
ISOLASI KHITIN DARI CANGKANG RAJUNGAN (*Portunus pelagicus*).

KAJIAN SUHU DAN WAKTU PROSES DEPROTEINASI

Erryana Martati*, Tri Susanto*, Yunianta* dan Ida Ayu Ulifah**

* Staf Pengajar Jur. Tek. Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya

** Alumni Jur. Tek. Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh suhu dan waktu proses deproteinasi yang berbeda terhadap karakteristik khitin yang dihasilkan.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan percobaan dua faktor, yaitu faktor I : suhu deproteinasi terdiri dari 3 level yaitu 65⁰ C, 75⁰ C dan 85⁰ C dan faktor II : waktu deproteinasi terdiri daari 3 level :yaitu 2 jam, 6 jam dan 10 jam. Dari dua faktor tersebut diperoleh 9 kombinasi dengan 3 kali ulangan sehingga diperoleh 27 satuan percobaan.

Perlakuan suhu berpengaruh sangat nyata terhadap derajat deasetilisasi, kadar nitrogen dan rendemen. Perlakuan waktu deproteinasi berpengaruh sangat nyata terhadap derajat deasetilisasi dan kadar nitrogen. Interaksi kedua perlakuan hanya berpengaruh terhadap derajat deasetilisasi

Penentuan perlakuan terbaik dilakukan dengan menggunakan metode Multiple Attribute. Perlakuan terbaik diperoleh dari perlakuan deproteinasi pada suhu 75⁰ C dan waktu 6 jam dengan karakteristik produk sebagai berikut : kadar nitrogen total 4,58%, derajat deasetilisasi 12,14%, kadar air 4,41%, kadar abu 1,07% dan rendemen 14,57%. Karakteristik khitin perlakuan terbaik tersebut sudah memenuhi standar mutu khitin yang telah ditetapkan.

Kata kunci : khitin, deproteinasi, cangkang rajungan

Abstract

The aim of research was to study the effect of temperature and the time exposure of deproteinization toward chitin characteristic. This experiment was done in various temperature i.e. 65, 75 and 85⁰C and time exposure i.e. 2, 6 and 10 hours.

The results showed the temperature treatment had influence toward degree deacetylation, nitrogen content and the yield very significantly. The time exposure treatment had influence toward degree deacetylation and nitrogen content very significantly. Interaction between two kinds of treatment had influence only toward degree deacetylation.

The best treatment was selected by Multiple Attribute Method. It was deproteinization at 75⁰C for 6 hours, result in nitrogen content 4,58%, degree deacetylation 12,14%, water content 4,41%, ash content 1,07% and the yield 14,57%. That chitin fulfilled chitin standard.

Key words : chitin, deproteinization, crab shell

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki potensi sumber daya perikanan yang sangat melimpah, serta kaya akan jenis-jenis ikan yang mempunyai nilai ekonomis tinggi, seperti dari kelas *crustacea* yaitu jenis udang, rajungan dan kepiting (Barnes, 1987). Produksi ini setiap tahun mengalami peningkatan dan sampai tahun 1997 produksi rajungan ini

mencapai 14.338 dan 12.095 ton, sedangkan untuk produksi kepiting telah mencapai 8.298 ton untuk penangkapan laut dan 5.176 ton untuk budidaya tambak.

Saat ini banyak industri pengolah ikan terutama rajungan yang telah beroperasi. Pabrik pengolah rajungan ini setiap hari menghasilkan limbah berupa cangkang rajungan dalam jumlah

banyak, dan hal ini menjadi satu masalah yang dihadapi industri pengolah rajungan. Limbah yang dihasilkan hanya digunakan sebagai pakan ternak dan sebagian besar dibuang. Cangkang rajungan ini dapat dimanfaatkan untuk pembuatan khitin dan kitosan. Menurut Suhardi (1992), cangkang udang-udangan termasuk rajungan ini mengandung khitin sekitar 20 – 30% dalam berat keringnya.

Penggunaan khitin dan turunannya dalam bidang pangan antara lain untuk modifikasi sifat-sifat fisik bahan pangan misalnya sebagai pengental, pembentuk gel, penstabil maupun bahan pengikat. Pada industri metalurgi khitin dan turunannya berfungsi sebagai adsorben untuk ion-ion metal, pensuspensi dan flokulan dan sebagai koagulan pada industri cat (Hirano, 1989). Industri khitin dan kitosan belum ada di Indonesia hal ini mungkin disebabkan karena pengusaha belum banyak mengenal polimer tersebut terutama pemanfaatannya dan prospeknya padahal di Indonesia banyak terdapat industri-industri pengolah udang, kepiting dan rajungan yang limbahnya dapat dimanfaatkan sebagai sumber khitin dan kitosan.

Khitin merupakan biopolimer yang berbeda karakteristik atau komposisi kimianya, tergantung sumber dan cara isolasinya. Sumber yang sama menghasilkan khitin yang berbeda apabila diolah dengan cara yang berbeda, demikian juga pengolahan yang sama akan menghasilkan khitin yang berbeda jika sumbernya berbeda sehingga perlu dicari kondisi proses yang optimal (Suhardi, 1993).

Protein dalam cangkang berikatan secara kovalen dengan khitin tetapi terdapat juga protein yang berikatan secara fisik yaitu protein dari sisa-sisa daging yang menempel pada matriks cangkang yang jumlahnya bervariasi (Suhardi, 1993). Prinsip proses deproteinasi adalah melepaskan ikatan-

ikatan antara protein dan khitin. Proses ini umumnya dilakukan dengan perlakuan dengan menggunakan larutan NaOH panas dalam waktu relatif lama. Dengan perlakuan ini protein akan terlepas dan membentuk natrium proteinat yang larut (Suhardi, 1993).

Proses deproteinasi merupakan salah satu proses yang menentukan mutu khitin. Perlakuan-perlakuan kimia yang keras (drastis), khususnya ekstraksi yang lama dalam larutan hidroksida pada suhu tinggi dapat mempengaruhi struktur khitin. Perlakuan ini dapat menghilangkan protein dan peptida-peptida yang diharapkan tetapi juga dapat menghilangkan asetil dan dapat mengaibatkan terpotong-potongnya rantai polimer (fragmentasi) sehingga perlu dicari kondisi proses deproteinasi yang optimum.

Tujuan penelitian ini adalah mencari kondisi yang optimal proses deproteinasi cangkang rajungan. Penelitian ini dilakukan dengan cara mengkaji pengaruh suhu dan lama waktu proses.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan dasar yang digunakan yaitu cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*) yang diperoleh dari limbah pabrik pengalengan rajungan di Pasuruan Jawa Timur. Bahan kimia untuk ekstraksi antara lain aquadest, HCl dan NaOH. Bahan unsur analisa terdiri dari asam fosfat, aquadest, HCl, NaOH, H₂SO₄ dan asam boraks.

Alat yang digunakan untuk ekstraksi khitin adalah timbangan, *water bath*, *beakerglass*, spatula, termometer, oven dan blender kering merk philips. Alat untuk analisa yaitu pipet volume, gelas ukur, alat destruksi, alat destilasi, buret, refluks dan destilasi vakum.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak

Kelompok (RAK) dengan 2 faktor, masing-masing faktor terdiri dari 3 level, sehingga terbentuk faktorial 3 x 3. Ulangan dilakukan sebanyak 3 kali. Faktor I adalah suhu deproteinasi yaitu : 65°C, 75°C dan 85°C. Faktor II adalah lama proses deproteinasi yaitu 2 jam, 6 jam dan 10 jam

Pengamatan dan Analisa

Penelitian ini meliputi proses ekstraksi khitin dari cangkang rajungan serta analisisnya. Khitin diekstrak melalui proses demineralisasi yaitu sebanyak 200 gram cangkang kering direndam dengan HCl 3 N sebanyak 3 liter. Demineralisasi dilakukan pada suhu 75°C selama 3 jam. Setelah selesai lalu dicuci dengan air sampai pH netral, selanjutnya dideproteinasi dengan NaOH 3,5 %. Suhu dan waktu proses sesuai perlakuan, perbandingan cangkang dengan NaOH 1 : 10. Cangkang yang sudah dideproteinasi ini selanjutnya dicuci sampai pH netral. Selanjutnya dikeringkan dengan oven pada suhu 60°C selama 7 jam. Khitin yang telah dikeringkan ini kemudian diblender menggunakan blender kering merk Philips dengan kecepatan sedang selama 5 menit. Khitin yang diperoleh kemudian dianalisa karakteristiknya.

Analisa yang dilakukan meliputi analisa kimia. Analisa kimiawi yang dilakukan adalah analisa derajat deasetilasi (Suhardi, 1993), kadar air (Sudarmadji dkk, 1997), kadar residu nitrogen (Sudarmadji dkk, 1997) dan kadar abu (Sudarmadji dkk, 1997). Selain itu juga dilakukan pengamatan terhadap rendemen khitin yang dihasilkan (AOAC, 1980)

Data yang diperoleh dari penelitian dianalisa dengan analisa varians (ANOVA) dengan program excel, sedangkan uji beda digunakan uji beda BNT dan DMRT dengan selang kepercayaan 1 % dan 5 %. Penentuan perlakuan terbaik menggunakan metode

Multiple Attribute menurut Zeleny (1982).

HASIL DAN PEMBAHASAN

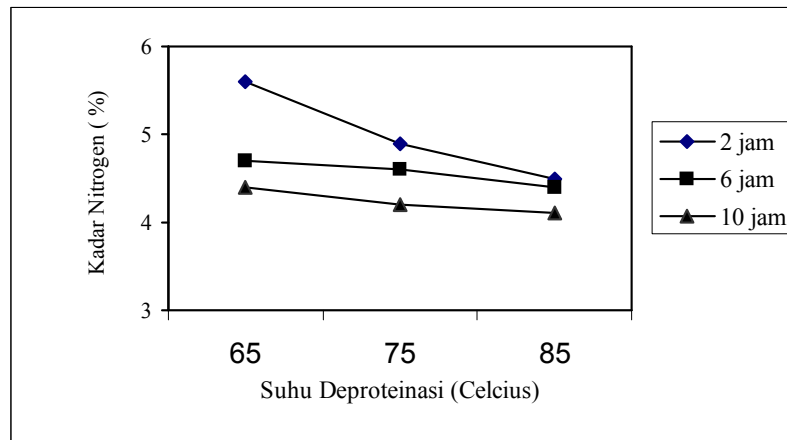
1. Kadar Nitrogen

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa rerata kadar residu Nitrogen khitin cangkang rajungan setelah perlakuan berkisar antara 4,11%-5,57%, setelah dikonversikan maka rerata kadar protein antara 25,71%-34,8%. Perilaku kadar nitrogen akibat perlakuan suhu dan waktu deproteinasi disajikan pada Gambar 1.

Gambar 1 menunjukkan bahwa kadar residu nitrogen pada khitin mengalami penurunan dengan semakin tinggi suhu dan waktu deproteinasi. Menurut Kobelke (1989) Cangkang rajungan mengandung protein yang berikatan kovalen membentuk matriks dengan khitin. Perlakuan drastis yaitu deproteinasi pada suhu dan waktu tinggi menyebabkan pemecahan ikatan kovalen anatar khitin dan protein membentuk Na-proteinat.

Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa perlakuan suhu dan waktu deproteinasi memberikan pengaruh sangat nyata ($\alpha = 0,01$) terhadap kadar Nitrogen khitin, protein dan efektivitas proses deproteinasi sedangkan interaksi keduanya tidak menunjukkan pengaruh yang nyata. Kadar protein terendah pada 85°C tidak berbeda nyata dengan suhu 75°C dan berbeda nyata dengan suhu 65°C. Penurunan kadar protein tersebut karena semakin tinggi suhu maka protein yang terlarut semakin banyak. Pada saat ekstraksi semakin tinggi suhu air maka akan memperbesar kemungkinan berkurangnya daya tarik menarik antara molekul-molekul air dan memberikan semakin banyak energi kepada molekul-molekul air tersebut untuk mengatasi daya tarik menarik antara molekul-molekul protein. Molekul air ini dengan gugus polar molekul protein selanjutnya membentuk ikatan hidrogen sehingga

protein menjadi larut. Semakin tinggi suhu maka semakin banyak protein yang larut..



Gambar 1. Pengaruh Suhu dan Waktu Deproteinasi Terhadap Kadar Nitrogen Khitin

2. Derajat Deasetilisasi

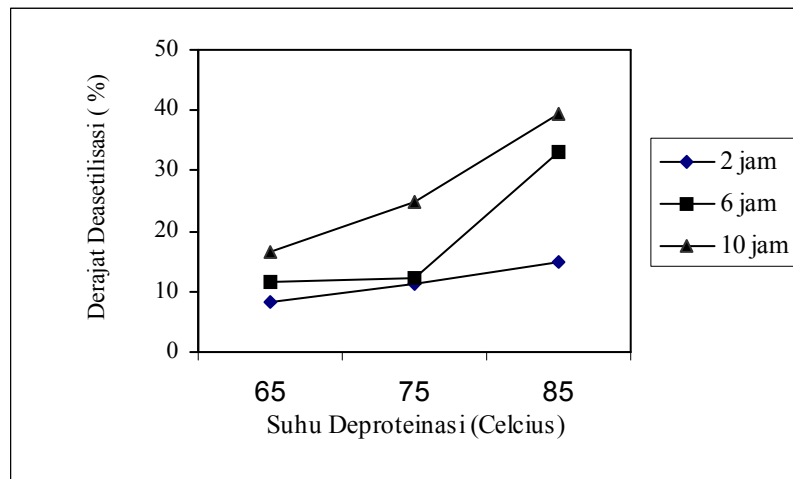
Derajat deasetilisasi bahan baku yaitu cangkang rajungan adalah 1,99%. Rerata derajat deasetilisasi khitin cangkang rajungan antara 8,29-39,59%. Kecenderungan derajat deasetilisasi khitin cangkang rajungan pada berbagai perlakuan dan waktu deproteinasi dapat dilihat pada Gambar 2.

Gambar 2 menunjukkan semakin lama suhu dan waktu deproteinasi derajat deasetilisasi khitin cenderung meningkat. Di duga peningkatan suhu dan waktu deproteinasi menyebabkan pemutusan gugus asetil pada rantai khitin lebih tinggi. Kobelke (1989) menjelaskan perlakuan menggunakan basa (NaOH) pada suhu dan waktu deproteinasi yang tinggi dapat memindahkan asetat dari gugus amin.

Derajat deasetilisasi tertinggi dan berbeda nyata pada suhu 85°C selama 10 jam yaitu 39,59%. Peningkatan suhu deproteinasi akan meningkatkan derajat deasetilisasi. Hal ini karena penggunaan alkali pada suhu

yang tinggi dapat memutus ikatan hidrogen sehingga memotong gugus karboksil yaitu asetil yang berikatan dengan nitrogen. Semakin tinggi suhu deproteinasi maka gugus asetil yang terputus semakin banyak. Keenan et al (1980) menyatakan peningkatan suhu pada suatu reaksi akan meningkatkan laju reaksi tersebut.

Waktu deproteinasi yang semakin lama juga akan meningkatkan derajat deasetilisasi. Ikatan-ikatan pada gugus asetat lebih mudah membuka pada kondisi basa sehingga semakin lama waktu deproteinasi akan memberikan kesempatan lebih besar terhadap pemutusan gugus asetil khitin oleh basa. Hal ini didukung oleh Saleh dkk (1999) yang menyatakan bahwa waktu deproteinasi berpengaruh terhadap pemutusan gugus asetil. Hasil penelitian ini telah memenuhi standar mutu derajat deasetilisasi yang telah ditentukan yaitu kurang dari 15% tetapi pada suhu dan waktu yang tinggi (85°C dan 10 jam) derajat deasetilisasi juga tinggi sehingga khitin menjadi kitosan.

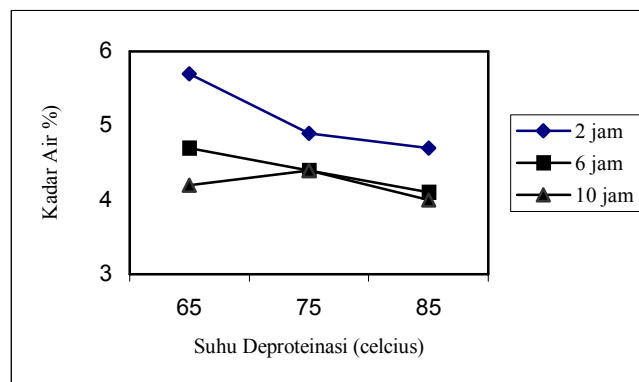


Gambar 2. Pengaruh Suhu dan Waktu Deproteinasi Terhadap Derajat Deasetilisasi Khitin

3. Kadar Air

Hasil Pengamatan menunjukkan bahwa rerata kadar air khitin akibat perlakuan suhu dan waktu deproteinasi berkisar antara 4,03% - 5,33%. Kecenderungan perubahan kadar air khitin dapat dilihat pada Gambar 3. Gambar 3 menunjukkan bahwa kadar air menurun dengan semakin lama waktu deproteinasi. Semakin lama waktu deproteinasi maka semakin banyak air yang keluar. Hal ini karena penggunaan NaOH pada proses deproteinasi menyebabkan perubahan sifat fisik dinding sel yaitu terjadinya

pelunakan dinding sel. Pelunakan dinding sel ini akan meningkatkan permeabilitas dinding sel sehingga mempermudah keluarnya air dari dalam dinding sel dan juga membantu proses pengeringan. Selain itu semakin lama waktu deproteinasi diduga terjadi pemutusan gugus asetil (derajat deasetilisasi) lebih tinggi. Hal ini menyebabkan penurunan kadar air khitin karena setiap pemutusan satu gugus asetil maka khitin akan melepaskan satu molekul air.



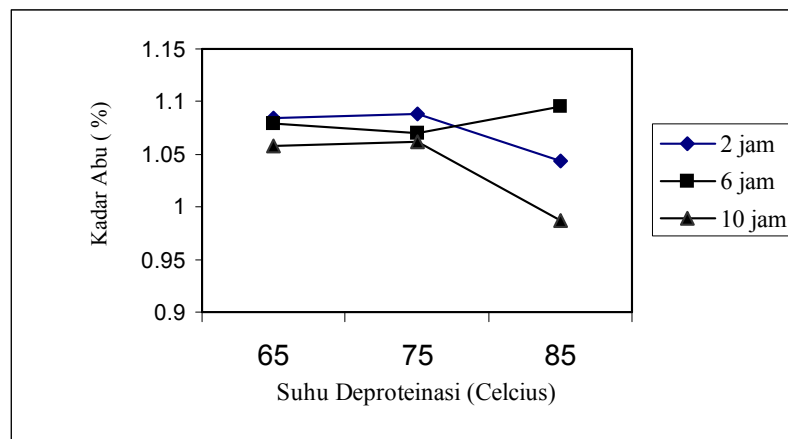
Gambar 3. Pengaruh Suhu dan Waktu Deproteinasi Terhadap Kadar Air Khitin

4. Kadar Abu

Hasil analisa kadar abu cangkang rajungan kering adalah 50,43%. sedangkan hasil pengamatan rerata kadar abu khitin cangkang rajungan berkisar antara 0,99%-1,098%. Penurunan kadar abu yang cukup besar ini terjadi karena proses demineralisasi. Perilaku kadar abu pada berbagai suhu dan waktu deproteinasi dapat dilihat pada Gambar 4.

Gambar 4 menunjukkan semakin lama waktu deproteinasi kadar abu cenderung turun meskipun secara statistik kadar abu tidak berbeda nyata. Diduga semakin besar suhu dan waktu deproteinasi maka semakin banyak

kotoran dan sisa mineral yang terlepas sehingga residu abu menjadi rendah. Hasil analisa ragam menunjukkan suhu dan waktu deproteinasi maupun interaksinya tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar abu khitin. Kadar abu khitin sangat dipengaruhi oleh kondisi proses demineralisasi karena komponen terbesar dari cangkang rajungan adalah CaCO_3 yaitu sekitar 50% (Kobelke, 1989). Pomeranz and Maloan (1994) menyatakan bahwa abu adalah residu anorganik dari pembakaran komponen organik sedangkan mineral merupakan komponen penyusun abu yang terdapat dalam proporsi yang berbeda-beda tergantung jenis bahan organiknya.



Gambar 4. Pengaruh Suhu dan Waktu Deproteinasi Terhadap Kadar Abu Khitin

5. Rendemen

Rerata rendemen khitin setelah perlakuan antara 13.34%-15.37%. Perilaku rendemen pada berbagai perlakuan dapat dilihat pada Gambar 5. Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa perlakuan waktu deproteinasi berpengaruh sangat nyata ($\alpha = 0,01$) terhadap rendemen khitin yang diperoleh sedangkan suhu deproteinasi dan interaksi keduanya tidak menunjukkan pengaruh yang nyata. Rendemen khitin yang diperoleh menurun dengan semakin lama waktu

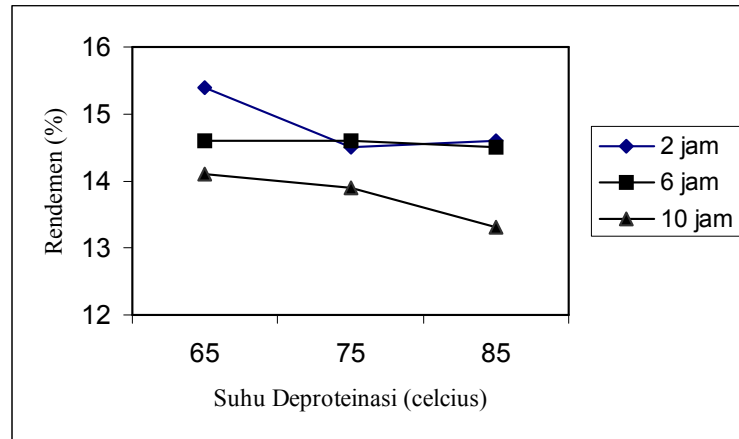
deproteinasi. Hal ini karena hilangnya mineral dan protein akibat perlakuan. Menurut Johson dan Peniston (1982) cangkang rajungan mengandung protein sebesar 30% (bk). Semakin lama waktu deproteinasi maka protein yang dapat dihilangkan semakin banyak selanjutnya menurunkan rendemen yang dihasilkan.

6. Pemilihan Perlakuan Terbaik

Analisa pemilihan perlakuan terbaik menggunakan metode Multiple Attribute (Zeleny, 1982) didasarkan pada hasil Uji fisik dan kimia terhadap parameter derajat deasetilisasi, kadar air,

rendemen, kadar nitrogen dan kadar abu khitin hasil isolasi. Nilai ideal dari perlakuan terbaik pada metode ini adalah nilai yang sesuai dengan pengharapan yaitu merupakan maksimal atau minimal dari suatu parameter. Berdasarkan hasil perhitungan maka diperoleh perlakuan terbaik adalah

deproteinasi 75⁰C selama 6 jam. Tabel 1 menunjukkan perbandingan nilai standar mutu khitin yang telah ditentukan dengan nilai parameter mutu khitin perlakuan pada percobaan ini.



Gambar 5. Pengaruh Suhu dan Waktu Deproteinasi Terhadap Rendemen Khitin

Tabel 1. Perbandingan standar mutu khitin dengan nilai parameter khitin perlakuan terbaik

| Parameter | Nilai standar mutu khitin (%)* | Nilai khitin perlakuan terbaik (%) |
|-----------------------|--------------------------------|------------------------------------|
| Derajat deasetilisasi | ≤ 15 | 12,14 |
| Kadar Air | ≤ 10 | 4,41 |
| Kadar Nitrogen | ≤ 7 | 4,57 |
| Kadar Abu | ≤ 1 | 1,07 |

Sumber : * Proton Lab Inc. dalam Bastaman (1989)

Tabel 1 menunjukkan khitin perlakuan terbaik telah memenuhi standar mutu khitin yang telah

ditentukan walau kadar abu masih agak tinggi. Tetapi menurut standar mutu yang ditetapkan Proton Lab telah memenuhi yaitu < 2 %.

7. Aplikasi Khitin Perlakuan Terbaik

Khitin dalam bidang industri dapat diaplikasikan untuk mengikat bahan pencemar baik bahan organik maupun anorganik (Anonymous, 1993). Menurut Sandford dalam Skjajk (1989) kelebihan penggunaan khitin dan kitosan yaitu tidak beracun, dapat didegradasi secara alami, sebagai pengkelat ion logam dan dapat berperan sebagai flokulan. Bough (1975) menambahkan kelebihan khitin lainnya yaitu khitin dapat mengendapkan limbah cair tanpa pengaturan pH. Di Jepang penggunaan khitin untuk pengolahan limbah sudah umum. Hal ini karena khitin merupakan biopolimer alami dibandingkan flokulan dari polimer sintesis lain yang kemungkinan

berbahaya. Berdasarkan literatur di atas maka khitin perlakuan terbaik pada percobaan ini diaplikasikan pada penjernihan limbah cair, yaitu limbah pengolahan pabrik gula sebelum dijernihkan. Prosedur aplikasi khitin ini disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Data Hasil Aplikasi Khitin Perlakuan Terbaik Untuk Penjernih Limbah cair Pabrik Gula

| Konsentrasi Khitin (mg/L) | Waktu (jam) | Tingkat Kekeruhan |
|---------------------------|-------------|-------------------|
| 0 | 12 | ++++ |
| | 24 | ++++ |
| 1500 | 12 | +++ |
| | 24 | ++ |
| 2500 | 12 | + |
| | 24 | - |
| 3500 | 12 | - |
| | 24 | - |

Hasil pengamatan dari aplikasi khitin pada limbah cair diperoleh limbah yang lebih jernih dibandingkan sebelum perlakuan (dengan pengamatan visual). Semakin tinggi konsentrasi khitin maka limbah semakin jernih. Tetapi pada konsentrasi 2500 mg/ L khitin sudah efektif untuk menjernihkan limbah. Hal ini didukung oleh Salaeh dkk (1999) yang menyatakan bahwa khitin efektif untuk koagulasi protein pada konsentrasi 2700 mg/ L limbah cair.

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan suhu deproteinasi berpengaruh sangat nyata ($\alpha = 0,01$) terhadap parameter derajat deasetilasi, dan kadar protein. Perlakuan waktu deproteinasi berpengaruh sangat nyata ($\alpha = 0,01$) terhadap derajat deasetilasi, rendemen serta kadar nitrogen dan berpengaruh nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap kadar air khitin. Interaksi antara kedua perlakuan hanya berpengaruh terhadap derajat deasetilasi khitin. Semakin tinggi suhu dan semakin lama waktu

deproteinasi kadar protein menjadi semakin rendah sedangkan derajat deasetilasi menjadi semakin tinggi.

Khitin cangkang rajungan dengan perlakuan suhu deproteinasi 75°C dan waktu deproteinasi 6 jam merupakan perlakuan terbaik dengan karakteristik sebagai berikut : derajat deasetilasi 12,14%, kadar nitrogen total 4,57%, kadar air 4,41%, kadar abu 1,07% dan rendemen 14,67%. Perlakuan terbaik ini masih memenuhi standar mutu khitin yang telah ditentukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 1993. **Kepala Udang tak lagi Merana Bermanfaat untuk Industri Makanan dan Tekstil**. Agrobis 3 Mei 1993. Kumpulan Kliping Udang. Pusat Informasi Pertanian. Trubus. Jakarta.
- AOAC. 1980. **Official Methods of Analysis**. Washington D.C. USA.
- Barnes.R.D. 1987. **Invertebrata Zoology**. Fifth edition. College Publishing. United States of America.
- Bastaman, S. 1989. Degradation and Extraction of Chitin and Chitosan from Shells of Prawn. *Journal of Agro-based Industry*. 6(2): 1-6
- Hirano.S. 1989. **Production and Application of Chitin and Chitosan in Japan**. In : SKJAK. Gudmund, Anthonsen. T and Sandford. P. Chitin and Chitosan. Elseviers Applied Science. London nad New York.
- Johnson. E.L and Q.P. Peniston. 1982. **Utilization of Shell Fish Waste for Chitin and Chitosan**. In : Food Chemistry nad Biochemystry of Marine Food Product. Martin et al. AVI Publishing.Co. Connecticut.
- Keenan. C.W, D.C. Klein Felter and J.H. Wood. 1980. *General*

- College Chemistry. Harper and Row, Publisher Inc. New York.
- Kobalke. D.N. 1989. **Product from Crustacean Wastes : Chitin Production.** Technology Development Pty Ltd. Tecnology Park. Bentleg.
- Pomeranz. Y and C.E. Meloan. 1994. **Food Analysis. Theory and Practise.** Chapman and Hall. New York.
- Saleh. M, T.I. Agustin, P. Suptijah dan E.S Heruwati.. 1999. **Pembuatan Kitosan dari Kulit Udang Windu (*Penaeus monodon*) dan Uji Daya Koagulasi Proteinnnya.** Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia. Volume V No 3. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Departemen Pertanian. Jakarta.
- Skjajk. G, T. Anthonsen and P.A. Sandford. 1989. **Chitin and Chitosan.** Elseviears Applied Science. London and New York.
- Sudarmadji.S., B. Haryono dan Suhardi. 1997. **Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian.** Penerbit Liberty. Yogyakarta.
- Suhardi. 1993. **Khitin dan Khitosan.** Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Zeleny. M. 1982. **Multiple Criteria Decision Making.** Mc.Graw Hill. New York