



## **APLIKASI EKSTRAK PUPA BLACK SOLDIER FLY (BSF) SEBAGAI SUMBER PRODUKSI KITIN**

**Dennis Farina Nury<sup>a,\*</sup>, Putri Jesika Adelia<sup>a</sup>, Khofifah Anggitiya Ningrum<sup>a</sup>, Muhammad Zulfikar Luthfi<sup>b</sup>**

<sup>a</sup>Program Studi Teknik Kimia, Institut Teknologi Sumatera  
Jalan Terusan Ryacudu, Way Huwi, Lampung Selatan, 35365

<sup>b</sup>Program Studi Teknik Kimia Bahan Nabati, Politeknik ATI Padang  
Jalan Bungo Pasang, Tabing, Padang, Sumatera Barat, 25171

\*E-mail: dennis.nury@tk.itera.ac.id

Masuk Tanggal : 9 September, revisi tanggal: 30 September, diterima untuk diterbitkan tanggal : 20 Desember 2023

### **Abstrak**

Kitin merupakan polimer karbohidrat alami kedua yang paling melimpah setelah selulosa serta dianggap sebagai sumber biologis bahan bakar nabati dan senyawa fungsional bernilai tambah tinggi lainnya yang dapat menggantikan sumber energi kimia. Teknologi pembiakan massal *Black Soldier Fly* (BSF) menjadi semakin populer di seluruh dunia. Karena kemampuannya untuk mengubah limbah organik menjadi biomassa larva dengan cepat, BSF telah menjadi salah satu sumber potensi untuk produksi kitin. Kitin dari pupa BSF dapat diekstraksi dengan proses kimia sederhana menggunakan tahapan demineralisasi, deproteinasi dan penghilangan pigmen. Penelitian ini menggunakan 2 variasi pelarut (asam dan basa) pada tahapan deproteinasi dan demineralisasi. Variasi 1 dihasilkan rendemen kitin sebesar 19.87 % dengan deproteinasi menggunakan 3 M NaOH 5% (v/v) selama 6 jam dan demineralisasi menggunakan 1 M HCl 1% (v/v) selama 1 jam. Variasi 2 dihasilkan rendemen kitin sebesar 10.62% dengan deproteinasi menggunakan HCl 2 M 1% (v/v) selama 6 jam dan demineralisasi menggunakan 2 M NaOH 5% (v/v) selama 36 jam. Pada tahapan penghilangan pigmen, sampel dari deproteinasi direndam dalam larutan KMnO<sub>4</sub> 1% selama 1 jam dan kelebihan KMnO<sub>4</sub> dihilangkan dengan K<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 4%. Karakterisasi kitin menggunakan FTIR menunjukkan sampel pupa BSF adalah bentuk  $\alpha$  dengan perolehan amida yaitu sebesar 3399 cm<sup>-1</sup>, dan ikatan antara NH dan gugus karbonil 1573 cm<sup>-1</sup>. Dapat disimpulkan bahwa BSF menjadi potensi sumber kitin di masa mendatang.

**Kata Kunci:** Kitin, BSF, Rendemen, Amida, Deproteinasi.

### **Abstract**

*Chitin is the second most abundant natural carbohydrate polymer after cellulose and is considered a biological source of biofuels and other high value-added functional compounds that can replace chemical energy sources. Black Soldier Fly (BSF) mass breeding technology is becoming increasingly popular around the world. Due to its ability to rapidly convert organic waste into larval biomass, BSF has become one of the potential sources for chitin production. Chitin from BSF pupae can be extracted by a simple chemical process using the stages of demineralization, deproteinization and pigment removal. This study used 2 variations of solvents (acid and base) in the deproteinization and demineralization stages. Variation 1 produced a chitin yield of 19.87% with deproteinization using 3 M NaOH 5% (v/v) for 6 hours and demineralization using 1 M HCl 1% (v/v) for 1 hour. Variation 2 produced a chitin yield of 10.62% with deproteinization using 2 M HCl 1% (v/v) for 6 hours and demineralization using 2 M NaOH 5% (v/v) for 36 hours. In the pigment removal stage, samples from deproteinization were soaked in 1% KMnO<sub>4</sub> solution for 1 hour and excess KMnO<sub>4</sub> was removed with 4% K<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>. Characterization of chitin using FTIR showed that the BSF pupae sample was  $\alpha$ -form with amide gain at 3399 cm<sup>-1</sup>, and the bond between NH and carbonyl groups at 1573 cm<sup>-1</sup>. It can be concluded that BSF is a potential source of chitin in the future.*

**Keywords:** Chitin, Amide, BSF, Yield, Deproteinization.

## 1. PENDAHULUAN

Kitin merupakan polimer karbohidrat alami kedua yang paling melimpah setelah selulosa dan merupakan salah satu biopolimer yang tersusun polimer linier  $\beta$  (1-4) yang terhubung dengan N-asetil-D-glukosamin dan D-glukosamin [1], [2]. Kitin dianggap sebagai sumber biologis bahan bakar nabati dan senyawa fungsional bernilai tambah tinggi lainnya yang dapat menggantikan sumber energi kimia [3]. Kitin dapat diisolasi dari cangkang laut krustasea, serangga, kumbang dan ulat sutera yang tersusun kalsium karbonat (20-50%), protein (20-40%) [4].

Beberapa penelitian melaporkan isolasi kitin dari kutikula serangga, tetapi sumber ini tidak cocok untuk industri manufaktur. Saat ini, teknologi pembiakan massal *Black Soldier Fly* (BSF) menjadi semakin populer di seluruh dunia. Karena kemampuannya untuk mengubah limbah organik menjadi biomassa larva dengan cepat, BSF telah menjadi salah satu sumber potensi untuk produksi kitin [3], [5].

BSF terdiri dari kitin, kalsium karbonat, protein, lipid, dan pigmen, dan pemisahannya dilakukan dalam tiga tahapan: 1) deproteinasi, 2) demineralisasi dan 3) penghilangan pigmen. Tahapan ekstraksi kitin dan konversi selanjutnya menjadi kitosan dapat dilakukan secara kimiawi atau menggunakan metode biologis, seperti fermentasi mikroba dan reaksi enzimatis [6].

Meskipun memiliki potensi yang besar sebagai sumber kitin, BSF jarang dianggap sebagai pilihan terbaik untuk isolasi kitin karena adanya pengotor dengan melanin yang ditemukan setelah proses pemutihan yang dilakukan [1]. Saat ini, literatur yang tersedia hanya terbatas tentang kitin dan kitosan yang diisolasi dari siklus kehidupan BSF yang terdiri dari telur, larva, pupa, dan dewasa [7].

Faktor terpenting yang mempengaruhi keberhasilan ekstraksi kitin dan kitosan adalah jenis sampel dan metode ekstraksi. Metode untuk mendapatkan kitin berkualitas tinggi adalah proses deproteinasi dan demineralisasi [8], [9].

Kitin dapat diekstraksi dengan proses kimia yang sederhana melalui tahapan demineralisasi dan deproteinasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengekstrak dan mengkarakterisasi pupa BSF sebagai kitin serta mengetahui kandungan rendemen dari ekstrak BSF.

## 2. PROSEDUR PERCOBAAN

Sampel pupa *Black Soldier Fly* (BSF) yang dikembangkan di *compost plant* diambil sebanyak 10 gram. Pupa BSF dibersihkan dari impuritis atau kotoran yang menempel pada permukaan pupa menggunakan akuades,

kemudian dikeringkan di oven selama 4 jam pada temperatur 105°C lalu dihaluskan menggunakan blender untuk meningkatkan luas permukaan sampel pupa BSF sehingga tahapan ekstraksi menjadi lebih optimum. Tujuan dari pengeringan ini adalah untuk mengurangi kadar air dalam pupa BSF tersebut sehingga mempermudah dalam penyimpanan dalam desikator.

### 2.1. Deproteinisasi

Sampel pupa BSF diekstrak menggunakan 3M NaOH dengan rasio (1:10) v/v pada temperatur 370 °C menggunakan soklet dan *magnetic stirrer* selama 6 jam. Sampel kemudian dikeluarkan dari soklet dan disaring menggunakan kertas saring. Sampel kemudian dicuci dengan akuades hingga pH netral. Kertas saring dan bahan yang terkumpul dikeringkan dalam oven pada temperatur 105°C selama 24 jam. Sampel yang terdeproteinasi dikumpulkan dari kertas saring

### 2.2. Demineralisasi

Tahap demineralisasi bertujuan untuk menghilangkan kandungan mineral yang masih terkandung di dalam sampel berupa  $\text{CaCO}_3$  dan  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ . Tahap demineralisasi menggunakan variasi pelarut asam dan basa, yaitu 1 M HCl 1% (v/v) selama 1 jam dan 2 M NaOH 5% (v/v) selama 36 jam. Setelah tahapan demineralisasi, sampel dibilas menggunakan akuades dan disaring menggunakan kertas saring.

### 2.3. Depigmentasi

Tahap pigmentasi merupakan tahap terakhir yaitu penghilangan pigmen agar mendapatkan produk murni kitin tanpa impuritis. Sampel dari deproteinasi direndam dalam larutan  $\text{KMnO}_4$  1% selama 1 jam dan kelebihan  $\text{KMnO}_4$  dihilangkan dengan  $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4$  4%. Setelah itu, disaring dan dicuci hingga mencapai pH netral. Persen rendemen kitin dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{rendemen} = \frac{\text{massa kitin}}{\text{massa pupa kering}} \times 100\% \quad (1)$$

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi kitin dari pupa BSF dilakukan menggunakan 2 variasi pelarut (asam dan basa) pada tahapan deproteinasi dan demineralisasi. Variasi 1 dihasilkan rendemen kitin sebesar 19.87 % dengan deproteinasi menggunakan 3 M NaOH 5% (v/v) selama 6 jam dan demineralisasi menggunakan 1 M HCl 1% (v/v) selama 1 jam. Variasi 2 dihasilkan rendemen kitin sebesar 10.62% dengan deproteinasi menggunakan HCl 2 M 1% (v/v) selama 6 jam dan demineralisasi menggunakan 2 M NaOH 5% (v/v) selama 36 jam.

Tabel 1. Rendemen kitin dari sampel pupa BSF

Tahapan	Bahan	Rendemen
Variasi 1	Deproteinasi 3M NaOH	19.87%
	Demineralisasi 1M HCl	
Variasi 2	Deproteinasi 2M HCl	10.62%
	Demineralisasi 2M NaOH	

Rendemen tertinggi dihasilkan pada variasi 1, yaitu 19.87%, dimana pada variasi 2 dihasilkan hanya 10.62%. Hal ini disebabkan oleh pengaruh penggunaan larutan yang digunakan selama proses *pretreatment*, yaitu asam dan basa.

Tahapan deproteinasi bertujuan untuk menghilangkan ikatan kimia antara kitin dan protein. Larutan NaOH merupakan pereaksi yang paling banyak digunakan dalam tahapan ini, dengan rentang konsentrasi 0.125 hingga 5 M. Selain deproteinasi, penggunaan NaOH selalu menghasilkan deasetilasi parsial kitin dan hidrolisis biopolimer yang menurunkan berat molekulnya. Hasil penelitian deproteinasi dari sampel cangkang krustasea menggunakan larutan NaOH encer pada konsentrasi mulai dari 1% hingga 10% (b/v) dan pada temperatur tinggi dari 65 hingga 100°C. Peningkatan rasio diatas 1:4 (b/v) hanya memiliki efek kecil pada efisiensi deproteinasi. Waktu reaksi biasanya berkisar antara 0.5 hingga 6 jam [10].

Tahapan demineralisasi terdiri dari penghilangan mineral, terutama kalsium karbonat. Demineralisasi umumnya dilakukan dengan perlakuan asam yaitu menggunakan dua molekul HCl untuk mengubah satu molekul kalsium karbonat menjadi kalsium klorida [4]. Tahapan demineralisasi melibatkan konsentrasi HCl yang berbeda (hingga 10% b/v), dan reaksi yang terjadi yaitu penguraian kalsium karbonat menjadi garam kalsium yang larut dalam air dengan pelepasan karbon dioksida [11].

### 3.1. Karakteristik kitin dari sampel BSF

Ekstraksi kitin dengan menggunakan variasi pelarut HCl, NaOH dan lama waktu yang berbeda menghasilkan rendemen yang berbeda pula. Kitin tidak larut dalam air dan pelarut umum [3]. BSF memiliki beberapa sifat yang unik. Pertama, larva ini mengandung banyak lipid dan sangat sedikit gula yang dapat difermentasi. Kedua, melanin terikat secara kovalen dengan kitin [12].

Sampel pupa BSF setelah perlakuan terjadi perubahan warna menjadi kehitaman, dapat ditunjukkan pada Gambar 1.



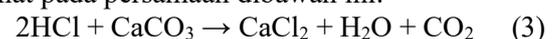
Gambar 1. Sampel pupa BSF sebelum (a), dan setelah (b) perlakuan deproteinasi dan demineralisasi

Degradasi kandungan protein dan pigmen dapat terjadi pada saat pengovenan dalam temperatur tinggi dan lama pengovenan sehingga rendemen yang dihasilkan semakin tinggi. Hal ini sesuai dengan penelitian Sulistyawati et al. dimana kitin yang dihasilkan dari isolasi pupa BSF yaitu 34% dengan mengekstrak sebanyak 12 kali pengulangan menggunakan NaOH pada temperatur 80°C selama 1 jam dan warna yang dihasilkan berwarna putih [13]. Temperatur mempengaruhi warna dan penampakan fisik kitin dimana semakin tinggi temperatur maka warna kitin akan cenderung semakin putih [3], [4].

Tahap pertama yaitu deproteinasi, dimana bertujuan untuk memisahkan atau melepaskan ikatan protein dari kitin. Produk yang diperoleh disebut sebagai kitin yang dimurnikan [1], [14]. Tahapan deproteinasi memiliki reaksi sebagai berikut:



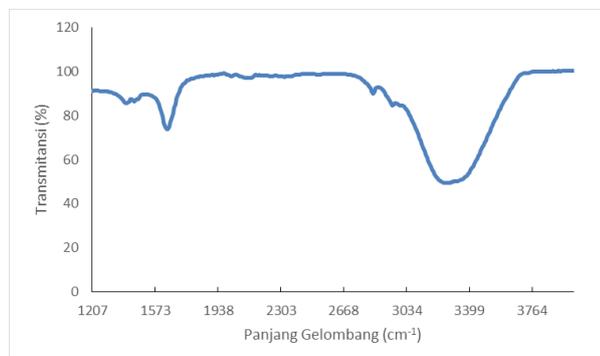
Selanjutnya, tahap demineralisasi bertujuan untuk merubah kalsium karbonat yang terkandung dalam pupa BSF menjadi garam kalsium terlarut disertai pelepasan gas karbondioksida dan air. Larutan HCl dianggap sebagai bahan kimia yang dapat merubah sifat intrinsik kitin yang dimurnikan. Umumnya, konsentrasi HCl yang digunakan dalam demineralisasi adalah 1 M atau lebih tinggi [10]. Proses yang berlangsung dapat dilihat pada persamaan dibawah ini:



Tahap akhir dari ekstraksi pupa BSF yaitu penghilangan pigmen cangkang pupa BSF yang masih tersisa dalam cangkang. Tahapan penghilangan pigmen menggunakan larutan  $\text{KMnO}_4$  1% dan dilanjut dengan  $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4$  4% selama 1 jam lalu dicuci dengan akuades hingga mencapai pH netral. Pencucian sampai netral ditujukan agar tidak terjadi perubahan pH secara ekstrim ketika perpindahan dari larutan pH yang sangat asam ke larutan yang sangat basa yang dapat menyebabkan kerusakan pada sampel [15].

### 3.2. Analisis FTIR sampel pupa BSF

Setiap ikatan organik memiliki frekuensi resonansi yang khas dalam spektrum inframerah. Dengan demikian FTIR dapat digunakan untuk mempelajari struktur molekul dengan menghasilkan spektrum yang menunjukkan serapan panjang gelombang inframerah oleh sampel [16].



Gambar 2. Hasil Spektrum FTIR Sampel Pupa BSF menjadi kitin

Spektrum *Fourier Transformed Infrared-Red* (FTIR) dari kitin yang diperoleh dari sampel BSF ditunjukkan pada Gambar 1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kitin yang diekstrak dari sampel pupa BSF adalah bentuk  $\alpha$ . Kitin  $\alpha$  ditemukan sebagai bentuk kristal kitin yang paling stabil dengan rantai polimer yang tersusun secara antiparalel yang menimbulkan ikatan hidrogen yang kuat (dua per unit sel) [1].

Hasil pengukuran FTIR juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi bentuk kristal ( $\alpha$ ,  $\beta$  atau  $\gamma$ ) dari kitin karena perbedaan ikatan hidrogen dapat dideteksi [17]. Gugus karbonil  $\alpha$ -kitin terlibat dalam dua ikatan hidrogen hidrogen, satu ikatan intramolekuler (antara gugus karbonil) yang memiliki absorbansi pada  $1620\text{ cm}^{-1}$  dan satu intermolekuler (antara NH dan gugus karbonil) pada  $1573\text{ cm}^{-1}$ . Kaya et al. menyatakan bahwa  $\gamma$  kitin juga menunjukkan pita amida I yang terbagi tetapi dengan pita yang kurang jelas pada  $1660\text{ cm}^{-1}$  dan yang jelas dan tajam pada  $1620\text{ cm}^{-1}$  [16].

Sampel dari BSF semuanya menunjukkan hasil serapan pada  $3399\text{ cm}^{-1}$  dan dengan demikian diidentifikasi sebagai  $\alpha$ -kitin [9], [18]. Sebagian besar serangga yang diidentifikasi merupakan golongan  $\alpha$ -kitin, termasuk larva dan lalat BS. Ekstraksi kitin dari cangkang kepiting dihasilkan struktur kimia yang mirip dengan  $\alpha$ -kitin dengan puncak FTIR yang terlihat pada  $3450\text{ cm}^{-1}$  (puncak amino, alfa kitin) dan  $1574\text{ cm}^{-1}$  (ikatan N-asetil ester, amida II) dan  $1039\text{ cm}^{-1}$  (kandungan pati) [4], [7].

## 4. KESIMPULAN

*Black Soldier Fly* (BSF) semakin populer di seluruh dunia karena menjadi salah satu sumber potensi untuk produksi kitin. Penelitian ini menggunakan 2 variasi pelarut (asam dan basa) pada tahapan deproteinasi dan demineralisasi. Dimana pada variasi 1 menghasilkan rendemen kitin terbesar 19.87 % dibanding variasi 2 hanya 10.62%. Pemilihan jenis pelarut sangat mempengaruhi rendemen kitin yang dihasilkan. Karakterisasi kitin menggunakan FTIR menunjukkan sampel pupa BSF adalah bentuk  $\alpha$  dengan perolehan amida yaitu sebesar  $3399\text{ cm}^{-1}$ , dan ikatan antara NH dan gugus karbonil  $1573\text{ cm}^{-1}$ . Dapat disimpulkan bahwa BSF menjadi potensi sumber kitin di masa mendatang.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Institut Teknologi Sumatera dan Politeknik ATI Padang dalam bidang penulisan artikel ilmiah di tahun 2023.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Y. S. Lin, S. H. Liang, W. L. Lai, J. X. Lee, Y. P. Wang, Y. T. Liu, S. H. Wang, M. H. Lee, "Sustainable extraction of chitin from spent pupal shell of black soldier fly," *Processes*, vol. 9, no. 6, pp. 1–8, 2021, doi: 10.3390/pr9060976.
- [2] H. Wang, K. U. Rehman, W. Feng, D. Yang, R. U. Rehman, M. Cai, J. Zhang, Z. Yu, L. Zheng, "Physicochemical structure of chitin in the developing stages of black soldier fly," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 149, pp. 901–907, 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.01.293.
- [3] J. Lv, X. Lv, M. Ma, D. H. Oh, Z. Jiang, and X. Fu, "Chitin and chitin-based biomaterials: A review of advances in processing and food applications," *Carbohydr. Polym.*, vol. 299, 2023, doi: 10.1016/j.carbpol.2022.120142.
- [4] R. Ardianto and R. Amalia, "Optimasi Proses Deasetilasi Kitin menjadi Kitosan dari Selongsong Maggot menggunakan RSM," *Metana*, vol. 19, no. 1, pp. 1–12, 2023, doi: 10.14710/metana.v19i1.50480.
- [5] S. Pintowantoro, Y. Setiyorini, T. Noor, and R. Fakhreza, "Pemanfaatan Black Soldier Fly (BSF) untuk Mengolah Sampah Organik di Kota Surabaya," vol. 6, no. 2, 2022, doi: 10.12962/j26139960.v6i2.129.
- [6] M. H. Mohammed, P. A. Williams, and O. Tverezovskaya, "Extraction of chitin from prawn shells and conversion to low molecular mass chitosan," *Food Hydrocoll.*, vol. 31, no.

- 2, pp. 166–171, 2013, doi: 10.1016/j.foodhyd.2012.10.021.
- [7] E. Mirwandhono, M. I. A. Nasution, and Yunilas, “Extraction of chitin and chitosan black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupa phase on characterization and yield,” *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 1114, no. 1, pp. 8–12, 2022, doi: 10.1088/1755-1315/1114/1/012019.
- [8] L. Soetemans, M. Uyttebroek, and L. Bastiaens, “International Journal of Biological Macromolecules Characteristics of chitin extracted from black soldier fly in different life stages,” *Int. J. Biol. Macromol.*, no. xxxx, 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.11.041.
- [9] A. Caligiani, A. Marseglia, G. Leni, L. Maistrello, A. Dossena, and S. Sforza, “PT SC,” *Food Res. Int.*, 2017, doi: 10.1016/j.foodres.2017.12.012.
- [10] P. Charoenvuttitham, J. Shi, and G. S. Mittal, “Chitin extraction from black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) waste using organic acids,” *Sep. Sci. Technol.*, vol. 41, no. 6, pp. 1135–1153, 2006, doi: 10.1080/01496390600633725.
- [11] I. Younes and M. Rinaudo, “Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications,” *Mar. Drugs*, vol. 13, no. 3, pp. 1133–1174, 2015, doi: 10.3390/md13031133.
- [12] A. Waśko, P. Bulak, M. Polak-Berecka, K. Nowak, C. Polakowski, and A. Bieganowski, “The first report of the physicochemical structure of chitin isolated from *Hermetia illucens*,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 92, pp. 316–320, 2016, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.07.038.
- [13] L. Sulistyawati, F. Foliatini, N. Nurdiani, and F. Puspita, “Isolasi dan Karakterisasi Kitin dan Kitosan dari Pupa Black Soldier Fly (BSF),” *War. Akab*, vol. 46, no. 1, 2022, doi: 10.55075/wa.v46i1.89.
- [14] Mursida, Tasir, and Sahriawati, “Efektifitas Larutan Alkali pada Proses Deasetilasi,” *Jphpi*, vol. 21, no. 2, pp. 356–366, 2018.
- [15] P. Charoenvuttitham, J. Shi, and G. S. Mittal, “Chitin extraction from black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) waste using organic acids,” *Sep. Sci. Technol.*, vol. 41, no. 6, pp. 1135–1153, 2006, doi: 10.1080/01496390600633725.
- [16] M. Kaya, S. Erdogan, A. Mol, and T. Baran, “Comparison of chitin structures isolated from seven Orthoptera species,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 72, pp. 797–805, 2015, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.09.034.
- [17] M. Kaya, M. Mujtaba, H. Ehrlich, A. M. Salaberría, T. Baran, C. T. Amemiya, R. Galli, L. Akyuz, I. Sargin, J. Labidi, “On chemistry of  $\gamma$ -chitin,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 176, pp. 177–186, 2017, doi: 10.1016/j.carbpol.2017.08.076.
- [18] T. Spranghers, M. Ottoboni, C. Klootwijk, A. Oryn, S. Deboosere, B. D. Meulenaer, J. Michelis, M. Eeckhout, P. D. Clercq, S. D. Smet, “Nutritional composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae reared on different organic waste substrates,” *J. Sci. Food Agric.*, vol. 97, no. 8, pp. 2594–2600, 2017, doi: 10.1002/jsfa.8081.