

Pre-Treatment Cangkang Lobster dengan Asam Klorida untuk Produksi Nanokitosan

Pretreatment of Lobster Shell Using Hydrochloric Acid for Nanochitosan Production

Safrina Dyah Hardiningtyas^{1*}, Anisa Ulfa Safitri¹, Pipih Suptijah¹, dan Rizfi Fariz Pari¹

¹ Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Jawa Barat, Indonesia

Article Info

Received: 2023-06-06

Revised: 2023-06-18

Accepted: 2023-06-19

Online: 2023-06-28

Koresponding:

Safrina Dyah Hardiningtyas,
Departemen Teknologi Hasil
Perairan, Fakultas Perikanan
dan Ilmu Kelautan, Institut
Pertanian Bogor, Bogor, Jawa
Barat, Indonesia

E-mail:

safrina_dyah@apps.ipb.ac.id

Abstrak

Cangkang lobster merupakan hasil samping yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan kitin dan kitosan, namun cangkang lobster mengandung kadar mineral yang tinggi dan menyelimuti polimer kitin pada cangkang. Kitin ini dapat diubah menjadi kitosan dengan proses deasetilisasi. Upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan efisiensi proses ekstraksi kitosan dari cangkang lobster dengan melakukan *pre-treatment* menggunakan asam klorida. Tujuan penelitian ini adalah menentukan waktu *pre-treatment* cangkang lobster dengan asam klorida dan memproduksi nanokitosan dari cangkang lobster. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa waktu *pre-treatment* memberikan pengaruh yang signifikan terhadap nilai rendemen kitosan. Rendemen kitosan tertinggi dihasilkan dari perlakuan *pre-treatment* asam dengan waktu perendaman selama 120 jam dengan nilai sebesar 15,6%. Mutu kitosan lobster dari perlakuan terbaik memenuhi syarat mutu berdasarkan SNI. Nanokitosan berhasil disintesis dengan metode gelasi ionik dengan ukuran partikel sebesar 357,76 nm dan berbentuk bulat berdasarkan foto SEM. Nanokitosan lobster memiliki potensi untuk diaplikasikan dalam berbagai bidang, antara lain pangan, pertanian dan biomedis

Kata kunci: demineralisasi, krustasea, nanopartikel, polimer

Abstract

Lobster shells are a by-product that can be used as a raw material for making chitin and chitosan. However, lobster shells contain a high amount of minerals that cover the chitin polymer on the shell. This chitin can be converted into chitosan by deacetylation process. Efforts that can be made to increase the efficiency of the chitosan extraction process from lobster shells are by pre-treatment using hydrochloric acid. The purpose of this

study was to determine the pre-treatment time of lobster shells with hydrochloric acid and to produce nanochitosan from lobster shells. The results of this study indicate that the pretreatment time has a significant effect on the yield value of chitosan. The highest yield of chitosan was produced from the acid pre-treatment with a soaking time of 120 hours with a value of 15,6%. The quality of lobster chitosan from the best treatment has met the quality requirements based on SNI. Nanochitosan was successfully synthesized by ionic gelation method with a particle size of 357,76 nm and spherical shape based on SEM photos. Lobster nanochitosan has the potential to be applied in various fields, such as food, agriculture, and biomedical.

Keywords: crustacea, demineralization, nanoparticles, polymers

1. Pendahuluan

Kitosan merupakan polimer alami yang bersifat kationik yang dapat diekstrak dari cangkang *crustacea*, serangga, dan jamur. Kitosan merupakan turunan kitin yang monomer tersusun dari monomer D-glukosamin dan N-asetil-D-glukosamin dengan berat molekul sekitar 800 kDa (Janes and Alonso, 2003). Kitosan memiliki keunggulan seperti *biodegradable*, biokompatibel dan tidak beracun sehingga banyak digunakan di berbagai bidang antara lain pertanian dan farmasi. Kitosan pada umumnya diperoleh dari udang. Krustasea lain yang bercangkang keras dan berpotensi sebagai sumber kitin dan kitosan adalah rajungan dan lobster.

Lobster merupakan salah satu jenis *crustacea* yang menjadi komoditas penting di Indonesia karena memiliki nilai ekonomis tinggi. Produksi lobster pada tahun 2021 tercatat mengalami kenaikan dibanding tahun sebelumnya yang mencapai 22,35% dengan jumlah produksi sebanyak 12.438,2 ton. Produksi lobster tersebut dihasilkan hasil tangkap laut dan hasil budidaya (KKP, 2023). Masyarakat pada umumnya hanya mengonsumsi daging lobster saja dan menghasilkan limbah cangkang/karapas lobster sebanyak 50-70% dari total berat (Robert, 1992).

Limbah cangkang lobster ini dapat dimanfaatkan untuk bahan biomaterial bernilai jual tinggi, seperti kitin dan kitosan. Kandungan kitin pada cangkang lobster cukup tinggi mencapai 22% (Xu *et al.*, 2020). Namun, ekstraksi kitosan dari cangkang lobster ini memiliki tantangan, dimana cangkang lobster ini sangat keras karena tingginya kandungan mineral pada cangkang lobster. Penelitian Xu *et al.* (2020) menunjukkan bahwa cangkang

lobster mengandung kadar abu, protein kasar, dan lipid masing-masing sebesar $47,3 \pm 0,2\%$, $21 \pm 3\%$, dan $0,2 \pm 0,01\%$. Struktur cangkang lobster merupakan biokomposit yang tersusun dari 60-80% matriks organik dan 20-40% mineral CaCO_3 sebagai kalsium karbonat amorf dan kalsit (Roer and Dillaman, 1984). Mineral tersebut berada pada lapisan luar cangkang dan menyelimuti bagian kitin. Oleh karena itu, perlu dilakukan *pre-treatment* pada cangkang lobster sebelum proses demineralisasi, deproteinasi dan deasetilasi agar kitin/kitosan dapat terekstrak dengan maksimal. *Pre-treatment* yang dapat dilakukan adalah melakukan perendaman dengan asam klorida. Asam klorida (HCl) merupakan bahan kimia yang paling efektif menghilangkan mineral dalam struktur cangkang *crustacea* dibandingkan dengan bahan kimia lain, misalnya asam asetat (CH_3COOH), asam nitrat (HNO_3) dan asam sulfat (H_2SO_4) (Oyatogun *et al.*, 2020). Oleh karena itu, asam klorida sering digunakan dalam proses demineralisasi.

Kitosan dapat dimodifikasi menjadi partikel berukuran nano meter atau disebut nanopartikel dengan metode kimiawi ataupun mekanis. Metode gelasi ionik merupakan metode yang banyak digunakan dalam proses pembentukan nanopartikel kitosan (nanokitosan) (Sreekumar *et al.*, 2018). Modifikasi ini bertujuan untuk meningkatkan daya serap kitosan serta meningkatkan sifat fungsionalitasnya, misalnya sebagai antibakteri. Menurut Oyatogun *et al.* (2020), daya serap dan kemampuan suspensi nanopartikel kitosan sebagai senyawa antibakteri lebih baik dibandingkan larutan kitosan. Hardiningtyas *et al.* (2022a) melaporkan

bahwa nanokitosan dapat diaplikasikan sebagai *hand sanitizer* dengan konsentrasi efektif sebesar 2000 ppm. Nanokitosan juga dapat dijadikan nanocarrier untuk penghantaran komponen bioaktif, misalnya *nanocarrier* untuk ekstrak etanolik *Spirulina* (Hardiningtyas *et al.*, 2022b) dan *nanocarrier* untuk pigmen fikosianin dari *Spirulina* (Gustiningtyas *et al.*, 2020). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan waktu *pre-treatment* cangkang lobster dengan asam klorida dan memproduksi nanokitosan dari cangkang lobster.

2. Material dan Metode

Material

Cangkang lobster diperoleh dari Tempat Pelelangan Ikan (TPI) Muara Angke, Jakarta. Bahan kimiawi yang digunakan pada penelitian ini antara lain NaOH 3 N, HCl 1 N, NaOH 50%, Natrium hipoklorit (NaOCl), asam asetat 1%, Tween 80, tripolifosfat (TPP) 0,1%, dan akuades.

Metode

Penelitian ini dibagi menjadi empat tahapan, antara lain preparasi dan karakterisasi cangkang lobster, *pre-treatment* cangkang lobster dengan asam klorida, ekstraksi dan karakterisasi kitosan, serta produksi nanokitosan lobster. Metode setiap tahapan tersebut adalah sebagai berikut:

a. Preparasi dan Karakteristik Cangkang Lobster

Cangkang lobster dilakukan preparasi yang meliputi proses pencucian, perebusan dan pengeringan menggunakan oven suhu 40°C. Karakterisasi cangkang lobster meliputi analisis kadar air, kadar abu dan kadar protein yang mengacu pada SNI 01-2891-1992.

b. Pre-treatment Cangkang Lobster dengan Asam Klorida

Sampel cangkang lobster kering *pre-treatment* menggunakan larutan HCl 1N. Cangkang lobster kering sebanyak 150 g direndam ke dalam larutan HCl 1N

dengan waktu perendaman yang berbeda, antara lain 0, 24, 72, dan 120 jam. Setelah perendaman dilakukan proses pencucian. Selanjutnya, masing-masing perlakuan dilakukan proses ekstraksi kitosan. Hasil yang diperoleh dihitung rendemennya.

c. Ekstraksi dan Karakteristik Kitosan (modifikasi Suptijah *et al.*, 2012)

Ekstraksi kitosan dari cangkang lobster terdiri dari beberapa tahap, yaitu demineralisasi, deproteinasi, dekolorisasi, dan deasetilasi. Langkah pertama adalah proses demineralisasi yaitu: cangkang lobster yang telah dilakukan *pre-treatment* diekstraksi dengan larutan HCl 1 N, 1:7 pada suhu 90°C selama 1 jam. Tahapan kedua, perendaman residu cangkang lobster dengan larutan NaOH 3 N selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan deproteinasi menggunakan larutan NaOH 3N, 1:10 pada suhu 90°C selama 1 jam. Tahap ketiga, sampel dilakukan dekolorisasi menggunakan natrium hipoklorit (NaOCl) 0,1%. Tahapan keempat adalah proses deasetilasi sampel menggunakan larutan NaOH 50%, 1:10 pada suhu 120°C selama 1 jam. Pada setiap akhir tahapan dilakukan proses netralisasi dengan mencuci sampel dengan akuades hingga pH netral (6-7). Sampel padatan yang diperoleh pada tahapan akhir dikeringkan menggunakan oven suhu 40°C. Padatan yang diperoleh disebut kitosan. Bobot kitosan ditimbang dan kemudian dihitung persen rendemennya. Kitosan dengan rendemen tertinggi dikarakterisasi dengan melakukan analisis proksimat yang mengacu pada SNI 01-2891-1992 terdiri kadar air, kadar abu, dan kadar nitrogen serta analisis gugus fungsi menggunakan spektrofotometer FT-IR.

d. Produksi Nanopartikel Kitosan (modifikasi metode Suptijah *et al.*, 2011)

Pertama-tama, larutan kitosan dibuat dengan cara melarutkan 3 g serbuk kitosan dalam 60 mL asam asetat 1% hingga membentuk gel. Akuades selanjutnya ditambahkan hingga 1 L kemudian dihomogenisasi menggunakan

magnetic stirrer dengan kecepatan 3700 rpm selama 2 jam. Konsentrasi final larutan kitosan yang dihasilkan adalah 0,3%. Larutan kitosan tersebut ditambahkan Tween 80 kemudian homogenisasi selama 1 jam. Tahapan akhir ditambahkan 200 mL tripolifosfat 0,1% dan homogenisasi selama 1 jam, hasil akhir dari proses ini disebut nanokitosan. Nanokitosan kering dipreparasi menggunakan alat *spray dryer*. Ukuran partikel nanokitosan diamati menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) sedangkan morfologi nanokitosan kering menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM).

e. Analisis Data

Pada penelitian ini, rancangan percobaan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) satu faktorial yaitu waktu perendaman pada proses *pre-treatment* cangkang lobster menggunakan asam klorida, sedangkan jumlah tarafnya sebanyak 4, yaitu 0, 24, 72, dan 120 jam. Semua perlakuan dilakukan sebanyak tiga ulangan. Parameter yang dijadikan respon adalah rendemen kitosan (%). Data parameter tersebut dianalisis menggunakan sidik ragam/ *analysis of variance* (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh waktu perendaman cangkang lobster pada proses *pre-treatment* terhadap persentase rendemen kitosan yang dihasilkan. Selang kepercayaan yang digunakan adalah 95%. Jika

perlakuan berpengaruh ($p < 0,05$) maka dilakukan uji lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil. Analisis menggunakan aplikasi Data Analysis pada Ms Excel.

3. Hasil dan Pembahasan

Komposisi Kimiawi Cangkang Lobster Kering

Komposisi yang diamati pada bahan baku adalah kadar protein dan kadar abu yang dihitung dengan metode basis kering. Analisis kedua parameter tersebut sangat diperlukan untuk menentukan metode ekstraksi kitosan dari cangkang *crustacea* terutama pada tahapan demineralisasi dan deproteinasi. Cangkang lobster diketahui memiliki kadar abu paling tinggi dibandingkan dengan cangkang dari jenis *crustacea* lainnya, sedangkan kadar proteinnya terendah (Tabel 1). Kadar abu merepresentasikan kandungan mineral pada cangkang tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan mineral pada cangkang lobster yang digunakan pada penelitian ini sangat tinggi. Oleh karena itu, diperlukan modifikasi proses ekstraksi kitosan dari cangkang lobster ini, yaitu dengan *pre-treatment* asam pada suhu ruang. Mergelsberg *et al.* (2019) melaporkan bahwa kandungan kalsium karbonat amorf pada bagian *thorax* (kepala) dan *chela* (*capit*) lobster masing-masing dapat mencapai 86% dan 97%.

Tabel 1. Komposisi kimia cangkang lobster (*P. versicolor*) dibandingkan dengan jenis cangkang krustasea lain

Parameter	Jenis cangkang krustasea				
	Cangkang lobster (<i>Panulirus versicolor</i>)	Cangkang Lobster (<i>Homarus americanus</i>) ¹	Cangkang Udang windu ²	Cangkang Udang vanamei ²	Cangkang kepiting bakau ²
Kadar protein (% bk)	12,24±0,19	21 ± 3	38.00±0.27	30.43±0.60	17.28±0.41
Kadar abu (% bk)	56,72±0,34	47,3 ± 0,2	27.87±1.35	22.34±0.37	74.22±1.00

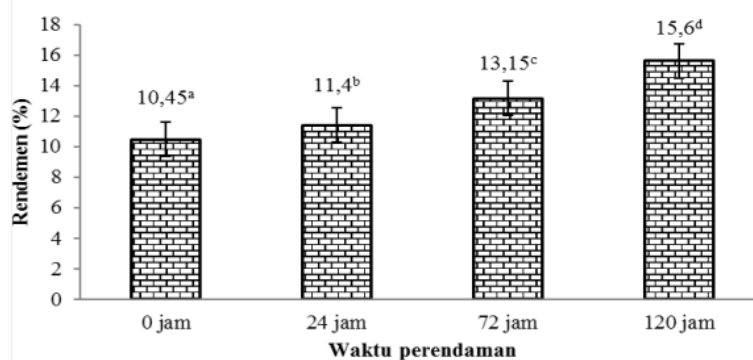
Keterangan: 1) Xu *et al.* (2020), 2) Mursida *et al.* (2018)

Pengaruh Pre-treatment Cangkang Lobster terhadap Rendemen Kitosan
 Cangkang lobster diketahui

mengandung tinggi mineral, sehingga dibutuhkan proses demineralisasi yang optimal. Upaya yang dilakukan agar demineralisasi cangkang lobster optimal

adalah dengan proses *pre-treatment* menggunakan HCl 1N sebelum tahapan demineralisasi pada proses ekstraksi kitosan dari cangkang lobster. *Pre-treatment* cangkang lobster menggunakan

asam klorida (HCl) 1 N dengan waktu perendaman yang berbeda pada suhu ruang. Hasil perlakuan *pre-treatment* terhadap rendemen kitosan terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Rendemen kitosan lobster dengan perlakuan waktu *pre-treatment* HCl yang berbeda. Huruf *superscript* yang berbeda menunjukkan perbedaan antar perlakuan ($p < 0,05$).

Berdasarkan analisis ANOVA, perbedaan waktu perendaman cangkang lobster pada *pre-treatment* HCl berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap rendemen kitosan yang dihasilkan. Semakin lama proses perendaman, rendemen kitosan yang dihasilkan semakin tinggi (Gambar 1). Waktu perendaman selama 120 jam menunjukkan nilai rendemen kitosan tertinggi, yakni mencapai 15,6%. Hal ini menunjukkan bahwa mineral dalam cangkang dapat hilang secara optimal dengan bantuan *pre-treatment* HCl 1N selama 120 jam. Proses demineralisasi diduga dapat mempengaruhi rendemen kitosan yang dihasilkan.

Menurut persamaan stoikiometri, diperlukan dua molekul HCl untuk mengubah satu molekul CaCO_3 menjadi CaCl_2 untuk menyelesaikan proses demineralisasi. Untuk meningkatkan efisiensi dari reaksi demineralisasi, asupan asam harus sama atau bahkan lebih besar dari jumlah stoikiometri mineral

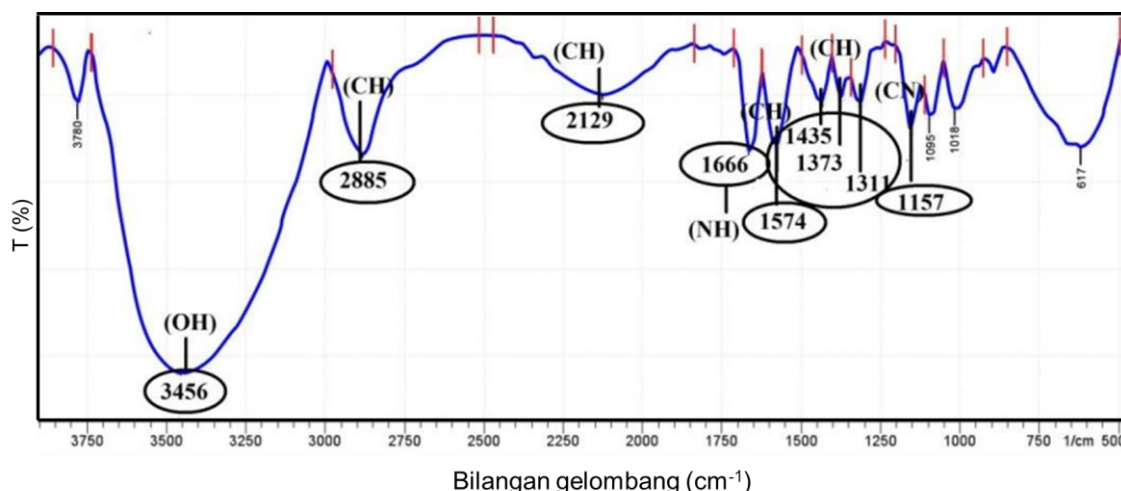
(Percot *et al.*, 2003). Menurut Pakizeh *et al.* (2021), keberhasilan proses perlakuan demineralisasi tergantung pada kandungan mineral cangkang, konsentrasi asam, waktu reaksi, suhu, ukuran partikel dan rasio zat terlarut/pelarut

Karakteristik Kitosan dari Cangkang Lobster

Karakterisasi kitosan lobster dilakukan pada perlakuan terbaik dari tahapan *pre-treatment* HCl 1N, yakni waktu perendaman 120 jam. Kenampakan bahan baku cangkang lobster, hasil deasetilasi (ekstrak kitosan basah) dan kitosan lobster perlakuan terbaik dapat dilihat pada Gambar 2. Ekstrak kitosan lobster kering (Gambar 2c) dikarakterisasi dengan menganalisis gugus fungsi menggunakan spektrofotometer FTIR untuk memverifikasi keberhasilan proses ekstraksi untuk menghasilkan polimer kitosan. Spektrum FTIR sampel tersebut disajikan pada Gambar 3.



Gambar 2. Kenampakan (a) bahan baku cangkang lobster segar (b) hasil deasetilasi dan (c) kitosan lobster



Gambar 3 Spektrum FTIR kitosan lobster dengan perlakuan *pre-treatment* terbaik (120 jam)

Berdasarkan spektrum FTIR (Gambar 3), kitosan lobster dari perlakuan terbaik memiliki serapan puncak pada beberapa bilangan gelombang, antara lain: 3436, 2885, 2129, 1666, 1579, 14, 1373, 1311, dan 1157 cm^{-1} . Hal ini menunjukkan bahwa sampel yang dianalisis memiliki berapa gugus fungsi, antara lain gugus fungsi hidroksil (-OH), gugus fungsi metil (C-H), gugus fungsi amida (NH). Kehadiran gugus residu N-asetil dikonfirmasi oleh pita pada sekitar 1666 cm^{-1} (uluran C=O amida I) dan 1311 cm^{-1} (uluran C-N amida III). Pita serapan pada 1157 cm^{-1} dapat dikaitkan dengan peregangan asimetris jembatan C-O-C. Hasil ini menunjukkan bahwa sampel penelitian ini merupakan polimer kitosan berdasarkan gugus fungsi penciri yang dimiliki.

Pada spektrum FTIR tidak ditemukan serapan gugus asetil ($\text{CH}_3\text{COO}-$) yang umumnya muncul pada rentang bilangan gelombang sekitar 1750-1730 cm^{-1} . Hal ini mengindikasikan bahwa kitosan lobster dari perlakuan terbaik memiliki derajat deasetilasi yang tinggi. Hasil perhitungan menggunakan rumus Domszy and Robert (1985) dalam Pari *et al.* (2022) menunjukkan bahwa kitosan lobster memiliki derajat deasetilasi sebesar 92,51%. Nilai ini menegaskan bahwa sampel kitosan lobster tergolong polimer kitosan. Nilai derajat deasetilasi (DD) merupakan salah satu parameter yang dapat digunakan untuk menentukan apakah sampel tergolong kitin atau kitosan. Apabila nilai DD berkisar 10-65% masih tergolong kitin, sedangkan nilai DD >75% tergolong kitosan (BSN 2013 a dan b).

Tabel 2 Karakteristik kitosan lobster dengan perlakuan *pre-treatment* terbaik (120 jam)

Parameter Kitosan lobster	Hasil Penelitian	Syarat mutu ¹
Warna	Putih kekuningan	coklat muda sampai putih
Benda Asing	negatif	negatif
Ukuran Partikel	serpihan	serpihan (<i>flake</i>)
Kadar Air	4,9±0,07%	maks 12%
Kadar Abu	0,18±0,04%	maks 5%
Derajat Deasetilasi	92,51%	min 75%
Nitrogen	2,71±0,03%	maks 5%

Keterangan: ¹ BSN (2013)^b

Karakterisasi kitosan lobster juga dilakukan dengan membandingkan kesesuaian beberapa parameter dengan syarat mutu kitosan berdasarkan SNI

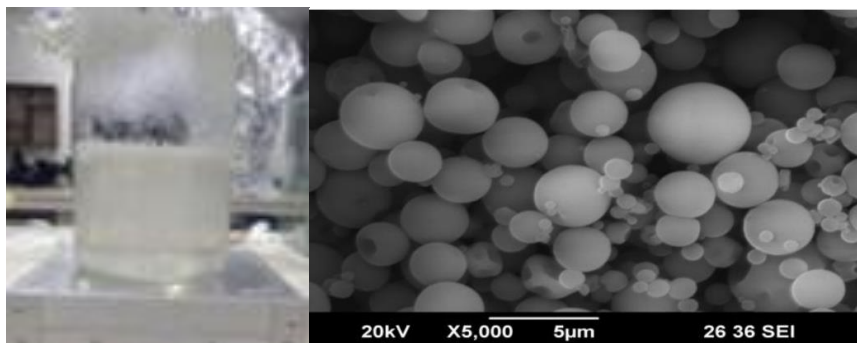
7949:2013 (Tabel 2). Sampel kitosan lobster dari perlakuan *pre-treatment* HCl terbaik menunjukkan sudah memenuhi syarat mutu untuk kitosan berdasarkan

SNI 7949:2013. Hal yang menarik adalah kadar abu pada kitosan lobster sangat kecil, yaitu $0,18 \pm 0,04\%$. Hasil ini menunjukkan bahwa *pre-treatment* HCl 1N selama 120 jam berperan dalam penghilangan mineral sehingga dihasilkan kitosan dengan kualitas yang baik.

Karakteristik Nanokitosan dari Cangkang Lobster

Nanokitosan dari cangkang lobster berhasil disintesis dengan metode gelasi ionik. Suspensi nanokitosan yang dihasilkan memiliki kenampakan yang berwarna putih transparan atau *cloudy* (Gambar 4a). Ukuran rata-rata partikel (*z-average*) yang ada dalam suspensi adalah 357,76 nm. Namun, keragaman ukuran partikel pada suspensi tersebut sangat homogen, yang ditunjukkan oleh nilai *polydispersity indeks* (PDI) >1 .

Keragaman ukuran partikel pada suspensi diduga dapat mempengaruhi kestabilan nanokitosan tersebut. Menurut Avadi (2010), apabila nanopartikel memiliki nilai PDI $>0,4$ maka partikel mudah beragregasi sehingga mengendap. Ukuran partikel nanokitosan yang dihasilkan dengan metode gelasi ionik sangat ditentukan oleh beberapa faktor, antara lain kecepatan *stirrer* yang digunakan (Chang, 2005), konsentrasi *crosslinker* yang digunakan, misalnya TPP (Rachmania, 2011), dan rasio antara kitosan dan tripolifosfat (Sreekumar *et al.*, 2018). Foto SEM nanokitosan menunjukkan bahwa nanokitosan lobster memiliki bentuk bulat dengan ukuran partikel nanokitosan tidak seragam atau heterogen (Gambar 4b), sesuai dengan nilai PDI nya.



Gambar 4. Visualisasi (a) suspensi dan (b) foto SEM nanokitosan cangkang lobster

4. Kesimpulan

Cangkang lobster *Panulirus versicolor* memiliki kandungan abu yang tinggi, yaitu $56,72 \pm 0,34\%$, dibandingkan dengan cangkang udang dan lobster *Homarus americanus*. Proses *pre-treatment* dengan asam klorida 1N dengan waktu perendaman yang berbeda mempengaruhi rendemen kitosan yang dihasilkan. Waktu perendaman asam klorida yang terpilih adalah 120 jam. Kitosan lobster dengan kualitas yang sesuai syarat mutu SNI 7949: 2013 berhasil diperoleh dengan perlakuan *pre-treatment* terbaik. Nanokitosan lobster berhasil disintesis. Cangkang lobster dapat dijadikan sumber bahan baku untuk menghasilkan nanokitosan.

Daftar Pustaka

- Avadi, M. R., Sadeghi, A. M. M., Mohammadpour, N., Abedin, S., Atyabi, F., Dinarvand, R., & Rafiee-Tehragni, M. (2010). Preparation and characterization of insulin nanoparticles using chitosan and arabic gum with ionic gelation method. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 6(1):58-63. DOI: 10.1016/j.nano.2009.04.007.
- BSN [Badan Standardisasi Nasional]. (2013a). Kitin - syarat mutu dan pengolahan. SNI 7949: 2013. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional (BSN).

- BSN [Badan Standardisasi Nasional]. (2013b). Kitosan - syarat mutu dan pengolahan. SNI 7949: 2013. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional (BSN).
- Chang, R. (2005). Kimia dasar: Konsep-konsep inti (Jilid 2). Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Gustingtyas, A., Setyaningsih, I., & Hardiningtyas, S. D. (2020). Improvement stability of phycocyanin from *Spirulina platensis* encapsulated by water soluble chitosan nanoparticles. IOP Conf Series: *Earth and Environmental Science*, 414:(2020) 012005. DOI: 10.1088/1755-1315/414/1/012005.
- Hardiningtyas, S. D., Bahri, D. F., & Suptijah, P. (2022a). Aktivitas antimikroba nanokitosan cangkang udang sebagai sediaan pembersih tangan. *Journal of Marine and Coastal Science*, 11(1):1-8
- Hardiningtyas, S. D., Putri, F. A., & Setyaningsih, I. (2022b). Antibacterial activity of ethanolic *Spirulina platensis* extract-water soluble chitosan nanoparticles. IOP Conf Series: *Earth and Environmental Science*, 1033:(2022) 012053, DOI: 10.1088/1755-1315/1033/1/012053.
- Janes, K. A., & Alonso, M. J. (2003). Depolymerized chitosan nanoparticles for protein delivery: Preparation and characterization. *Journal of Applied Polymer Science*, 88(12):2769-2776. DOI: 10.1002/app.12016.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan [KKP]. (2023). Data produksi lobster. <https://statistik.kkp.go.id/>
- Mergelsberg, S. T., Ulrich, R. N., Xiao, S., & Dove, P. M. (2019). Composition systematics in the exoskeleton of the American Lobster, *Homarus americanus* and implications for Malacostraca. *Frontiers in Earth Science*, 7:69. DOI: 10.3389/feart.2019.00069.
- Mursida, M., Tasir, T., & Sahriawati, S. (2018). Efektifitas larutan alkali pada proses deasetilasi dari berbagai bahan baku kitosan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(2):356-366. DOI: 10.17844/jphpi.v21i2.23091.
- Oyatogun, G. M., Esan, T. A., Akpan, E. I., Adeosun, S. O., Popoola, A. P. I., Imasogie, B. I., Soboyejo, W. O., Afonja, A. A., Ibitoye, S.A., Abere, V. D., Oyatogun, A. O., Oluwasegun, K. M., Akinwole, I. E., Akinluwade, K. J. (2020). Chitin, chitosan, marine to market. In Gopi, S., Thomas, S., Pius, A. (Ed.), *Handbook of chitin and chitosan*. (pp. 341-381). Amsterdam: Elsevier. DOI: 10.1016/b978-0-12-817970-3.00011-0.
- Pakizeh, M., Moradi, A., & Ghassemi, T. (2021). Chemical extraction and modification of chitin and chitosan from shrimp shells. *European Polymer Journal*, 159(2021):110709. DOI: 10.1016/J.EURPOLYMJ.2021.110709.
- Pari, R. F., Mayangsari, D., & Hardiningtyas, S. D. (2022). Depolimerisasi kitosan dari cangkang udang dengan enzim papain dan iradiasi sinar ultraviolet. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 25(1):118-131. DOI: 10.17844/jphpi.v25i1.40311.
- Percot, A., Viton, C., & Domard, A. (2003). Characterization of shrimp shell deproteinization. *Biomacromolecules*, 4(5):1380-1385. DOI: 10.1021/ bm034115h.

- Rachmania, D. (2011). Karakteristik nanokitosan cangkang udang vananmei (*Litopenaes vannamei*) dengan metode gelasi ionik [skripsi]. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Roberts, G. A. F. (1992). Chitin chemistry (1st ed). London: Macmillan.
- Roer, R., & Dillaman, R. (1984). The structure and calcification of the crustacean cuticle. *American Zoologist*, 24:893-909.
- Sreekumar, S., Goycoolea, F. M., Moerschbacher, B. M., & Rivera-Rodriguez, G. R. (2018). Parameters influencing the size of chitosan-TPP nano-and microparticles. *Scientific Reports*, 8(1):1-11.
- Suptijah, P., Jacob, A. M., & Deviyanti, N. (2012). Karakterisasi dan bioavailabilitas nanokalsium cangkang udang vannamei (*Litopenaesus vannamei*). *Jurnal Akuatika*, 3(1):63-73.
- Suptijah, P., Jacob, A. M., & Rachmania, D. (2011). Karakterisasi nano kitosan cangkang udang vannamei (*Litopenaesus vannamei*) dengan metode gelasi ionik. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 14(2):78-84.
- Xu, W., Mohan, A., Pitts, N. L., Udenigwe, C., & Mason, B. (2020). Bile acid-binding capacity of lobster shell-derived chitin, chitosan and chitooligosaccharides. *Food Bioscience*, 33(2020):100476. DOI: 10.1016/j.fbio.2019.100476.