

Synthesis of Chitosan from Crab Shells Using Microwave Heating Method

Sintesis Kitosan dari Cangkang Kepiting Dengan Metode Pemanasan Microwave

Salmahaminati*

¹*Jurusan Ilmu Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Jl. Kaliurang km. 14,5, Yogyakarta 55584, Indonesia*

*e-mail: salmahaminati@uii.ac.id

Abstract

Chitosan was synthesized through the reaction of chitin deacetylation with NaOH solution by microwave irradiation. The microwave has the process of a faster synthesis procedure compared to conventional methods. Chitosan has been characterized by FTIR (Fourier transform infrared) instrument. The results showed that the degree of deacetylation obtained was 76.5% after irradiating chitin with 45% NaOH solution in a microwave for 2 minutes with a power of 900 watts. This method provides fast, clean and easy processing results.

Keywords: *microwave, synthesis, chitosan, crab shell*

Abstrak

Kitosan disintesis melalui reaksi deasetilasi kitin dengan larutan NaOH dengan iradiasi gelombang mikro. Hal tersebut menggambarkan proses sebuah prosedur sintesis cepat dibandingkan untuk metode konvensional. Kitosan telah dikarakterisasi dengan instrumen FTIR (Fourier transform infrared). Hasil penelitian menunjukkan bahwa derajat deasetilasi yang diperoleh adalah 76,5% tercapai setelah penyinaran kitin dengan larutan NaOH 45% dalam microwave selama 2 menit dengan daya 900 watt. Metode ini memberikan hasil proses cepat, bersih dan mudah.

Kata kunci: *microwave, sintesis, kitosan, cangkang kepiting*

PENDAHULUAN

Wilayah perairan Indonesia merupakan sumber cangkang hewan *invertebrate* laut berkulit keras (*Crustacea*) yang mengandung kitin secara berlimpah. Kitin yang terkandung dalam *Crustacea* berada dalam kadar yang cukup tinggi berkisar 20-60% tergantung spesies. Limbah berkitin di Indonesia yang dihasilkan saat ini sekitar 56.200 ton pertahun. Lebih dari 80.000 ton kubik kitin diperoleh dari limbah laut

dunia per tahun. (Departemen Kelautan dan Perikanan, 2000)

Kepiting bakau (*Scylla serrata*) merupakan salah satu komoditas penting bagi hasil perikanan Indonesia. Pada umumnya, kepiting bakau dapat diperoleh dalam bentuk daging yang telah dipasteurisasi. Hasil samping pengolahan daging kepiting berupa limbah cangkang (kulit dan kepala). Limbah ini belum dimanfaatkan secara baik dan efisien bahkan sebagian besar merupakan

buangan yang juga turut mencemari lingkungan. Salah satu alternatif upaya pemanfaatan limbah cangkang kepiting agar memiliki nilai dan daya guna, limbah kepiting diolah menjadi produk yang bernilai ekonomis tinggi adalah dengan pengolahan kitin menjadi kitosan.

Kitin merupakan polimer berantai lurus tersusun atas residu N-asetilglukosamina melalui ikatan β -(1,4) yang terdapat berlimpah di alam setelah selulosa. Secara umum kitin banyak terdapat pada eksoskeleton atau kutikula serangga, *crustacea*, dan jamur. Senyawa kitin biasanya dijumpai sebagai komponen eksoskeleton kelompok *Crustaceae*, dinding selinsekta, kapang dan kamir (Tsigos *et al*, 2000).

Kitosan merupakan polimer alam yang keberadaannya sangat melimpah di alam. Kebanyakan kitosan diisolasi dari rangka luar hewan *crustaceae* seperti udang, kepiting, rajungan dan kerang. Kitosan terbentuk menjadi polimer yang panjang melalui ikatan β (1,4) dari polisakarida D-glukosiamin yang telah mengalami deasetilasi dari senyawa kitin (Badawy *et al*, 2003). Kitosan terdiri dari unit N-asetil glukosamin dan N glukosamin. Adanya gugus reaktif amino pada atom C-2 dan gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-6 pada kitosan bermanfaat dalam aplikasinya yang luas yaitu sebagai pengawet hasil perikanan dan penstabil warna produk pangan, sebagai flokulan dan membantu

proses *reverse* osmosis dalam penjernihan air, aditif untuk produk agrokimia dan pengawet benih (Muzzarelli dan Peter, 1997). Saat ini kitosan komersial diproduksi secara termokimiawi. Cara ini dalam banyak hal tidak menguntungkan diantaranya tidak ramah lingkungan, prosesnya tidak mudah dikendalikan, dan kitosan yang dihasilkan memiliki berat molekul dan derajat deasetilasi tidak seragam. Hal ini karena proses deasetilasi rantai kitin yang berlangsung secara acak menghasilkan kitosan dengan derajat deasetilasi bervariasi (Tsigos *et al*, 2000). Derajat deasetilasi minimal 70% umumnya dimanfaatkan untuk industri pangan, industri kosmetika dan biomedis sedikitnya 80 dan 90% (Subianto, 2001).

Dalam bidang kimia beberapa tahun terakhir *microwave* telah menerima banyak perhatian karena dapat mempercepat laju reaksi daripada pemanas konvensional. Terlepas dari itu, digunakan iradiasi gelombang mikro untuk melaksanakan reaksi kimia pada beberapa proses bioteknologi. Beberapa peneliti sebelumnya telah menggunakan *microwave* iradiasi untuk immobilisasi protein (Nahar dan Bora, 2004). *Microwave* iradiasi telah digunakan untuk modifikasi kitosan (Liu *et al*, 2004). Peneliti sebelumnya (Peniston dan Johnson, 1979) telah mempatenkan suatu proses untuk memperoleh kitosan dari kitin, yang juga menggunakan gelombang mikro untuk

pengobatan. Pada penelitian ini, dicoba metode sederhana dan cepat untuk-N deasetilasi kitin untuk memproduksi kitosan menggunakan iradiasi gelombang mikro dan selanjutnya dikarakterisasi secara rinci menggunakan FTIR.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah Alat gelas, Penyaring Buchner, Saringan 100 mesh, Seperangkat alat refluks, Stirer, Indikator pH, Kertas saring, Oven, *Microwave*, Alat Instrumen fourier transform inframerah Shimadzu FTIR Prestige-21.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah Limbah Cangkang Kepiting bakau yang di ambil dari restoran Muara Kapuas, Yogyakarta, Indonesia, Asam klorida (HCl) 37%, HCl 5%, Natrium Hidroksida (NaOH) 5%, Natrium Hidroksida (NaOH) 45% dan Akuades.

Prosedur kerja

Isolasi kitin dari cangkang kepiting

Cangkang kepiting yang digunakan diperoleh dari Restoran Muara Kapuas Yogyakarta, Indonesia selama 1 minggu. Cangkang kepiting yang didapat kemudian diolah dengan proses pencucian dan penjemuran.

Kulit kepiting dihancurkan hingga lembut (berbentuk serbuk). Proses

demineralisasi dilakukan dengan melarutkan 100 g cangkang kepiting ke dalam larutan HCl 5%. Larutan tersebut diaduk secara merata selama 1 sampai 2 jam pada suhu kamar dengan perbandingan berat serbuk kepiting (gram) : volume HCl 5% (mL) adalah 1 : 10. Setelah itu serbuk kulit kepiting ditiriskan dengan kertas saring dan dicuci dengan akuades hingga di dapat pH \pm 7, Hasil residu disaring dan dikeringkan dengan pemanasan oven pada suhu 80 °C. Proses demineralisasi ini bertujuan untuk menghilangkan mineral-mineral yang terkandung dalam kulit kepiting, terutama kalsium.

Langkah berikutnya adalah proses deproteinasi. 14 g serbuk cangkang kepiting hasil demineralisasi di refluks dalam larutan NaOH 5% dengan suhu 65 °C-80 °C sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* agar merata selama 1,5 jam hingga 2 jam dengan perbandingan berat serbuk kepiting (gram) : volume NaOH 5% (mL) adalah 1 : 10. Setelah itu serbuk kulit kepiting ditiriskan dengan kertas saring dan dicuci dengan akuades hingga di dapat pH \pm 7, Hasil residu disaring dan dikeringkan dengan pemanasan oven pada suhu 80 °C. Dari proses tersebut dihasilkan kitin. Setelah berat keringnya konstan maka sebagian hasil digunakan untuk analisis FTIR.

Sintesis kitosan melalui media Microwave

Pada sintesis kitosan dilakukan proses deasetilasi dari kitin yang telah dihasilkan sebelumnya. 2 gram serbuk kepiting kitin dilarutkan dalam 25 ml 45% w/v NaOH ditambahkan dicampur dengan pengocokan. Larutan tersebut kemudian diletakkan dalam *microwave* dengan lama sinaran 2 menit. Produk disaring dan dicuci dengan distilasi air sampai pH \pm 7. Hasil residu setelah disaring dikeringkan dengan pemanasan oven pada suhu 100 °C. Setelah berat keringnya konstan maka siap digunakan untuk analisis FTIR.

Karakterisasi kitin dan kitosan

Kitin dan kitosan yang diperoleh dari cangkang kepiting dikarakterisasi dengan spektrofotometer fourier transform inframerah (FTIR).

Penentuan derajat deasetilasi

Derajat deasetilasi ditentukan untuk mengetahui seberapa besar kitin yang sudah berubah menjadi kitosan. Derajat deasetilasi kitosan ditentukan berdasarkan rumus (Brugnerotto *et al*):

$$DD = 100 - \left[\frac{(A_{1655} / A_{3441,2}) \times 100}{1,33} \right]$$

(Baseline a)

$$DD = 100 - \left[(A_{1655} / A_{3441,2}) \times 115 \right]$$

(Baseline b)

PEMBAHASAN

Isolasi kitin dari cangkang kepiting

Hasil perhitungan rendemen serta pengamatan terhadap tekstur senyawa kitin yang dihasilkan dari kedua sampel adalah:

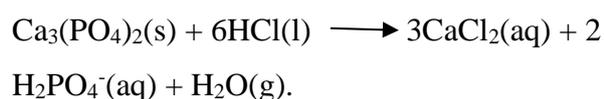
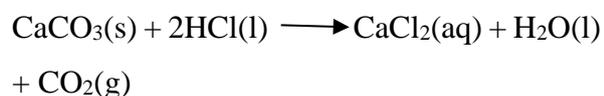
Sampel	: Cangkang Kepiting
Berat sampel	: 100 g
Kitin yang diperoleh	: 14,43 g
Rendemen kitin	: 14,43%
Tekstur kitin	: Serbuk krem

Rendemen kitin yang diperoleh dari cangkang kepiting sebesar 14,43%, hal ini sedikit berbeda dengan literatur dimana cangkang kepiting mengandung kitin sebesar 18,70-32,90% sedangkan kandungan mineral cangkang kepiting diperkirakan 53,70-78,40% (Marganov, 2003). Pada umumnya kandungan kitin dari beberapa spesies diantaranya pada kepiting sebesar 60 %, udang 42-57 %, cumi-cumi 40%, dan kerang 14-35%, serta ulat hongkong sebesar 12,8%.

Kulit kepiting yang telah disimpan tidak perlu direbus lagi, mengingat proses pemasakan di restoran sudah mencakup proses perebusan. Kulit kepiting tersebut kemudian dihancurkan hingga lembut (berbentuk serbuk). Hal ini bertujuan untuk memudahkan pengolahan pada beberapa langkah selanjutnya. Proses pemisahan mineral ditunjukkan dengan terbentuknya gas CO₂ berupa gelembung udara pada saat larutan HCl ditambahkan ke dalam sampel (Hendry, 2008). Cangkang kepiting mengandung lebih banyak mineral, ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung

udara pada saat penambahan HCl ke dalam sampel, sehingga penambahan HCl dilakukan secara bertahap agar sampel tidak meluap.

Reaksi yang terjadi adalah:



Tahap demineralisasi bertujuan untuk menghilangkan mineral anorganik CaCO_3 dan $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ yang ada pada cangkang kepiting. Mineral utama pada cangkang kepiting adalah dalam jumlah minor. Untuk menghilangkan HCl yang mungkin masih tertinggal dilakukan proses pencucian dengan akuades sampai netral.

Pada penelitian sebelumnya, Ernawati memperoleh rendemen kitin hanya sebesar 9,54% (Ernawati, 2008). Hal ini kemungkinan disebabkan karena pada proses demineralisasi menggunakan HCl 1,5 M tidak disertai dengan pemanasan dan proses hanya 1 jam. Puspawati dan Simpen memperoleh rendemen kitin yang cukup baik sebesar 20,91% disebabkan pada proses demineralisasi dilakukan dengan menggunakan HCl 1,5 M selama 4 jam pada suhu 70-80 °C (Puspawati dan Simpen, 2009). Sementara pada penelitian ini, demineralisasi dilakukan dengan menggunakan HCl 5% (1,6 M) selama 24 jam pada suhu ± 40 °C menggunakan pemanas *Hot plate*, hal ini menunjukkan bahwa suhu dan waktu reaksi

sangat berpengaruh terhadap rendemen kitin yang diperoleh serta dipengaruhi faktor penyaringan karena menggunakan penyaring Buhner dengan kertas saring biasa yang ukuran porinya tertentu, ketika ada serbuk yang ukuran porinya lebih kecil maka akan tidak tersaring dan ikut terbuang hal ini yang menyebabkan rendemennya lebih sedikit.

Faktor lain yang berpengaruh terhadap jumlah rendemen kitin adalah urutan tahap pembuatan kitin, isolasi kitin dilakukan melalui dua tahap, yaitu proses demineralisasi dan deproteinasi. Pada penelitian yang dilakukan Ernawati (Ernawati, 2008), isolasi kitin dilakukan melalui tahap deproteinasi dilanjutkan dengan tahap demineralisasi. Pada penelitian ini, tahap demineralisasi dilakukan terlebih dahulu kemudian dilanjutkan dengan tahap deproteinasi. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Alamsyah yang menyatakan bahwa isolasi kitin melalui tahap demineralisasi-deproteinasi menghasilkan rendemen yang lebih banyak dibandingkan dengan tahap isolasi kitin melalui tahap deproteinasi-demineralisasi (Alamsyah, 2007). Hal ini dikarenakan mineral membentuk *shield* (pelindung) yang keras pada cangkang kepiting, pada umumnya mineral lebih keras dibandingkan protein, sehingga dengan menghilangkan mineral terlebih dahulu, pada tahap deproteinasi basa dapat lebih optimal menghilangkan protein, karena pelindung yang terbuat dari mineral telah hilang.

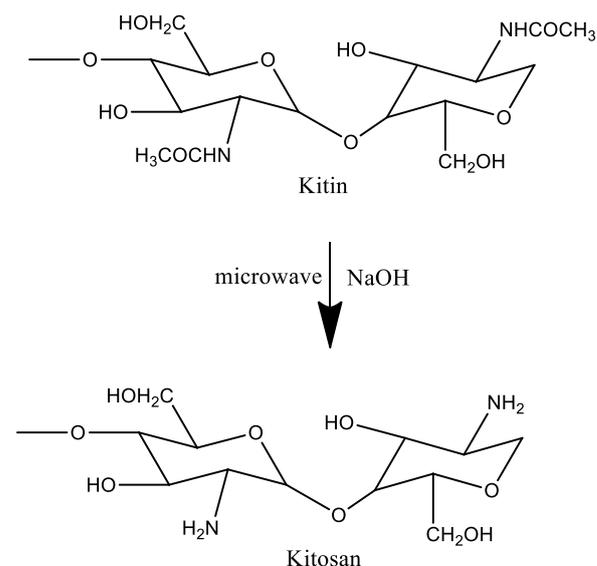
Deproteinasi bertujuan untuk memutuskan ikatan antara protein dan kitin, dengan cara menambahkan natrium hidroksida. Rendemen setelah deproteinasi sebesar 14,43%. Rendemen ini merupakan rendemen kitin. Protein yang terekstrak dalam bentuk Naproteinat dimana ion Na^+ mengikat ujung rantai protein yang bermuatan negatif sehingga mengendap.

Sintesis kitosan menggunakan *Microwave*

Iradiasi gelombang mikro beberapa tahun ini telah menarik perhatian dan menjadi metode semakin populer karena reaksi kimia menawarkan metode bersih, murah, dan nyaman, ramah lingkungan. Pemanasan pada *microwave* menghasilkan rendemen yang lebih tinggi dan waktu reaksi yang lebih pendek. Hal tersebut merupakan keuntungan utama media *microwave* yaitu dengan waktu singkat, pemanasan material yang homogen dan selektif dengan cara yang tidak dapat dicapai oleh pemanasan konvensional. Pada penelitian ini diperoleh bahwa pemanasan *microwave* dapat digunakan untuk menyiapkan biopolimer seperti kitosan yang lebih efisien daripada pemanasan konvensional. Dari percobaan sebelumnya Sahu dkk mensintesis kitosan melalui media *microwave* dengan variasi waktu dan diperoleh kondisi optimum dengan DD kitosan 85%, pada waktu 5,5 menit (Sahu *et al*, 2009). Penelitian ini mensintesis kitosan dari kitin yang bereaksi dengan NaOH 45%

(11 M) melalui *microwave* dalam waktu periode 2 menit.

Kitin hasil deproteinasi dideasetilasi dengan menambahkan NaOH pekat konsentrasi 45%. Pada bagian kitin dengan perbandingan 1:12 (w/v) antara kitin dengan pelarut. Campuran diaduk dan dipanaskan pada suhu 100 °C selama 2 menit dan daya 900 watt. Kondisi ini digunakan karena struktur sel-sel kitin yang tebal dan kuatnya ikatan hidrogen intramolekul antara atom hidrogen pada gugus amin dan atom oksigen pada gugus karbonil. Proses deasetilasi dalam basa kuat panas menyebabkan hilangnya gugus asetil pada kitin melalui pemutusan ikatan antara karbon pada gugus asetil dengan nitrogen pada gugus amin. Dalam kondisi basa deasetilasi kitin ($-\text{NHCOCH}_3$) menjadi kitosan ($-\text{NH}_2$) terjadi sebagai ditunjukkan dalam **Gambar 1**.



Gambar 1. Deasetilasi kitin menggunakan *microwave*

Hasil reaksi gugus asetil dihilangkan melalui pemutusan ikatan antara karbon pada gugus asetil dengan nitrogen pada gugus amin. Hal ini membuktikan bahwa semakin meningkatnya faktor-faktor tersebut, semakin banyak zat-zat yang bereaksi, karena semakin besar kemungkinan terjadinya tumbukan, dengan demikian semakin besar pula kemungkinan terjadinya reaksi (Is Fatimah, 2013).

Hasil perhitungan rendemen serta pengamatan terhadap tekstur senyawa kitin yang dihasilkan dari kedua sampel adalah:

Sampel	:kitin
Berat sampel	:2 g
Kitosan yang diperoleh	:0,72 g
Rendemen kitosan	:36%
Tekstur kitosan	:Serbuk putih agak keoklatan
Derajat Deasetilasi	:60,7% (Baseline a) 76,5% (Baseline b)

Semakin banyak gugus asetil yang dapat dihilangkan maka semakin tinggi nilai derajat deasetilasinya. Menurut Tamveer, kitosan dengan derajat deasetilasi 70-90% dinamakan kitosan pasaran. Menurut (Muzarrelli dan Peter, 1997), kualitas kitosan ditentukan berdasarkan derajat deasetilasinya, sehingga dapat dibagi menjadi empat kriteria yaitu lebih kecil dari 80%, antara 80-85%, antara 85-90% dan di atas 90% (Ernawati, 2008). Kitosan yang dihasilkan penelitian ini memiliki nilai derajat deasetilasi \pm 70-80%

maka tergolong kitosan pasaran (Tamveer, 2002)

Karakterisasi kitin dan kitosan

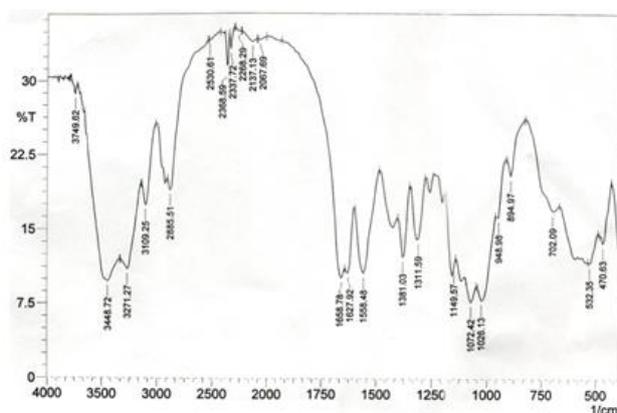
Kitin yang diperoleh dari hasil isolasi cangkang kepiting telah dianalisis menggunakan spektrofotometer FTIR untuk mengetahui gugus fungsi utama yang ada pada kitin serta membandingkannya dengan spektra kitin literatur.

Hasil isolasi kitin dari kulit udang dan cangkang kepiting dikarakterisasi gugus fungsinya dengan FTIR. Spektra FTIR untuk kitin cangkang kepiting memperlihatkan pola serapan yang muncul pada panjang gelombang yang sama yaitu $3448,72\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi OH yang melebar. Vibrasi ulur N-H pada $3271,27\text{ cm}^{-1}$ (tajam). Serapan lainnya yaitu pada $2885,51\text{ cm}^{-1}$ uluran C-H alifatik yang menyatu pada pita uluran OH sama seperti uluran N-H. Vibrasi ulur C=O pada $1658,78\text{ cm}^{-1}$, sedangkan untuk vibrasi tekuk N-H muncul pada bilangan gelombang $1558,48\text{ cm}^{-1}$, serapan CH bengkokan pada 1400 cm^{-1} . Adanya serapan pada $1072,42\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi C-O-C dalam cincin kitin dan memunculkan banyak puncak karena hidroksida dari kitin mengandung ikatan tunggal C=O. Hasil analisis spektra FTIR kitin ditampilkan pada Tabel 1, **Gambar 2**.

Tabel 1. Hasil analisis gugus fungsi kitin cangkang kepiting hasil isolasi
Bilangan gelombang (cm^{-1})

Gugus Fungsi	Kitin literatur	Kitin cangkang kepiting
-OH	3200-3600	3448,72
-NH ulur	3300-3250	3271,27
-CH ulur	2850-3000	2885,51
C=O ulur	1670-1820	1658,78
-NH bengkakan	1600	1558,48
-CH bengkakan	1350-1480	1400
C-O-C	1000-1300	1072,42

Gugus Fungsi	Kitosan literatur	Kitosan cangkang kepiting
-OH	3200-3600	3425,58
-CH ulur	2850-3000	2877,79
-NH bengkakan	1600	1658,78
-CH bengkakan	1350-1480	1427,32
C-O-C	1000-1300	1072,42



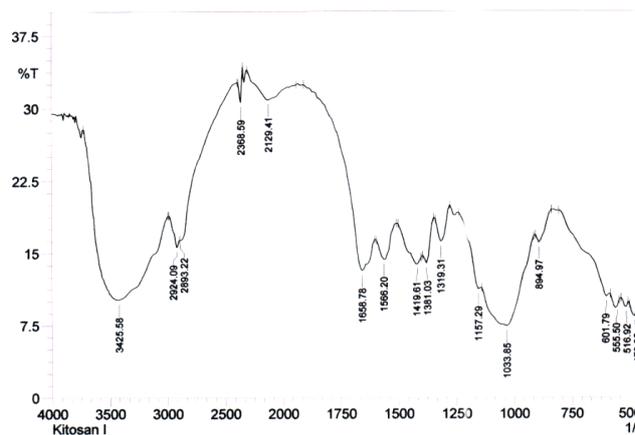
Gambar 2. Spektrum IR dari kitin cangkang kepiting

Kitosan cangkang kepiting hasil proses iradiasi dengan *microwave* melalui reaksi deasetilasi kitin, dianalisis dengan FTIR untuk mengetahui apakah kitin telah mengalami transformasi menjadi kitosan, yaitu dapat dilihat dari gugus fungsi utamanya serta membandingkannya dengan spektra kitosan dari literatur. Hasil analisis spektra FTIR ditampilkan pada Tabel 2 dan Gambar 3.

Tabel 2. Hasil analisis gugus fungsi kitosan cangkang kepiting hasil sintesis

Bilangan gelombang (cm⁻¹)

Spektra FTIR untuk kitin cangkang kepiting memperlihatkan pola serapan yang muncul pada panjang gelombang yang sama yaitu 3425,72 cm⁻¹ menunjukkan vibrasi OH yang melebar. Serapan lainnya yaitu pada 2877,79 cm⁻¹ uluran C-H alifatik yang menyatu pada pita uluran OH sama seperti uluran N-H. Sedangkan untuk vibrasi tekuk N-H muncul pada bilangan gelombang 1658,78 cm⁻¹, serapan CH bengkakan dari kitin cangkang kepiting pada 1427,32 cm⁻¹. Adanya serapan pada 1072,42 cm⁻¹ menunjukkan vibrasi C-O-C dalam cincin kitosan. Perbedaan yang terjadi setelah tahap deasetilasi adalah tidak munculnya gugus C=O pada 1680-1660 cm⁻¹ yang menandakan hilang atau telah berkurangnya gugus C=O pada kitosan.



Gambar 3. Spektrum IR dari kitosan

KESIMPULAN

Sintesis kitosan melalui iradiasi gelombang *microwave* merupakan metode yang lebih cepat dan mudah, bersih, murah, dan nyaman, serta ramah lingkungan. Berdasarkan besar derajat deasetilasinya, kitosan hasil sintesis pada penelitian ini sudah memenuhi standar kitosan industrial yaitu 76,5%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini. Khususnya kepada Robby Noor Cahyono, S.Si, M.Sc, Ph. D dan Dr. Deni Pranowo S.Si, M.Si, dan teman-teman kelompok penelitian agik dwika dan silvi tahun 2011.

DAFTAR PUSTAKA

Alamsyah, Rizal, *et al.*, (2007), Pengolahan Khitosan Larut dalam Air dari Kulit Udang sebagai Bahan Baku Industri,

<http://www.bbia.go.id/ringkasan.pdf>,
15 Desember 2007

E. I., Rabea and M. E, -T, Badawy, (2003), *Biomacromolecules*, 4, 1457-1465

Brugnerotto, J., dkk, *An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization*, (2001), *Polymer*, 42, 3569-3580

Departemen Kelautan dan Perikanan, (2000), *Statistik Data Perikanan*, Departemen Kelautan dan Perikanan, Jakarta

Ernawati, Pt, (2008), *Transformasi Kitin menjadi Khitosan dari Limbah Kulit Udang dan Cangkang Kepiting serta Aplikasinya sebagai Biomaterial Antibakteri dan Potensinya sebagai Antikanker*, *Skripsi*, Universitas Udayana, Jimbaran.

Fatimah, Is. *Kinetika Kimia - Edisi Pertama – Yogyakarta; Graha Ilmu*, (2013) viii + 206, 1 Jil: 26 cm. ISBN: 978-979-756-919-8

Hendry, Jhon, (2008), *Teknik Deproteinasi Kulit Rajungan (*Portunus pelagious*) secara Enzimatik dengan menggunakan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* untuk Pembuatan Polimer Kitin dan Deasetilasinya*

Li, J. F. Revol and R. H. Marchessault, "Effect of Degree of Deacetylation of α -Chitin on the Properties of Chitin Crystallites," *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 65, No. 2, (1997), pp. 373-380.

Liu, Y. Li, Y. Li, Y.E. Fang, *Rapid N-phthaloylation of chitosan by microwave irradiation. Carbohydr. Polymers* 57, 97–100 (2004).

- Muzzarelli dan M.G. Peter ., (1997), “*Chitin Handbook.*” European Chitin Society, Italy.
- Marganov, (2003), Potensi Limbah Udang sebagai Penyerap Logam Berat (Timbal, Kadmium, dan Tembaga) di Perairan,
http://rudycr.topcities.com/ppp702_7103_4/marganov.htm., 15 Desember 2007.
- P. Nahar, U. Bora, (2004), *Microwave-mediated rapid immobilization of enzymes onto an activated surface through covalent bonding.* Anal. Biochem. 328, 81–83.
- P. Sahu, U. Bora, (2009). *Microwave-mediated synthesis of chitosan*, Mater, Med, 20, 171–175.
- Puspawati, N.M, Simpen, I.N., (2009), *Optimalisasi deasetilasi khitin dari kulit udang dan cangkang kepiting limbah restoran SEAFOOD*, Journal ISSN 1907-9850:79.
- Q.T. Peniston, E.L. Johnson, *Process for activating chitin by microwave treatment and improved activated chitin product.* Patent USPTO 4159932, 1979.
- Subianto, Y., (2001)., “Isolasi dan Pemilahan Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Kitinase dan Kitin Deasetilase Dari Isolat Beberapa Daerah di Indonesia.” Skripsi. FATETA, IPB.
- Tamveer, A. K., Peh, Kok Khiang., dan Ching, Hung Seng., (2002), *Reporting Degree of Deacetylation Values of Chitosan: The Influence of Analytical Methods*, *Journal Pharmaceut Sci.*, 5(3): 205-212.
- Tsigos, I., M. Aggeliki, K. Dimitri dan B. Vasillis, (2000), *Chitin Deacetylases : New, Versatile Tools In Biotechnology.* *Tibtech* (18): 305 - 312.