

**PENGARUH MEDIA NUTRISI DARI LIMBAH BUAH
TERFERMENTASI TERHADAP KADAR PROTEIN DAN LIPID
LARVA *BLACK SOLDIER FLY* (*Hermetia illucens*) SERTA
POTENSINYA SEBAGAI ANTI MIKROBA**



**REZA SULIANA
H031 19 1050**



Optimization Software:
www.balesio.com

**PROGRAM STUDI KIMIA
MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**PENGARUH MEDIA NUTRISI DARI LIMBAH BUAH
TERFERMENTASI TERHADAP KADAR PROTEIN DAN LIPID
LARVA *BLACK SOLDIER FLY* (*Hermetia illucens*) SERTA
POTENSINYA SEBAGAI ANTI MIKROBA**

REZA SULIANA

H031 19 1050



Optimization Software:
www.balesio.com

**PROGRAM STUDI KIMIA
MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**PENGARUH MEDIA NUTRISI DARI LIMBAH BUAH
TERFERMENTASI TERHADAP KADAR PROTEIN DAN LIPID
LARVA *BLACK SOLDIER FLY* (*Hermetia illucens*) SERTA
POTENSINYA SEBAGAI ANTI MIKROBA**

REZA SULIANA

H031 19 1050

Skripsi

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Kimia

pada



**PROGRAM STUDI KIMIA
MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

Optimization Software:
www.balesio.com

SKRIPSI

**PENGARUH MEDIA NUTRISI LIMBAH BUAH TERFERMENTASI
TERHADAP PROTEIN DAN LIPID DARI LARVA *BLACK SOLDIER FLY*
(*Hermetia illucens*) SERTA POTENSINYA SEBAGAI ANTIMIKROBA****REZA SULIANA
H031191050**

Skripsi,

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Program Studi Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Hasanuddin

Pada 05 Juni 2024

dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Program Studi Kimia
Departemen Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:

Optimization Software: www.balesio.com

Akhir,

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Reza Suliana'.

matasari, M. Si
604 2 003

Mengetahui:



Dr. St. Kautziah, M.Si

NIP-19720202 199903 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul “Pengaruh Media Nutrisi dari Limbah Buah Terfermentasi terhadap Kadar Protein dan Lipid Larva *Black Soldier Fly* (*Hermetia illucens*) Serta Potensinya Sebagai Antimikroba” adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Dr. Nur Umriani Permatasari, M.Si dan Dr. Seniwati Dali, M.Si). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 26 Juni 2024



Reza Suliana
NIM H031191050



Optimization Software:
www.balesio.com

Ucapan Terimakasih

Penelitian yang saya lakukan dapat terlaksana dengan sukses dan skripsi ini dapat terampungkan atas bimbingan, diskusi dan arahan Ibu Dr. Nur Umriani Permatasari, M.Si sebagai pembimbing utama dan Ibu Dr. Seniwati Dali, M.Si sebagai pembimbing pertama. Saya mengucapkan berlimpah terima kasih kepada mereka. Terima kasih juga saya sampaikan kepada Ibu Prof. Dr. Indah Raya, M.Si dan Ibu Dr. St. Fauziah, M.Si selaku tim dosen penguji yang telah meluangkan waktunya untuk memberi saran dan masukan selama proses penyusunan skripsi ini. Penghargaan yang tinggi juga saya sampaikan kepada

Kepada ketua Departemen Kimia, Ibu Dr. St. Fauziah, M.Si. dan sekretaris Departemen Kimia, Ibu Dr. Nur Umriani Permatasari, M.Si., serta seluruh dosen Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin yang telah membagi ilmu kepada penulis selama menempuh pendidikan. Para staf dan seluruh analis Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, terkhusus Kak Siti Khairunnur atas kesempatan untuk menggunakan fasilitas dan peralatan di Laboratorium Biokimia

Teristimewa kepada orang tua penulis Bapak Muhammad Rakim dan Ibu Hudaya terima kasih karena sudah mengantarkanku ke tempat ini dengan segala perhatian, kasih sayang, pengorbanan baik dari materi maupun waktu, motivasi serta do'a yang tiada henti untuk penulis. Terima kasih juga kepada kakak dan adik saya yang tiada hentinya memberikan waktu untuk saudarinya. Teman-teman seangkatan Konfigurasi 2019 yang selalu melukis cerita bersama, menemani dalam suka maupun duka, dan menghiasi perkuliahan. Tak lupa untuk seseorang yang juga sedang menempuh pendidikan di Fakultas Teknik, Jurusan Teknik Pertambangan, Fahmi Gahtan. Terimakasih pula kepada teman-teman peneliti Biokimia 2019, Lala dan Tirah yang juga membantu dan berjuang bersama dalam penelitian dan penyusunan skripsi.



Penulis,

Reza Suliana

ABSTRAK

REZA SULIANA. **Pengaruh Media Nutrisi dari Limbah Buah Terfermentasi terhadap Kadar Protein dan Lipid *Black Soldier Fly (Hermetia illucens)* serta Potensinya Sebagai Antimikroba** (dibimbing oleh Nur Umriani Permatasari dan Seniwati Dali).

Latar Belakang. Larva *Black Soldier Fly* (BSF) atau *Hermetia illucens* merupakan salah satu organisme yang dapat digunakan untuk mengonversi materi organik. Larva BSF banyak ditemukan pada limbah organik dan tidak dilaporkan sebagai agen pembawa dan penyebar penyakit, memiliki potensi dalam berbagai bidang industri seperti industri peternakan, kimia, farmasi hingga kecantikan. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan menganalisis media nutrisi limbah buah terfermentasi sebagai pakan larva BSF untuk memperoleh kadar asam amino yang tinggi menggunakan metode analisis statistik respon permukaan. **Metode.** Media nutrisi terfermentasi optimum diberikan ke larva BSF dan dianalisis komposisi asam amino menggunakan *Ultra Performance Liquid Chromatography* (UPLC) serta komposisi asam lemak menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). Selain itu, penentuan aktivitas antimikroba larva BSF menggunakan metode cakram. **Hasil.** Karakterisasi larva BSF memiliki kadar air 7,26%, kadar abu 3,34%, kadar protein 60,94%, dan lemak 1,32%. Berdasarkan hasil analisis UPLC, komponen asam amino tertinggi yaitu asam aspartat, glutamate dan leusin dengan nilai 4,18%, 5,91% dan 3,69%. Serta hasil analisis GC-MS, komponen asam lemak tertinggi yaitu asam laurat, palmitat dan linoleat dengan nilai 4,251%, 4,329% dan 5,432%. Aktivitas antimikroba larva BSF menunjukkan daya hambat terhadap bakteri Gram positif *S. aureus* yang mempunyai diameter zona bening sebesar 10,6 mm tetapi tidak menunjukkan adanya zona hambat terhadap bakteri Gram negatif *E. coli*.

Kata kunci: Antimikroba, Fermentasi, GC-MS, Larva BSF, Lipid, Protein, dan UPLC.



ABSTRACT

REZA SULIANA. THE EFFECT OF FERMENTED FRUIT WASTE AS A POTENTIAL NUTRIENT OF BLACK SOLDIER FLY (*HERMETIA ILLUCENS*) IN PROTEIN AND LIPID AS ANTIMICROBIALS (supervised by Nur Umriani Permatasari dan Seniwati Dali).

Background. *Black Soldier Fly (BSF) larvae or Hermetia illucens* are one of the organisms that can be used to convert organic matter. Larvae, better known as maggBSF, are found in organic waste and are not reported as disease-carrying and spreading agents, have potential in various industrial fields such as the livestock, chemical, pharmaceutical to beauty industries. **Aim.** This study aims to analyze fermented fruit waste nutrient media as BSF larval feed to obtain high amino acid levels using statistical analysis methods of surface response. **Methods.** Optimum fermented nutrient media was given to BSF larvae and amino acid composition was analyzed using Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) and fatty acid composition using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). **Results.** The characterization of BSF larvae has a moisture content of 7.26%, ash content of 3.34%, protein content of 60.94%, and fat of 1.32%. Based on the results of UPLC analysis, the highest amino acid components are aspartic acid, glutamate and leucine with values of 4.18%, 5.91% and 3.69%. As well as the results of GC-MS analysis, the highest fatty acid components are lauric, palmitic and linoleic acids with values of 4.251%, 4.329% and 5.432%. The antimicrobial activity of BSF larvae showed inhibition against Gram positive *S. aureus* bacteria which had a clear zone diameter of 10.6 mm but did not show any inhibitory zone against Gram negative *E. coli* bacteria.

Keywords: *Antimicrobial, Fermentation, GC-MS, BSF Larvae, Lipids, Proteins, and UPLC.*



Optimization Software:
www.balesio.com

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	ix
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Bahan Penelitian	3
2.2 Alat Penelitian	3
Tempat Penelitian	3
Penelitian	3
Eksperimen Kondisi Optimum Media Nutrisi	



	x
Terfermentasi Larva BSF	3
2.4.2 Efisiensi Pakan yang dicerna	4
2.4.3 Persiapan Fermentasi Limbah Buah	4
2.4.4 Preparasi BSF (<i>Hermetia illucens</i>)	4
2.4.5 Analisis Proksimat Larva BSF (<i>Hermetia illucens</i>)	5
2.4.5.1 Analisis Kadar Air	5
2.4.5.2 Analisis Kadar Abu	5
2.4.5.3 Analisis Kadar Protein	5
2.4.5.4 Analisis Kadar Lemak	6
2.4.6.1 Analisis Asam Lemak menggunakan Kromatografi Gas	6
2.4.6.2 Analisis Asam Amino menggunakan Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC)	7
2.4.7 Uji Aktivitas Antimikroba	7
2.4.7.1 Preparasi Sampel Ekstrak	7
2.4.7.2 Pembuatan Media Nutrient Agar (NA).....	7
2.4.7.3 Pembuatan Media Mueller Hinton Agar (MHA)	8
2.4.7.4 Peremajaan Bakteri Uji E. Coli dan S. Aureus	8
Antibakteri menggunakan Metode Cakram.....	8
PEMBAHASAN	9
Terfermentasi Pakan Larva BSF	9



3.2	Efficiency Conversion of Digestive Feed (ECD)	13
3.3	Analisis Proksimat Larva BSF	13
3.4	Karakteristik Tepung Larva BSF	15
3.4.1	Analisis Lipid dengan GC-MS	15
3.4.2	Analisis Asam Amino dengan UPLC	17
3.5	Uji Aktivitas Antibakteri	19
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		21
Kesimpulan		21
Saran		21
DAFTAR PUSTAKA		22



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. <i>Analysis of Variant</i> (ANOVA) Konsentrasi Asam Laktat (%), Konsentrasi Asam Laktat (%) dan Waktu Fermentasi (Hari).....	9
2. Komposisi proksimat larva BSF.....	14
3. Hasil analisis asam lemak larva BSF.....	15
4. Hasil analisis asam amino larva BSF	18
5. Diameter zona hambat sampel uji terhadap bakteri uji	20



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Penentuan Titik Optimum Kadar Protein	12
2. Nilai presentase efisiensi konsumsi pakan (AA= Konsentrsasi asam laktat, R= Konsentrasi ragi dan WF= Waktu Fermentasi	13



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan Alir Penelitian.....	33
2. Perhitungan optimasi pakan larva BSF	34
3. Perhitungan validasi kondisi optimum pakan larva BSF	35
4. Efisiensi Pakan yang dicerna Oleh Larva BSF.....	36
5. Plot Kontur Optimasi Produksi	37
6. Perhitungan Kadar Air Larva BSF	38
7. Perhitungan Kadar abu Larva BSF	39
8. Perhitungan Kadar Protein Larva BSF	40
9. Perhitungan Kadar Lemak Larva BSF	42
10. Perhitungan Kadar Asam Amino Larva BSF	43
11. Data Penentuan Komposisi Asam Amino Larva BSF	44
12. Kromatogram Analisis Asam Amino Larva BSF.....	45
13. Kromatogram Standar Asam Amino.....	47
14. Dokumentasi Penelitian	49



DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Arti
BSF	<i>Black Soldier Fly</i>
SNI	Standar Nasional Indonesia
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemist</i>
UPLC	<i>Ultra Performance Liquid Chromatography</i>
GC-MS	<i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i>
RSM	<i>Response Surface Methodology</i>
AMP	<i>Antimicrobial Peptide</i>



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sampah menjadi salah satu permasalahan lingkungan yang sangat memprihatinkan hingga saat ini. Hampir seluruh kegiatan masyarakat dapat menghasilkan sampah, baik itu sampah organik maupun anorganik yang dapat menjadi ancaman bagi masyarakat (Dewantoro dan Efendi, 2018). Kota Makassar memiliki luas sebesar 175,77 km² dengan jumlah penduduk 1,4 juta jiwa, dengan produksi sampah yang dihasilkan sebanyak 1.023 ton/hari. Sampah yang diproduksi paling banyak didominasi oleh sampah organik, yakni sampah sisa makanan dengan komposisi 56% (Gatta dkk., 2022).

Upaya penanggulangan penumpukan sampah organik yang dihasilkan oleh masyarakat adalah diperlukan keterlibatan semua pihak untuk mereduksinya. Penanganan yang kurang tepat dapat menyebabkan berbagai permasalahan terhadap lingkungan seperti bau yang tidak sedap, kerusakan komposisi tanah dan air yang berkaitan dengan TPA (Tempat Pembuangan Akhir) (Salman dkk., 2020). Salah satu upaya yang dapat diterapkan untuk peningkatan efektivitas dan pengolahan sampah organik yaitu dengan metode biokonversi (Muhayyat dkk., 2016). Menurut Fahmi (2015), biokonversi merupakan proses perombakan limbah organik menjadi sumber energi metan melalui proses fermentasi yang melibatkan mikroorganisme hidup seperti jamur, bakteri dan larva serangga.

Salah satu organisme yang dapat digunakan untuk mengkonversi materi organik tersebut yaitu larva lalat tentara hitam atau Black Soldier Fly (BSF) atau *Hermetia illucens* (Suciati dkk., 2017). BSF banyak ditemukan pada limbah organik dan tidak dilaporkan sebagai agen pembawa dan penyebar penyakit karena BSF tidak makan dan hanya mengecap ketika hinggap pada makanan maupun minuman. Berbeda dengan lalat hijau yang memiliki mulut untuk memakan sampah kemudian masuk ke rumah-rumah dan hinggap pada makanan manusia. Kebiasaan inilah yang menyebabkan lalat hijau dapat menjadi sumber penyakit (Kurniati dkk., 2022).

Larva BSF memiliki fase hidup yang sebagian besar berperan sebagai dekomposer karena mampu mendegradasi sampah organik 80% lebih baik jika dibandingkan dengan larva serangga yang lainnya karena mampu mengkonsumsi sampah makanan lebih cepat dan lebih efisien (Muhayyat dkk., 2016). Selain kemampuannya dalam mendegradasi sampah yang cukup baik, banyak masyarakat yang meyakini bahwa larva BSF kaya akan nutrisi sehingga dapat dijadikan sebagai bahan pangan yang menyehatkan (Kurniati dkk., 2022). Menurut Smets dkk (2019),



ai kandungan nutrisi tinggi dan bervariasi yang membuatnya
nsi untuk menjadi sumber biomassa yang berharga diantaranya
rang tinggi dapat dimanfaatkan dalam industri pakan ternak
ekul yang diekstraksi juga memiliki aplikasi pada bidang industri
yang dihasilkan dapat digunakan untuk produksi biodiesel,
tik (Li dkk., 2011 dan Verheyen dkk., 2018). Kandungan protein

dan lipid tersebut dapat ditingkatkan dengan pemberian pakan yang tepat pada larva BSF. Selain itu, karena larva BSF mengandung protein dan lipid yang tinggi sehingga dapat dijadikan sebagai agen antimikroba yang bernilai efisien (Moretta dkk., 2020).

Antimikroba adalah senyawa biologis atau kimia yang dapat menghambat hingga membunuh pertumbuhan bakteri atau mikroorganisme. Infeksi oleh mikroba patogen terus mengalami peningkatan seiring munculnya kasus mikroba patogen yang resisten terhadap antibiotik. Kondisi tersebut memacu pencarian sumber bahan antimikroba baru yang dapat menghambat dan membunuh bakteri-bakteri patogen (Sartika dkk., 2014). BSF dalam beberapa tahun terakhir ini telah diteliti dan menjadi target dalam pencarian bahan antibiotik.

Berdasarkan uraian tersebut, potensi larva BSF digunakan sebagai bahan dasar dalam berbagai bidang industri maka dilakukan penelitian ini untuk melihat pengaruh pemberian pakan nutrisi limbah yang telah difermentasi terhadap kualitas lipid dan protein terhadap larva BSF dan potensinya sebagai agen antimikroba.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. berapa pengaruh kadar protein media nutrisi limbah buah terfermentasi terhadap protein dan lipid dari maggot untuk dijadikan pakan larva BSF?
2. bagaimana potensi protein dan lipid larva BSF untuk mengkonversi media nutrisi limbah buah terfermentasi?
3. bagaimana efektivitas senyawa lipid dan protein dari larva BSF sebagai antimikroba antibakteri antimikroba hasil isolasi lipid dan protein dari larva BSF maggot?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. menentukan kadar protein media nutrisi limbah buah terfermentasi untuk dijadikan pakan larva BSF
2. mengetahui potensi protein dan lipid larva BSF untuk mengkonversi media nutrisi limbah buah terfermentasi
3. menguji efektivitas senyawa lipid dan protein dari larva BSF sebagai antimikroba

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi mengenai pengaruh fermentasi sebagai pakan larva BSF yang kaya akan proteinnya sebagai agen antimikroba, serta menambah pengetahuan bagi peneliti dan pembaca.



BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva *Black Soldier Fly* (BSF), limbah buah pepaya, ragi, HCl 6 N, *Alfa Amino Butyric Acid* (AABA), n-heksana p.a, reagent fluour, petroleum eter p.a, NaOH p.a, , akuades, akuabides, Mueller Hinton Agar (MHA), ragi, *S. aureus*, *E. coli*, dan kertas saring.

2.2 Alat Penelitian

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah oven, desikator, neraca analitik (Ohaus), cawan petri, mortar, tanur (*furnace*), soklet, *rotary evaporator*, *magnetic stirrer*, *vortex*, sentrifugasi, *Gas Chromatography* (GC) (Shimadzu), *Ultra Performance Liquid Chromatography* (UPLC) (Bruker) dan alat gelas yang umum digunakan laboratorium..

2.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni – Desember 2023. Pengambilan sampel bertempat di Bank Sampah Pusat (BSP) Paccerrakkang. Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Biokimia, Laboratorium Kimia Fisika, Departemen Kimia, Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Laboratorium Kimia Pangan, Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin, dan PT. Saraswanti Indogenetech.

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Desain Eksperimen Kondisi Optimum Media Nutrisi Terfermentasi Larva BSF

Penelitian ini dilakukan desain eksperimen menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM). RSM merupakan metode desain dan analisis yang menggunakan prinsip matematika dan statistik untuk membuat pemodelan serta menganalisis suatu respon (Y) yang dipengaruhi oleh beberapa variabel bebas (X) untuk mengoptimalkan. Penelitian ini dilakukan untuk mencari kondisi optimum jumlah bakteri asam laktat (X_1), jumlah ragi (X_2) dan waktu fermentasi (X_3) dalam memperoleh media nutrisi yang dapat dikonsumsi oleh larva dengan kadar protein tinggi. Ketiga variabel dianalisis dengan melihat pengaruhnya dalam memperoleh nilai kadar protein optimum melalui analisis RSM (*Response Surface Methodology*)



Optimization Software:
www.balesio.com

si Minitab 18. Pada aplikasi Minitab dilakukan penginputan
put dengan interval sebagai berikut bakteri asam laktat yang
0,02%, 2% dan 4%, konsentrasi ragi yang ditambahkan adalah
waktu fermentasi media nutrisi selama 1, 3 dan 5 hari.
NOVA menggunakan persamaan polinomial:

$$+ (X_1X_1) + (X_2X_2) + (X_3X_3) - (X_1X_2) + (X_1X_3) - (X_2X_3) \quad (1)$$

Keterangan:

Y = persentase kadar protein (%)

X_1 = jumlah bakteri asam laktat (%)

X_2 = jumlah ragi (%)

X_3 = waktu fermentasi (hari)

2.4.2 Efisiensi Pakan yang dicerna (Supriyatna dan Putra, 2017)

ECD atau *Efficiency Conversion of Digestive Feed* adalah pengukuran jumlah makanan yang dapat dicerna oleh larva BSF. ECD dilihat dari total pertambahan berat larva dibagi dengan selisih jumlah sampah dan hasil ekserinya. Selanjutnya, kadar abu dapat dihitung menggunakan Persamaan 2.

$$ECD = \frac{B}{I - F} \times 100\% \quad (2)$$

Keterangan:

ECD = efisiensi pakan yang dicerna (%)

B = pertambahan bobot larva (mg)

I = jumlah pakan awal (mg)

F = berat sampah sisa (mg)

2.4.3 Persiapan Fermentasi Limbah Buah (Wong dkk., 2019)

Setelah menetapkan tahap instar permanen yang terbaik, dilakukan modifikasi limbah buah dengan memasukkan serbuk campuran bakteri yang diperoleh dari ragi dengan konsentrasi yang berbeda lalu dihomogenkan. Kemudian dipindahkan ke dalam wadah polietilen lalu ditutup rapat. Fermentasi dilakukan selama 1, 3 dan 5 hari. Setelah fermentasi, masing-masing limbah buah sebanyak 500 gram limbah buah dimasukkan ke dalam 100 gram larva BSF.

2.4.4 Fermentasi BSF (*Hermetia illucens*) (Smets dkk., 2019)

Penelitian ini dilakukan desain eksperimen menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM). RSM merupakan metode desain dan analisis yang menggunakan prinsip matematika dan statistik untuk membuat pemodelan serta menganalisis suatu respon (Y) yang dipengaruhi oleh beberapa variabel bebas (X) untuk mengoptimalkan. Penelitian ini dilakukan untuk mencari kondisi optimum jumlah bakteri asam laktat (X_1), jumlah ragi (X_2) dan waktu fermentasi (X_3) dalam nutrisi yang dapat dikonsumsi oleh larva dengan kadar protein yang dianalisis dengan melihat pengaruhnya dalam memperoleh optimum melalui analisis RSM (*Response Surface Methodology*) menggunakan Minitab 18. Pada aplikasi Minitab dilakukan penginputan faktor dengan interval sebagai berikut bakteri asam laktat yang ditambahkan adalah 0,02%, 2% dan 4%, konsentrasi ragi yang ditambahkan adalah 0,02%, 2% dan 4%, waktu fermentasi media nutrisi selama 1, 3 dan 5 hari.



2.4.5 Analisis Proksimat Larva BSF (*Hermetia illucens*)

2.4.5.1 Analisis Kadar Air (AOAC, 2015)

Cawan porselen dikeringkan dahulu dalam oven pada suhu 105 °C selama 60 menit. Cawan porselen yang sudah kering dimasukkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang hingga menunjukkan bobot yang konstan. Selanjutnya, sampel sebanyak 1 gram dimasukkan ke cawan lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 105 °C selama 3 jam. Cawan beserta isinya kemudian didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang hingga diperoleh berat yang konstan. Kadar air dihitung dengan Persamaan 3.

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{B-C}{B-A} \times 100\% \quad (3)$$

Keterangan:

A = berat cawan kosong (gram)

B = berat cawan + sampel awal (gram)

C = berat cawan + sampel kering (gram)

2.4.5.2 Analisis Kadar Abu (AOAC, 2015)

Cawan kosong ditimbang sebagai bobot awal, setelah itu ditimbang sampel tepung larva BSF dengan seksama sebanyak 1 gram ke dalam sebuah cawan porselen. Kemudian diabukan dalam *furnace* pada suhu maksimum 750 °C selama 3 jam sampai pengabuan sempurna. Lalu didinginkan dalam desikator selama 30 menit kemudian ditimbang hingga diperoleh bobot tetap. Selanjutnya, kadar abu dapat dihitung menggunakan Persamaan 4.

$$\text{Kadar abu (\%)} = \frac{C-A}{B-A} \times 100\% \quad (4)$$

Keterangan:

A = berat cawan porselen kosong (gram)

B = berat cawan dengan sampel (gram)

C = berat cawan dengan sampel setelah dikeringkan (gram)

2.4.5.3 Analisis Kadar Protein (AOAC, 2015)

Tepung larva BSF ditimbang sebanyak 0,5 gram, dimasukkan kedalam labu khjeldahl 100 mL dan ditambahkan 1 gram campuran selenium dan 10-25 mL H₂SO₄ pekat (teknis). Setelah itu labu khjeldahl digoyangkan sampai semua sampel terbasahi dengan H₂SO₄, kemudian di destruksi dalam lemari asam hingga jernih. Setelah itu dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dibilas dengan air suling. Lalu dimasukkan ke dalam labu destilasi dan tambahkan 5 mL larutan NaOH 30%. Kemudian disiapkan labu penampung yang terdiri dari 10 mL dengan 4 tetes larutan indikator campuran dalam erlenmeyer. Setelah itu dituangkan ke dalam labu penampung dan dititrasikan dengan air suling hingga volume penampung menjadi lebih kurang 50 mL. Setelah itu dituangkan ke dalam labu penampung bersama isinya.



dititrasi dengan larutan H_2SO_4 0,0105 N. Kandungan protein larva BSF ditentukan dengan menggunakan Persamaan 5.

$$\text{Kandungan protein (\%)} = \frac{V \times N \times 14 \times 6,25 \times P}{\text{Berat contoh (mg)}} \times 100\% \quad (5)$$

Keterangan:

V = Volume titrasi contoh

N = Normalitas larutan HCl atau H_2SO_4

P = Faktor pengenceran

2.4.5.4 Analisis Kadar Lemak (Folch dkk., 1957)

Lemak dari biomassa Larva BSF diekstrak menggunakan petroleum eter (titik didih pada 40-60 °C. Dihaluskan dan ditimbang 10 gram biomassa larva BSF kering dan ditambahkan 150 mL petroleum eter. Diaduk selama 24 jam dengan menggunakan magnetic stirrer. Kemudian dipisahkan lapisan pelarut dengan penyaringan menggunakan kertas saring, dan residu biomassa dicuci dengan 150 mL petroleum eter sebanyak dua kali. Kemudian, lapisan pelarut digabungkan dan dikeringkan menggunakan rotary evaporator. Lipid Larva BSF yang diekstraksi selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 105 °C selama 1 jam dan didinginkan sampai suhu kamar dalam desikator. Berat lipid larva BSF kering ditentukan dengan menggunakan metode gravimetri. Kandungan lipid BSFL ditentukan dengan menggunakan Persamaan 6.

$$\text{Lemak Kasar (\%)} = \frac{\text{bobot labu lemak (gram)} + \text{lemak setelah ekstraksi (gram)}}{\text{bobot sampel (gram)}} \times 100\% \quad (6)$$

2.4.6 Karakterisasi Asam Lemak dan Asam Amino Larva BSF

2.4.6.1 Karakterisasi Asam Lemak menggunakan Kromatografi Gas (AOAC,2015)

Lemak ditimbang sebanyak 0,02 gram kemudian dimasukkan ke dalam tabung bertutup teflon dan ditambahkan dengan 1 mL NaOH dalam metanol, lalu dipanaskan dalam penangas air selama 20 menit. Setelah itu ditambahkan 2 mL BF3 20% serta 5 mg/mL standar internal dan dipanaskan kembali selama 20 menit. Kemudian ditambahkan NaCl jenuh 2 mL dan dihomogenkan lalu ditambahkan n-heksana 5 mL dan dihomogenkan. Setelah itu dipindahkan larutan n-heksana yang terdapat diatas permukaan ke dalam tabung reaksi menggunakan pipet tetes. Lalu diinjeksikan 1 μ m pada Gas Chromatography. Penentuan kadar asam lemak dapat ditentukan dengan menggunakan Persamaan 7.

$$\text{(\%)} = \frac{\text{luas area sampel}}{\text{luas area standar}} \times C \text{ standar} \times \frac{v \text{ contoh}}{100} \times 100\% \quad (7)$$

bobot contoh



2.4.6.2 Analisis Asam Amino menggunakan UPLC (*Ultra Performance Liquid Chromatography*) (Saprudin dkk., 2019)

Ditambahkan sampel sebanyak 0,1 gram dengan larutan HCl 6 N sebanyak 5 mL. Larutan dihidrolisis pada suhu 110 °C selama 22 jam. Selanjutnya, larutan didinginkan dan dipindahkan ke dalam labu ukur 50 mL lalu dihimpit dengan akuabides. Sampel disaring menggunakan filter berukuran 0,45 µm. Hasil saringan diambil sebanyak 500 µL, kemudian ditambahkan 40 µm (*Alfa Amino Butyric Acid*) AABA dan 460 µL akuabides. Campuran tersebut kemudian di vortex. Larutan dipipet 10 µL dan ditambahkan 70 µL AccQ-Fluor, 20 µL *reagent fluour* A. Selanjutnya, didiamkan selama satu menit pada suhu kamar, kemudian dimasukkan kedalam vial untuk diinjeksikan pada UPLC. Penentuan kadar asam amino menggunakan rumus pada Persamaan 8 dan 9.

$$\text{Rasio Standar atau Sampel} = \frac{A_x}{A_{IS}} \quad (8)$$

$$\text{Kadar Asam Amino (\%)} = \frac{A \times C_{\text{std}} \times \text{BM} \times V_a \times F_p}{B \times 10^6 \times W_x \text{ atau } V_x} \times 100\% \quad (9)$$

Keterangan:

- A : Rasio sampel
- B : Rasio standar
- A_x : Luas area analit asam amino
- A_{IS} : Luas puncak standar internal
- C_{std} : Konsentrasi larutan standar (pmol/µL)
- BM : Bobot molekul asam amino
- V_a : Volume akhir sampel (µL)
- F_p : Faktor pengenceran
- W_x : Bobot penimbangan sampel (g)
- V_x : Volume pemipetan sampel (mL)

2.4.7 Uji Aktivitas Antimikroba (Peolongan dkk., 2006)

2.4.7.1 Preparasi Sampel Ekstrak

Pembuatan larutan larva BSF dilakukan dengan menimbang sebanyak 5 gram tepung larva, lalu dilarutkan ke dalam etanol sebanyak 25 mL dan dibuat dengan konsentrasi masing-masing 0,1%, 0,5% dan 1% dan dihomogenkan.

2.4.7.2 Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Media *Nutrient Agar* (NA) dibuat dengan cara ditimbang sebanyak 2 gram 100 mL akuades dalam erlenmeyer kemudian ditutup dengan lensi dipanaskan hingga mendidih dan dimasukkan ke dalam botol aseptik. Media NA disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C dan 15 psi selama 15 menit. Kemudian dituang media secara aseptik ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 mL dan dibiarkan hingga memadat dalam



2.4.7.3 Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Media *Muller Hinton Agar* (MHA) ditimbang sebanyak 2 gram dan dilarutkan dalam labu erlenmeyer dengan akuades steril hingga mencapai volume 100 mL, kemudian dipanaskan hingga homogen. Selanjutnya media MHA serta peralatan gelas lainnya disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit. Kemudian dituang secara aseptis ke dalam cawan petri sebanyak 25 mL dan dibiarkan hingga memadat.

2.4.7.4 Peremajaan Bakteri Uji *E. Coli* dan *S. Aureus*

Kultur murni bakteri uji *E. coli* dan *S. aureus* diinokulasi secara aseptis pada media NA selama 24 jam pada suhu 37 °C.

2.4.7.5 Pengujian Antibakteri menggunakan Metode Cakram

Suspensi koloni uji *E. coli* dan *S. aureus* hasil peremajaan diambil satu ose koloni dari media NA padat ke tabung reaksi yang berisi 5 mL NaCl fisiologis. Selanjutnya suspensi bakteri uji dalam NaCl fisiologis diinokulasikan pada media MHA sebanyak 0,1 mL, kemudian diratakan dengan *hockey stick* dan didiamkan hingga mengering. *Paper disc* steril dicelupkan ke dalam sampel uji, kontrol positif (kloromfenikol) dan kontrol negatif (akuades). Masing-masing *paper disc* yang berisi sampel uji dikering-anginkan secara aseptis untuk menguapkan pelarut lalu diletakkan secara aseptis pada media MHA. Media uji diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Zona bening diukur dengan menggunakan jangka sorong. Sinar IR dari spektrofotometer inframerah IR-408 yang sudah dinyalakan pada kondisi yang stabil. Selanjutnya dilakukan pendeteksian menggunakan tombol detektor dan akan dihasilkan rekorder histogram FTIR pada monitor yang akan menampilkan puncak-puncak dari gugus fungsi yang terdapat pada sampel. Spektrum yang diperoleh selanjutnya akan dianalisis untuk memperoleh data.

