

## **Extraction and Characterization of Chitin and Chitosan from Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*)**

**Dhini Annisa Rahmasari Kanto<sup>1</sup>; Agus Dana Permana<sup>2</sup>; Rukman Hertadi<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Kimia, Universitas Garut, Jalan Jati No. 42B, Garut

<sup>2</sup>Program Studi Biologi, Institut Teknologi Bandung, Jalan Ganesha No. 10, Bandung

<sup>3</sup>Program Studi Kimia, Institut Teknologi Bandung, Jalan Ganesha No. 10, Bandung

Corresponding author: Dhini Annisa RK ([dhini.annisa@uniga.ac.id](mailto:dhini.annisa@uniga.ac.id))

### **ARTICLE HISTORY**

Received: 21 November 2018

Revised: 11 December 2018

Accepted: 16 January 2019

### **Abstract**

Chitin and chitosan is a widely used biopolymer in many areas. This kind of polymer is mainly found in crustaceae and insects. *Hermetia illucens* is one of the insects that has chitin content in its shell. The source of chitin decides the physicochemistry of the extracted chitin. This study aims to extract chitin from *H. illucens* and convert it into chitosan. Chitin and chitosan were then characterized using infrared spectroscopy and electron microscope. Chitin extraction from *H. illucens* produced 17.93% randemen. The deacetylation of chitin resulted in chitosan that has distinctive characteristic for chitosan. The resulted chitosan has 74.74% deacetylation degree. Scanning of chitin and chitosan using electron microscope showed that chitosan morfology was more rough than that of chitin.

**Key words:** chitin, chitosan, deacetylation, *hermetia illucens*

## **Ekstraksi dan Karakterisasi Kitin dan Kitosan dari Lalat Serdadu Hitam (*Hermetia illucens*)**

### **Abstrak**

Kitin dan kitosan merupakan polimer yang banyak digunakan dalam berbagai aplikasi. Polimer jenis ini banyak ditemukan di organisme krustaseae dan serangga. *Hermetia illucens* merupakan salah satu serangga yang memiliki kandungan kitin pada cangkangnya. Sumber organisme kitin menentukan sifat fisikokimia dari kitin yang diekstraksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengekstraksi kitin dari *H. illucens* dan mengubahnya menjadi kitosan. Kitin dan kitosan yang diperoleh dikarakterisasi menggunakan spektroskopi inframerah dan mikroskop elektron. Ekstraksi kitin dari *H. illucens* menghasilkan randemen sebanyak 17,93%. Hasil deasetilasi kitin tersebut menunjukkan bahwa kitosan yang diperoleh memiliki sifat yang khas untuk kitosan. Derajat deasetilasi yang diperoleh sebesar 74,74%. Pencitraan dengan menggunakan mikroskop elektron menunjukkan morfologi permukaan kitosan lebih kasar dan rapat daripada morfologi permukaan kitin.

**Kata kunci:** deasetilasi, kitin, kitosan, *hermetia illucens*

## Pendahuluan

Kitin merupakan polisakarida alami yang dianggap sebagai salah satu biopolimer yang paling melimpah. Dalam berbagai penelitian, kitin telah berhasil ditemukan dan diisolasi dari beberapa organisme krustaseae, arakhnida, dan serangga<sup>1;2;3;4</sup>. Salah satu serangga yang memiliki kandungan kitin pada cangkangnya adalah lalat *Hermetia illucens*. Penelitian Wasko<sup>5</sup> merupakan studi pertama yang menunjukkan karakter fisikokimia kitin yang diekstrak dari larva dan lalat dewasa *H. illucens*.

*Hermetia illucens*, dikenal juga dengan lalat serdadu hitam (BSF), merupakan spesies lalat yang berasal dari daerah Amerika. Fase hidup lalat ini dimulai dari telur, larva, prepupa, pupa kemudian menjadi lalat dewasa. Uniknya, *H. illucens* ini hanya mengonsumsi makanan dan minuman pada fase larva hingga pupa. Setelah menjadi lalat dewasa, lalat ini tidak lagi makan dan minum, melainkan hanya menggunakan cadangan nutrisi yang telah dikumpulkan pada fase sebelumnya. Karena itu, lalat ini sering disebut sebagai lalat yang bukan merupakan vektor penyakit<sup>6</sup>.

Wasko<sup>5</sup> menunjukkan bahwa kitin yang diekstrak dari *H. illucens* mempunyai sifat fisikokimia yang berbeda dibandingkan dengan kitin lain yang pernah ditemukan sebelumnya. Dengan demikian, *H. illucens* ini merupakan sumber baru biopolimer kitin yang menarik untuk diteliti dan digunakan dalam berbagai aplikasi biokimia dan bioteknologi.

Kitin dapat diolah melalui proses deasetilasi untuk menghasilkan kitosan. Kitin merupakan homopolimer b (1→4) N-asetil-D-glukosamin<sup>7</sup>. Adapun kitosan diperoleh dengan cara membuang gugus asetil dari molekul kitin tersebut. Variasi kitosan dari berbagai organisme terletak pada kandungan gugus asetil pada kitosan. Derajat deasetilasi (DD) kitosan merupakan salah satu parameter penting yang menentukan karakteristik dan sifat fisikokimia dari kitosan<sup>8</sup>.

Kitin dan kitosan banyak digunakan dalam berbagai aplikasi, seperti kemasan makanan<sup>9</sup>, pertanian<sup>10</sup>, farmasi<sup>11</sup>, biomedis<sup>12</sup>, dan imobilisasi enzim<sup>13</sup>. Banyaknya bidang aplikasi tersebut disebabkan sifat fisikokimia kitin dan kitosan yang dipengaruhi oleh sumber organisme kitin dan kitosan tersebut. Oleh karena itu, penentuan sifat fisikokimia kitin dan kitosan dari berbagai sumber sangat diperlukan agar kitin dan kitosan yang diperoleh dapat digunakan untuk keperluan penelitian dan aplikasi lebih luas.

## Metode

### Alat

Pencitraan morfologi permukaan dilakukan dengan menggunakan mikroskop elektron JEOL-JSM-6510LA (Analytical/Analytical low vacuum SEM) dari Jepang. Adapun spektrum inframerah diukur dengan menggunakan Fourier Transform Infra Red (FTIR) Perkin Elmer dari USA.

### Bahan

Bahan-bahan kimia yang digunakan di antaranya kitin dan kitosan dari Merck, natrium hidroksida, asam klorida, kalium permanganat, asam oksalat dari Sigma-Aldrich.

### Prosedur Rinci

Penelitian ini merupakan serangkaian tahapan yang meliputi isolasi kitin dari lalat dewasa *H. illucens*, karakterisasi kitin, produksi kitosan, dan karakterisasi kitosan.

### A. Produksi *H. illucens*

Produksi *H. illucens* dilakukan melalui kerja sama dengan Sekolah Ilmu Teknologi Hayati (SITH) Institut Teknologi Bandung (ITB). Kandang untuk alat dewasa disimpan di Laboratorium Uji Toksikologi SITH ITB.

### B. Ekstraksi Kitin

Sampel alat dewasa *H. illucens* dicuci, dikeringkan hingga beratnya konstan, kemudian dihaluskan dengan menggunakan mesin penghalus. Sampel direfluks dalam larutan NaOH 1 M selama enam jam untuk menghilangkan protein. Hasilnya difiltrasi dan dicuci dengan menggunakan akua demineralisasi. Selanjutnya ditambahkan larutan HCl selama 36 jam pada temperatur ruang untuk menghilangkan kandungan mineral. Sampel difiltrasi dan dicuci kembali. Untuk menghilangkan pigmen yang terkandung, sampel direndam dalam larutan KMnO<sub>4</sub> 1% (w/v) selama 1 jam dan diikuti dengan larutan asam oksalat untuk membersihkan sisa-sisa KMnO<sub>4</sub>. Filtrasi dan pencucian dengan menggunakan akua demineralisasi dilakukan kembali. Kitin selanjutnya dikeringkan pada temperatur 60°C. Randemen kitin dihitung dengan menggunakan rumus berikut.

$$\% \text{ Randemen} = \frac{\text{massa kitin}}{\text{massa alat kering}} \times 100 \quad \dots(1)$$

### C. Deasetilasi Kitin

Kitosan diperoleh dari deasetilasi kitin melalui tahapan berikut. Kitin yang telah diperoleh sebelumnya dicampurkan dengan 50% (w/v) NaOH (15 mL/g) pada temperatur 100°C selama delapan jam. Campuran diaduk sesekali supaya homogen. Setelah difiltrasi, residu yang diperoleh dicuci dengan menggunakan akua demineralisasi panas beberapa kali hingga netral. Kitosan yang diperoleh dikeringkan pada 50°C selama 24 jam.

### D. Karakterisasi Kitin dan Kitosan dengan Spektroskopi Inframerah *Fourier-Transform (FTIR)*

Spektrum FTIR sampel dalam bentuk serbuk direkam. Kitin telah dikeringkan dalam oven pada temperatur 60°C selama 48 jam. Sampel uji disiapkan dengan menggunakan metode KBr-*disk*.

### E. Derajat Deasetilasi (DD) kitosan

Derajat deasetilasi kitosan dihitung berdasarkan spektrum IR dengan menggunakan rumus berikut.

$$\% \text{ DDA} = 100 - \left( \frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times \frac{100}{1,33} \right) \quad \dots(2)$$

### F. Pencitraan Kitin dan Kitosan dengan Mikroskop Elektron (SEM)

Pencitraan dengan mikroskop elektron (SEM) dilakukan pada voltase 20 kV yang diakselerasi. Morfologi permukaan kitin dan kitosan diuji pada perbesaran 5000x dan 10.000x. Sebelum diuji, sampel dicoating dengan emas (Au).

## Hasil

### *Persentase kitin*

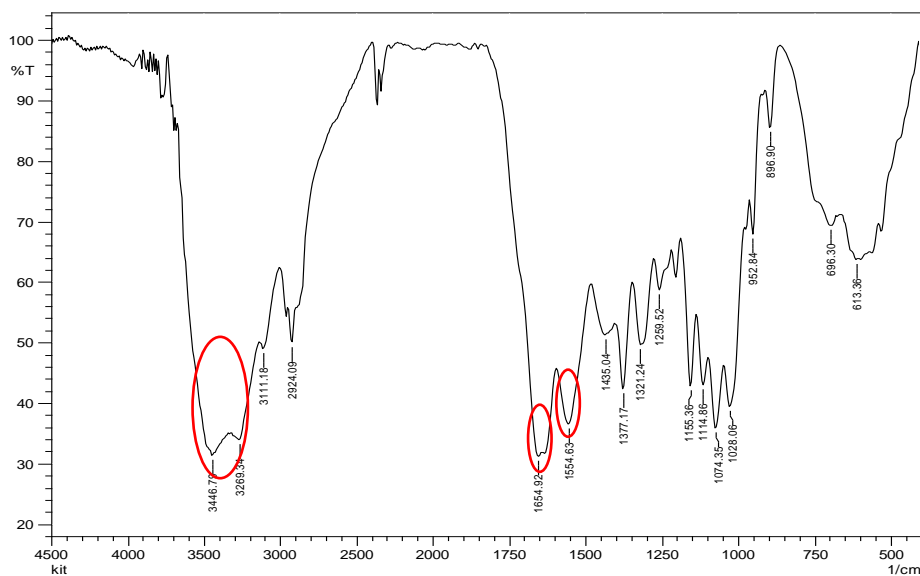
Isolasi kitin dari lalat dewasa *H. illucens* menghasilkan kitin sebanyak 17,93% (w/w) dari berat sampel total.

### *Karakterisasi kitin dan kitosan*

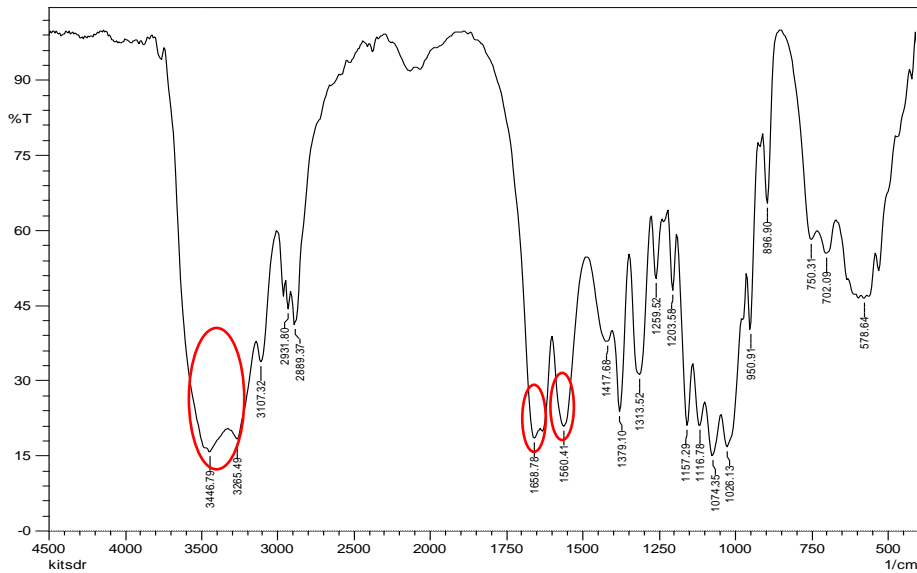
Kitin dan kitosan yang diperoleh dikarakterisasi dengan menggunakan spektroskopi infra merah (IR) dan mikroskop elektron (SEM). Derajat deasetilasi kitosan dapat dihitung berdasarkan spektrum IR yang diperoleh.

### *Spektrum IR kitin*

Spektroskopi IR digunakan untuk mengetahui gugus-gugus fungsi yang terdapat dalam kitin hasil isolasi.



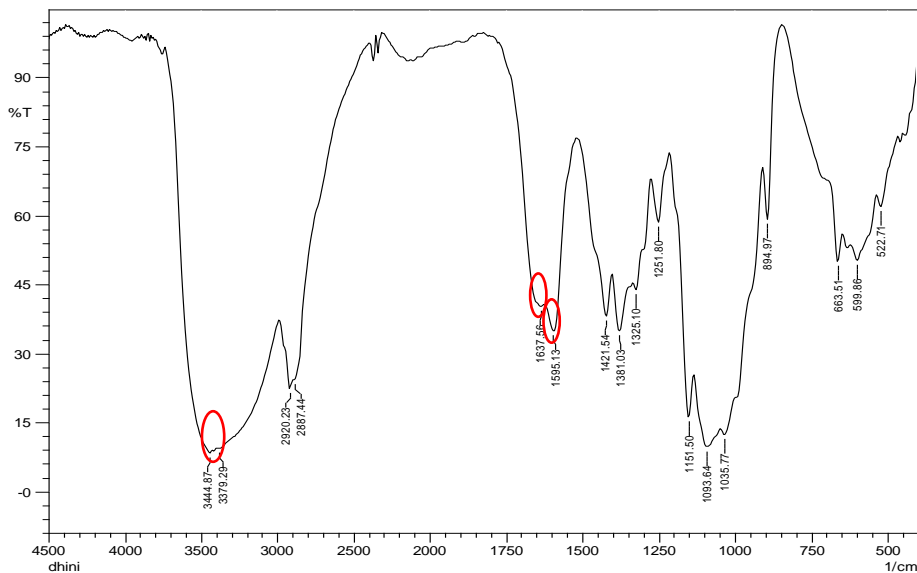
**Gambar 1.** Spektrum IR kitin hasil isolasi. Puncak khas kitin pada bilangan gelombang  $3270\text{ cm}^{-1}$ ,  $3111\text{ cm}^{-1}$ ,  $1655\text{ cm}^{-1}$ , dan  $1555\text{ cm}^{-1}$  ditandai dengan lingkaran merah.



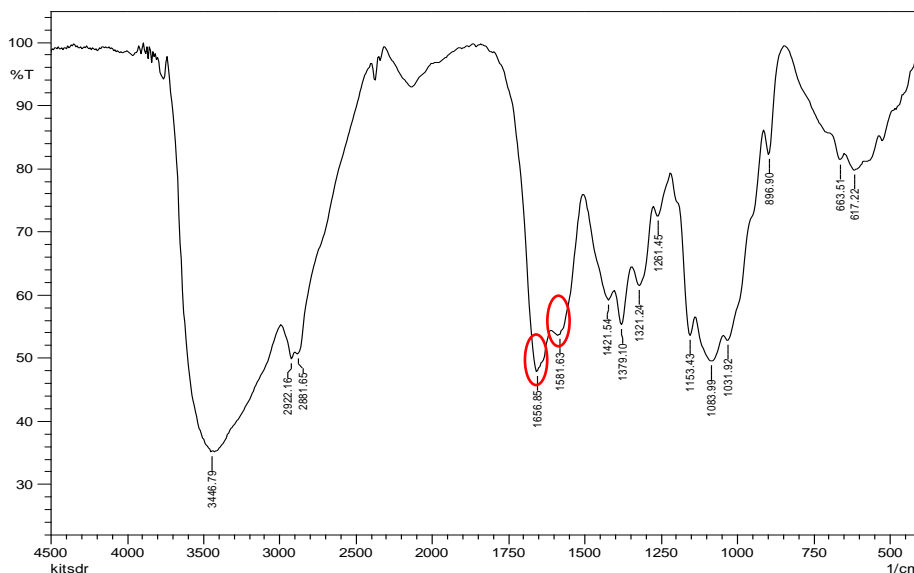
**Gambar 2.** Spektrum IR kitin standar. Puncak khas kitin pada bilangan gelombang  $3265\text{ cm}^{-1}$ ,  $3107\text{ cm}^{-1}$ ,  $1659\text{ cm}^{-1}$ , dan  $1560\text{ cm}^{-1}$  ditandai dengan lingkaran merah.

*Spektrum IR kitosan*

Spektroskopi IR digunakan juga untuk menganalisis gugus-gugus fungsi yang terdapat pada kitosan yang diperoleh.



**Gambar 3.** Spektrum IR kitosan hasil isolasi. Puncak khas kitosan pada bilangan gelombang  $3379\text{ cm}^{-1}$ ,  $1638\text{ cm}^{-1}$ , dan  $1595\text{ cm}^{-1}$  ditandai dengan lingkaran merah.



**Gambar 4.** Spektrum IR kitosan standar. Puncak khas kitosan pada bilangan gelombang  $1657\text{ cm}^{-1}$  dan  $1582\text{ cm}^{-1}$  ditandai dengan lingkaran merah.

*Derajat deasetilasi kitosan*

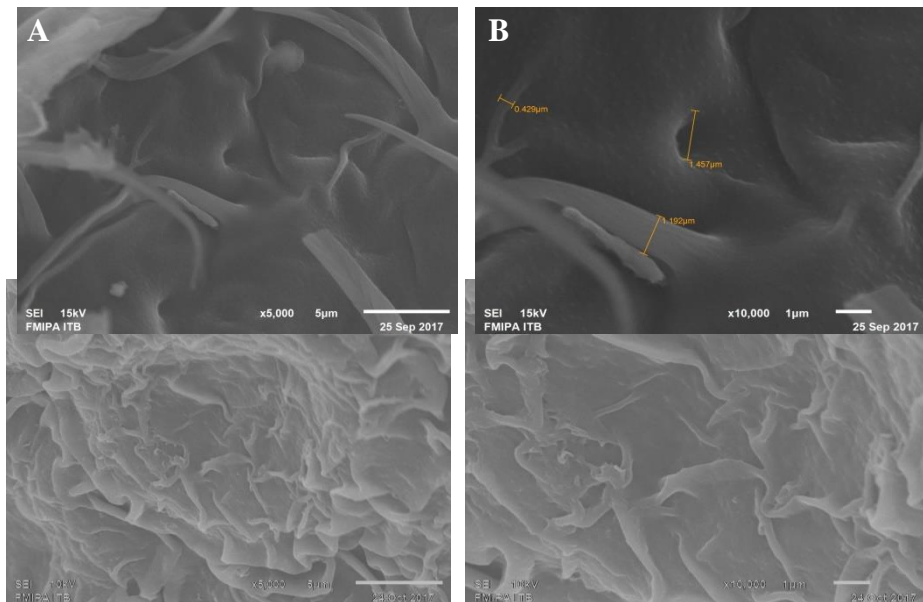
Berdasarkan spektrum IR masing-masing, diperoleh derajat deasetilasi (% DD) untuk kitosan hasil isolasi dan kitosan standar sebagai berikut.

**Tabel 1.** Derajat deasetilasi kitosan standar dan kitosan hasil isolasi

Sampel kitosan	% DD
Kitosan standar	78,70
Kitosan hasil ekstraksi	47,14
Kitosan hasil ekstraksi (deasetilasi ulang)	74,74

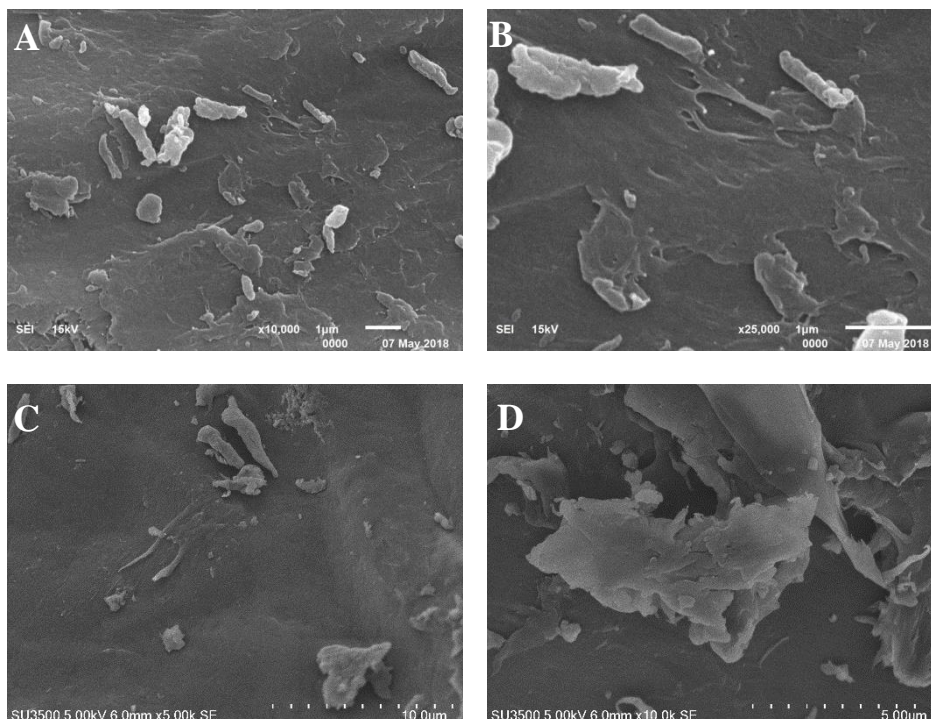
*Morfologi permukaan kitin dan kitosan*

Morfologi permukaan kitin dan kitosan dianalisis dengan menggunakan mikroskop elektron (SEM) pada perbesaran 5.000x dan 10.000x.



**Gambar 5.** Morfologi permukaan kitin hasil ekstraksi pada perbesaran 5.000x (A) dan 10.000x (B) dan morfologi permukaan kitosan hasil ekstraksi pada perbesaran 5.000x (C) dan 10.000x (D)

Berikut ini morfologi permukaan kitin dan kitosan standar (MERCK).



**Gambar 6.** Morfologi permukaan kitin standar pada perbesaran 10.000x (A) dan 25.000x (B) dan morfologi permukaan kitosan standar pada perbesaran 5.000x (A) dan 10.000x (B)



## Pembahasan

### *Persentase kitin*

Hasil isolasi kitin dari lalat dewasa *H. illucens* menghasilkan kitin sebanyak 17,93% (w/w) dari berat sampel total. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ulat sutera mengandung 20% kitin<sup>14</sup>, sedangkan lebah mengandung 10,3% kitin<sup>15</sup>. Adapun kitin dari udang dan hewan kelompok krustaseae mengandung 10% tergantung pada spesiesnya<sup>3</sup>. Pada penelitian ini, kitin diperoleh dengan persentase yang cukup baik dibandingkan dengan serangga lainnya. Walaupun masih cukup rendah jika dibandingkan dengan kitin dari hewan krustaseae, namun hasil ini menunjukkan bahwa *H. illucens* dapat menjadi sumber kitin alternatif yang menarik.

### *Spektrum IR kitin*

Spektrum IR yang diperoleh menunjukkan bahwa kitin hasil isolasi memiliki puncak pada bilangan-bilangan gelombang yang khas untuk kitin. Spektrum IR kitin hasil isolasi dibandingkan dengan spektrum IR kitin standar. Hasilnya menunjukkan bahwa kedua spektrum hampir sama. Artinya, kitin telah berhasil diisolasi dari lalat dewasa *H. illucens*. Pada **Gambar 3.1** dan **3.2** terlihat bahwa gugus-gugus fungsi yang khas untuk kitin berupa vibrasi ulur C=O, vibrasi regang C=O dan vibrasi tekuk N-H, serta vibrasi regang C-N ditunjukkan berturut-turut oleh puncak pada bilangan gelombang 1655 cm<sup>-1</sup>, 1630 cm<sup>-1</sup>, dan 1555 cm<sup>-1</sup> untuk kitin hasil isolasi dan pada 1659 cm<sup>-1</sup>, 1630 cm<sup>-1</sup>, dan 1560 cm<sup>-1</sup> untuk kitin standar. Puncak-puncak ini menunjukkan bahwa struktur kitin yang diperoleh berupa kitin alfa<sup>17</sup>.

### *Spektrum IR kitosan*

Spektrum IR kitosan yang diperoleh menunjukkan puncak untuk gugus-gugus fungsi yang khas untuk kitosan. Spektrum tersebut juga memiliki kemiripan dengan spektrum IR kitosan standar. Spektrum IR kitosan menunjukkan menurunnya intensitas puncak pada 1656 cm<sup>-1</sup> dan meningkatnya intensitas puncak pada 1590 cm<sup>-1</sup>. Hal ini menunjukkan bertambahnya gugus NH<sub>2</sub> karena proses deasetilasi<sup>14</sup>.

### *Derajat deasetilasi*

Derajat deasetilasi menunjukkan tingkat keberhasilan proses deasetilasi. Kitosan standar memiliki derajat deasetilasi sekitar 78,70%. Adapun kitosan hasil isolasi awalnya hanya memiliki derajat deasetilasi sekitar 47,14%, namun setelah dilakukan deasetilasi ulang, derajat deasetilasi meningkat hingga 74,74%. Kitosan dari udang memiliki derajat deasetilasi 74%, sedangkan kitosan dari lebah madu memiliki derajat deasetilasi 96%<sup>3</sup>. Artinya, kitosan yang dihasilkan sudah memiliki kualitas yang cukup baik untuk dapat digunakan pada tahap selanjutnya.

### *Morfologi permukaan kitin dan kitosan*

Hasil pencitraan dengan menggunakan mikroskop elektron (SEM) pada perbesaran 5.000x dan 10.000x menunjukkan bahwa morfologi permukaan kitosan lebih kasar dan lebih rapat daripada morfologi permukaan kitin. Pencitraan dengan menggunakan mikroskop elektron juga dilakukan pada kitin dan kitosan standar, yakni yang berasal dari kulit udang (MERCK). Jika dibandingkan dengan morfologi permukaan kitin dan kitosan hasil ekstraksi, morfologi permukaan kitin dan kitosan standar ini cukup berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan



sumber organisme yang digunakan untuk ekstraksi kitin dan kitosan mempengaruhi sifat dan karakteristik kitin dan kitosan yang diperoleh.

## Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa kitin dan kitosan telah berhasil diekstraksi dari lalat dewasa *H. illucens*. Randemen kitin yang diperoleh sebesar 17,93 (w/w) dari berat sampel total. Kitosan yang diperoleh dari hasil deasetilasi kitin memiliki derajat deasetilasi sebesar 74,74%. Morfologi permukaan kitosan lebih kasar dan lebih rapat daripada morfologi permukaan kitin.

## Daftar Pustaka

1. Erdogan S, Kaya M. High similarity in physicochemical properties of chitin and chitosan from nymphs and adults of a grasshopper. *Int J Biol Macromol* [serial online]. 2016;89(2016);118-26. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2016.04.059](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.04.059)
2. Kaya M, Baran T, Erdogan S, *et al.* Physicochemical comparison of chitin and chitosan obtained from larva and adult Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*). *Mater Sci Eng C* [serial online]. 2014;45(2014);72-81. DOI: [10.1016/j.msec.2014.09.004](https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.09.004)
3. Marei NH, El-Samie EA, Salah T, *et al.* Isolation and characterization of chitosan from different local insects in Egypt. *Int J Biol Macromol* [serial online]. 2016;82(2016);871-77. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2015.10.024](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.10.024)
4. Sjaifullah A, Santoso AB. Autolytic isolation of kitin from waste shrimp (*Penaeus vannamei*) waste. *Proc Chem* [serial online]. 2016;18(2016);49-52. DOI: [10.1016/j.proche.2016.01.009](https://doi.org/10.1016/j.proche.2016.01.009)
5. Wasko A, Bulak P, Berecka MP, *et al.* The first report of the physicochemical structure of kitin isolated from *Hermetia illucens*. *Int J Biol Macromol* [serial online]. 2016;92(2016);316-20. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2016.07.038](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.07.038)
6. Cickova H, Newton GL, Lacy RC, *et al.* The use of fly larvae for organic waste treatment. *Waste Manage* [serial online]. 2015;35(2015);68-80. DOI: [10.1016/j.wasman.2014.09.026](https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.09.026)
7. Austin PR, Brine CJ, Castle JE. Chitin: New facets of research. *Science* [serial online]. 1981;212(4496);749-53. DOI: [10.1126/science.7221561](https://doi.org/10.1126/science.7221561)
8. Kumari S, Rath PK. Extraction and characterization of chitin and chitosan from (Labeo rohita) fish scales. *Proc Mater Sci* [serial online]. 2014;6(2014);482-89. DOI: [10.1016/j.mspro.2014.07.062](https://doi.org/10.1016/j.mspro.2014.07.062)
9. Wang H, Qian J, Ding F. Emerging chitosan-based films for food packaging applications. *J Agric Food Chem* [serial online]. 2018;66(2);395-413. DOI: [10.1021/acs.jafc.7b04528](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04528)
10. Zeng D, Luo X, Tu R. Application of bioactive coatings based on chitosan for soybean seed protection. *Int J Carbohydr Chem* [serial online]. 2012;2012(104565);[5 p.]. DOI: [10.1155/2012/104565](https://doi.org/10.1155/2012/104565)

11. Dash M, Chiellini F, Ottenbrite RM, *et al.* Chitosan – a versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Prog Polym Sci* [serial online]. 2011;36(8);981-1014. DOI: [10.1016/j.progpolymsci.2011.02.001](https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.02.001)
12. Yang TL. Chitin-based materials in tissue engineering: applications in soft tissue and epithelial organ. *Int J Mol Sci* [serial online]. 2011;12(2011);1936-63. DOI: [10.3390/ijms12031936](https://doi.org/10.3390/ijms12031936)
13. Silva DF, Rosa H, Carvalho AFAC, *et al.* Immobilization of papain on chitin and chitosan and recycling of soluble enzyme for deflocculation of *Saccharomyces cerevisiae* from bioethanol distilleries. *Enzyme Res* [serial online]. 2015;2015;[10 p.]. DOI: [10.1155/2015/573721](https://doi.org/10.1155/2015/573721)
14. Paulino AT, Simionato JI, Garcia JC, *et al.* Characterization of kitosan and kitin produced from silkworm crysalides. *Carbohydr Polym* [serial online]. 2006;64(2006);98-103. DOI: [10.1016/j.carbpol.2005.10.032](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.10.032)
15. Kaya M, Sargin I, Al-jaf I, *et al.* Characteristic of corneal lens kitin in dragonfly compound eyes. *Int J Biol Macromol* [serial online]. 2016;89(2016);54-61. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2016.04.056](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.04.056)
16. Jang MK, Kong BG, Jeong YI, *et al.* Physicochemical characterization of  $\alpha$ -chitin,  $\beta$ -chitin, and  $\gamma$ -chitin separated from natural resources. *J of Polym Sci A Polym Chem* [serial online]. 2004;42(2004);3423-32. DOI: [10.1002/pola.20176](https://doi.org/10.1002/pola.20176)