

PRODUKSI DAN KARAKTERISASI NANO KITOSAN DARI CANGKANG UDANG WINDU DENGAN METODE GELASI IONIK

Production and Characterization Chitosan Nano from Black Tiger Shrimp with Ionic Gelation Methods

Laode Muhamad Hazairin Nadia*, Pipih Suptijah, Bustami Ibrahim

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB

Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Jalan Agatis, Bogor 16680

Telepon (0251)8622909-8622906, Faks. (0251)8622915

*Korespondensi: Olopamk@gmail.com

Diterima 22 Juli 2014/ Disetujui 03 Agustus 2014

Abstrak

Cangkang udang windu (*Penaeus monodon*) berpotensi sebagai bahan baku dalam proses pembuatan nano kitosan karena mengandung senyawa kimia kitin dan kitosan. Tujuan dari penelitian ini adalah membuat nano kitosan melalui proses gelasi ionik serta pengecilan ukuran (*sizing*) dengan *magnetic stirrer* dan menentukan karakteristik nano kitosan berdasarkan morfologi dan ukuran nanopartikel. Nano kitosan dibuat menggunakan metode gelasi ionik, yaitu kompleksasi polielektrolit antara kitosan yang bermuatan positif dengan tripolifosfat yang bermuatan negatif. Rendemen kitosan dari cangkang udang yaitu sebesar 19,08%, sedangkan rendemen nano kitosan dengan perlakuan pengecilan ukuran menggunakan *magnetic stirrer* sebesar 80,67%. Nilai derajat deasetilasi dari kitosan yang digunakan untuk membuat nano kitosan yaitu sebesar 98,65%. Nano kitosan yang terbentuk rata-rata berukuran 228,74 nm, cukup seragam, relatif stabil dan memiliki bentuk partikel yang berupa bulatan menyerupai bola. Pengecilan ukuran partikel dengan *magnetic stirrer*, dapat mendistribusikan ukuran partikel yang lebih homogen. Penambahan tripolifosfat (TPP) dan surfaktan (Tween 80) dapat menguatkan sifat mekanik kitosan yang mudah rapuh dan dapat membentuk ikatan silang ionik antara molekul kitosan.

Kata kunci: cangkang udang windu, gelasi ionik, kitosan, *magnetic stirrer*, nano kitosan

Abstract

Black tiger shrimp shell (*Penaeus monodon*) has a potential as raw materials in the manufacturing process of nano-chitosan that contains chitin. The purposes of this study is to formed nano-chitosan through ionic gelation process and size reduction by magnetic stirrer and determine the characteristic of nano-chitosan based on morphology and size of nanoparticles. Nano-chitosan were formed by ionic gelation method, which is polyelectrolyte complexation between the positively charged chitosan and negative charged tripolyphosphate. Yield of chitosan from Black Tiger Shrimp shell are 19,08%, while the yield of nano-chitosan by size reduction treatment using a magnetic stirrer is 80,67%. Value of the deacetylation degree from chitosan which is used to formed nano-chitosan is equal to 98,65%, it indicates the chitosan which is produced is a native chitosan. Nano-chitosan have an average size of 228.74 nm, fairly uniform, relatively stable and has a sphere like particle shape. Particle size reduction with magnetic stirrer, can distribute more homogeneous particle size. Added tripolyphosphate (TPP) and surfactants (Tween 80) can enhance the mechanical properties of chitosan that are naturally fragile and enhanced formation if ionic crosslinking between chitosan molecules.

Keywords: black tiger shrimp, chitosan, chitosan nano, ionic gelation, magnetic stirrer

PENDAHULUAN

Udang merupakan salah satu komoditi penting perikanan yang pada saat ini mengalami peningkatan produksi terutama dari hasil

budidaya dan pada umumnya diekspor dalam bentuk beku. Proses pembekuan udang untuk ekspor, 60-70% dari berat udang menjadi limbah. Limbah tersebut berupa cangkang

yang mudah sekali busuk sehingga dapat menimbulkan pencemaran lingkungan (Azhar *et al.* 2010). Kitosan dapat disintesis dari kulit udang karena kulit udang mengandung senyawa kimia kitin dan kitosan.

Berger *et al.* (2004) kitosan dapat diterapkan dalam berbagai bidang industri modern, misalnya farmasi, biokimia, kosmetika, industri pangan, dan industri tekstil. Pemerintah terus mendorong para peneliti dan praktisi industri untuk terus memanfaatkan produk kitosan, termasuk melakukan modifikasi kitosan secara kimia atau fisik. Modifikasi fisik pada kitosan mencakup perubahan ukuran partikel menjadi lebih kecil untuk pemanfaatan yang lebih luas. Perkembangan modifikasi fisik mengarah ke bentuk nano-partikel. Nano-partikel mempunyai keunggulan dibandingkan dengan material sejenis dalam ukuran besar (*bulk*) karena ukuran nano-partikel memiliki nilai perbandingan antara luas permukaan dan volume yang lebih besar jika dibandingkan dengan bahan sejenis dalam ukuran besar, sehingga nano-partikel bersifat lebih reaktif. Reaktivitas material ditentukan oleh atom-atom dipermukaan, karena atom-atom tersebut yang bersentuhan langsung dengan material lain (Suwarda dan Maarif 2012).

Penelitian nano-kitosan sampai saat ini terus dikembangkan, baik dalam penentuan komposisi maupun pencarian metode yang sesuai. Pembuatan nano-kitosan yang berstabilitas tinggi memerlukan metode yang cukup sulit, maka dilakukan metode yang efektif dan sederhana untuk membuat nano kitosan dengan tingkat keseragaman ukuran dan stabilitas yang tinggi. Pembuatan nano-kitosan menggunakan metode gelasi ionik dan pengecilan ukuran (*sizing*) dilakukan karena prosesnya yang sederhana dan dapat dikontrol dengan mudah. Penelitian ini bertujuan untuk membuat nano-kitosan melalui proses gelasi ionik serta pengecilan ukuran (*sizing*) dengan *magnetic stirrer* dan menentukan karakteristik nano-kitosan meliputi morfologi dan ukuran nano-partikel.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah limbah udang windu (*P. monodon*) diperoleh dari PT. Sultra Tuna, Kendari, Sulawesi Tenggara. Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan kitosan dan nano-kitosan terdiri dari NaOH serbuk, asam asetat (CH_3COOH), akuades, HCl, Tripoliphospat (TPP), dan surfaktan (Tween 80). Bahan-bahan lain meliputi bahan untuk analisis karakteristik kitosan, nano-kitosan, dan proksimat terdiri dari gliserol, methanol, asam borat, K_2SO_4 , HgO, H_2SO_4 , dan HNO_3 . Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *magnetic stirrer*, *spray drying* (Labconco), Particle Size Analyzer (PSA) (DelsaTM Nano, Cordoun), Viscometer (Brookfield LV), Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (FTIR) (Bruker Tensor Tipe MBQ00), Scanning Electron Microscopy (SEM) (JEOL JSM-6360-LA).

Metode Penelitian

Karakterisasi cangkang udang windu (*P. monodon*) meliputi kadar air, kadar abu, kadar nitrogen. Karakterisasi kitosan meliputi rendemen, komposisi proksimat (AOAC 1995), derajat desetilasi (Duarte *et al.* 2002), viskositas (Zamani dan Taherzadeh 2010) dan logam berat (Pb, Hg, Cd dan As) (BSN 2013). Penelitian utama merupakan tahapan pembuatan nano-kitosan menggunakan metode gelasi ionik serta pengecilan ukuran (*sizing*) menggunakan *magnetic stirrer* dengan penambahan emulsifier (tween 80) dan tripolifosfat (Suptijah *et al.* 2011). Partikel yang terbentuk kemudian dikarakterisasi, meliputi ukuran partikel menggunakan Particle Size Analyzer (PSA) (Yang *et al.* 2014) dan morfologi menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) (Masotti *et al.* 2007).

Prosedur Penelitian

Nano-kitosan dibuat menggunakan metode gelasi ionik, yaitu kompleksasi

polielektrolit antara kitosan yang bermuatan positif dengan tripolifosfat yang bermuatan negatif. Larutan kitosan konsentrasi 0,2% dibuat dengan cara melarutkan kitosan kedalam larutan asam asetat 1%, kemudian dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu ruang selama 1 jam. Larutan Tripolyphosphate (TPP) konsentrasi 0,1% dibuat dengan cara melarutkan TPP kedalam akuades, kemudian disaring untuk menghilangkan sisa partikel tidak terlarut.

Nano-kitosan dibuat dengan cara: larutan kitosan sebanyak 50 mL dituangkan ke dalam beaker, kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Larutan TPP pada pada rasio volume kitosan TPP 5:1 ditambahkan secara perlahan-lahan ke dalam larutan kitosan, sehingga terbentuk suspensi nano-partikel. Pengadukan terus dilanjutkan selama 1 jam agar proses ikatan silang berlangsung sempurna. Suspensi nano-partikel yang terbentuk kemudian dikarakterisasi.

PSA menggunakan sinar tampak yang ditembakkan dan memanfaatkan prinsip penghamburan cahaya tampak (Yang *et al.* 2014). SEM menggunakan elektron dan cahaya tampak sebagai sumber cahayanya. Elektron menghasilkan gelombang yang lebih pendek dibandingkan cahaya foton dengan ukuran 0,1 nm dan menghasilkan gambar dengan resolusi yang lebih baik (Grenha *et al.* 2007). Hasil SEM terlihat jelas karena dilakukan pelapisan dengan emas yang bersifat konduktor (Elhady 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Kulit Udang

Berdasarkan uji proksimat, cangkang udang windu memiliki kadar air 12,09%, kadar abu 24,42%, serta kadar protein 32,03%. Menurut penelitin yang dilakukan oleh

Sanusi (2004) proksimat cangkang udang windu yaitu kadar air 13,29%, kadar abu 27,09% dan kadar protein 23,94% (Tabel 1).

Kadar abu bisa digunakan sebagai indikasi kandungan mineral-mineral dalam sampel. Bahan baku serbuk kulit udang memiliki kadar abu yang tinggi disebabkan banyaknya mineral-mineral dalam kutikula kulit udang. Perbedaan nilai kadar abu diduga dapat disebabkan oleh perbedaan habitat dan lingkungan hidup (Ravichandran *et al.* 2009).

Rendemen Kitosan

Prasetyo (2010) produksi kitin dari limbah udang menghasilkan rendemen 20-30% dan kitosan dari kitin diperoleh 80%. Sebanyak 2000 g kulit udang yang melalui proses demineralisasi, deproteinasi dan deasetilasi dihasilkan kitosan sebanyak 381,64 g sehingga rendemen kitosan sebesar 19,08%. Rendemen yang dihasilkan cukup besar karena pada proses demineralisasi, deproteinasi dan deasetilasi tidak banyak kitin dan kitosan yang hilang oleh pelarut maupun saat hidrolisis. Proses pencucian dan penetralan dengan akuades juga dilakukan secara hati-hati sehingga penyusutan bobot kitin dan kitosan dapat dikurangi.

Karakteristik Kitosan

Kitosan yang dipakai dalam penelitian ini mempunyai karakteristik yang telah memenuhi standar internasional (Tabel 2). Kemurnian kitosan dapat dilihat dari kadar air dan kadar abu yang rendah, namun memiliki derajat deasetilasi yang tinggi. Semakin tinggi derajat deasetilasi, semakin banyak gugus amina (NH_2) pada rantai molekul kitosan sehingga kitosan semakin reaktif (Suptijah 2006). Ukuran partikel pada kitosan uji berupa serpihan sampai serbuk,

Tabel 1 Hasil pengujian (proksimat) komponen kulit udang windu

Komposisi Proksimat	Hasil (%)
Air	12,09 ± 0,08
Abu	24,42 ± 0,04
Protein	32,03 ± 0,49

sesuai dengan standar mutu kitosan. Ukuran partikel kitosan sangat dipengaruhi oleh bahan baku yang digunakan. Bahan baku yang berasal dari kulit udang memiliki bentuk yang lebih halus dan mudah hancur selama proses pembuatan kitosan (Tabel 2). Ukuran partikel akan mempengaruhi kelarutan kitosan, semakin kecil ukuran partikel maka semakin mudah kitosan larut dalam pelarut (Suptijah *et al.* 1992).

Nilai kadar air kitosan diketahui sebesar 9,57%. Nilai ini lebih rendah dibandingkan karakteristik kitosan komersial dengan nilai kadar air $\leq 10\%$. Besarnya nilai kadar air dipengaruhi oleh proses pengeringan, lama pengeringan, jumlah kitosan yang dikeringkan, luas tempat pengeringan dan sarana pengeringan (Saleh *et al.* 1994).

Kadar abu merupakan parameter untuk mengetahui mineral yang terkandung pada kitosan dan yang dapat mempengaruhi kelarutan, mengakibatkan viskositas rendah atau dapat mempengaruhi karakteristik produk akhir (No dan Meyers 1995). Kadar abu yang diperoleh sebesar 0,27% dan memenuhi

persyaratan mutu yang telah ditetapkan. Kadar abu yang rendah menunjukkan kadar mineral yang rendah. Faktor yang mempengaruhi nilai kadar abu kitosan adalah proses demineralisasi dan air yang digunakan ketika penetralan pH (Angka dan Suhartono 2000). Benjakula dan Sophanodora (1993) proses pencucian yang baik, berpengaruh terhadap kadar abu dan mineral yang telah terlepas dari bahan akan berikatan dengan pelarut dapat terbuang bersama air.

Kadar nitrogen menentukan sifat kitosan yang berinteraksi dengan gugus gugus amina (NH_2). Keberadaan NH_2 menyebabkan kitosan memiliki reaktivitas yang tinggi, sehingga kitosan mampu mengikat air dan larut dalam asam asetat (Kim dan Cho 2005). Semakin tinggi kandungan nitrogen dalam kitosan maka akan menyebabkan semakin berkurang fungsinya. Kadar nitrogen kitosan uji yang dihasilkan telah memenuhi standar mutu yang ditetapkan yaitu 4,03%. Nilai total nitrogen kitosan uji dibawah standar kitosan yang telah ditetapkan. Silvia (2005) mengemukakan bahwa kadar nitrogen

Tabel 2 Karakteristik kitosan komersil dan kitosan uji

Sifat	Parameter Uji	
	Kitosan Komersil*	Kitosan Uji
Ukuran partikel	Serpihan sampai bubuk	Serpihan sampai bubuk
Kadar air (% bk)	$\leq 10\%$	9,87%
Kadar abu (%bk)	$\leq 2\%$	0,27%
Total nitrogen (%bk)	$\leq 5\%$	4,03%
Derajat deasetilasi	$\geq 70\%$	98,65%
Warna larutan (1,5%) (b/v)	Bening	Bening
Viskositas (cP) (1%)		
- Rendah	< 200	
- Medium	200-799	210
- Tinggi	800-2000	
- Ekstrak tinggi	> 2000	
Kandungan logam (ppm)		
- Timbal (Pb)	$\leq 1,0$	0,035
- Merkuri (Hg)	$\leq 0,001$	0,001
- Arser (As)	$\leq 0,2$	0,002
- Kadmium (Cd)	$\leq 0,002$	0,001

dipengaruhi oleh konsentrasi NaOH yang tinggi dan waktu proses deproteinase akan menyebabkan terjadinya reaksi antara protein dengan larutan pembentuk ester (Naproteinat) akan semakin sempurna, sehingga protein yang dihilangkan semakin banyak.

Derajat deasetilasi menentukan banyaknya gugus asetil yang hilang selama proses deasetilasi. Derajat deasetilasi yang tinggi menunjukkan kemurnian kitosan yang dihasilkan. Derajat deasetilasi yang dihasilkan pada penelitian ini sebesar 98,65%. Derajat deasetilasi kitosan uji memenuhi standar mutu kitosan yaitu $\geq 70\%$ (Suptijah *et al.* 1992). Muzarelli dan Peter (1997) mengemukakan bahwa semakin besar derajat deasetilasi, maka kitosan akan semakin aktif karena banyaknya gugus amina yang menggantikan gugus asetil. Gugus amina lebih reaktif dibandingkan gugus asetil karena adanya pasangan elektron bebas pada atom nitrogen dalam struktur kitosan.

Kitosan yang digunakan memiliki viskositas sebesar 210 cp. Viskositas kitosan uji memenuhi standar mutu kitosan yaitu 200-700 cp kategori medium (Suptijah *et al.* 1992). Tinggi rendahnya viskositas dipengaruhi oleh tahap deasetilasi pada proses pembuatan kitosan. Lamanya proses deasetilasi dan tingginya konsentrasi NaOH akan menurunkan berat molekul dan viskositas. Kitosan memiliki rantai yang lebih pendek bila dibandingkan kitin. Peningkatan konsentrasi NaOH akan menurunkan berat molekul, hal ini disebabkan penurunan berat molekul akibat adanya pemecahan ikatan polimer (depolimerisasi) rantai molekul kitosan (Kolodziejaska *et al.* 2000).

Karakteristik Kitosan

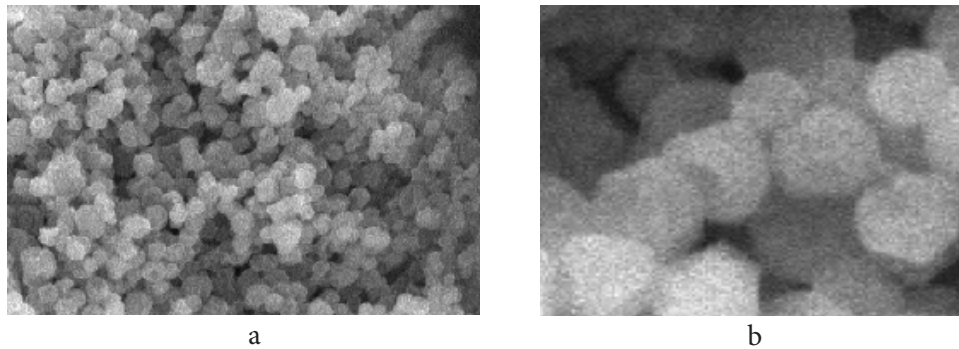
Rendemen Nano-Kitosan

Produksi nano kitosan dilakukan berdasarkan metode yang telah dilakukan Mardiyati *et al.* (2012). Sebanyak 2 g kitosan dengan pengecilan partikel menggunakan magnetic stirrer sebesar 1,63 g dan rendemen yang dihasilkan 81,50%. Hasil yang didapatkan

tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Suptijah *et al.* (2011), yaitu 81,30%. Kelebihan *magnetic stirrer* yaitu proses homogenisasi antara larutan kitosan dengan bahan gelasi ionik, dapat dikendalikan secara merata dengan kecepatan tinggi menghasilkan partikel-partikel yang homogen, stabil dan tidak terjadi aglomerasi, sehingga dalam proses pengeringan yang terbentuk partikel nano hanya partikel yang stabil bukan yang aglomerasi. Proses pengeringan semprot (*spray drying*) juga mempengaruhi rendemen hasil nano kitosan yang dihasilkan, partikel yang mengalami aglomerasi lebih banyak menempel pada alat *spray drying* (Irianto dan Muljannah 2011).

Uji Particle Size Analyzer (PSA)

Perhitungan partikel umumnya menggunakan analisis gambar atau beberapa jenis penghitungan partikel. Nano kitosan yang dihasilkan diuji ukurannya menggunakan alat *Particle Size Analyzer* (PSA). Berdasarkan hasil uji PSA menunjukkan bahwa nilai rata-rata ukuran nano kitosan yaitu 228,74 nm. Mohanraj (2006) mengemukakan bahwa nanopartikel merupakan partikel yang berbentuk padat dengan kisaran ukuran 10-1000 nm. Metode preparasi sangat berpengaruh dalam teknologi pembuatan nanopartikel. Pengecilan ukuran dengan magnetic stirrer dapat menghasilkan partikel yang lebih stabil dengan ukuran yang lebih merata, dibawah 1000 nm (Mayyas dan Al-Remawi 2012). Nesalin *et al.* (2009) mengemukakan bahwa pengaruh pengecilan ukuran partikel dengan *magnetic stirrer* pada kecepatan tinggi dapat menyamaratakan energy yang diterima oleh seluruh bagian larutan, sehingga ukuran partikel semakin homogen. Penambahan tripoliospat yang tepat dapat menurunkan ukuran nanopartikel dan meningkatkan kekuatan matriks kitosan sehingga membuat nanopartikel semakin kuat dan sulit terpecah (Du *et al.* 2009). Larutan kitosan yang telah tercampur dengan tripoliospat ditambah dengan Tween 80.



Gambar 1 Morfologi nano kitosan a) pembesaran 1500 kali b) 5000 kali

Penambahan Tween 80 sebagai surfaktan berfungsi untuk menstabilkan emulsi partikel dalam larutan dengan cara mencegah timbulnya penggumpalan (aglomerasi) antar partikel (Keuteur 1996). Partikel-partikel kitosan di dalam larutan terselimuti dan terstabilkan satu dengan yang lain karena adanya surfaktan, sehingga proses pemecahan partikel akan semakin efektif dan tidak terjadi aglomerasi (Xu dan Du 2003).

Uji *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

Nano kitosan dapat dibedakan secara visual dengan menggunakan SEM. Prinsip kerja SEM adalah sifat gelombang dari elektron berupa difraksi pada sudut yang sangat kecil (Masotti *et al.* 2007). Hasil pengujian SEM dapat dilihat pada Gambar 1.

Gambar 1 merupakan SEM dari sampel nano kitosan dengan perbesaran 1500 dan 5000 kali. Nano kitosan yang dibuat memiliki bentuk partikel yang berupa bulatan menyerupai bola. Nano kitosan memperlihatkan ukuran partikel yang kurang homogen. Hasil dari SEM ini sesuai dengan penelitian Wahyono (2010) bahwa nano kitosan terisi ketoprofen memiliki bentuk bulat utuh. Ukuran partikel yang tidak seragam diduga karena ketoprofen tidak hanya masuk ke dalam matriks nano kitosan, tetapi menempel di permukaan.

KESIMPULAN

Nano kitosan dibuat menggunakan metode gelasi ionik, yaitu kompleksasi polielektrolit antara kitosan yang bermuatan

positif dengan tripolifosfat yang bermuatan negatif. Rendemen kitosan dari cangkang udang yaitu sebesar 19,08%, sedangkan rendemen nano kitosan dengan perlakuan pengecilan ukuran menggunakan magnetic stirrer sebesar 80,67%. Nilai derajat deasetilasi dari kitosan yang digunakan untuk membuat nano kitosan yaitu sebesar 98,65%, menunjukkan bahwa kitosan yang dihasilkan merupakan kitosan murni. Nano kitosan yang terbentuk rata-rata berukuran 228,74 nm, cukup seragam, relatif stabil dan memiliki bentuk partikel yang berupa bulatan menyerupai bola. Pengecilan ukuran partikel dengan magnetic stirrer, dapat mendistribusikan ukuran partikel yang lebih homogen. Penambahan tripoliphospat (TPP) dan surfaktan (Tween 80) dapat menguatkan sifat mekanik kitosan yang mudah rapuh dan dapat membentuk ikatan silang ionik antara molekul kitosan.

DAFTAR PUSTAKA

- Angka SI dan Suhartono MT. 2000. Pemanfaatan Limbah Hasil Laut: Bioteknologi Hasil Laut. Bogor: Pusat Sumberdaya Pesisir dan Lautan, IPB.
- Azhar M, Efendi J, Syofyeni E, Lesi RM, Novalina S. 2010. Pengaruh konsentrasi NaOH dan KOH terhadap derajat deasetilasi kitin dari kulit udang. *Eksakta* 1(11):1-8.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 1995. Official methods of analysis. The Association of Official Analytical Chemist, Inc. Washington, DC.

- Benjakula S, Sophanodora P. 1993. Chitosan production from carapace and shell of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Asean Food Jurnal* 8(4): 145- 148.
- Berger J, Reist M, Mayera JM, Feltb O, Peppas NA, Gurny R. 2004. Structure and interaction In covalently and ionocally crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. *Europen Journal of Pharm And Biopharm* 6(57): 19-34.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 2006. Metode uji kadar logam berat timbal (Pb), Cadmium (Cd), Arser (As) dan Merkuri (Hg) dalam produk pertanian dan olahannyadengan metode spektrofotometer serapan atom (SSA). Jakarta: Dewan Standarisasi Nasional.
- Du WL, Niu SS, Xu YL, Xu ZR, Fan CL. 2009. Antibacterial activity of chitosan tripolyphosphate nanoparticles loaded with various metal ions. *Journal Carbohydrate Polymers* 12(75):385-389
- Duarte M.L, Ferreira M.C, Marvao M.R, Rocha J. 2002. An optimised method to determine the degree of acetylation of chitin and chitosan by FTIR spectroscopy. *Journal of Biological Macromolecules* 31(3):1-8.
- Elhady MM. 2012. Preparation and characterization of chitosan/zinc oxide nanoparticles for imparting antimicrobial and UV protection to cotton fabric. *Jouurnal of Carbohydrate Chemistry* 6(12):1-7.
- Grenha A, Grainger CI, D LA, Seijo B, Martin GP, Lopez CR, Forbes B. 2007. Chitosan nanoparticles are compatible with respiratory epithelial cells in vitro. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 31(4):73-84.
- Irianto HE dan Muljanah I. 2011. Proses dan aplikasi nanopartikel kitosan sebagai penghantar obat. *Squalen* 6(1):1-8.
- Keuteur J. 1996. Nanoparticles and microparticles for drug and vaccine delivery. *Europe Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 189(15):503-505.
- Kim TY, Cho SY. 2005. Adsorpsi equilibria of reactifiedye onto highly polyaminatid porous chitosan bead. *Korean Journal Chemistry English* 22 (5):691- 696.
- Kolodziejska I, Wojtasz-Pajak A, Ogonowska G, Sikorski ZE (2000) Deacetylation of chitin in a two-stage chemical and enzymatic process. *Bul Sea Fisheries Inst* 2(150):15-24.
- Masooti A, Marino F, Ortaggi G, Palocci C. 2007. Fluorescence and scanning electron microscopy of chitosan/DNA nanoparticles for biological applications. *Journal Nanomedicine* 1(4):507-522.
- Mayas MA dan Al-Remawi. 2012. Properties of chitosan nanoparticles formed using sulfate anions as crosslinking bridges. *American Journal of Applied Sciences* 9(7):1091-1100.
- Mohanraj UJ. 2006. Nanoparticles - A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 5(1):561-573.
- Muzarelli RAA dan Peter MG. 1997. Chitosan Handbook. New York: European Chitin Society.
- No HK dan Meyers SP. 1995. Preparation and characcterization of chitin and chitosan-a review. *Journal Aqua Food Prod Technol.* 42(2):27-52.
- Prasetyo KW. 2010. Pembuatan Kitin, Bisnis Masa Depan. <http://www.biomaterial.lipi.go.id/p=154>. [19 Mei 2014].
- Ravichandran S, Rameshkumar G, Prince AR. 2009. Biochemical composition of shell and flesh of the indian white shrimp *Penaeus indicus* (H. milne Edwards 1837). *Journal of Scientific Research* 4(3):191-194.
- Saleh MR, Abdillah, Suerman E, Basmal J, Indriati N. 1994. Pengaruh suhu, waktu dan konsentrasi pelarut pada ekstraksi kitosan dari limbah pengolahan udang beku terhadap beberapa parameter mutu kitosan. *Jurnal Pasca Panen Perikanan* 81:30-43.
- Silvia SS. 2005. Physical propertis and biocompatibility of chitosan/sury blendet

- membrane. *Journal of Material Science* 16(8): 575-579.
- Suptijah P. 2006. Deskripsi karakteristik fungsional dan aplikasi kitin kitosan. [Prosiding Seminar Nasional Kitin-Kitosan]. Bogor; Indonesia. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Suptijah P, Jacob MA, Rachmania D. 2011. Karakterisasi nano kitosan cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) dengan metode gelasi ionik. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 14(2):78-84.
- Suptijah P, Salamah E, Sumaryanto H, Purwaningsih S, Santoso J. 1992. Pengaruh berbagai isolasi khitin kulit udang terhadap mutunya. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 3(1):1-9.
- Suwarda R, Maarif MS. 2012. Pengembangan inovasi teknologi nanopartikel berbasis pati untuk menciptakan produk yang berdaya saing. *Jurnal Teknik Industri* 13(2):105-122.
- Wahyono D. 2010. Ciri nanopartikel kitosan dan pengaruhnya pada ukuran partikel dan efisiensi penyalutan ketoprofen [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Xu Y, Du Y. 2003. Effect of molecular structure of chitosan on protein delivery properties of chitosan nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics* 250(4):215-226.
- Yang MH, Yuan SS, Huang YF, Lin PC, Lu CY, Chung TW, Tyan YC. 2014. A proteomic view to characterize the effect of chitosan nanoparticle to hepatic cells. *BioMed Research International* 137(6): 1-9.
- Zamani A, Taherzadeh MJ. 2010. Production of low molecular weight chitosan by hot dilute sulfuric acid. *Journal Bio Resources* 5(3):1554-1564.