

PREPARASI DAN KARAKTERISASI KITIN DARI KULIT UDANG PUTIH (*Litopenaeus vannamei*)

Mardiyah Kurniasih, Dian Windy Dwiasi

Program Studi Kimia, Jurusan MIPA, Fakultas Sains dan Teknik, UNSOED, Purwokerto

ABSTRACT

Chitin is one of the most abundant natural polysaccharides produced by many living organisms; it is usually found as a component of crustacean shells. In this paper, Chitin have been isolated from white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). The preparation of chitin using chemical products to deproteinize and demineralize the source material. Characterization included determination of water, ash, fat and protein degree; moreover chitin powder characterize with FTIR and XRD spectroscopy. The result showed that process efficiency of chitin from white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) was 20.95%, with degree of water, ash, fat and protein were 5.39, 2.66, 1.54 and 36.16%, respectively.

Keyword : chitin, white shrimp (*Litopenaeus vannamei*), characterisation.

PENDAHULUAN

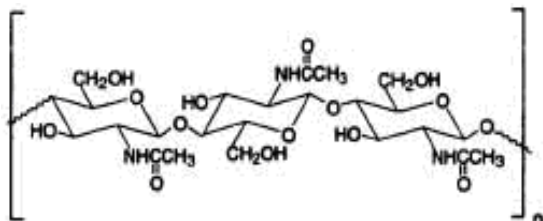
Kitin merupakan biopolimer terbanyak ke-dua di alam setelah selulosa dan dapat ditemukan sebagai komponen kerangka *crustaceae* (binatang berkulit keras) seperti udang, kepiting, rajungan, dan cumi-cumi (Shepherd *et al.*, 1997; Khan *et al.*, 2002). Kulit *crustaceae* mengandung 14-35% kitin. Menurut Rege dan Lawrence (1999) serta Jaworska, *et al.* (2003) selain *crustaceae*, kitin juga dapat ditemukan dalam kerang (*mollusca*), serangga (*insects*) dan jamur (*fungi*). Kitin merupakan zat yang banyak berguna bagi kehidupan manusia dan menjadi sorotan para peneliti juga pengusaha untuk mengembangkan produksinya dalam skala industri.

Limbah padat *crustaceae* (kulit, kepala, kaki) merupakan salah satu masalah yang harus dihadapi oleh pabrik pengolahan *crustacea*. Limbah tersebut selama ini dikeringkan dan dimanfaatkan sebagai pakan atau pupuk dengan nilai yang rendah. Mengolah limbah menjadi kitin akan memberikan nilai tambah yang cukup tinggi. Kandungan kitin pada limbah kepiting mencapai 50-60%, sementara limbah udang menghasilkan 25-30% (Gildberg dan Stenberg, 2001)

sedangkan cumi-cumi dan kerang, masing-masing 40% dan 14-35%. Namun karena bahan baku yang mudah diperoleh adalah udang, maka proses kitin dan kitosan biasanya lebih memanfaatkan limbah udang (Anonim, 2007). Hal ini menjadi peluang bagi Indonesia yang merupakan salah satu negara pengekspor udang. Sebaran ketersediaan kulit udang di Indonesia mencakup pantura Jawa, Sumatera Utara, Lampung, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tenggara, Sulawesi Tengah, dan Kalimantan Timur dengan volume ekspor udang (kupas dan tanpa kepala) sekitar 90 ribu ton setiap tahunnya, maka potensi menghasilkan kulit sebagai limbah cukup besar (Anonim, 2006), di mana limbah tersebut dapat diolah menjadi kitin.

Kitin merupakan polimer alami yang pada setiap pengulangan unit polimernya mempunyai gugus N-asetil yang terikat pada atom C2. Kitin tersusun dari monomer-monomer asetil glukosamin yang saling berikatan dengan ikatan (1-4) β -glikosidik. Nama lain dari kitin adalah β -(1,4)-2-asetamida-2-deoksi-D-glukosa atau β -(1,4)-N-asetilglukosamin yang strukturnya tersaji pada Gambar 1.

Kitin tidak larut dalam air, alkohol serta asam dan alkali encer, tapi larut dalam asam-asam kuat, fluoroalkohol dan N-N-dimetilasetamida dalam litium klorida (Suhardi, 1992; Gagné, 1993). Sifat-sifat kitin seperti kelarutan, berat molekul dan kelengkapan gugus asetil berbeda-beda tergantung sumber kitin dan metode isolasi yang diterapkan.



Gambar. 1 Struktur kitin

Limbah udang mengandung 74% material organik (terutama jaringan protein dan kitin), 26% mineral-mineral dan lemak hanya 0,4% (Gildberg dan Stenberg, 2001). Akibat komposisi limbah udang tersebut maka untuk isolasi kitin dari limbah udang dilakukan secara bertahap yaitu dimulai dengan pemisahan protein dengan larutan basa kemudian demineralisasi dengan larutan asam dan pemutihan (*bleaching*) kitin dengan aseton atau natrium hipoklorit (Widodo *et al.*, 2005).

Masalah utama yang ditemukan Tolaimatea *et al.* (2003) dalam mengisolasi kitin adalah meminimalkan deasetilasi sebagian dan degradasi struktur yang terjadi selama proses. Oleh karena itu, disarankan penggunaan konsentrasi kecil ketika demineralisasi dan deproteinasi serta dilakukan berulang agar lebih efektif (Tolaimatea *et al.*, 2003; Rege dan Lawrence, 1999).

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian isolasi dan karakterisasi kitin dari kulit udang putih (*Litopenaeus vannamei*) yang merupakan limbah dari tambak udang di Lampung yang selama ini kurang dimanfaatkan.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan adalah HCl, NaOH, NaOCl, petroleum eter (PE), tembaga sulfat, asam borat 3%, akuades dan akuabides. Peralatan yang digunakan adalah mortar, blender, ayakan 100 mesh, gelas beker, erlenmeyer, seperangkat alat refluks, ekstraksi soxhlet dan destilasi, labu Kjeldahl, kertas saring Whatman 40, oven, timbangan analitik Mettler AE200, kurs porselin, tanur dan kompor listrik. Instrumen yang digunakan untuk karakterisasi hasil adalah *Fourier Transform Infra-Red Spectrophotometer* (FTIR) 8201 Shimadzu dan *X-Ray Diffractometer* (XRD)-6000 3 kW Shimadzu.

Isolasi Kitin dari Kulit Udang Putih (*Litopenaeus vannamei*)

Prosedur kerja yang dilakukan mengacu pada Tolaimatea *et al.* (2003). Sumber kitin (kulit udang yang telah bersih) diblender dan dihaluskan kemudian disaring dengan ayakan 100 mesh. Kulit udang yang lolos 100 mesh kemudian diberi NaOH 4% (1:10) untuk proses deproteinasi dengan dipanaskan pada 80°C selama satu jam. Hasil refluks dicuci dengan akuades sampai netral dan dikeringkan pada 60°C. Tahap kedua adalah proses demineralisasi dengan menambahkan HCl 1 M (1:15) pada temperatur kamar selama 3 jam yang diikuti pencucian dengan akuades sampai netral dan dikeringkan pada 60°C. Tahapan terakhir untuk memperoleh kitin dilakukan dengan *bleaching* menggunakan NaOCl 4% (1:10) selama 1 jam pada temperatur kamar, lalu dicuci dengan akuades sampai netral dan dikeringkan (60°C) sehingga diperoleh kitin.

Karakterisasi Kitin

Analisis dengan *Fourier Transform Infra-Red Spectrophotometer*

Kitin yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan *Fourier*

Transform *Infra-Red Spectrophotometer* (FTIR). Pellet dibuat dalam KBr-press dan spektra discan pada bilangan gelombang 4000 sampai 400 cm^{-1} . Analisis ini bertujuan untuk mengetahui gugus-gugus fungsi kitin, dengan melihat serapan yang dihasilkan.

Analisis dengan *X-Ray Diffractometer*

Selain dengan *Fourier Transform Infra-Red Spectrophotometer* (FTIR), kitin juga dianalisis menggunakan *X-Ray Diffractometer* (difraksi sinar-X) untuk melihat kristalinitas dari kitin.

Penentuan kadar air, abu, protein dan lemak dari kulit udang putih (*Litopenaeus vannamei*) dan kitin

Sampel kurang lebih 0,5 g dimasukkan dalam cawan yang diketahui beratnya, kemudian dioven dan dikeringkan pada suhu 100-105°C selama 3 jam. Sampel yang telah dioven didinginkan dalam desikator lalu ditimbang. Sampel dioven kembali pada suhu yang sama 100-105°C selama 1 jam, kadar air ditentukan dengan persamaan (1).

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{B2 - B3}{B2 - B1} \times 100\% \quad (1)$$

B1= berat cawan kosong

B2= berat cawan dengan sampel sebelum dikeringkan

B3= berat cawan dengan sampel setelah dikeringkan

Analisis kadar abu dimulai dengan memijarkan cawan kosong yang bersih dalam tanur suhu 600-650°C dan kemudian didinginkan dalam desikator. Sampel sekitar 0,5 g ditambahkan dalam cawan tersebut dan kemudian dimasukkan dalam tanur untuk diabukan pada suhu 600-650°C sampai sampel bebas dari karbon yang berwarna keabu-abuan sampai putih. Sampel kemudian didinginkan semalam dalam desikator

dan ditimbang. Kadar abu dihitung berdasarkan persamaan (2).

$$\text{Kadar abu} = \frac{B3 - B1}{B2 - B1} \times 100\% \quad (2)$$

B1= berat cawan kosong

B2 = berat cawan dengan sampel sebelum diabukan

B3 = berat cawan dengan sampel setelah diabukan

Penentuan kadar lemak dimulai dengan memasukkan sampel sekitar 0,2 sampai 0,5 gram ke dalam gelas beker yang kemudian ditambah 3 mL asam klorida 8 M, 2 mL akuades dan dididihkan selama 15 menit. Sampel yang masih dalam keadaan panas disaring dengan kertas saring basah. Residu yang diperoleh dicuci dengan akuades sampai bebas dari asam dan kemudian beserta kertas saring dikeringkan dalam oven 100°C. Residu kemudian diekstraksi dengan PE menggunakan ekstraksi soxhlet, selama 2 jam. Ekstrak ditampung dalam labu yang diketahui beratnya, kemudian eter diuapkan dari ekstrak sebelum dikeringkan dalam oven 100°C. Setelah dingin ekstrak ditimbang sampai diperoleh berat konstan. Kadar lemak dihitung dengan persamaan (3).

$$\text{Kadar lemak} = \frac{B2 - B1}{B0} \times 100\% \quad (3)$$

B0 = berat sampel

B1 = berat labu lemak kosong

B2 = berat labu dengan lemak

Sampel sekitar 0,02 sampai 0,10 gram dimasukkan dalam labu Kjeldahl dan ditambahkan 0,05 g tembaga sulfat dan 2 mL asam sulfat pekat. Sampel didestruksi dalam lemari asam dengan panas rendah sampai tidak berasap lagi, destruksi diteruskan dengan panas yang lebih tinggi, hingga cairan menjadi jernih dan kemudian hasilnya didinginkan. Hasil destruksi dilarutkan dalam 5 mL akuades dan didestilasi (dididihkan selama 15 menit). Destilat yang diperoleh ditampung dalam erlenmeyer yang berisi asam borat 3% (b/v) dan 3 tetes indikator.

Destilat ditampung sampai volumenya mencapai sekitar 20 mL, yang kemudian ditambah NaOH 60% berlebih sampai terjadi perubahan warna dari jernih menjadi coklat. Hasil destilat kemudian dititrasikan dengan asam klorida. Kadar protein dihitung dengan persamaan (4).

$$\text{Kadar protein} = \frac{k \times M_{HCl} \times V_{HCl} \times 14,008}{A \times 1000} \times 100\% \quad (4)$$

k = faktor konversi = 6,25

A = berat sampel

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Kitin dan Kitosan dari Kulit Udang Putih (*Litopenaeus vannamei*)

Kulit udang yang digunakan dalam penelitian ini sebelumnya dihaluskan sehingga diperoleh bubuk kulit udang yang lolos ayakan 100 mesh, agar permukaan kontakannya lebih luas sehingga efektivitas hasil isolasi yang diperoleh dapat meningkat.

Kitin dalam kulit udang berikatan dengan garam-garam anorganik terutama kalsium karbonat (CaCO_3), protein, lipida dan pigmen-pigmen. Oleh karena itu, isolasi kitin dari kulit udang melibatkan proses-proses pemisahan protein (deproteinasi) dan proses-proses pemisahan mineral (demineralisasi). Menurut Tolaimatea *et al.* (2003), Rege dan Lawrence (1999), Suhardi (1992) untuk deproteinasi digunakan natrium hidroksida dan untuk demineralisasi digunakan asam klorida dengan pertimbangan metode ini paling praktis dan dapat menghasilkan kitin dengan kandungan mineral dan protein residual yang paling rendah. Kitin yang diperoleh dari dua proses ini berwarna coklat, sehingga untuk memperoleh kitin yang berwarna putih diperlukan proses *bleaching*.

Struktur kutikula kulit udang merupakan bahan dua lapis kompleks kitin-protein, dengan kulit bagian luar (eksokutikula) dikeraskan dengan polimerisasi protein-protein dengan

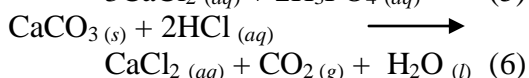
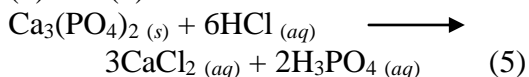
polifenol serta ditambah lagi garam-garam kalsium (Suhardi, 1992). Kandungan protein dalam serbuk kulit udang yang digunakan dalam penelitian ini sebesar 46,35%. Protein tersebut sebagian berikatan secara kovalen dengan kitin, tetapi disamping itu terdapat juga protein yang berikatan secara fisik yaitu protein yang merupakan sisa-sisa daging yang menempel pada kulit, yang jumlahnya bervariasi. Pada prinsipnya proses deproteinasi adalah memisahkan atau melepaskan ikatan-ikatan antara protein dan kitin. Proses deproteinasi dilakukan dengan mengekstrak serbuk kulit udang dalam NaOH panas, dari perlakuan ini protein akan terlepas dan membentuk Na-proteinat yang dapat larut. Proses deproteinasi dalam penelitian ini tidak dilakukan dalam temperatur yang terlalu tinggi dan waktu yang lama untuk menghindari terjadinya kerusakan berupa pelepasan gugus asetil. Serbuk kulit udang 100 g akan memberikan hasil kering proses deproteinasi sebesar 42,14 g atau 42,14%. Berdasarkan hasil karakterisasi pada Tabel 1, kandungan protein pada kitin hasil isolasi lebih rendah dari kandungan protein pada serbuk kulit udang.

Tabel 1 Kadar air, abu, protein dan lemak serbuk udang dan kitin

Bahan	Kadar rata-rata (%)			
	air	abu	lema k	protei n
Serbuk		20,2		
kulit udang	7,15	3	1,35	46,35
kitin	5,39	2,66	1,54	36,16

Keberadaan kitin pada kulit udang disertai dengan adanya protein dan fraksi anorganik yang kebanyakan disusun oleh garam-garam kalsium karbonat, CaCO_3 dan kalsium fosfat, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Oleh karena itu, untuk memperoleh kitin diperlukan proses demineralisasi yang bertujuan untuk menghilangkan mineral-mineral yang terdapat dalam kulit udang.

Penghilangan mineral-mineral tersebut dapat dilakukan dengan perlakuan dalam asam klorida encer pada temperatur klorida. Reaksi pelarutan mineral yang terjadi dituliskan pada persamaan reaksi (5) dan (6).



CO_2 yang dihasilkan dapat terlihat dari buih yang terbentuk pada proses demineralisasi. Kitin yang dihasilkan dari proses demineralisasi berwarna coklat seberat 24,22% dari berat serbuk kulit udang. Penghilangan mineral pada kulit udang dengan menggunakan asam klorida cukup efektif karena akan menghasilkan kitin dengan mineral sisa yang rendah. Kehilangan mineral-mineral dapat dilihat juga dari perbedaan kadar abu yang tersaji pada Tabel 1, dimana kadar abu pada serbuk kulit udang 20,23% sedangkan pada kitin tinggal 2,66%.

Kitin yang diperoleh dari proses deproteinasi dan demineralisasi berwarna kecoklatan sehingga untuk memperoleh kitin yang berwarna lebih putih dilakukan proses *bleaching* menggunakan agen pemutih berupa natrium hipoklorit pada temperatur kamar dengan disertai pengadukan. Setelah proses penghilangan warna ternyata kitin kering hasil isolasi yang diperoleh seberat 20,95% dari berat serbuk kulit udang, dan berwarna lebih putih dari sebelumnya. Proses *bleaching* akan menghasilkan kitin dengan derajat deasetilasi yang lebih kecil dibandingkan dengan kitin hasil isolasi tanpa *bleaching*. Hal ini mengindikasikan kemungkinan terjadinya deasetilasi sebagian yang lebih besar ketika isolasi kitin dari udang tanpa *bleaching*. Sebagian kecil dari massa kitin yang diperoleh diambil untuk karakterisasi.

kamar. Garam-garam kalsium dalam proses ini akan dilarutkan oleh asam

Karakterisasi Kitin

Karakterisasi dilakukan untuk mengidentifikasi sampel berdasarkan pengamatan sifat kimia, sifat fisika dan juga identifikasi struktur berdasarkan hasil analisis terhadap sampel. Karakterisasi kitin yang dilakukan meliputi: identifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR dan XRD, analisis kadar air, kadar abu, kadar lemak dan kadar protein.

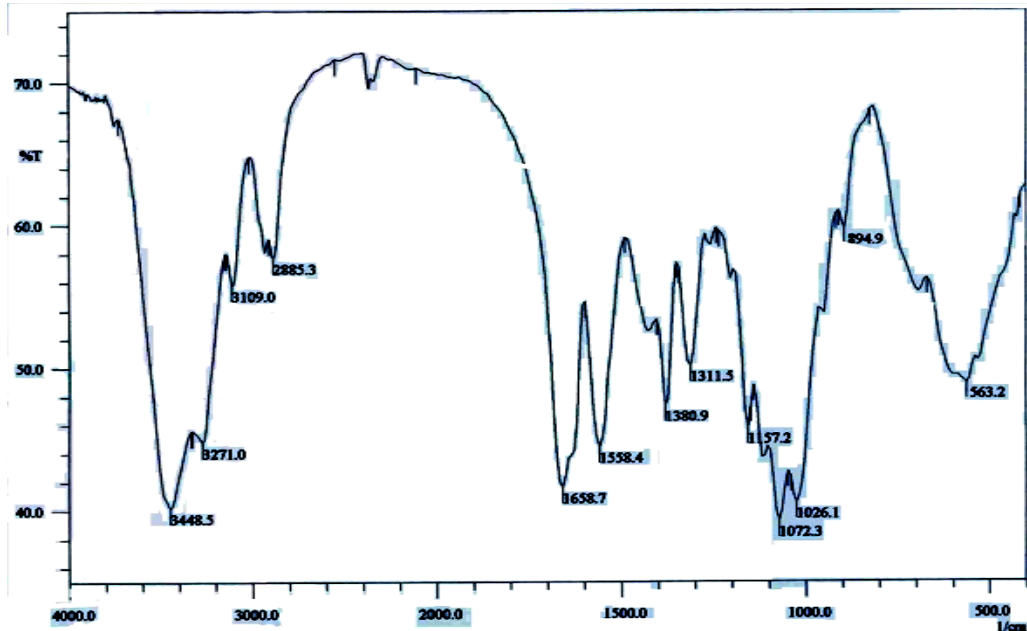
Analisis Fourier Transform Infra-Red Spectrophotometer (FTIR)

Analisis terhadap spektra IR menyajikan informasi tentang gugus fungsional dari produk yang dianalisis sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa yang dimaksud mempunyai gugus fungsional yang sama dengan senyawa yang diharapkan.

Spektra IR dari kitin disajikan pada Gambar 2. Pada spektra IR kitin hasil isolasi diperoleh pita serapan pada bilangan gelombang $3448,5 \text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan serapan gugus $-\text{OH}$. Menurut Fessenden (1999) vibrasi $\text{N}-\text{H}$ menimbulkan serapan di sebelah kiri absorpsi $\text{C}-\text{H}$ alifatik, yaitu pada $3125-3570 \text{ cm}^{-1}$, dan untuk amida sekunder (RCONHR') hanya memiliki satu ikatan $\text{N}-\text{H}$. Oleh karena itu, pada $3125-3570 \text{ cm}^{-1}$ hanya menunjukkan satu puncak, dari spektra yang diperoleh berarti serapan $3271,0 \text{ cm}^{-1}$ merupakan serapan dari $\text{N}-\text{H}$. Pita serapan pada bilangan gelombang $2885,3 \text{ cm}^{-1}$ dan $3109,0 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi rentangan dari $\text{C}-\text{H}$ pada gugus metil $-\text{CH}_3$ dan $-\text{CH}_2-$, adanya gugus metil diperkuat dengan munculnya pita serapan bengkakan $-\text{CH}_3$ pada bilangan gelombang $1380,9 \text{ cm}^{-1}$. Pita serapan pada bilangan gelombang $1658,7 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan serapan $\text{C}=\text{O}$ pada gugus $-\text{NHCOCH}_3$, sedang serapan pada bilangan gelombang $1558,4 \text{ cm}^{-1}$

menunjukkan vibrasi tekuk N-H. Vibrasi rentangan C-N teridentifikasi pada bilangan gelombang 1311,5 cm^{-1} . Rentangan C-O ikatan teridentifikasi di bilangan gelombang 1157,2 cm^{-1} , 1072,3

cm^{-1} dan 1026,1 cm^{-1} , rentangan C-O bisa berasal dari C-O-C atau C-O-H.



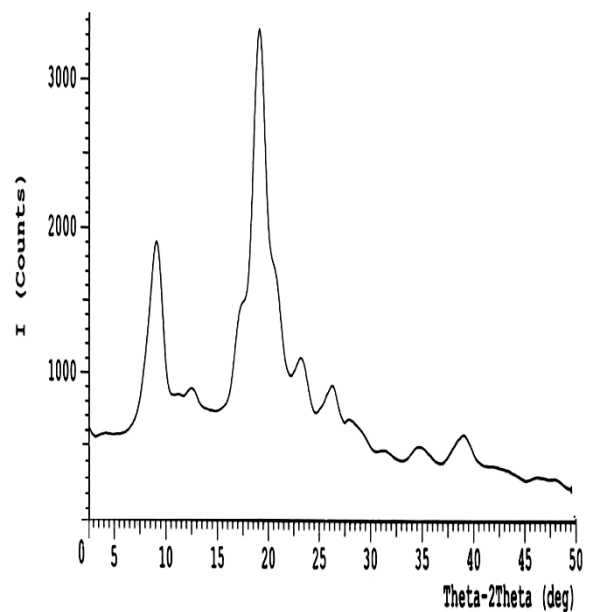
Gambar 2 Spektra IR kitin

Analisis X-Ray Diffractometer (difraksi sinar-X)

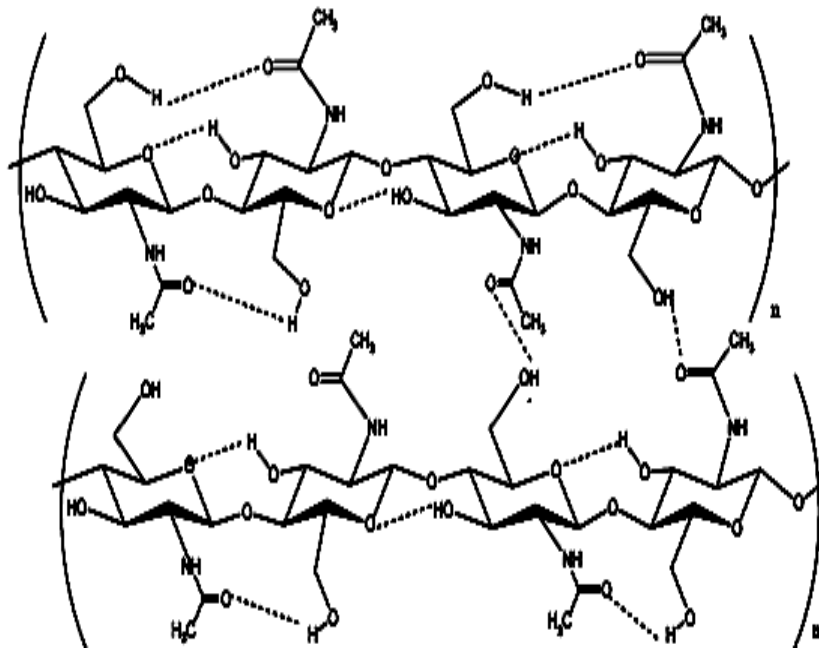
Karakterisasi kedua dari kitin dengan menggunakan teknik difraksi sinar-X. Teknik difraksi sinar-X pada umumnya digunakan untuk karakterisasi padatan sehingga diketahui kristalinitasnya. Pola difraksi sinar-X kitin menunjukkan pola puncak difraksi pada posisi 2θ sekitar 10° dan 20° . Difraktogram dari kitin disajikan pada Gambar 3.

Struktur kristalinitas kitin disajikan pada Gambar 4. Tingginya kristalinitas pada kitin disebabkan adanya ikatan hidrogen yang terjadi antara gugus hidroksil dan gugus N-asetil secara intramolekul dan intermolekul, intramolekul -OH pada C3 terhadap cincin oksigen yang bersilangan dengan ikatan β -(1-4). Ikatan hidrogen tersebut menyebabkan kitin memiliki struktur

yang kaku (*rigid*), sehingga mengakibatkan kitin memiliki kelarutan yang rendah dalam asam.



Gambar 3 Difraktogram kitin



Gambar 4 Ikatan hidrogen intramolekuler dan intermolekuler kitin (Champagne, 2002)

Kadar air, abu, protein dan lemak dari serbuk kulit udang, kitin dan kitosan

Pengukuran kadar air dilakukan dengan pengeringan menggunakan oven. Air ditetapkan berdasarkan penguapan dengan cara pemanasan sampel dalam oven 100-105°C, sampai mencapai berat yang tetap. Kadar air didasarkan pada pengukuran kehilangan bobot bahan setelah semua air dalam bahan diuapkan, dimana bobot yang hilang adalah kandungan air dalam sampel. Telah tersaji dalam Tabel 1, kadar air dari serbuk udang dan kitin adalah 7,15 dan 5,39%. Kadar air kitin tergantung dari proses pengeringan dan pengemasannya sehingga kadar airnya tergantung dari kadar air di lingkungannya (Suhardi, 1992).

Penentuan kadar abu dilakukan dengan mengoksidasikan semua bahan organik pada temperatur yang tinggi, yaitu sekitar 600-650°C. Sampel diabukan sampai bebas dari karbon dan kemudian dilakukan penimbangan zat yang tertinggal setelah proses pengabuan yang merupakan abu dari sampel

tersebut. Kadar abu bisa digunakan sebagai indikasi kandungan mineral-mineral dalam sampel. Dari Tabel 1, bahan baku serbuk kulit udang memiliki kadar abu yang tinggi yaitu 20,23% yang disebabkan banyaknya mineral-mineral dalam kutikula kulit udang. Setelah mengalami poses demineralisasi, kandungan mineral berkurang sehingga diperoleh kitin dengan kadar abu yang lebih sedikit yaitu 2,66%. Menurut Suhardi (1992), kadar abu kitin dipengaruhi oleh kondisi proses demineralisasi yakni durasi proses, temperatur proses dan konsentrasi HCl. Semakin pekat HCl yang digunakan, semakin cepat dan banyak garam mineral yang dapat dihilangkan.

Kadar protein tersebut ditentukan dengan metode Kjeldahl, dimana jumlah N total digunakan untuk mewakili kadar protein. Kadar protein merupakan jumlah N total yang dikalikan 6,25. Angka 6,25 merupakan faktor konversi yang digunakan dalam penentuan kadar protein untuk campuran senyawa-senyawa protein yang belum diketahui komposisi

unsur-unsur penyusunnya secara pasti (Suhardi, 1992; Slamet *et al.*, 1990). Setelah mengalami proses deproteinasi diperoleh kadar protein pada kitin sebesar 36,16 %.

KESIMPULAN

Isolasi kitin dari kulit udang putih putih (*Litopenaeus vannamei*) menghasilkan kitin sebanyak 20,98%. Spektra IR kitin menunjukkan adanya serapan dari amina primer dan amida dengan intensitas amida yang lebih besar. Pola difraksi sinar-X kitin menunjukkan pola puncak difraksi pada posisi 2θ sekitar 10° dan 20° . Berdasarkan hasil karakterisasi juga diperoleh kadar air, abu, lemak dan protein dari kitin sebesar 5,39; 2,66; 1,54 dan 36,16 %.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2006. Industri Kitin: *Dari limbah menjadi bernilai tambah*. Departemen Kelautan dan Perikanan RI. <http://www.dkp.go.id/content>. diakses pada 25 November 2007.
- Anonim. 2007. *Biokatalis mampu kurangi polutan limbah*. Harian Umum Sore Sinar Harapan Selasa, 28 Agustus 2007. diakses pada 25 November 2007.
- Champagne, L. M. 2002. *The synthesis of water soluble n-acyl chitosan derivatives for characterization as antibacterial agents*. Dissertation. B.S. Xavier University of Louisiana.
- Gagné N. 1993. *Production of chitin and chitosan from crustacean waste and their use as a food processing aid*. Thesis. Department of Food Science and Agricultural Chemistry McGill University. Montreal.
- Gildberg, A. dan Stenberg, E. 2001. A new process for advanced utilisation of shrimp waste. *Process Biochem.*, 36, 809–812.
- Jaworska, M.; Sakurai, K.; Gaudon, P. dan Guibal, E. 2003. Influence of chitosan characteristics on polymer properties. I: Crystallographic properties. *Polym. Int.*, 52:198–205.
- Khan, T.A.; Peh, K.K. dan Ch'ng H.S. 2002. Reporting degree of deacetylation values of chitosan: the influence of analytical methods, *J. Pharm. Pharmaceut Sci.*, 5(3):205-212.
- Rege, P. R. dan Lawrence H. B. 1999. Chitosan processing: influence of process parameters during acidic and alkaline hydrolysis and effect of the processing sequence on the resultant chitosan's properties. *Carbohydr. Res.*, 321, 235–245.
- Shepherd, R.; Reader, S. dan Falshaw, A. 1997. Chitosan functional properties. *Glycoconjugate J.*, 14, 535-542.
- Slamet, D., S., Mahmud M. K., Muhilal, Fardiaz, D. dan Simarmata. 1990. *Pedoman analisis zat gizi*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Suhardi. 1992. *Buku monograf khitin dan khitosan*. PAU UGM. Yogyakarta.
- Tolaimatea, A.; Desbrieresb, J.; Rhazia, M., dan Alaguic, A. 2003. Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties. *Polym. J.* , 44, 7939–7952.

Widodo, A.; Mardiah, dan Prasetyo A..
2005. *Potensi kitosan dari sisa udang seagai koagulan logam berat limbah cair industri tekstil*. Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya.