

PENGARUH WAKTU DEASETILASI TERHADAP HASIL PREPARASI DAN KARAKTERISASI KITOSAN DARI LIMBAH TULANG SOTONG (*Sepiella inermis*)

Iin Lidia Putama Mursal¹, Lia Fikayuniar², Neni Sri Gunarti³, Sudrajat Sugiharta⁴, Rodiah Empon⁵

¹²³⁴⁵Universitas Buana Perjuangan Karawang, Indonesia

Corresponding author: iin.lidia@ubpkarawang.ac.id

ABSTRAK

Tulang sotong (*Sepiella inermis*) berpotensi sebagai sumber kitosan. Kitosan merupakan polimer alami yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang salah satunya farmasi. Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis kitosan dari limbah tulang sotong serta mempelajari pengaruh variasi waktu deasetilasi terhadap nilai rendemen, kadar air, kadar abu dan derajat deasetilasi. Untuk mensintesis kitosan dilakukan sintesis kitin terlebih dahulu dengan dua proses yaitu : demineralisasi dan deproteinisasi. Selanjutnya untuk sintesis kitosan ada pada proses deasetilasi menggunakan NaOH 60 % dengan perbandingan antara sampel dan pelarut yaitu 1:10 (b/v) dan variasi waktu deasetilasi yaitu 4 jam, 6 jam dan 8 jam. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nilai rendemen, kadar air, kadar abu dan derajat deasetilasi telah memenuhi persyaratan standar mutu kitosan dan nilai yang diperoleh menurun dikarenakan bertambahnya waktu deasetilasi namun untuk kadar air, tidak dipengaruhi oleh waktu deasetilasi, dan juga tulang sotong ini berpotensi untuk dijadikan bahan untuk membuat kitosan, hal ini didasarkan pada hasil FTIR karena memiliki gugus -OH, gugus -NH, serta tidak munculnya gugus C=O dari gugus amida yang merupakan karakteristik dari terbentuknya kitosan.

Kata Kunci : tulang sotong, kitosan, waktu deasetilasi, karakteristik, kualitas

ABSTRACT

Cuttlefish bone (Sepiella inermis) have potential as a resource of chitosan. Chitosan is a natural polymer that can be utilized in various fields including pharmaceuticals. This research aims to synthesis chitosan from cuttlefish bone waste as well as study the influence of deacetylation time variations on the value of the yield, water content, ash content, and degrees of deacetylation. Before, synthesis of chitosan is a synthesis of chitin first with two processes: demineralization and deproteinization. Furthermore, the synthesis of chitosan is at the deacetylation process using NaOH 60% with a comparison between samples and solvents of 1:10 (b/v) and variations in deacetylation time of 4 hours, 6 hours, and 8 hours. The results of this study show that the value of the yield, water content, ash content, and degrees of deacetylation have met the requirements of the quality standards of chitosan and the value obtained decreases due to the increasing time of deacetylation but for water content, is not affected by the time of deacetylation, and also the cuttlefish bone has the potential to be used as an ingredient to make chitosan, this is based on the results of FTIR because it has a functional group -OH, the functional group -NH, and not the appearance of C=O functional group from the amide group which is characteristic of chitosan.

Keywords : cuttlefish bone, chitosan, deacetylation time, characteristics, quality

PENDAHULUAN

Sebagai negara maritim, Indonesia memiliki sumber daya kelautan berlimpah. Indonesia juga terkenal sebagai negara kepulauan terbesar di dunia, dengan potensi sumber daya laut dan pesisir yang sangat menjanjikan (Badan Pusat Statistik Indonesia, 2018). Salah satu potensi sumber daya laut yang sangat menjanjikan ialah komoditi perikanan. Komoditi perikanan yang dimaksud tidak hanya jenis ikan, namun biota laut lain seperti kelompok cephalopoda salah satunya sotong. Sotong biasa dijadikan panganan atau *seafood* (Dewi *et al.*, 2015). Bagian sotong yang pada umumnya dikonsumsi adalah hanya bagian dagingnya saja, sedangkan tulangnya tidak dimanfaatkan sehingga hanya menjadi limbah. (Siregar *et al.*, 2016). Menurut penelitian (Siregar *et al.*, 2016) tulang sotong dapat dijadikan bahan untuk membuat kitin dan kitosan.

Kitosan adalah jenis polimer alami yang dihasilkan dari proses deasetilasi kitin (Dounighi *et al.*, 2012). Tetapi kitosan mempunyai kereaktifan kimia yang lebih tinggi dibandingkan kitin sehingga kitosan lebih banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang industri terapan dan kesehatan (Azhar *et al.*, 2010). Hal ini karena kitosan itu sendiri bersifat *biodegradable* (terurai secara hayati), biokompatibel (polimer alami sifatnya tidak mempunyai akibat samping), non-toksik (tidak beracun) dan sebagai adsorben (Dutta *et al.*, 2004). Menurut (Berger *et al.*, 2004) kitosan dapat diterapkan dalam bidang industri modern, misalnya farmasi, biokimia, kosmetik, industri pangan dan

industri tekstil. Dalam bidang farmasi kitosan dapat dimanfaatkan untuk membantu dalam sistem penghantaran obat (Rostami, 2020), antibakteri (Nurainy *et al.*, 2008), antioksidan (Aprilia, 2015), dan antifungi (Nur & Dewi, 2018).

Kitosan dapat disintesis melalui tiga tahap yaitu demineralisasi, deproteinasi dan deasetilasi. Pada tahap deasetilasi sangat menentukan mutu kitosan dan juga karakteristik kitosan yang dihasilkan. Derajat deasetilasi merupakan salah satu karakteristik dari produk kitosan yang dapat mempengaruhi sifat kimia dan kegunaannya. Pada penelitian (Agustina *et al.*, 2015) yang mengisolasi kitin dan kitosan dari kulit udang menggunakan suhu deasetilasi 100-110⁰C dan waktu selama 4 jam mendapatkan nilai derajat deasetilasi 84,85%. Sedangkan penelitian (Dompeipen *et al.*, 2016) mengenai isolasi kitin dan kitosan dari kulit udang dengan suhu deasetilasi 80-100⁰C selama 1 jam mendapat nilai derajat deasetilasi 83,25%. Berdasarkan latar belakang, maka penelitian ini bertujuan untuk melakukan sintesis kitosan dari limbah tulang sotong dengan memvariasikan waktu deasetilasinya untuk mendapatkan mutu kitosan sesuai yang diinginkan.

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Tulang sotong, HCl (pro analisis), NaOH (pro analisis), asam asetat glasial, aquades, kertas saring whatmann no.42, aluminium foil.

Peralatan Penelitian

Mortir dan stemper, corong, gelas kimia, pipet volume dan pipet filler, gelas ukur, labu ukur,

kaca arloji, termometer, batang pengaduk, spatula, kurs porselen, desikator, *hotplate stirrer*, neraca analitik, lemari asam dan basa, ayakan no.80, kertas pH universal, oven, *furnace*, dan *Fourier Transform Infra-Red Spectrophotometer (FTIR)*.

Prosedur Penelitian

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian yaitu tulang sotong yang diperoleh dari pengepul biota laut yang ada di pasar Cikampek, Karawang. Tulang sotong yang telah kering dihaluskan, kemudian diayak dengan menggunakan ayakan 80 Mesh. Bahan berupa serbuk yang telah lolos ayakan maka siap untuk disintesis lebih lanjut menjadi kitosan. Proses sintesis bahan menjadi kitosan dilakukan melalui tiga tahap yaitu tahap demineralisasi, tahap deproteinisasi, dan tahap deasetilasi. Tahap demineralisasi : serbuk tulang sotong dan larutan HCl 1,5 M dicampur dalam gelas kimia kemudian direndam selama 72 jam, setelah itu dipanaskan pada suhu 60°C selama 4 jam sambil dilakukan pengadukan menggunakan *hotplate stirrer* dengan kecepatan pengadukan 100 rpm. Selanjutnya tahap deproteinisasi : serbuk tulang sotong hasil demineralisasi ditambahi larutan NaOH 3,5% dengan perbandingan 1:10 (b/v) antara sampel dan pelarut. Campuran dimasukkan ke dalam gelas kimia, dipanaskan pada suhu 60°C selama 4 jam sambil dilakukan pengadukan menggunakan *hotplate stirrer* dengan kecepatan pengadukan 100 rpm. Tahap deasetilasi : hasil yang diperoleh dari proses deproteinisasi (kitin) dilanjutkan dengan proses deasetilasi dengan menambahkan NaOH 60% dengan

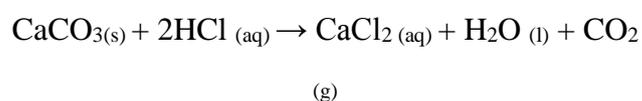
perbandingan 1:10 (b/v). Campuran diaduk menggunakan *hotplate stirrer* dengan kecepatan pengadukan 300 rpm dan dipanaskan pada suhu 80°C dengan variasi waktu pengadukan yaitu 4 jam, 6 jam, dan 8 jam. Pada setiap tahap setelah pengadukan, residu dicuci dengan aquades dan disaring hingga pH netral. Residu yang sudah netral dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C hingga berat konstan.

Kitosan yang telah terbentuk kemudian diidentifikasi menggunakan FTIR dan selanjutnya karakterisasi kitosan diamati yang meliputi : rendemen, kadar air, kadar abu, kelarutan dan derajat deasetilasi.

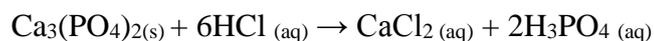
PEMBAHASAN

Demineralisasi

Proses demineralisasi bertujuan untuk menghilangkan mineral atau garam-garam anorganik yang terdapat pada tulang sotong. Tulang sotong diketahui memiliki unsur anorganik mencapai 85% yang sebagian besarnya merupakan kalsium karbonat (A. J. Tony Hendry dalam Bella, 2016). Kandungan mineral utamanya adalah CaCO₃ (kalsium karbonat) dan Ca₃(PO₄)₂ (kalsium fosfat) dalam jumlah kecil. Proses pemisahan mineral ditunjukkan dengan terbentuknya gas CO₂ berupa gelembung udara pada saat larutan HCl ditambahkan dalam sampel (Agustina *et al.*, 2015). Reaksi yang terjadi sebagai berikut :



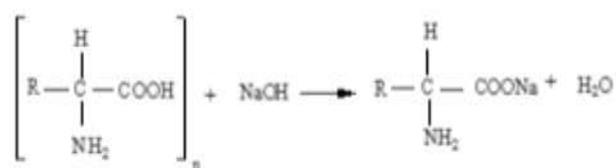
Dan reaksi Ca₃(PO₄)_{2 (s)} dengan HCl sebagai berikut :



Residu yang diperoleh dari hasil demineralisasi ini adalah serbuk berwarna coklat muda dan disebut sebagai *crude* kitin

Deproteinisasi

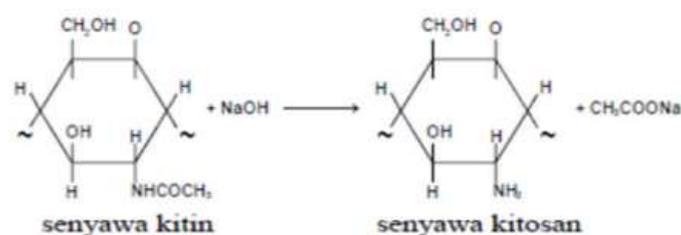
Proses ini bertujuan untuk memisahkan ikatan-ikatan protein dari kitin dengan cara menambahkan NaOH (natrium hidroksida). Hasil pemanasan dalam larutan NaOH menghasilkan larutan yang sedikit mengental dan berwarna kemerahan, hal tersebut menunjukkan bahwa telah terjadi pemisahan ikatan protein yang terdapat dalam *crude* kitin. Hal tersebut sesuai dengan penelitian (Nurmala *et al.*, 2018; Tobing *et al.*, 2011) dimana dalam proses deproteinisasi larutan akan menjadi mengental dan berwarna kemerahan sebagai bukti bahwa protein dalam *crude* kitin terlepas dan berikatan dengan ion Na^+ dalam larutan membentuk natrium proteinat. Residu yang diperoleh dari tahap deproteinisasi ini yaitu berupa serbuk berwarna putih kecoklatan dan merupakan kitin yang digunakan untuk tahap deasetilasi. Rendemen kitin yang didapat setelah melewati 2 tahap yaitu demineralisasi dan deproteinisasi sebesar 19,40%.



Gambar 1 Reaksi Deproteinisasi

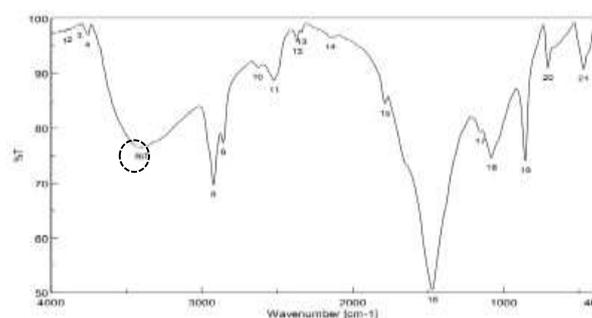
Deasetilasi

Tahap deasetilasi ini merupakan tahap perubahan kitin menjadi kitosan atau proses penghilangan gugus asetil (-COCH₃) dari kitin agar berubah menjadi gugus amina (-NH₂). Proses deasetilasi dalam basa kuat dan panas menyebabkan hilangnya gugus asetil pada kitin mengakibatkan kitosan bermuatan positif sehingga dapat larut dalam asam organik seperti asam asetat ataupun asam formiat. Reaksi pembentukan kitosan dari kitin merupakan reaksi hidrolisis suatu amida oleh suatu basa. Kitin bertindak sebagai amida dan NaOH sebagai basanya. Mula-mula terjadi reaksi adisi, pada proses ini gugus -OH⁻ masuk ke dalam gugus NHCOCH₃ kemudian terjadi eliminasi gugus CH₃COO⁻ sehingga dihasilkan suatu amina yaitu kitosan (Agustina *et al.*, 2015). Kitosan yang dihasilkan dari tahap deasetilasi pada penelitian ini berupa serbuk berwarna putih kecoklatan.



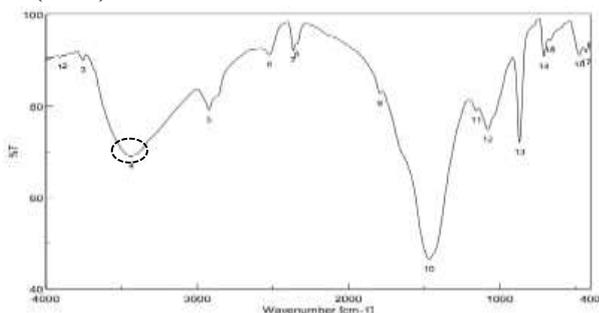
Gambar 2 Reaksi Deasetilasi

Identifikasi Senyawa Kitosan



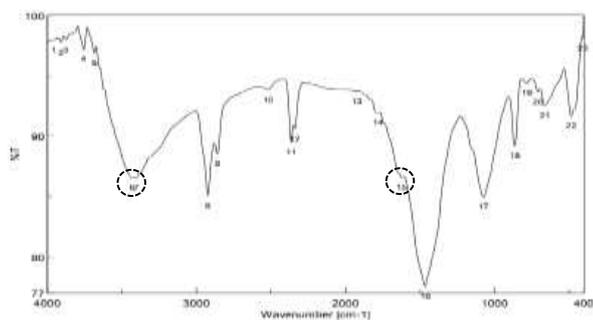
Gambar 3 Kitosan Deasetilasi 4 jam

Pada gambar 3 menunjukkan bahwa pada spektra kitosan waktu deasetilasi 4 jam terlihat adanya serapan vibrasi -OH (hidroksi) pada bilangan gelombang 3424.96 cm^{-1} (no.5), 3401.82 cm^{-1} (no.6), dan 3370.96 cm^{-1} (no.7) serta vibrasi ulur -NH (amin primer) pada bilangan 3370.96 cm^{-1} (no.7).



Gambar 4 Kitosan Deasetilasi 6 jam

Pada gambar 4 menunjukkan bahwa pada spektra kitosan waktu deasetilasi 6 jam terlihat adanya serapan vibrasi untuk gugus -OH (hidroksi) serta vibrasi ulur gugus -NH (amin primer) pada bilangan gelombang 3432.67 cm^{-1} (no.4)



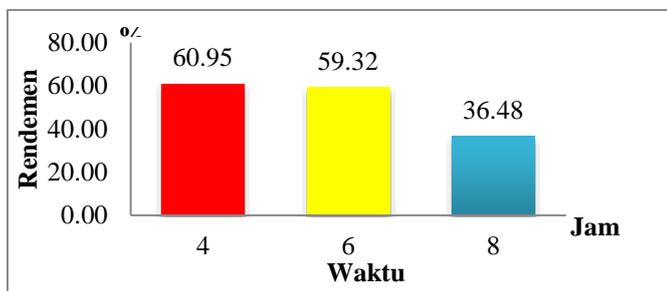
Gambar 5 Kitosan Deasetilasi 8 jam

Pada gambar 5 menunjukkan bahwa pada spektra kitosan waktu deasetilasi 8 jam terlihat adanya serapan vibrasi untuk gugus -OH (hidroksi)

serta vibrasi ulur gugus -NH (amin primer) pada bilangan gelombang 3428.81 cm^{-1} (no.6), dan 3401.82 cm^{-1} (no.7), serapan lainnya yaitu vibrasi tekuk gugus -NH (amin primer) pada bilangan gelombang 1623.77 cm^{-1} (no.15).

Dari ketiga hasil spektra menunjukkan terdapat lebarnya serapan dan pergeseran bilangan gelombang gugus -OH yang disebabkan adanya tumpang tindih dengan gugus (-NH) dari amina. Menurut teori, pita serapan untuk gugus hidroksil (-OH) dan amin primer (-NH₂) berada di daerah $3000-3750\text{ cm}^{-1}$ (Agusnar, 2007; Masindi & Herdyastuti, 2017). Selain itu, tidak munculnya serapan pada bilangan gelombang $1670-1640\text{ cm}^{-1}$ yaitu serapan dari amida (C=O ulur) juga menandakan bahwa telah hilangnya gugus asetil dari kitosan atau telah terjadinya proses deasetilasi. Pernyataan ini didukung penelitian yang dilakukan (Fadli, Drastinawati, Alexander, & Huda, 2017) dimana perbedaan yang terjadi setelah tahap deasetilasi adalah tidak munculnya vibrasi gugus C=O ulur dari gugus amida (-NHCO) pada 1680 cm^{-1} . Berdasarkan analisis gugus fungsi diatas, ternyata pada ketiga hasil spektra kitosan, menunjukkan munculnya serapan-serapan karakteristik dari kitosan. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa pada penelitian ini kitosan benar telah terbentuk.

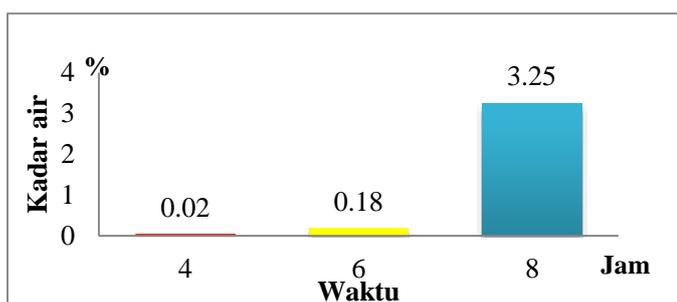
Rendemen



Gambar 6 Rendemen Kitosan

Berdasarkan gambar 6 nilai rendemen mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya waktu deasetilasi. Hal ini sejalan dengan pernyataan (Setha & Rumata, 2019) bahwa rendemen kitosan mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya suhu dan waktu deasetilasi. Kecilnya rendemen kemungkinan karena pencucian dan penetralan yang berulang kali serta endapan atau residu yang dihasilkan sangat halus dan mudah terbawa saat pembuangan larutan.

Kadar Air

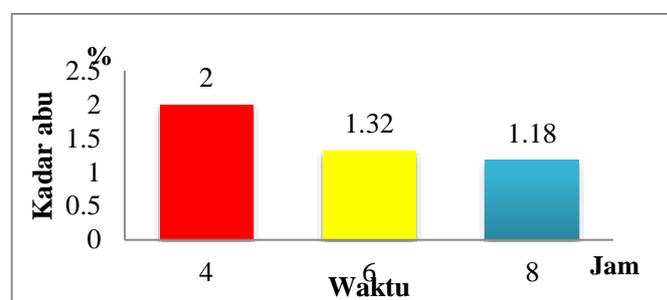


Gambar 7 Kadar Air Kitosan

Pada gambar 7 hasil tersebut memenuhi standar mutu dari *Protan Laboratory* untuk kadar air kitosan adalah $\leq 10\%$. Meskipun pada hasil penelitian ini semakin lama waktu deasetilasi semakin besar kadar airnya, tetapi kadar air kitosan tidak dipengaruhi oleh jumlah bahan, rasio bahan, dan waktu proses tetapi dipengaruhi oleh waktu

pengeringan yang dilakukan terhadap kitosan (Zahiruddin *et al.*, 2008). (Saleh *et al.*, 1994 dalam Suptijah *et al.*, 2011) juga menyatakan kadar air yang terkandung pada kitosan dipengaruhi oleh proses pengeringan, lama pengeringan yang dilakukan, jumlah kitosan yang dikeringkan dan luas permukaan tempat kitosan dikeringkan.

Kadar Abu



Gambar 8 Kadar Abu Kitosan

Berdasarkan gambar 8 kadar abu kitosan pada masing-masing waktu deasetilasi telah memenuhi standar mutu yang ditetapkan oleh *Protan Laboratory* yaitu $\leq 2\%$ dan juga terlihat bahwa kadar abu semakin menurun dikarenakan oleh semakin lama waktu deasetilasi maka semakin banyak mineral dalam kitosan yang larut dalam larutan NaOH (Siregar *et al.*, 2016).

Kelarutan

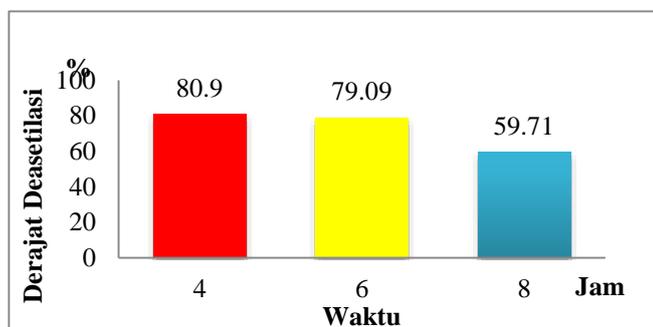


Gambar 9 Kelarutan Kitosan

Dalam penelitian ini kitosan dilarutkan dalam asam asetat dengan konsentrasi 2% dengan

perbandingan 1:100 (b/v), masing –masing kitosan dengan waktu deasetilasi yang berbeda hasilnya adalah semua larut dalam asam asetat 2%. Kelarutan diamati dengan membandingkan kejernihan larutan kitosan dengan kejernihan pelarutnya (Agustina *et al.*, 2015). Adanya gugus karboksil dalam asam asetat akan memudahkan pelarutan kitosan karena terjadinya interaksi hidrogen antara gugus karboksil (-COOH) dengan gugus amina (-NH₂) dari kitosan. Kelarutan kitosan dalam larutan asam asetat dipengaruhi oleh suhu dan lamanya perendaman dalam larutan NaOH (Rochima, 2007).

Derajat Deasetilasi (DD)



Gambar 10 Derajat Deasetilasi Kitosan

Standar mutu derajat deasetilasi menurut *Protan Laboratory* adalah $\geq 70\%$ (Masindi & Herdyastuti, 2017). Sedangkan menurut (Muzzareli, 1985 dalam Ihsani & Widyastuti, 2015) kadar minimal derajat deasetilasi, supaya dikategorikan kitosan secara umum ialah di atas 50% dan idealnya 80-100%. Berdasarkan gambar 4.18 derajat deasetilasi paling terbesar yaitu kitosan dengan waktu deasetilasi 4 jam sebesar 80,9%, sedangkan kitosan deasetilasi 6 jam sebesar 79,09%, dan paling terkecil yaitu kitosan

deasetilasi 8 jam sebesar 59,71%. Kitosan deasetilasi 4 jam dan 6 jam telah memenuhi persyaratan standar mutu *Protan Laboratory*, sedangkan kitosan deasetilasi 8 jam belum memenuhi standar mutu *Protan Laboratory* tetapi sudah dikategorikan sebagai kitosan. Lamanya waktu juga menyebabkan terjadinya degradasi kitosan, sehingga lamanya waktu proses tidak begitu berpengaruh terhadap derajat deasetilasi (Rokhati, 2006). Dari nilai derajat deasetilasi yang didapat pada penelitian ini waktu deasetilasi menghasilkan derajat deasetilasi yang bervariasi. Naik turunnya % Derajat Deasetilasi (DD) seiring dengan perubahan waktu menandakan bahwa deasetilasi dan degradasi kitosan berlangsung secara bersamaan.

PENUTUP

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa : Nilai rendemen, kadar abu, dan derajat deasetilasi yang diperoleh menurun dengan bertambahnya waktu deasetilasi. Sedangkan nilai kadar air yang diperoleh tidak dipengaruhi oleh waktu deasetilasi. Limbah tulang sotong berpotensi dijadikan sebagai bahan baku kitosan dibuktikan dengan analisis gugus fungsi menggunakan FTIR dimana pada ketiga variasi waktu deasetilasi telah terbentuk karakterisasi serapan kitosan yaitu adanya vibrasi serapan gugus –OH (hidroksi), vibrasi ulur gugus –NH (amin primer) dan tidak munculnya vibrasi serapan gugus C=O ulur dari gugus amida (-NHCO). Serta

memiliki karakteristik kitosan yang sudah memenuhi standar mutu kitosan.

Saran

Kitosan yang diperoleh dalam penelitian ini sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut seperti dilakukan pengujian lain seperti uji viskositas, kadar nitrogen, dan kadar logam. Serta untuk meningkatkan kualitas permukaan kitosan, dapat dimodifikasi ukurannya dalam skala nanometer.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusnar, H. 2007. Penggunaan Kitosan dari Tulang Rawan Cumi-Cumi (*Loligo pealli*) untuk Menurunkan Kadar Ion Logam Cd dengan Menggunakan Spektrofotometri Serapan Atom. *Jurnal Sains Kimia* 11(1): 15–20.
- Agustina, S., Swantara, I. M. D., & Suartha, I. N. 2015. Isolasi Kitin, Karakterisasi, dan Sintesis Kitosan dari Kulit Udang. *Jurnal Kimia* 9(2): 271–278.
- Aprilia, D. 2015. Potensi Kitosan sebagai Agen Antioksidatif pada Hepar yang Diinduksi Plumbum. *Majority* 4: 85–88.
- Azhar, M., Efendi, J., Syofyeni, E., Lesi, R. M., & Novalina, S. 2010. Pengaruh Konsentrasi NaOH dan KOH Terhadap Derajat Deasetilasi Kitin dari Limbah Kulit Udang. *EKSAKTA* 1: 1–8.
- Badan Pusat Statistik Indonesia. 2018. *Statistik Sumber Daya Laut dan Pesisir 2018*. Badan Pusat Statistik Indonesia. Jakarta
- Bella, A. 2016. Pembuatan PCC (Precipitated Calcium Carbonate) dari Limbah Cangkang Sotong dengan Variasi Konsentrasi Penambahan HNO₃. *Laporan Akhir*. Pendidikan Diploma III Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Sriwijaya. Palembang
- Berger, J., Reist, M., Mayer, J. M., Felt, O., Peppas, N. A., & Gurny, R. 2004. Structure and Interactions in Covalently and Ionically Crosslinked Chitosan Hydrogels for Biomedical Applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 57: 19–34.
- Dompeipen, E. J., Kaimudin, M., & Dewa, R. P. 2016. Isolasi Kitin dan Kitosan dari Limbah Kulit Udang. *Majalah Biam* 12(01): 32–38.
- Dounighi, M., Eskandari, Avadi, Zolfagharian, Sadeghi, M. M., & Rezayat, M. 2012. Preparation and in Vitro Characterization of Chitosan Nanoparticles Containing Mesobuthus Eupeus Scorpion Venom as an Antigen Delivery System. *The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases* 18(1): 44–52.
- Dutta, P. K., Duta, J., & Tripathi, V. S. (2004). Chitin and Chitosan: Chemistry, Properties and Applications. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 63, 20–31. Retrieved from <http://nopr.niscair.res.in/handle/123456789/5397>
- Dutta, P. K., Duta, J., & Tripathi, V. S. 2004. Chitin and Chitosan: Chemistry, Properties and Applications. *Journal of Scientific and*

- Industrial Research* 63: 20–31.
- Ihsani, S. L., & Widyastuti, C. R. 2015. Sintesis Biokoagulan Berbasis Kitosan dari Kulit Udang untuk Pengolahan Air Sungai yang Tercemar Limbah Industri Jamu dengan Kandungan Padatan Tersuspensi Tinggi. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan* 4(2): 66–70.
- Masindi, T., & Herdyastuti, N. 2017. Karakterisasi Kitosan dari Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*). *Journal of Chemistry* 6(3): 137–142.
- Nur, R. M., & Dewi, R. 2018. Uji Aktivitas Antifungi Kitosan terhadap *Aspergillus flavus*. *Seminar Nasional Pendidikan Biologi Kepulauan*. UNIPAS Morotai: 47–51.
- Nurainy, F., Rizal, S., & Yudiantoro. 2008. Pengaruh Konsentrasi Kitosan terhadap Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Agar (Sumur). *Jurnal Teknologi Industri Dan Hasil Pertanian* 13(2): 117–125.
- Nurmala, A. N., Budi Susatyo, E., & Mahatmanti, F. W. 2018. Sintesis Kitosan dari Cangkang Rajungan Terkomposit Lilin Lebah dan Aplikasinya sebagai Edible Coating pada Buah Stroberi. *Indonesian Journal of Chemical Science* 7(3): 278–284.
- Rochima, E. 2007. Karakterisasi Kitin Dan Kitosan Asal Limbah Rajungan Cirebon Jawa Barat. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan* 10(1): 9–22.
- Rokhati, N. 2006. Pengaruh Derajat Deasetilasi Khitosan dari Kulit Udang terhadap Aplikasinya sebagai Pengawet Makanan. *Reaktor* 10(2): 54–58.
- Rostami, E. 2020. Progresses in Targeted Drug Delivery Systems Using Chitosan Nanoparticles in Cancer Therapy: A Mini-Review. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 58: 4–19.
- Setha, B., & Rumata, F. 2019. Karakteristik Kitosan dari Kulit Udang Vaname dengan Menggunakan Suhu dan Waktu yang Berbeda dalam Proses Deasetilasi. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 22(3): 498–507.
- Siregar, E. C., Suryati, & Hakim, L. 2016. Pengaruh Suhu dan Waktu Reaksi pada Pembuatan Kitosan dari Tulang Sotong (*Sepia officinalis*). *Jurnal Teknologi Kimia Unimal* 5(2): 37–44.
- Suptijah, P., Jacoeb, A. M., & Rachmania, D. 2011. Karakterisasi Nano Kitosan Cangkang Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) dengan Metode Gelasi Ionik. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia XIV*(2): 78–84.
- Tobing, M. T. L., Prasetya, N. B. A., & Khabibi. 2011. Peningkatan Derajat Deasetilasi Kitosan dari Cangkang Rajungan dengan Variasi Konsentrasi NaOH dan Lama Perendaman. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi* 14(3): 83–88.