PAPER – OPEN ACCESS

Isolasi dan Karakterisasi Melanin dari Black Soldier Fly

Author : Gusti Handayani, dkk.
DOI : 10.32734/ee.v7i1.2199
Electronic ISSN : 2654-704X
Print ISSN : 2654-7031

Volume 7 Issue 1 – 2024 TALENTA Conference Series: Energy and Engineering (EE)

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NoDerivatives 4.0 International License.
Published under licence by TALENTA Publisher, Universitas Sumatera Utara

EE Conference Series 07 (2024)
TALENTA Conference Series
Available online at https://talentaconfseries.usu.ac.id

Isolasi dan Karakterisasi Melanin dari *Black Soldier Fly*

Gusti Handayani[1], Zainal Mustakim[1,2], Fanny Sakinah[1], Chandra Wahyu Purnomo[1], Ahmad Tawfiequrrahman Yuliansyah[1]

[1]*Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Gadjah Mada, Jl. Grafika No. 2, Yogyakarta 55281, Indonesia*
[2]*Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Gresik, Jl. Sumatera No. 101, Gresik, Jawa Timur 61121, Indonesia*
gustihandayani@gmail.ugm.ac.id, zainal.mustakim@mail.ugm.ac.id, fannysakinah1999@mail.ugm.ac.id, chandra.purnomo@ugm.ac.id, atawfieq@ugm.ac.id

Abstrak

Black soldier fly (*Hermetia illucens*) merupakan serangga yang memiliki manfaat positif untuk saat ini. Imago BSF berwarna hitam yang menunjukkan adanya pigmen melanin. Melanin berperan dalam variasi warna pada organisme hidup yang juga dapat menjadi sumber pewarna alami dan ramah lingkungan. Pada penelitian ini, melanin diisolasi dari imago BSF mati dengan metode alkali-asam kemudian dianalisis dengan *Fourier Transform Infrared* (FTIR), *Thermogravimetric analysis* (TGA) dan *Energy Dispersive X-ray Spectroscopy* (EDS). Hasil uji menunjukkan puncak-puncak khas melanin dalam spektrum FTIR, seperti gugus hidroksil (-OH), gugus amina (-NH), gugus karboksil (-COOH) dan gugus aromatik. Hasil uji EDS menunjukkan bahwa komposisi utama melanin dari imago BSF adalah C, N, O dengan persentase massa rata-rata untuk masing-masing elemen adalah 68,18%, 17,22% dan 13,23%. Melanin dari imago BSF mati menunjukkan stabilitas termal yang baik. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa BSF merupakan sumber melanin yang menjanjikan dengan potensi aplikasi yang luas.

Kata Kunci: *Black soldier fly; Hermetia illucen; Melanin; FTIR; TGA; EDS; Imago*

Abstract

The black soldier fly (Hermetia illucens) is an insect with significant positive benefits in contemporary applications. The imago (adult stage) of the BSF is black in color, indicating the presence of melanin pigment. Melanin plays a role in the color variation of living organisms and can also serve as a natural and environmentally friendly dye source. In this study, melanin was isolated from dead BSF imagos using an alkali-acid method and analyzed with Fourier Transform Infrared (FTIR), Thermogravimetric Analysis (TGA), and Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS). The FTIR test results showed characteristic peaks of melanin, such as hydroxyl groups (-OH), amine groups (-NH), carboxyl groups (-COOH), and aromatic groups. The EDS test results indicated that the primary composition of melanin from BSF imagos includes C, N, and O, with average mass percentages of 68.18%, 17.22%, and 13.23%, respectively. Melanin from dead BSF imagos exhibited good thermal stability. The findings of this study suggest that BSF is a promising source of melanin with broad potential applications.

Keywords: Black soldier fly; Hermetia illucens; Melanin; FTIR; TGA; EDS; Imago

1. Pendahuluan

Hermetia illucens merupakan diptera dari famili stratiomyidae yang dikenal sebagai *black soldier fly* (BSF). BSF berasal dari Amerika dengan kondisi iklim tropis dan hangat, serta telah tersebar di dunia, termasuk Indonesia [1]. BSF adalah salah satu serangga yang memiliki banyak sifat positif [2] mudah dipelihara dan tahan terhadap kondisi lingkungan yang buruk [3]. Larva BSF juga dianggap sebagai solusi inovatif untuk mengolah limbah organik yang secara bersamaan menjadi sumber alternatif protein dan lipid [4]. Bukti-bukti yang semakin berkembang menunjukkan bahwa BSF dapat menjadi agen biokonversi dengan tingkat konversi limbah yang tinggi. Oleh karena itu, beberapa perusahaan seperti *AgriProtein Technologies* (Afrika Selatan) dan *Enterra Feed Corporation* (Kanada) telah memulai budidaya massal *H. illucens*, serta beberapa perusahaan lainnya yang berlokasi di Eropa, Asia, Amerika, Afrika, dan Australia [2]. Pertumbuhan BSF sangatlah cepat dan dapat berkembang biak dengan mudah di limbah organik [5]. Jika BSF dikembangkan ke skala industri, maka imago BSF akan terbentuk dan terakumulasi.

Imago BSF berwarna hitam, memiliki bentuk tubuh yang ramping dengan panjang 15-20 mm dan tidak memiliki bagian mulut

© 2024 The Authors. Published by TALENTA Publisher Universitas Sumatera Utara Selection and peer-review under responsibility of The 8th National Conference on Industrial Engineering (NCIE) 2024 p-ISSN: 2654-7031, e-ISSN: 2654-704X, DOI: 10.32734/ee.v7i1.2199

yang berfungsi. Selama hidupnya, imago BSF hanya aktif untuk kawin dan bereproduksi. Masa hidupnya hanya sekitar 5-8 hari [1]. Bangkai serangga ini kaya akan melanin, yang dapat dengan mudah diamati.

Melanin adalah biopolimer yang terbentuk melalui oksidasi dan polimerisasi prekursor senyawa fenolik atau indolik [6]. Biopolimer ini memainkan peran penting dalam menciptakan keragaman warna pada hewan [7]. Di dunia hewan, melanin dikategorikan berdasarkan kelompoknya, yaitu eumelanin dan pheomelanin. Eumelanin memberikan warna coklat ke hitam, sedangkan pheomelanin memberikan warna merah ke kuning [8]. Warna yang dihasilkan bergantung pada kemampuan sel khusus untuk mensintesis eumelanin dan pheomelanin [6].

Melanin merupakan pigmen alami yang dapat ditemukan di kulit, rambut, dan mata berbagai spesies hewan, termasuk manusia [7]. Melanin berfungsi sebagai pelindung tubuh dari paparan sinar matahari. Kemampuan melanin dalam menyerap dan memantulkan foton (partikel cahaya), khususnya foton berenergi tinggi dari sinar ultraviolet dan biru, menjadi kunci utama efek proteksinya [6]. Selain itu, melanin juga memiliki peranan biologis lainnya seperti antimikroba, antivenin, antitumor, antiinflamasi, dan perlindungan terhadap hati [9]. Pigmen melanin sangat berlimpah di alam, karena biokompatibilitasnya yang tinggi dan beragam aktivitas biologisnya, melanin diterapkan secara luas dalam berbagai bidang seperti kosmetik, farmasi, biopolimer, dan lingkungan [10]. Dalam industri kosmetik, melanin digunakan sebagai pelindung UV dan pewarna rambut. Selain itu melanin juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan tambahan dalam pembuatan kemasan makanan karena memiliki sifat antimikroba dan antioksidan yang kuat serta dapat digunakan dalam industri makanan dan kesehatan. Dalam jenis aplikasi lain, melanin dapat bertindak sebagai pengikat logam yang dapat diaplikasikan pada lingkungan [11]. Melanin dapat disintesis atau diekstraksi dari sumber alami. Ekstraksi melanin dari sumber alami lebih disukai dibandingkan proses sintesis kimia karena mahalnya reagen yang digunakan [12]. Beberapa penelitian telah mencoba untuk mengekstraksi melanin dari organisme seperti melanin dari tinta cumi [13], jamur *Auricularia polytricha* (*A. polytricha*) [14], *black soldier fly* (*Hermetia illucens*) [8], [15], [16], *black garlic* dan tinta sepia [9], dan lain-lain.

Dalam penelitian ini, melanin diekstraksi dari imago BSF yang telah mati menggunakan perlakuan alkali dan diendapkan dengan penambahan asam kemudian dianalisis dengan *Fourier Transform Infrared* (FTIR), *Thermogravimetric Analysis* (TGA) dan *Energy Dispersive X-ray Spectroscopy* (EDS).

2. Metode Penelitian

2.1. Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah imago BSF mati yang diperoleh dari Pusat Inovasi Agroteknologi UGM, Daerah Istimewa Yogyakarta, serta beberapa pelarut seperti asam klorida (HCl, Smart Lab), natrium hidroksida (NaOH, Sigma Aldrich), dan akuades (H_2O).

2.2. Isolasi Melanin dari Imago BSF Mati

Melanin diisolasi dari imago mati melalui proses ekstraksi dan pemurnian. Ekstraksi adalah teknik untuk mendapatkan zat tertentu dari campuran. Proses ini menggunakan pelarut yang sesuai untuk melarutkan zat yang diinginkan [17]. Metode eksperimen dimulai dengan membersihkan imago mati melalui proses pencucian dan pengeringan menyeluruh untuk menghilangkan sisa-sisa makanan dan pasir yang masih tercampur atau menempel pada imago mati. Pembersihan ini penting untuk memastikan bahwa melanin yang diisolasi bebas dari kontaminan.

Selanjutnya melanin diekstraksi dari imago mati mengikuti prosedur yang telah dipatenkan oleh Insectta [12] dengan sedikit modifikasi. Imago mati dihancurkan menggunakan *ball mill*, lalu diayak hingga berukuran 100 mesh. Kemudian imago mati didemineralisasi dengan asam klorida 3 M pada suhu 50 ^oC selama 2 jam. Sebagai langkah meminimalisir kontaminasi protein pada melanin, deproteinasi diterapkan dengan menambahkan natrium hidroksida 2 M pada suhu 50 ^oC selama 2 jam. Selanjutnya dilakukan pembebasan melanin dengan natrium hidroksida 12 M selama 2 jam pada suhu 80 ^oC. Disetiap proses diikuti pengadukan kecepatan 200 rpm dan diantara tahapan proses dilakukan pencucian imago mati dengan akuades hingga pH netral. Lalu dilakukan penyaringan, supernatan yang mengandung melanin kemudian dipresipitasi dengan penambahan asam klorida 37% hingga pH 2. Melanin diperoleh dengan cara disentrifugasi dengan kecepatan 4500 rpm selama 30 menit. Padatan yang terbentuk dicuci hingga pH netral diikuti dengan pengeringan pada suhu 60 ^oC hingga berat konstan. Berikut adalah diagram alir proses yang dapat dilihat pada gambar 1.

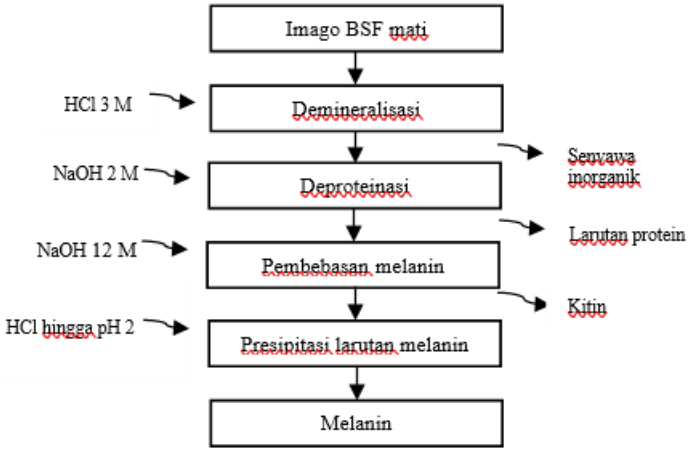
2.3. Karakterisasi

Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) *analysis* bertujuan untuk mengidentifikasi gugus fungsi dan interpretasi struktur melanin dari imago BSF mati. Melanin kering dicampur dengan KBr dan dibentuk pelet dibawah tekanan mekanis. Spektrum diperoleh dalam spektral 4000 cm^{-1} - 400 cm^{-1} dengan resolusi 4 cm^{-1} [18].

Thermogravimetric analysis (TGA) bertujuan untuk menguji stabilitas termal melanin. Melanin dipanaskan dari suhu 30 ^oC –

800 ºC dengan laju pemanasan 10 ºC/menit dalam aliran nitrogen. Suhu dekomposisi maksimum dapat dilihat dari bentuk kurva TGA yaitu DTG, sedangkan penurunan berat (%) diidentifikasi dari kurva TG [9].

Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS) *analysis* bertujuan untuk mengidentifikasi elemen-elemen atau unsur-unsur yang



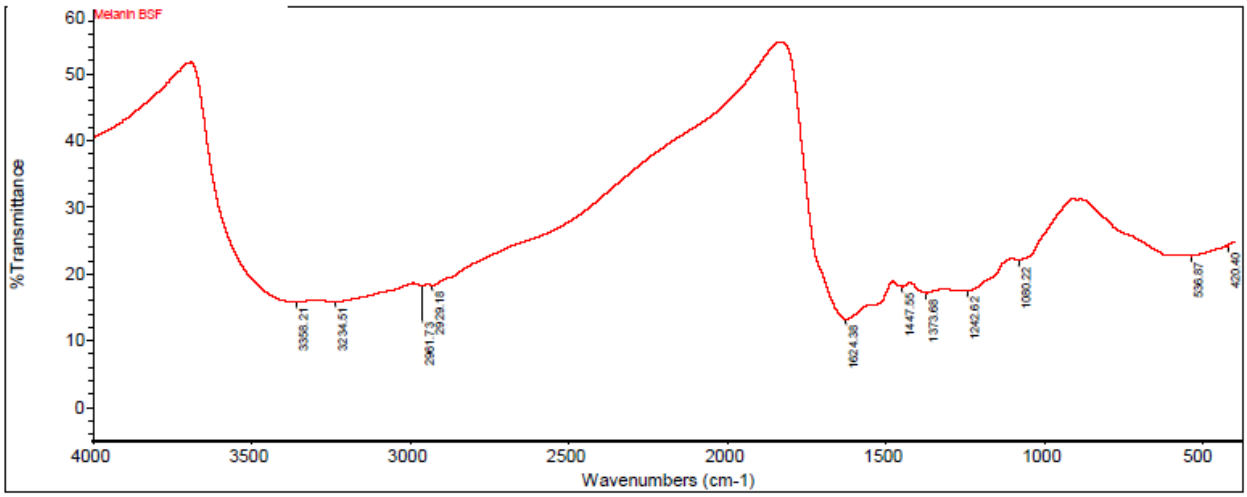
ada dalam suatu bahan dan persentase relatifnya. Analisis kuantitatif EDS (penentuan unsur-unsur yang ada) dilakukan dengan cara mengukur intensitas garis untuk setiap elemen dalam sampel dan membandingkannya dengan elemen yang sama dalam standar kalibrasi dengan komposisi yang diketahui [19].

Gambar 1. Diagram alir proses isolasi melanin

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) Analysis

Analisis spektrum FTIR dapat memberikan informasi keberhasilan proses isolasi melanin. Puncak absorpsi dapat mengindikasikan struktur kimia melanin. Berikut grafik analisis FTIR yang dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Spektrum FTIR melanin yang diisolasi dari imago mati BSF

Gambar 2 adalah grafik yang menunjukkan spektrum yang diperoleh menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR). Dapat diamati bahwa pita serapan luas berpusat pada 3358,21 cm^{-1}. Pita serapan yang kuat dan lebar pada 3358,21 cm^{-1}

merupakan karakteristik getaran regangan O-H atau N-H. Pengamatan pita pertama menunjukkan penyerapan yang luas antara daerah spektral 3600-3200 cm^{-1} kemungkinan berasal dari getaran peregangan O-H dan N-H dari asam karboksilat. Selain itu juga terdapat fungsi amino fenolik dan aromatik dalam sistem indolik dan pirolik [7]. Penelitian lainnya juga mengatakan bahwa sinyal pada kisaran 3600-2800 cm^{-1} menunjukkan vibrasi regangan (O-H dan N-H) dari fungsi amina, amida, atau asam karboksilat, fenolik, dan amina aromatik yang terdapat dalam sistem indolik dan pirolik [9].

Pada rentang kisaran 2950 cm^{-1} dan 2920 cm^{-1} terdapat serangkaian pita dengan intensitas sedang yang ditetapkan untuk getaran regangan C-H [18]. Sementara hasil analisis menunjukkan rentang 2961,73 cm^{-1} dan 2929,18 cm^{-1}. Pengamatan terhadap dua frekuensi yang sedikit berbeda untuk peregangan C-H mungkin disebabkan oleh fakta bahwa atom hidrogen dalam komponen imago BSF mati terletak di lingkungan yang berbeda.

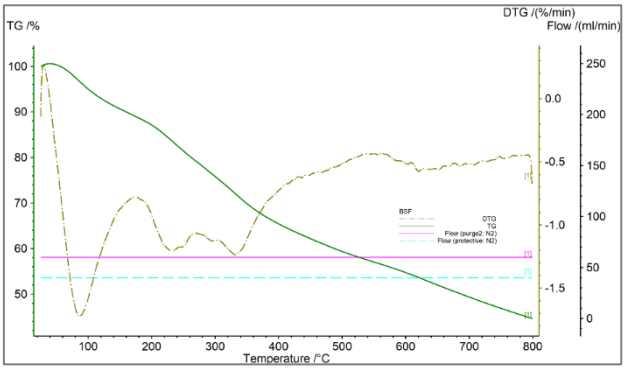
Karakteristik pita pada 1624,38 cm^{-1} (antara 1647-1531 cm^{-1}) disebabkan oleh vibrasi lentur cincin aromatik C=C dan ikatan C=N sistem aromatik selain ikatan rangkap C=O (COOH) fungsi karboksilat. Regangan antara 1468-1330 cm^{-1} dapat disebabkan oleh gugus C-H alifatik. Pembengkokan OH pada gugus fenolik dan karboksilat yang terdapat pada daerah 1400-1300 cm^{-1} berpusat pada 1373,38 cm^{-1} menunjukkan adanya getaran cincin indol/peregangan CNC. Pita lemah dibawah 700 cm^{-1} dianggap berasal dari pembengkokan ikatan karbon-hidrogen aromatik pada pigmen melanin [7]. Spektrum FTIR yang diperoleh sesuai dengan spektrum yang dilaporkan dalam literatur-literatur dan senyawa-senyawa tersebut dibandingkan dengan spektrum FTIR dari melanin sepia komersial.

Tabel 1. Spektrum Puncak FTIR

Panjang Gelombang (cm^{-1})	**Gugus Fungsi**
3358.21	Getaran regangan O-H dan N-H
2961.73	Getaran regangan C-H
2929.18	Getaran regangan C-H
1624.38	Getaran lentur cincin aromatik C=C dan ikatan C=N
1447.55	C-H alifatik
1373.38	Pembengkokan O-H pada gugus fenolik dan karboksilat

3.2. Thermogravimetric analysis (TGA)

Analisis termogravimetri dapat memberikan informasi terkait stabilitas termal melanin. Berikut grafik analisis termogravimetri yang dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Analisis Termogravimetri Melanin dari Imago BSF Mati

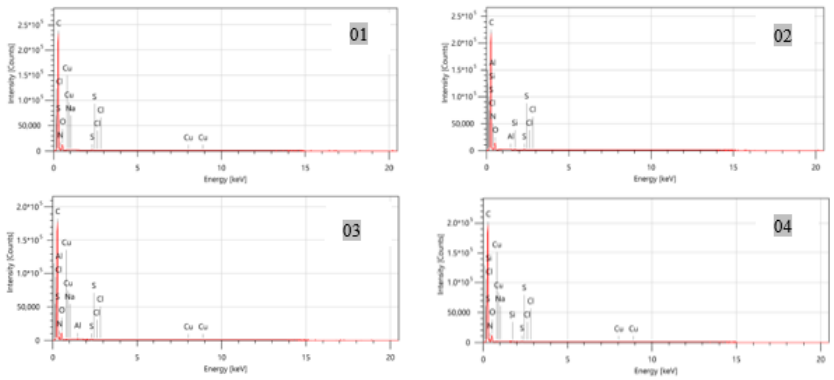
Gambar 3 menunjukkan hasil analisis termogravimetri. Kurva TG menunjukkan sifat termal melanin dari imago BSF mati dalam hal kehilangan berat yang sesuai dengan suhu degdradasi komponen dalam sampel. Kurva derivatif termogravimetri (DTG) menunjukkan puncak-puncak yang mewakili tahapan degradasi termal dari komponen utama dalam sampel [20]. Pada melanin dari imago BSF mati, puncak degradasi termal pertama muncul pada suhu 87 ^oC, penurunan massa yang terjadi hingga suhu tersebut disebabkan oleh adanya penguapan air [21]. Selanjutnya degradasi termal melanin yang terjadi pada suhu 175 ^oC hingga suhu 332 ^oC dan menunjukkan penurunan massa secara bertahap yang kemungkinan disebabkan oleh evolusi CO_2 [9]. Pada rentang suhu 175 ^oC - 332 ^oC, residu melanin tersisa sekitar 72%. Setelah suhu 332 ^oC, laju penurunan massa melanin berkurang hingga suhu 537 ^oC dan cenderung stabil hingga suhu 800 ^oC. Stabilitas termal melanin terlihat karena hanya terjadi kehilangan massa kurang dari 20% hingga suhu 220 ^oC, dan ini sesuai dengan yang telah dilaporkan oleh Sajjan et al (2012) [22].

3.3. Thermogravimetric analysis (TGA)

Pengukuran EDS dilakukan pada 4 titik berbeda dengan perbesaran x500 pada semua titik untuk memastikan komposisi kimianya sama untuk berbagai posisi sampel.

Spektrum EDS dikumpulkan dari 4 titik yang yang diskalakan 10 µm. Pada spektrum EDS ini, puncak C, N, O, Na, Al, S, Cl, Cu, dan Si dapat dibedakan meskipun 6 unsur terakhir memiliki intensitas yang rendah. Berikut persentase massa masing-masing elemen yang menyusun melanin dari imago BSF mati dapat dilihat pada tabel 2.

Setelah menghitung persentase massa rata-rata dari masing-masing elemen, ditemukan bahwa C, N, O paling banyak terdapat pada melanin dari imago BSF mati dengan nilai masing-masing sekitar 68,81%, 17,22% dan 13,23%. Dari hasil analisis terlihat penyebaran beberapa komponen minor pada setiap titik tidak merata. Analisis ini mengungkapkan bahwa komposisi utama



melanin dari imago BSF mati adalah C, N dan O sedangkan elemen lainnya yaitu Na, Al, S, Cl, Cu dan Si memiliki komposisi kurang dari 1% yang dapat dikatakan sebagai pengotor. Hasil ini memiliki kesesuaian dengan hasil EDS yang dilaporkan oleh Mbonyiryivuze et al (2015) [19] yang menyebutkan bahwa unsur utama melanin sepia diantaranya adalah C, O, Na dan Cl. Perbedaan unsur penyusun utama antara melanin dari imago BSF mati dan melanin dari *Sepia officinalis* kemungkinan disebabkan oleh adanya perbedaan unsur penyusun dari tinta *Sepia officinalis* dan imago BSF tersebut.

Gambar 4. Analisis EDS melanin dari imago BSF mati

Tabel 2. Persentase massa elemen penyusun melanin dari imago BSF mati

Elemen	% Massa				Rata-rata
	Titik 1	Titik 2	Titik 3	Titik 4	
C	70,23	70,82	67,34	66,83	68,81
N	17,10	14,19	18,19	19,41	17,22
O	11,92	14,59	13,51	12,91	13,23
Na	0,07	-	0,08	0,09	0,08
Al	-	0,08	0,20	-	0,14
S	0,27	0,19	0,23	0,23	0,23
Cl	0,06	0,05	0,06	0,06	0,06
Cu	0,34	-	0,38	0,39	0,37
Si	-	0,08	-	0,09	0,09
Total	100	100	100	100	100

4. Kesimpulan

Spektrometer FTIR penting untuk interpretasi struktur, kapasitas pengikatan, afinitas, dan lokasi ion logam dalam melanin. Analisis FTIR menunjukkan adanya puncak-puncak khas yang sesuai dengan struktur melanin, termasuk gugus hidroksil (-OH), gugus amina (-NH), gugus karboksil (-COOH), dan gugus aromatik. Hal ini mengonfirmasi adanya keberadaan melanin dalam imago BSF mati. Selain itu dari hasil uji EDS menunjukkan bahwa melanin dari imago BSF mati kaya akan unsur C, N dan O dan memiliki stabilitas termal yang baik. Dari hasil penelitian ini memberikan bukti tambahan tentang potensi BSF sebagai sumber melanin yang menjanjikan dengan implikasi potensial untuk aplikasi di berbagai bidang industri.

Referensi

[1] S. Herlinda and J. M. P. Sari, "Sustainable Urban Farming: Budidaya Lalat Tentara Hitam (Hermetia illucens) untuk Menghasilkan Pupuk, dan Pakan Ikan dan Unggas," 2021.

[2] A. Müller, D. Wolf, and H. O. Gutzeit, "The black soldier fly, *Hermetia illucens* – a promising source for sustainable production of proteins, lipids and bioactive substances," *Zeitschrift für Naturforschung C*, vol. 72, no. 9–10, pp. 351–363, Sep. 2017.

[3] G.-B. Jorge Iñaki, P.-C. Gerardo Antonio, D. Efrén, M.-R. Hiram, G.-I. Daniela, and R.-J. Damián, "Black soldier fly: Prospection of the inclusion of insect-based ingredients in extruded foods," *Food Chemistry Advances*, vol. 1, p. 100075, Oct. 2022.

[4] K. U. Rehman *et al.*, "Black soldier fly, *Hermetia illucens* as a potential innovative and environmentally friendly tool for organic waste management: A mini-review," *Waste Manag Res*, vol. 41, no. 1, pp. 81–97, Jan. 2023.

[5] M. S. Muhayyat and A. T. Yuliansyah, "Pengaruh Jenis Limbah dan Rasio Umpan pada Biokonversi Limbah Domestik Menggunakan Larva Black Soldier Fly (Hermetia illucens)," *Jurnal Rekayasa Proses*, vol. 10, no. 1, 2016.

[6] A. Khayrova, S. Lopatin, and V. Varlamov, "Obtaining chitin, chitosan and their melanin complexes from insects," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 167, pp. 1319–1328, Jan. 2021.

[7] A. Mbonyiryivuze, B. Mwakikunga, S. M. Dhlamini, and M. Maaza, "Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Sepia Melanin".

[8] A. Khayrova, S. Lopatin, and V. Varlamov, "Obtaining Chitin/Chitosan-Melanin Complexes from Black Soldier Fly Hermetia Illucens," *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.*, vol. 809, no. 1, p. 012020, Apr. 2020.

[9] L.-F. Wang and J.-W. Rhim, "Isolation and characterization of melanin from black garlic and sepia ink," *LWT*, vol. 99, pp. 17–23, Jan. 2019.

[10] K.-Y. Choi, "Bioprocess of Microbial Melanin Production and Isolation," *Front. Bioeng. Biotechnol.*, vol. 9, p. 765110, Nov. 2021.

[11] A. N. Tran-Ly, C. Reyes, F. W. M. R. Schwarze, and J. Ribera, "Microbial production of melanin and its various applications," *World J Microbiol Biotechnol*, vol. 36, no. 11, p. 170, Nov. 2020.

[12] Insectta Pte. Ltd. UEN: 201809941M International Publication No.: WO/2021/183058 A1.

[13] F. Abidin, L. Sulmartiwi, and E. Saputra, "Characteristics physicochemical of melanin from squid ink (loligo sp.) extracted by ethanol," *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.*, vol. 679, no. 1, p. 012038, Feb. 2021.

[14] M. Zheng *et al.*, "Physicochemical properties and the extraction process of natural melanin from Auricularia polytricha," *SDRP-JFST*, vol. 4, no. 1, pp. 1–12, 2019.

[15] N. Ushakova, A. Dontsov, N. Sakina, A. Bastrakov, and M. Ostrovsky, "Antioxidative Properties of Melanins and Ommochromes from Black Soldier Fly Hermetia illucens," *Biomolecules*, vol. 9, no. 9, p. 408, Aug. 2019.

[16] U. D'Amora *et al.*, "Eumelanin from the Black Soldier Fly as Sustainable Biomaterial: Characterisation and Functional Benefits in Tissue-Engineered Composite Scaffolds," *Biomedicines*, vol. 10, no. 11, p. 2945, Nov. 2022.

[17] D. W. Lestari, V. Atika, I. Isnaini, A. Haerudin, and T. K. Arta, "Pengaruh pH Ekstraksi pada Pewarnaan Batik Sutera Menggunakan Pewarna Alami Kulit Kayu Mahoni (Switenia Mahagoni)," *J. Rek. Pros.*, vol. 14, no. 1, Jun. 2020.

[18] A. R. Ferraz, R. Pacheco, P. D. Vaz, C. S. Pintado, L. Ascensão, and M. L. Serralheiro, "Melanin: Production from Cheese Bacteria, Chemical Characterization, and Biological Activities," *IJERPH*, vol. 18, no. 20, p. 10562, Oct. 2021.

[19] A. Mbonyiryivuze *et al.*, "Morphological and Chemical Composition Characterization of Commercial Sepia Melanin," *AJN*, vol. 3, no. 1, pp. 22–27, Jun. 2015.

[20] M. Z. Alam, T. Ramachandran, A. Antony, F. Hamed, M. Ayyash, and A. Kamal-Eldin, "Melanin is a plenteous bioactive phenolic compound in date fruits (Phoenix dactylifera L.)," *Sci Rep*, vol. 12, no. 1, p. 6614, Apr. 2022.

[21] B. Simonovic, "Direct evidence of melanin decomposition by simultaneous DTA, TGA and MS analysis," 1995.

[22] S. S. Sajjan, "Properties and Functions of Melanin Pigment from Klebsiella sp. GSK," *Korean J. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 41, no. 1, pp. 60–69, Mar. 2013.