web Protein Data Bank menggunakan kode akses 6FFM untuk protein Keap-1 (<https://doi.org/10.2210/pdb6ffm/pdb>) dan 4KIK untuk enzim IKK2 (<https://doi.org/10.2210/pdb4kik/pdb>) dalam format (*pdb). Struktur 3D reseptor tersebut kemudian dibersihkan dari molekul air dan ligan alami yang masih menempel pada strukturnya, atom hidrogen polar ditambahkan menggunakan perangkat lunak *YASARA Structure*, selanjutnya disimpan dalam bentuk format (*pdb) (Krieger & Vriend 2015).

Analisis bioavailabilitas dan toksisitas ligan

Analisis bioavailabilitas terhadap seluruh senyawa (ligan) uji dan kontrol/pembanding dilakukan dalam bentuk *canonical SMILES* pada laman situs web pkCSM (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>) dan laman situs web SwissADME (<http://www.swissadme.ch>). Hasil analisis dapat langsung terlihat pada masing-masing laman situs web (Daina et al. 2017; Pires et al. 2015). Bioavailabilitas semua senyawa yang teridentifikasi diprediksi secara *in silico* menggunakan parameter fisikokimiawi, yakni bobot molekul, donor, dan akseptor hidrogen, logP, serta refraktivitas molar ligan sesuai aturan Lipinski et al. (2012).

Toksikitas ligan uji dianalisis menggunakan situs web ProTox-II (Banerjee et al. 2018). Prediksi dilakukan dengan mengunggah struktur *Canonical SMILES* ligan pada bagian *Tox-Prediction* di laman https://tox-new.charite.de/protox_II. Hasil analisis ditampilkan pada laman *prediction result* dalam parameter absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (ADME) yang mencakup *topology polar surface area* (TPSA), kelarutan air, absorpsi *gastro intestinal* (GI), log kp, dan skor bioavailabilitas sesuai standar ADME.

Penambatan molekuler

Validasi metode. Setelah ligan alami dipreparasi, dilakukan penambatan molekuler untuk validasi *gridbox* dan kemudian *root mean square deviation* (RMSD) dihitung menggunakan perangkat lunak *AutoDockTools-1.5.7* (Hilman 2010 dengan modifikasi) atau *YASARA Structure* (Krieger & Vriend 2015). Ukuran *gridbox* terbaik digunakan untuk penapisan virtual.

Penapisan virtual dan analisis energi bebas

Gibbs. Penapisan virtual untuk menentukan potensi sebagai antioksidan (inhibitor protein Keap-1) menggunakan perangkat lunak *Autodock 4.2.6*, sedangkan potensi antiinflamasi (inhibitor enzim IKK2) ditentukan dengan *YASARA Structure*. Hasil penapisan virtual berupa file dalam format (*txt). Hasil penambatan molekuler dianalisis melalui parameter energi bebas Gibbs (ΔG / energi bebas pengikatan), yakni menganalisis afinitas pengikatan dan konstanta disosiasi (Kd) ligan dan reseptor (Durai et al. 2017; Ali et al.

2020). Visualisasi 3D dilakukan menggunakan perangkat lunak PyMOL.

HASIL

Simplisia dan identifikasi senyawa bioaktif ekstrak *maggot* BSF

Hasil analisis proksimat menunjukkan bahwa tepung *maggot* BSF memiliki bobot kering sebesar 91,61%, kadar abu 8,41%, protein kasar 34,70%, serat kasar 7,56%, lemak kasar 40,91%, dan beta-N 0,03%. Hasil analisis LC-MS/MS terhadap ekstrak *maggot* BSF didapatkan 41 senyawa, namun terdeteksi 40 senyawa yang terdiri atas 15 senyawa ekstrak air (Tabel 1), 13 senyawa ekstrak aseton (Tabel 2), dan 12 senyawa ekstrak metanol (Tabel 3). Secara umum golongan senyawa yang terbanyak adalah senyawa alkaloid (70%) dan sisanya beragam senyawa derivat lipid dan alkohol rantai panjang.

Prediksi bioavailabilitas dan toksisitas

Skor bioavailabilitas menunjukkan bahwa untuk semua ligan nilainya berkisar 0,17–0,85 dengan mayoritas skor bioavailabilitas = 0,55

(Tabel 4), artinya semua senyawa memiliki skor bioavailabilitas di atas 0,10 sehingga diprediksi dapat menjadi kandidat antioksidan dan obat anti-inflamasi yang efektif jika memenuhi syarat keamanan melalui prediksi toksisitas. Meskipun demikian, berdasarkan karakteristik fisikokimiawi terdapat satu senyawa yang tidak memenuhi persyaratan karena melanggar lebih dari 2 aturan Lipinski, yaitu suatu senyawa alkaloid pada ekstrak air dengan formula $C_{39}H_{75}N_5O_9$ (PubChem ID 22819456). Senyawa ini juga termasuk salah satu dari 3 senyawa yang tidak memenuhi standar ADME karena tidak memenuhi standar TPSA ($226,77 \text{ \AA}^2$), tidak larut air, absorpsi GI rendah, dan log *kp* negatif ($-6,84 \text{ cm/s}$). Dua senyawa lainnya adalah satu senyawa alkaloid pada ekstrak aseton ($C_{27}H_{47}N_3O_6S$, PubChem ID11082109) dengan TPSA = $279,75 \text{ \AA}^2$, absorpsi GI rendah, sangat larut air, dan log *kp* sangat negatif ($-14,47 \text{ cm/s}$) dan satu senyawa alkohol rantai panjang pada ekstrak metanol ($C_{24}H_{48}O_3$, PubChem ID163205262) memiliki TPSA = $142,21 \text{ \AA}^2$, cukup larut dengan air, absorpsi GI rendah, dan log *kp* negatif ($-6,99 \text{ cm/s}$).

Toksitas senyawa ekstrak *maggot* BSF diprediksi melalui parameter kardiotoksitas

Tabel 1. Kandungan senyawa bioaktif ekstrak air *maggot black soldier fly*
Table 1. Bioactive compounds in water extract of black soldier fly maggot

No.	Waktu retensi (menit) (Retention time/Rt) (minute)	Bobot terhitung (Calculated mass)	Golongan senyawa (Compound group)	Rumus kimia (Chemical formula)	Nama senyawa/PubChem CID (Compound name/PubChem CID)
1.	2,512	120,0813	Alkaloid	C8 H9 N	N-ethenylaniline
2.	1,633	137,0463	Alkaloid	C5 H4 N4 O	Isoxazolo[5,4-D]pyrimidin-4-amine
3.	3,517	188,0712	Alkaloid	C11 H9 N O2	1-Naphthyl carbamate
4.	9,844	216,1964	Alkaloid	C12 H25 N O2	Butoctamide
5.	11,581	244,2277	Alkaloid	C14 H29 N O2	N-(2-Hydroxyethyl) dodecanamide
6.	1,985	254,1617	Alkaloid	C11 H19 N5 O2	Verpacamide A
7.	15,644	439,3787	Wax	C27 H50 O4	91722024
8.	15,694	439,3801	Alkaloid	C28 H46 N4	101885348
9.	16,046	465,3944	Sterol	C29 H52 O4	146760
10.	18,063	467,4114	Alkaloid	C30 H50 N4	142527989
11.	10,723	478,2441	Naphthalenone	C25 H35 N O8	73775828
12.	18,394	493,4257	Sterol	C31 H56 O4	53318176
13.	15,033	537,4519	Wax	C33 H60 O5	134768022
14.	15,251	537,4532	Alkaloid	C34 H56 N4 O	58770928
15.	17,753	758,5643	Acyl Amine	C39 H75 N5 O9	22819456
16.	4,571	1097,6557	-	C47 H80 N22 O9	Unknown

Tabel 2. Kandungan senyawa bioaktif ekstrak aseton *maggot black soldier fly***Table 2.** Bioactive compounds in acetone extract of black soldier fly maggot

No.	Waktu retensi (menit) (Retention time/Rt) (minute)	Bobot terhitung (Calculated mass)	Golongan senyawa (Compound group)	Rumus kimia (Chemical formula)	Nama senyawa/PubChem CID (Compound name/PubChem CID)
1.	1,261	108,0813	Alkaloid	C7 H9 N	1-(prop-2-en-1-yl)-1H-pyrrole
2.	7,785	138,0919	Alkaloid	C8 H11 N O	N-(2-furylmethyl) cyclopropanamine
3.	1,407	138,1283	Alkaloid	C9 H15 N	N-(prop-2-yn-1-yl) cyclohexanamine
4.	9,141	170,0606	Benzofuran	C11 H8 N O	Benzofuro[3,2-b]pyridine
5.	13,409	184,0722	Alkaloid	C7 H9 N3 O3	2,3-Dihydro-2-ethyl-6- nitroimidazo(2,1-b)oxazole
6.	4,705	188,1439	Alkaloid	C13 H17 N	2,2,4,6-Tetramethyl-1,2- dihydroquinoline
7.	18,176	226,2171	Alkaloid	C14 H27 NO	395324
8.	10,794	227,2011	Wax	C14 H26 O2	Citronellyl butyrate
9.	11,384	286,2746	Sphingolipid	C17 H35 N O2	C17 Sphingosine
10.	13,535	307,2637	Fatty acid	C20 H35 O2	5,8,14-Eicosatrienoic acid
11.	15,096	326,3059	Alkaloid	C20 H39 N O2	n-Oleoylethanolamine
12.	16,130	328,3216	Alkaloid	C20 H41 N O2	N-(2-Hydroxyethyl) octadecanamide
13.	12,572	542,3264	Alkaloid	C27 H47 N3O6 S	11082109

Tabel 3. Kandungan senyawa bioaktif ekstrak metanol *maggot black soldier fly***Table 3.** Bioactive compounds in methanolic extract of black soldier fly maggot

No.	Waktu retensi (menit) (Retention time/Rt) (minute)	Bobot terhitung (Calculated mass)	Golongan senyawa (Compound group)	Rumus kimia (Chemical formula)	Nama senyawa/PubChem CID (Compound name/PubChem CID)
1.	1,520	148,1126	Alkaloid	C10 H13 N	Actinidine
2.	10,288	184,0722	Alkaloid	C7 H9 N3 O3	72494
3.	8,789	240,2327	Alkaloid	C15 H29 N O	Tetradecyl isocyanate
4.	11,673	244,2277	Alkaloid	C14 H29 N O2	8899
5.	15,117	265,2531	Long-chain alcohol	C18 H32 O	6436081
6.	9,844	357,2866	Alkaloid	C18 H36 N4 O3	Lauroyl arginine
7.	12,087	366,3484	Alkaloid	C22 H43 N3 O	101975560
8.	14,640	385,3682	Long-chain alcohol	C24 H48 O3	163205262
9.	16,264	396,3478	Alkaloid	C24 H45 N O3	Semiplenamamide E
10.	12,552	413,3492	Alkaloid	C22 H44 N4 O3	Palmitoyl arginine
11.	13,585	522,3615	Alkaloid	C22 H47 N7 O7	101235998
12.	17,205	550,6291	Alkaloid	C38 H79 N	3-hexadecyl-N- propylnonadecan-1-amine

Tabel 4. Bioavailabilitas dan analisis toksisitas ekstrak maggot *black soldier fly*
Table 4. Bioavailability and toxicity analyses of black soldier fly maggot extracts

No.	Nama/Kode senyawa (Compound name/Code)	Skor bioavailabilitas (Bioavailability score)	Inhibisi hERG (hERG inhibition)	Karsinogenitas (Carcinogenicity)	Toksistas oral akut (Acute oral toxicity) (LD ₅₀)
Ekstrak air (Water extract)					
1.	58770928**	0,17	Kuat (Strong)	NK	III
2.	142527989**	0,55	Kuat (Strong)	NK	II
3.	73775828	0,55	Lemah (Weak)	NK	III
4.	53318176	0,55	Lemah (Weak)	NK	III
5.	1-Naphthyl carbamate**	0,55	Lemah (Weak)	K	III
6.	Verpacamide A	0,55	Lemah (Weak)	NK	III
7.	146760	0,55	Lemah (Weak)	NK	III
8.	101885348**	0,55	Kuat (Strong)	NK	II
9.	1415476**	0,55	Lemah (Weak)	K	III
10.	91722024	0,55	Lemah (Weak)	NK	IV
11.	134768022	0,17	Lemah (Weak)	NK	IV
12.	8899	0,55	Lemah (Weak)	NK	III
13.	Butoctamide	0,55	Lemah (Weak)	NK	III
14.	N-ethenylaniline	0,55	Lemah (Weak)	NK	III
15.	22819456**	0,17	Kuat (Strong)	NK	III
Ekstrak aseton (Acetone extract)					
16.	C17 Sphingosine**	0,55	Kuat (Strong)	NK	III
17.	5,8,14-Eicosatrienoic acid	0,85	Lemah (Weak)	NK	IV
18.	2,2,4,6-Tetramethyl-1,2-dihydroquinoline	0,55	Lemah (Weak)	NK	III
19.	Benzofuro[3,2-b]pyridine	0,55	Lemah (Weak)	NK	III
20.	3-(tert-Butylamino)-1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-2-ol	0,55	Lemah (Weak)	NK	III
21.	N-(2-Hydroxyethyl) octadecanamide	0,55	Lemah (Weak)	NK	III
22.	Citronellyl butyrate	0,55	Lemah (Weak)	NK	III
23.	11082109**	0,55	Kuat (Strong)	NK	III
24.	2,3-Dihydro-2-ethyl-6-nitroimidazo(2,1-b)oxazole**	0,55	Lemah (weak)	K	III
25.	N-(prop-2-yn-1-yl) cyclohexanamine	0,55	Lemah (Weak)	NK	II
26.	N-(2-furylmethyl) cyclopropanamine	0,55	Lemah (Weak)	NK	III
27.	n-Oleoylethanolamine**	0,55	Lemah (Weak)	K	IV
28.	1-(prop-2-en-1-yl)-1H-pyrrole**	0,55	Lemah (Weak)	K	II

Kategori I: LD₅₀ ≤ 50 mg/kg; II: 50 mg/kg < LD₅₀ ≤ 500 mg/kg; III: 500 mg/kg < LD₅₀ ≤ 5000 mg/kg; IV: 5000 mg/kg; K: Karsinogenik; NK: Non-karsinogenik. Tanda** menunjukkan ligan/senyawa yang tidak lolos prediksi bioavailabilitas dan toksistas. (Category I: LD₅₀ ≤ 50 mg/kg; II: 50 mg/kg < LD₅₀ ≤ 500 mg/kg; III: 500 mg/kg < LD₅₀ ≤ 5000 mg/kg; IV: 5000 mg/kg; K: Carcinogenic; NK: Non-carcinogenic. The ** mark indicates ligands/compounds that do not pass bioavailability and toxicity predictions).

Tabel 4. (Lanjutan...) Bioavailabilitas dan analisis toksisitas ekstrak maggot *black soldier fly*
Table 4. (Continue...) Bioavailability and toxicity analyses of *black soldier fly* maggot extracts

No.	Nama/Kode senyawa (Compound name/Code)	Skor bioavailabilitas (Bioavailability score)	Inhibisi hERG (hERG inhibition)	Karsinogenitas (Carcinogenicity)	Toksistas oral akut (Acute oral toxicity) (LD ₅₀)
Ekstrak metanol (<i>Methanol extract</i>)					
29.	Tetradecyl isocyanate	0,55	Lemah (<i>Weak</i>)	NK	III
30.	1-(1-Lauroylamino ethyl)-2-pentyl-2-imidazoline**	0,55	Kuat (<i>Strong</i>)	NK	III
31.	3-hexadecyl-N-propylnonadecan-1-amine**	0,17	Kuat (<i>Strong</i>)	NK	III
32.	9,12,15-Octadecatrien-1-ol, (9Z,12Z,15Z)-**	0,55	Kuat (<i>Strong</i>)	NK	IV
33.	2,3-Dihydro-2-ethyl-6-nitroimidazo(2,1-b)oxazole**	0,55	Lemah (<i>Weak</i>)	K	III
34.	Palmitoyl arginine	0,55	Lemah (<i>Weak</i>)	NK	III
35.	163205262	0,55	Lemah (<i>Weak</i>)	NK	IV
36.	Actinidine	0,55	Lemah (<i>Weak</i>)	NK	III
37.	Semiplenamamide E**	0,55	Lemah (<i>Weak</i>)	K	III
38.	N-(2-Hydroxyethyl) dodecanamide	0,55	Lemah (<i>Weak</i>)	NK	III
39.	Lauroyl arginine	0,55	Lemah (<i>Weak</i>)	NK	III
40.	101235998	0,17	Lemah (<i>Weak</i>)	NK	IV

Kategori I: LD₅₀ ≤ 50 mg/kg; II: 50 mg/kg < LD₅₀ ≤ 500 mg/kg; III: 500 mg/kg < LD₅₀ ≤ 5000 mg/kg; IV: 5000 mg/kg; K: Karsinogenik; NK: Non-karsinogenik. Tanda** menunjukkan ligan/senyawa yang tidak lolos prediksi bioavailabilitas dan toksisitas. (Category I: LD₅₀ ≤ 50 mg/kg; II: 50 mg/kg < LD₅₀ ≤ 500 mg/kg; III: 500 mg/kg < LD₅₀ ≤ 5000 mg/kg; IV: 5000 mg/kg; K: Carcinogenic; NK: Non-carcinogenic. The ** mark indicates ligands/compounds that do not pass bioavailability and toxicity predictions).

berupa inhibisi kanal kalium *Human Ether-à-go-go-Related Gene (hERG)* jantung, karsinogenitas, dan toksistas oral akut. Terdapat total 16 senyawa terkonfirmasi sebagai senyawa toksik karena tidak lolos uji kardiotoxistas dan karsinogenitas, yaitu masing-masing 6 senyawa pada ekstrak air dan 5 senyawa pada ekstrak aseton, serta 5 senyawa pada ekstrak metanol (Tabel 4). Sementara itu, analisis toksistas berdasarkan toksistas oral akut (LD₅₀) memperlihatkan bahwa semua senyawa yang teridentifikasi tidak ada yang masuk kategori sangat toksik. Mayoritas senyawa ekstrak *maggot* BSF masuk kategori III/toksistas rendah, dengan persentase pada ekstrak air, aseton, dan metanol berturut-turut adalah 73%, 75%, dan 69% (Tabel 4). Terdapat masing-masing 2 senyawa dalam ekstrak air dan aseton dengan toksistas sedang/kategori II, sedangkan pada ekstrak metanol selebihnya adalah senyawa tidak toksik/kategori IV (LD₅₀ ≥

5000 mg/kg). Prediksi toksistas sejumlah kontrol menunjukkan bahwa beberapa ligan kontrol, yaitu KI690, *dimethyl fumarate* (DMF), dan aspirin masuk kategori toksistas sedang (Data tidak ditampilkan).

Penapisan virtual senyawa aktif berpotensi antioksidan dan antiinflamasi

Penapisan virtual terhadap 26 ligan uji yang lolos uji toksistas (Tabel 6) dengan metode penambatan molekuler terhadap protein Keap-1 menunjukkan bahwa inhibitor NRF2/Keap-1 KI696 adalah senyawa paling berpotensi mengaktifkan mekanisme antioksidan selular, bahkan lebih baik dari ligan hasil kristalografi, dengan nilai energi bebas Gibbs (ΔG) tertinggi, yakni sebesar -8,07 kkal/mol dan nilai konstanta disosiasi (Kd) = $2,56 \times 10^{-5}$ μ M (Tabel 5). Visualisasi secara 3-D memprediksi posisi KI696 yang berikatan

memenuhi area sisi aktif protein Keap-1 sehingga berpotensi akan menghalangi asosiasi Keap-1 dengan NRF2 (Gambar 3A). Sementara itu, senyawa DMF yang merupakan anti-inflamasi komersial dapat menghambat aktivasi NRF2 dengan menghasilkan ΔG yang relatif lebih kecil (-3,74 kkal/mol) dan Kd yang lebih besar ($5,32 \times 10^{-5} \mu\text{M}$). Hal ini terlihat dari posisi ligan yang menempati sisi aktif protein Keap-1 di bagian tengah sisi aktif saja (Gambar 3B). Semua senyawa flavonoid yang menjadi ligan pembanding terbukti berpotensi sebagai antioksidan (ΔG antara -5,35 hingga -4,05 kkal/mol dan nilai Kd antara $4,05 \times 10^{-5}$ hingga $5,05 \times 10^{-5} \mu\text{M}$). Sementara, semua ligan uji dari ekstrak air, aseton, dan metanol

menunjukkan potensi sebagai antioksidan yang lebih baik daripada DMF (Tabel 6), kecuali satu senyawa alkaloid dari ekstrak metanol (PubChem ID 101235998) yang bernilai ΔG lebih kecil daripada DMF. Gambar 4 memperlihatkan visualisasi 3-D dari senyawa paling potensial sebagai inhibitor Keap-1, yaitu suatu senyawa *naphthalenone* dalam ekstrak air maggot BSF, yaitu *methyl 2-[[[(1S,2R,4aS,5R,8aS)-2-acetyloxy-5-[(2E)-2-[(4S)-4-hydroxy-2-oxooxolan-3-ylidene] ethyl]-1,4a-dimethyl-6-methylidene 3,4,5,7,8,8a-hexa hydro- 2H- naphthalene-1-carbonyl] amino] acetate* (Pubchem ID73775828).

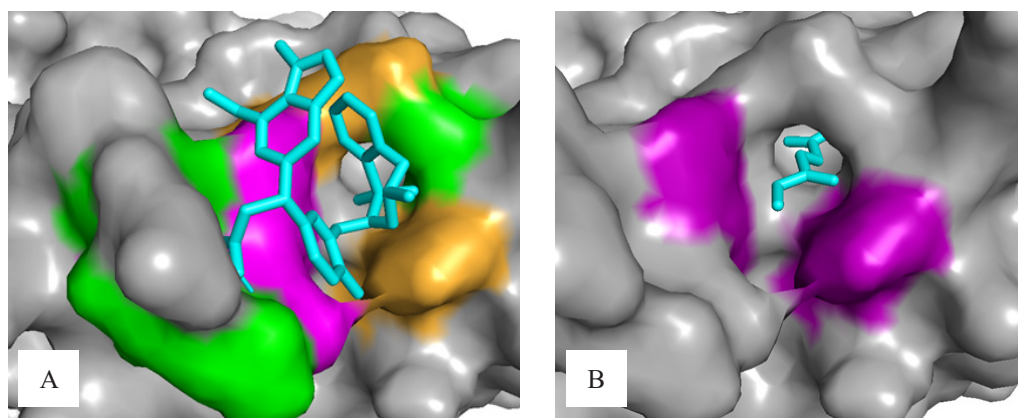
Adapun potensi antiinflamasi yang diprediksi melalui penambatan molekuler ligan uji pada enzim

Tabel 5. Hasil penambatan molekuler ligan kontrol dan pembanding pada protein Keap-1

Table 5. Molecular docking of ligand controls with Keap-1 protein

No.	Nama senyawa (Compound name)	Energi bebas Gibbs (Kkal/mol) (Gibbs free energy) (Kcal/mol)	Konstanta disosiasi (Constant of dissociation) (μM)
Ligan kontrol (Control ligand)			
1.	N-[4-[(5R)-3-sulfanyl-1,2-oxazolidin-5-yl]phenyl]acetamide	-5,61	$3,88 \times 10^{-5}$
2.	KI696	-8,07	$2,56 \times 10^{-5}$
3.	Dimethyl fumarate	-3,74	$5,32 \times 10^{-5}$
Ligan pembanding (Reference ligand)			
1.	Luteolin	-5,35	$4,05 \times 10^{-5}$
2.	Apigenin	-5,25	$4,12 \times 10^{-5}$
3.	Kuersetin	-4,64	$4,57 \times 10^{-5}$
4.	Kaempferol	-4,61	$4,59 \times 10^{-5}$
5.	Rutin	-4,05	$5,05 \times 10^{-5}$

No. 1: ligan hasil kristalografi; No. 2: inhibitor NRF2/Keap-1; No. 3: anti-inflamasi Tecfidera®
(No. 1: ligand from crystallography; No.2: NRF2/Keap-1 inhibitor; No.3: anti-inflammatory Tecfidera®)



Gambar 3. Visualisasi 3-dimensi interaksi reseptor Keap-1 dengan ligan pembanding. A: KI696 dan B: DMF.
Figure 3. Three-dimension visualization of Keap-1 reseptor interaction with A: KI696 and B: DMF as comparative ligands.

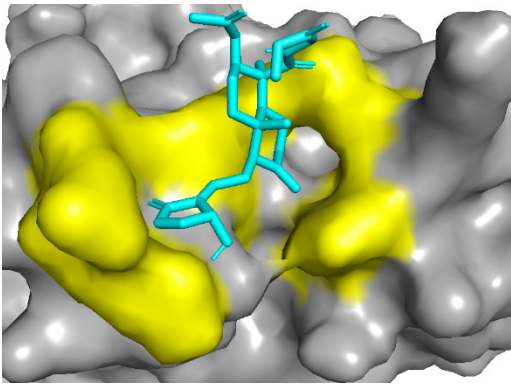
Tabel 6. Hasil penambatan molekuler ekstrak maggot *black soldier fly* pada protein Keap-1**Table 6.** Molecular docking of black soldier fly maggot extract with Keap-1 protein

No*	Nama senyawa (Compound name)	Energi bebas Gibbs (Kkal/mol) (Gibbs free energy) (Kcal/mol)	Konstanta disosiasi (μM) (Constant of dissociation)
Ekstrak air (Water extract)			
3.	73775828	-6,08	$3,58 \times 10^{-5}$
4.	53318176	-6,06	$3,60 \times 10^{-5}$
5.	1-Naphtyl carbamate	-5,44	$3,99 \times 10^{-5}$
6.	Verpacamide A	-5,40	$4,02 \times 10^{-5}$
7.	146760	-5,23	$4,14 \times 10^{-5}$
10.	91722024	-4,81	$4,44 \times 10^{-5}$
11.	134768022	-4,61	$4,59 \times 10^{-5}$
12.	8899	-4,41	$4,75 \times 10^{-5}$
13.	Butoctamide	-4,35	$4,80 \times 10^{-5}$
14.	N-ethenylaniline	-4,32	$4,82 \times 10^{-5}$
Ekstrak aseton (Acetone extract)			
16.	C17 Sphingosine	-6,03	$3,61 \times 10^{-5}$
17.	5,8,14-Eicosatrienoic acid	-5,65	$3,85 \times 10^{-5}$
18.	2,2,4,6-Tetramethyl-1,2-dihydroquinoline	-5,38	$4,03 \times 10^{-5}$
19.	Benzofuro[3,2-b]pyridine	-5,22	$4,14 \times 10^{-5}$
20.	3-(tert-Butylamino)-1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-2-ol	-5,20	$4,16 \times 10^{-5}$
21.	N-(2-Hydroxyethyl)octadecanamide	-5,18	$4,17 \times 10^{-5}$
22.	Citronellyl butyrate	-5,13	$4,21 \times 10^{-5}$
25.	N-(prop-2-yn-1-yl)cyclohexanamine	-4,71	$4,52 \times 10^{-5}$
26.	N-(2-furylmethyl)cyclopropanamine	-4,45	$4,72 \times 10^{-5}$
Ekstrak metanol (Methanol extract)			
29.	Tetradecyl isocyanate	-5,24	$4,13 \times 10^{-5}$
34.	Palmitoyl arginine	-4,96	$4,33 \times 10^{-5}$
35.	(E)-12,12-dihexoxydodec-3-en-1-ol	-4,91	$4,37 \times 10^{-5}$
36.	Actinidine	-4,77	$4,47 \times 10^{-5}$
38.	N-(2-Hydroxyethyl)dodecanamide	-4,71	$4,52 \times 10^{-5}$
39.	Lauroyl arginine	-4,46	$4,71 \times 10^{-5}$
40.	101235998	-3,42	$5,61 \times 10^{-5}$

: nomor senyawa disesuaikan dengan nomor pada Tabel 4. (: compound number adjusted to the number in Table 4).

IKK2 menunjukkan bahwa ligan alami IKK2, yaitu staurosporine (KSA700) memiliki nilai ΔG yang tertinggi, yaitu sebesar -9.054 kkal/mol dan nilai Kd sangat kecil ($0,00023 \times 10^3 \mu\text{M}$) (Tabel 7). Gambar 5A memperlihatkan visualisasi 3-D dari posisi KSA700 yang berikatan memenuhi area sisi aktif enzim IKK2 sehingga berpotensi akan menghalangi asosiasi enzim IKK2 dengan NF-kappaB. Sementara, kontrol aspirin bernilai ΔG lebih rendah, yaitu -4.284 kkal/mol dan Kd sebesar $0,724 \times 10^3 \mu\text{M}$, sedangkan kaemferol, kuersetin,

dan apigenin bahkan masih lebih berpotensi sebagai antiinflamasi daripada aspirin. Adapun analisis terhadap 26 ligan uji dari ekstrak BSF menunjukkan bahwa ligan dari ekstrak air yang paling berpotensi antiinflamasi, yaitu *naphthyl carbamate* ($\Delta G = -6,945$ kkal/mol; Kd = $0,008 \times 10^3 \mu\text{M}$) (Gambar 5B), diikuti oleh *verpacamide A* ($\Delta G = -5,024$ kkal/mol; Kd = $0,207 \times 10^3 \mu\text{M}$) (Tabel 8). Senyawa lainnya walau menghasilkan ikatan energi negatif, namun dari nilai Kd yang sangat besar dapat diduga bahwa tidak terdapat



Gambar 4. Visualisasi 3-dimensi interaksi antara reseptor Keap-1 dan ligan uji Naphtalenone 73775828.

Figure 4. Three-dimension visualization of Keap-1 interaction with test ligand Naphtalenone 73775828.

interaksi yang kuat antara senyawa tersebut dan enzim IKK2 sehingga bukan antiinflamasi yang potensial (Tabel 8).

PEMBAHASAN

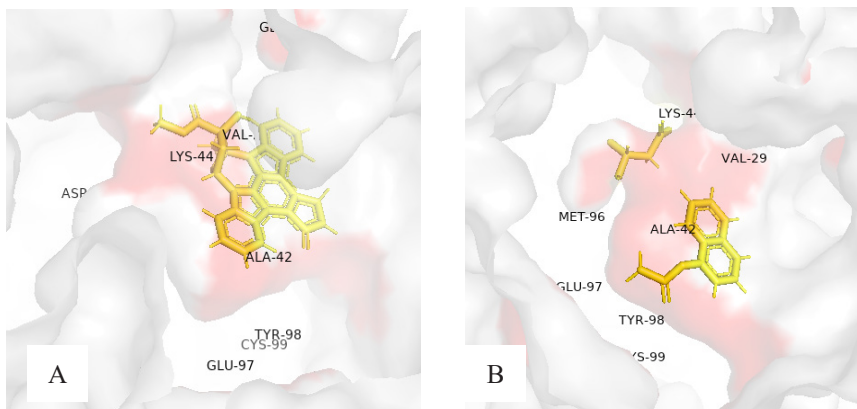
Maggot yang dihasilkan dari pembiakan di Sindangjaya cenderung berwarna dominan gelap disebabkan *maggot* sudah memasuki tahap awal pupa (pre-pupa), yaitu 18–25 hari sejak telur menetas. Simplisia tepung *maggot* yang diberi substrat limbah pertanian ini menunjukkan nilai kandungan protein kasar yang sedikit lebih rendah dan lemak yang lebih tinggi daripada *maggot* pra-pupa yang diberi limbah dapur (Patiassana et al.

Tabel 7. Hasil penambatan molekuler ligan kontrol dan pembandingan pada enzim IKK

Table 7. Molecular docking of control ligands on the IKK enzyme

No.	Nama senyawa (Compound name)	Energi bebas Gibbs (Kkal/mol) (Gibbs free energy) (Kcal/mol)	Konstanta disosiasi (Constant of dissociation) ($\mu\text{M} \times 10^3$)
Ligan kontrol (Control ligand)			
1.	KSA700	-9,054	0,00023
2.	Wedelolakton	-5,463	0,098
3.	Aspirin	-4,284*	0,724
4.	TPCA-1	-4,112	0,967
Ligan pembandingan (Reference ligand)			
1.	Kaempferol	-6,450	0,018
2.	Kuersetin	-5,969	0,042
3.	Luteolin	-4,986	0,221
4.	Apigenin	-3,503	2,71
5.	Rutin	+8,780	0

No. 1: ligan hasil alami; No. 2 dan No. 4: inhibitor enzim IKK; No. 3: anti-inflamasi komersil.
(No. 1: natural ligand; No. 2 and 4: IKK enzyme inhibitor; No. 3: commercial anti-inflammatory).



Gambar 5. Visualisasi 3-dimensi interaksi reseptor enzim IKK2 dengan ligan alami staurosporine (KSA700) (A) dan ligan uji *naphthyl carbamate* (B).

Figure 5. Three-dimension visualization of the interaction of the IKK2 enzyme receptor with the natural ligand staurosporine (KSA700) (A); and test ligand *naphthyl carbamate* (B).

Tabel 8. Hasil penambatan molekuler ekstrak maggot *black soldier fly* pada enzim IKK**Table 8.** Molecular docking of black soldier fly maggot extracts on the IKK enzyme

No*	Nama senyawa (Compound name)	Energi bebas Gibbs (Kkal/mol) (Gibbs free energy) (Kcal/mol)	Konstanta disosiasi (Constant of dissociation) ($\mu\text{M} \times 10^3$)
Ekstrak air (Water extract)			
5.	Naphthyl Carbamate	-6,94	0,008
6.	Verpacamide A	-5,024	0,207
7.	N-ethenylaniline	-1,22	127
Ekstrak aseton (Acetone extract)			
25.	N-(2-Hydroxyethyl) Dodecanamide	-0,297	605
Ekstrak metanol (Methanol extract)			
28.	C17 Sphingosine	-2,484	15,1
31.	Benzofuropyridin	-3,737	1,82
37.	N-(prop-2-yn-1-yl) Cyclohexanamine	-3,617	2,23

No*: nomor senyawa disesuaikan dengan nomor pada Tabel 4. (No*: compound number adjusted to the number in Table 4).

2020), namun relatif masih dalam kisaran yang sama dengan beberapa penelitian yang memberikan pakan ayam komersial, sisa sayuran, hingga sisa ikan sebagai substrat *maggot* BSF (Andari et al. 2021; Kinasih et al. 2018). Beberapa faktor yang dapat berkontribusi terhadap perbedaan kadar protein dan kadar lemak tersebut, salah satunya dari jenis substrat yang diberikan (Meneguz et al. 2018), dalam riset ini berupa sisa aneka sayuran yang tinggi seratnya. Pada umumnya substrat buah dan sayuran yang sejenis (homogen) akan menghasilkan *maggot* BSF dengan kadar protein dan lemak yang relatif rendah (<15%) (Siddiqui et al. 2022). Selain itu juga, pengaruh kondisi lingkungan dan temperatur yang relatif cukup dingin di Desa Sindangjaya (ketinggian ± 1100 m dpl, suhu ruangan 14–20 °C). Temperatur ruang yang rendah (15 °C) dilaporkan menyebabkan pertumbuhan *maggot* BSF menjadi perlahan (Shumo et al. 2019a), padahal terdapat perbedaan komposisi nutrisi *maggot* BSF pada umur yang berbeda (Hsiao et al. 2022). Pada penelitian ini, kadar lemak yang diidentifikasi tergolong tinggi. Hal ini sesuai dengan hasil yang dilaporkan Liu et al. (2013). Berdasarkan hal tersebut, disimpulkan bahwa substrat sisa sayuran yang bersifat heterogen tidak mempengaruhi produksi lemak yang diperlukan metamorphosis BSF. Sebanyak 70% senyawa bioaktif dalam penelitian ini adalah alkaloid, sementara sisanya adalah turunan senyawa lipid dan alkohol rantai panjang, sesuai

dengan yang dilaporkan Lu et al. (2022) dan Hsiao et al. (2022).

Adanya kandungan flavonoid dalam ekstrak *maggot* BSF dengan substrat limbah dapur telah dilaporkan oleh Shumo et al. (2019b). Sebaliknya, pada ekstrak *maggot* BSF dalam riset ini tidak teridentifikasi adanya senyawa flavonoid. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan jenis substrat yang dominan hijauan sehingga metabolisme *maggot* BSF menghasilkan lebih banyak alkaloid. Studi lain pada serangga sejenis menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, dan steroid di antara komponen bioaktif lain yang dihasilkan (Musundire et al. 2014; Cheseto et al. 2015).

Dalam kaitannya dengan aspek keamanan suatu senyawa kandidat obat, analisis toksisitas diperlukan untuk mengetahui efek senyawa tersebut. Pada penelitian ini, analisis toksisitas diprediksi berdasarkan *database*. Hasil analisis toksisitas *in silico* menunjukkan bahwa terdapat 2 senyawa yang tidak konsisten hasilnya ketika menggunakan aplikasi perangkat lunak yang berbeda, yaitu *C17 sphingosine* dan *1-Naphtyl carbamate*. Senyawa *C17 sphingosine* dalam ekstrak aseton dengan ProTox-II (Banerjee et al. 2018) diprediksi toksik sebagai inhibitor kuat kanal kalium hERG, sedangkan dengan admetSAR (Guan et al. 2018) menunjukkan senyawa ini tidak toksik sebagai inhibitor kanal hERG lemah. Namun demikian, suatu mikotoksin

kuat analog *C17 dihydrosphingosine* dilaporkan terdapat pada kerang laut yang terkontaminasi oleh mikrofungi (Marrouchi et al. 2013) sehingga prediksi toksisitas dengan ProTox-II lebih konsisten. Senyawa *1-Naphtyl carbamate* dalam ekstrak air yang diprediksi nonkarsinogenik dengan admetSAR ternyata karsinogenik melalui ProTox-II. Hal ini konsisten karena *naphtyl carbamate* termasuk golongan pestisida kuat dengan aktivitas antikolinesterase (Patel & Sangeeta 2018) sehingga terdapatnya senyawa ini besar kemungkinan sebagai akibat dari cemaran yang berasal dari substrat limbah pertanian.

Melalui penelitian ini diidentifikasi berbagai senyawa aktif dalam ekstrak *maggot* BSF yang dapat menghambat asosiasi NRF2 dengan protein Keap-1 sehingga akan mengaktifkan respons antioksidan seluler. Dalam menjalankan perannya sebagai regulator respon antioksidan seluler, aktivitas NRF2 dikendalikan oleh protein *Kelch-like ECH-associated protein 1* (Keap-1) (Kobayashi et al. 2013). Disosiasi protein Keap-1 dari NRF2 akan menstimulasi ekspresi beragam gen antioksidan sehingga mengaktifkan mekanisme persinyalan antioksidan seluler. Oleh karena itu, ligan uji yang dapat berikatan dengan Keap-1 pada lokasi tertambatnya ligan kontrol diprediksi akan mencegah asosiasi Keap-1 dengan NRF2 sehingga persinyalan lintasan antioksidan dapat terus berjalan tanpa hambatan dari Keap-1 protein. Dalam penelitian ini, senyawa *naphthalenone* dalam ekstrak air memiliki potensi penghambatan Keap-1 terbesar; kelompok senyawa sejenis pada jamur (fungi) telah dilaporkan berpotensi farmakologis (Ibrahim et al. 2022). Terdapat juga satu senyawa golongan benzofuran dalam ekstrak aseton, yang dilaporkan banyak terdapat dalam berbagai tumbuhan (Miao et al. 2019) dengan beragam potensi bioaktif. Kelompok benzofuran adalah senyawa dengan potensi bioaktif yang cukup ampuh, antara lain sebagai anti-tumor, antibakteri, antioksidan, dan antiviral. Sejalan dengan ini, pemanfaatan ekstrak metanol dari *maggot* beberapa jenis serangga (*Musca domestica* Linnaeus, *Lucilia sericata* (Meigen), *Chrysomya albiceps* (Wiedemann)) sebagai sumber biofarmaka telah dilaporkan sebelumnya terkait aktivitas antioksidan dan antikanker (Hasaballah et al. 2019).

Potensi sebagai antiinflamasi dengan cara menghambat enzim IKK2 hanya dimiliki oleh 2 ligan dari ekstrak air, yaitu *Naphtyl carbamate* dan *verpacamide A*. Penghambatan enzim IKK2 menjadi kunci pengendalian aktivitas persinyalan *Nuclear Factor kappa B* (NF- κ B) dalam mekanisme peradangan, yakni suatu faktor transkripsi yang bertugas menginduksi berbagai ekspresi gen yang terlibat dalam proses inflamasi (Serasanambati & Chilakapati 2016). Mengingat *naphtyl carbamate* adalah cemaran pestisida/insektisida dari lingkungan maka hanya *verpacamide A* yang berpotensi antiinflamasi pada ekstrak *maggot* BSF ini. Senyawa yang sama telah ditemukan pada spons laut *Axinella vaceleti* (Vergne et al. 2006).

Protein NRF2 merupakan elemen kunci dalam sistem pertahanan seluler melawan stres oksidatif (Yu & Xiao 2021). Saat dalam keadaan normal, NRF2 berinteraksi dengan Keap-1 sebagai pengatur negatif NRF2, membentuk kompleks Keap1-NRF2 yang berujung pada degradasi proteasom dan ubiquitinasi NRF2. Namun, saat terjadi stres oksidatif, Keap1 menjadi tidak aktif, menghentikan ubiquitinasi NRF2 dan memungkinkan NRF2 untuk berpindah ke inti sel dan membentuk heterodimer dengan *small musculoaponeuroticfibrosarcoma* (sMAF), yang mengikat elemen respons antioksidan (*antioxidant response element*, ARE) (Lee & Hu 2020; Silva et al. 2018). Pengaktifan sinyal NRF2 melalui Keap-1 menjadi salah satu target yang efektif dalam mencegah stres oksidatif (antioksidan) (Abed et al. 2015).

Inflamasi (peradangan) muncul karena produksi berlebihan senyawa proinflamasi, salah satunya NF- κ B. Sinyal NF- κ B dipengaruhi oleh dua protein kunci, yaitu inhibitor of NF κ B (I κ B) dan kompleks enzim I κ B kinase (IKK). Ketika dalam keadaan tidak aktif, NF- κ B berikatan dengan protein I κ B di dalam sitoplasma. Namun, saat terjadi inflamasi, enzim I κ B Kinase menjadi aktif, mengakibatkan fosforilasi I κ B dan aktivasi NF- κ B. Proses aktivasi NF- κ B meliputi pelepasan protein I κ B, translokasi ke inti sel, pengikatan DNA, dan transaktivasi (Patwardhan et al. 2016). Aktivasi NF- κ B memicu produksi senyawa-senyawa proinflamatori yang memicu inflamasi. Enzim IKK adalah kompleks multiprotein yang

terdiri atas dua subunit kinase, yaitu IKK α dan IKK β . IKK β (IKK2) memiliki peran yang lebih signifikan dalam jalur kanonikal, terutama dalam merespons proinflamasi (Solt & Jay 2008). Penelitian ini diharapkan dapat menjadi salah satu referensi pemanfaatan *maggot* BSF sebagai alternatif sumber antioksidan alami sehingga dapat meningkatkan nilai jual *maggot* BSF bagi masyarakat.

KESIMPULAN

Sebanyak 26 senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak *maggot* BSF memiliki potensi sebagai antioksidan melalui penghambatan protein Keap-1 yang diduga dapat asosiasinya dengan faktor transkripsi NRF2. Senyawa *naphtalenone*, yaitu *methyl 2-[[[(1S,2R,4aS,5R,8aS)-2-acetyloxy-5-[(2E)-2-[(4S)-4-hydroxy-2-oxoxolan-3-ylidene] ethyl]-1,4a-dimethyl-6-methylidene-3,4,5,7,8,8a-hexa hydro- 2H- naphthalene-1-carbonyl] amino] acetate*, dari ekstrak air *maggot* BSF dengan potensi terbaik sebagai inhibitor Keap-1 sehingga akan mengaktifkan persinyalan antioksidan via jalur NRF2. Sementara, *verpacamide A* dari ekstrak air yang teridentifikasi berpotensi dapat menghambat proses inflamasi lebih baik dari aspirin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Riset ini terlaksana berkat pendanaan dari Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) dan Direktorat Pendidikan Tinggi-Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan melalui skema Hibah Riset Desa (Riset Keilmuan-Mandatori) tahun 2022.

DAFTAR PUSTAKA

- Abed DA, Goldstein M, Albanyan H, Jin H, Hu L. 2015. Discovery of direct inhibitors of Keap1-Nrf2 protein-protein interaction as potential therapeutic and preventive agents. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 5:285–299. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2015.05.008>.
- Ali F, Khan BA, Sarwat, Sulatana. 2016. Wedelolactone mitigates UVB induced oxidative stress, inflammation and early tumor promotion events in murine skin: plausible role of NF κ B pathway. *European Journal of Pharmacology*. 789:253–264. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.05.008>.
- Ali NSM, Salleh AB, Leow TC, Rahman RNZRA, Ali MSM. 2020. The influence of calcium toward order/disorder conformation of repeat-in-toxin (RTX) structure of family I.3 lipase from *Pseudomonas fluorescens* AMS8. *Toxins (Basel)*. 12:1–14. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins12090579>.
- Andari G, Ginting NM, Nurdiana R. 2021. Larva black soldier fly (*Hermetia illucens*) sebagai agen pereduksi sampah dan alternatif pakan ternak. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 9:246–252. DOI: <https://dx.doi.org/10.23960/jipt>.
- Banerjee P, Eckert AO, Schrey AK, Preissner R. 2018. ProTox-II: A webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Research* 46:W257–W263. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gky318>.
- Cheseto X, Kuate SP, Tchouassi DP, Ndung'u M, Teal PEA, Torto B. 2015. Potential of the desert locust *Schistocerca gregaria* (Orthoptera: Acrididae) as an unconventional source of dietary and therapeutic sterols. *PLoS ONE* 10: e0127171. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127171>.
- Čičková H, Newton GL, Lacy RC, Kozánek M. 2015. The use of fly larvae for organic waste treatment. *Waste Management*. 35:68–80. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.09.026>.
- Choy KW, Murugan D, Leong XF, Abas R, Alias A, Mustafa MR. 2019. Flavonoids as natural anti-inflammatory agents targeting nuclear factor-kappa B (NF κ B) signaling in cardiovascular diseases: A mini review. *Frontiers in Pharmacology*. 10:1–8. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01295>.
- Daina A, Michielin O, Zoete V. 2017. SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, druglikeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*. 7:1–13. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep42717>.
- Durai P, Shin HJ, Achek A, Kwon HK, Govindaraj RG, Panneerselvam S, Yesudhas D, Choi J, No KT, Choi S. 2017. Toll-like receptor 2 antagonists identified through virtual screening and experimental validation. *FEBS Journal*. 284:2264–2283. DOI: <https://doi.org/10.1111/febs.14124>.

- Frelin C, Imbert V, Griessinger E, Loubat A, Dreanno M, Peyron JF. 2003. AS602868, a pharmacological inhibitor of IKK2, reveals the apoptotic potential of TNF- α in jurkat leukemic cells. *Oncogene*. 22:8187–8194. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206963>.
- Guan L, Yang H, Cai Y, Sun L, Di P, Li W, Liu G, Tang Y. 2019. Admet-score- a comprehensive scoring function for evaluation of chemical drug-likeness. *MedChemComm*. 10:148–157. DOI: <https://doi.org/10.1039/C8MD00472B>.
- Hasaballah AI, Shehata AZI, Shehab AM. 2019. Antioxidant and anticancer activities of some maggots methanol extracts. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*. 12:111–119. DOI: <https://doi.org/10.21608/eajbsa.2019.26722>.
- He F, Ru X, Wen T. 2020. NRF2, a transcription factor for stress response and beyond. *International Journal of Molecular Sciences*. 21:4777. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21134777>.
- Hsiao S-W, Kuo I-C, Su C-W, Wang Y-H, Mei H-C, Lee C-K. 2022. Metabolite characterisation and profiling of *Hermetia illucens* L. larvae at various growth stages using *Sesamum indicum* residues as nutrient source. *Journal of Insects as Food and Feed*. 8:223–235. DOI: <https://doi.org/10.3920/JIFF2021.0045>.
- Ibrahim SRM, Fadil SA, Fadil HA, Eshmawi BA, Mohamed SGA, Mohamed GA. 2022. Fungal naphthalenones; promising metabolites for drug discovery: Structures, biosynthesis, sources, and pharmacological potential. *Toxins*. 14:154. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins>.
- Jain AN, Nicholls A. 2008. Recommendation for evaluation of computation methods. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. 22:133–139. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10822-008-9196-5>.
- Kim YB, Kim DH, Jeong SB, Lee JW, Kim TH, Lee HG, Lee KW. 2020. Black soldier fly larvae oil as an alternative fat source in broiler nutrition. *Poultry Science*. 99:3133–3143. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.01.018>.
- Kinasih I, Putra RE, Permana AD, Gusmara FF, Nurhadi MY, Anitasari RA. 2018. Growth performance of black soldier fly larvae (*Hermetia Illucens*) fed on some plant based organic wastes. *HAYATI Journal of Biosciences*. 25:79–84. DOI: <https://doi.org/10.4308/hjb.25.2.79>.
- Kobayashi E, Suzuki T, Yamamoto M. 2013. Roles nrf2 plays in myeloid cells and related disorders. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2013:7. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/529219>.
- Krieger E, Vriend G. 2015. New ways to boost molecular dynamics simulations. *Journal of Computational Chemistry*. 36:996–1007. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcc.23899>.
- Lee J, Kim YM, Park YK, Yang YC, Jung BG, Lee BJ. 2018. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae enhances immune activities and increases survivability of broiler chicks against experimental infection of *Salmonella gallinarum*. *Journal of Veterinary Medical Science*. 80:736–740. DOI: <https://doi.org/10.1292/jvms.17-0236>.
- Lee S, Hu L. 2020. Nrf2 activation through the inhibition of Keap1-Nrf2 protein-protein interaction. *Medical Chemistry Research*. 29:846–867. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00044-020-02539-y>.
- Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. 2012. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 64:4–17. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.019>.
- Li Q, Zheng L, Qiu N, Cai H, Tomberlin JK, Yu Z. 2011. Bioconversion of dairy manure by black soldier fly (Diptera: *Stratiomyidae*) for biodiesel and sugar production. *Waste Management*. 31:1316–1320. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.01.005>.
- Liu S, Misquitta YR, Olland A, Johnson MA, Kelleher KS, Kriz R, Lin LL, Stahl M, Mosyak. 2013. Crystal structure of human I κ B Kinase B asymmetric dimer. *The Journal of Biological Chemistry*. 288:22758–22767. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.482596>.
- Lu J, Guo Y, Muhmood A, Lv Z, Zeng B, Qiu Y, Zhang L, Wang P, Ren L. 2022. Food waste management employing uv-induced black soldier flies: Metabolomic analysis of bioactive components, antioxidant properties, and antibacterial potential. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 19:6614. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph19116614>.
- Marrouchi R, Benoit E, Le Caer J-P, Belayouni N, Belghith H, Molgó J, Kharrat R. 2013. Toxic C17-sphinganine analogue mycotoxin, contaminating Tunisian mussels, causes flaccid paralysis in rodents. *Marine Drugs*. 11:4724–4740. DOI: <https://doi.org/10.3390/md11124724>.
- Mlcek JM, Borkovcova M, Bednarova M. 2014. Biologically active substances of edible insects and their use in agriculture, veterinary and human medicine-a review. *Journal of Central*

- European Agriculture*. 15:225–237. DOI: <https://doi.org/10.5513/JCEA01/15.4.1533>.
- Miao Y, Hu Y, Yang J, Liu T, Wang X. 2019. Natural source, bioactivity and synthesis of benzofuran derivatives. *RSC Advances*. 9:27510–27540. DOI: <https://doi.org/10.1039/C9RA04917G>.
- Muchammad Z. 2019. *Uji Khasiat Ekstrak Maggot Black Soldier Fly (Hermetia illucens) sebagai Antibakteri pada Penyakit Tifus*. Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Musundire R, Zvidzai CJ, Chidewe C, Samende BK, Manditsera FA. 2014. Nutrient and anti-nutrient composition of *Henicus whellani* (Orthoptera: Stenopelmatidae), an edible ground cricket, in south-eastern Zimbabwe. *International Journal of Tropical Insect Science*. 34:223–231. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1742758414000484>.
- Muller A, Wolf D, Gutzeit HO. 2017. The black soldier fly, *Hermetia illucens*—A promising source for sustainable production of proteins, lipids and bioactive substances. *Zeitschrift fur Naturforschung. C, Journal of Biosciences*. 72:351–363. DOI: <https://doi.org/10.1515/znc-2017-0030>.
- Patel S, Sangeeta S. 2018. Pesticides as the drivers of neuropsychotic diseases, cancers, and teratogenicity among agro-workers as well as general public. *Environmental Science and Pollution Research*. 26:91–100. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3642-2>.
- Patiassana MT, Izzy SN, Haryandi, Nealma S. 2020. Studi laju umpan pada proses biokonversi dengan variasi jenis sampah yang dikelola PT. Biomagg Sinergi Internasional menggunakan larva *black soldier fly (Hermetia illucens)*. *Jurnal Tambora*. 4:86–95.
- Patwardhan RS, Sharma D, Thoh M, Checker R, Sandur SK. 2016. Baicalein exhibits anti-inflammatory effects via inhibition of NF-κB trans-activation. *Biochemical Pharmacology*. 108:75–89. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.03.013>.
- Pires DEV, Blundell TL, Ascher DB. 2015. pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic properties using graph-based signatures. *Journal of Medical Chemistry*. 58:4066–4072. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00104>.
- Rabani V, Cheatsazan H, Davani S. 2019. Proteomics and lipidomics of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) and blow fly (Diptera: Calliphoridae) larvae. *Journal of Insect Science*. 19:1–9. DOI: <https://doi.org/10.1093/jisesa/iez050>.
- Serasanambati M, Chilakapati SR. 2016. Function of nuclear factor kappa B (NF-κB) in human diseases—A Review. *South Indian Journal of Biological Sciences*. 2:368–38. DOI: <https://doi.org/10.22205/sijbs/2016/v2/i4/103443>.
- Shumo M, Khamis FM, Tanga CM, Fiaboe KKM, Subramanian S, Ekesi S, van Huis A, Borgemeister C. 2019a. Influence of temperature on selected life-history traits of black soldier fly (*Hermetia illucens*) reared on two common urban organic waste streams in Kenya. *Animals*. 9:79. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani9030079>.
- Shumo M, Osuga IM, Khamis FM, Tanga CM, Fiaboe KKM, Subramanian S, Ekesi S, Van Huis A, Borgemeister C. 2019b. The nutritive value of black soldier fly larvae reared on common organic waste streams in Kenya. *Scientific Reports*. 9:1–13. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46603-z>.
- Siddiqui SA, Ristow B, Rahayu T, Putra NS, Yuwono NW, Nisa K, Mategeko B, Smetana S, Saki M, Nawaz A, Nagdalian A. 2022. Black soldier fly larvae (BSFL) and their affinity for organic waste processing. *Waste Management*. 140:1–13. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2021.12.044>.
- Silva TA, Braga MC, Santana GOS, Araujo FS, Pogue R, Dias SC, Franco OL, Carvalho JL. 2018. Breaking the frontiers of cosmetology with antimicrobial peptides. *Biotechnology Advances*. 36:2019–2031. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.08.005>.
- Solt LA, May MJ. 2008. The IκB kinase complex: Master regulator of NF-κB signaling. *Immunologic Research*. 42:3–18. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12026-008-8025-1>.
- Tong KI, Kobayashi A, Katsuoka F, Yamamoto M. 2006. Two-site substrate recognition model for the Keap1-Nrf2 system: A hinge and latch mechanism. *Biological Chemistry*. 387:1311–1320. DOI: 10.1515/bc.2006.164.
- Vergne C, Boury-Esnault N, Perez T, Martin M-T, Adeline M-T, Dau ETH, Al-Mourabit A. 2006. Verpacamides A–D, a sequence of C 11 N 5 diketopiperazines relating cyclo(Pro-Pro) to Cyclo(Pro-Arg), from the marine sponge *Axinella vaceleti*: Possible biogenetic precursors of Pyrrole-2-aminoimidazole alkaloids. *Organic Letters*. 8:2421–2424. DOI: <https://doi.org/10.1021/ol0608092>.
- Vogel H, Müller A, Heckel DG, Gutzeit H, Vilcinskis A. 2018. Nutritional immunology: Diversification and diet-dependent expression of antimicrobial peptides in the black soldier

- fly *Hermetia illucens*. *Developmental and Comparative Immunology*. 78:141–148. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dci.2017.09.008>.
- Wang R, Luo Y, Lu Y, Wang D, Wang T, Pu W, Wang Y. 2019. *Maggot* extracts alleviate inflammation and oxidative stress in acute experimental colitis via the activation of Nrf2. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019:4703253. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/4703253>.
- Wang R, Wang D, Wang H, Wang T, Weng Y, Zhang Y, Luo Y, Lu Y, Wang Y. 2021. Therapeutic targeting of Nrf2 signaling by *maggot* extracts ameliorates inflammation associated intestinal fibrosis in chronic DSS-induced colitis. *Front Immunology*. 12:1–16. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.670159>.
- Wardana AH. 2016. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) sebagai sumber protein alternatif untuk pakan ternak. *WARTAZOA*. 26:69–78. DOI: <https://doi.org/10.14334/wartazoa.v26i2.1327>.
- Yantina N. 2016. *Evaluasi Bahan Pakan Sumber Protein Alternatif terhadap Kandungan Nutrien dan Kecernaan secara In Vitro*. Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Yu C, Xiao JH. 2021. The Keap1-Nrf2 system: A mediator between oxidative and aging. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 1–19. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/6635460>.
- Zeitz JO, Fennhoff J, Kluge H, Stangl GI, Eder K. 2015. Effects of dietary fats rich in lauric and myristic acid on performance, intestinal morphology, gut microbes, and meat quality in broilers. *Poultry Science*. 94:2404–2413. DOI: <https://doi.org/10.3382/ps/pev191>.