

KARAKTERISASI NANO KITOSAN CANGKANG UDANG VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*) DENGAN METODE GELASI IONIK

Characterization Chitosan Nano from White Shrimp Shells (Litopenaeus vannamei) with Ionic Gelation Methods

Pipih Suptijah*, Agoes M. Jacob, Desie Rachmania

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

*Korespondensi: Jalan Lingkar Akademik, Kampus IPB Dramaga, Kabupaten Bogor 16680, telp (0251)8622915, fax (0251) 8622916

Abstract

Shrimp shells have a potential as raw materials for manufacturing of nanochitosan. The purposes of this study to obtain the highest yield of chitosan treated by HCl immersion time, determine the best ionic gelation process with various treatments sizing, to determine the characteristics of nanoparticles e.g morphology, efficiency, and size of nanoparticles, analyze the characteristics of chitosan particles carried by the ionic gelation method using Fourier Transform InfraRed (FTIR) and Scanning Electron Microscopy (SEM), determine a simple method for making chitosan, that be applied easily in the laboratory. The highest yield of chitosan from shrimp shell obtained by treatment with 1 N HCl soaking time for 72 hours. Magnetic stirrer treatment could obtain high yield of nano chitosan with particle size 400-450 nm. Magnetic Stirrer could distribute the particle size homogeneously and stable than using of ultrasonic and high speed homogenizer. Degree of deacetylation of chitosan nanoparticles was 99%.

Keyword: chitosan nano, FTIR, ionic gelation, SEM, white shrimp shells

Abstrak

Cangkang udang berpotensi sebagai bahan baku dalam proses pembuatan nanokitosan. Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan rendemen kitosan tertinggi melalui perlakuan waktu perendaman HCl, menentukan proses gelasi ionik terbaik dengan berbagai perlakuan *sizing* dan menentukan karakteristik nanopartikel yang meliputi morfologi, efisiensi, dan ukuran nanopartikel, menganalisis karakteristik gugus fungsi partikel kitosan hasil gelasi ionik menggunakan *Fourier Transform InfraRed* (FTIR) dan *Scanning Electron Microscopy* (SEM), dan menentukan metode pembuatan kitosan yang sederhana yang dapat diterapkan dengan mudah di laboratorium. Rendemen kitosan dari kulit udang yang tertinggi diperoleh dengan perlakuan waktu perendaman HCl 1 N selama 72 jam yaitu sebesar 13,77%. Rendemen kitosan nanopartikel tertinggi terdapat pada kitosan nanopartikel dengan perlakuan pengecilan ukuran menggunakan alat *magnetic stirrer* yaitu sebesar 81,30%. Ukuran partikel yang diperoleh dengan menggunakan *magnetic stirrer* sebesar 400-450 nm. *Magnetic stirrer* dapat mendistribusikan ukuran partikel yang lebih homogen dibandingkan menggunakan *homogenizer* dan ultrasonikator. Nilai derajat deasetilasi dari kitosan nanopartikel terkecil yang dihasilkan yaitu sebesar 99%.

Kata kunci: cangkang udang vannamei, FTIR, gelasi ionik, nano kitosan, SEM

PENDAHULUAN

Udang merupakan komoditas andalan dan bernilai ekonomis sebagai salah satu hasil perikanan utama Indonesia. Sekitar 80-90% ekspor udang dilakukan dalam bentuk udang beku tanpa kepala dan 75% dari berat total udang merupakan bagian kulit dan kepala. Kulit udang atau kepiting

merupakan bahan baku penghasil kitin dan kitosan. Kemampuan kitosan yang diterapkan dalam berbagai bidang industri modern, misalnya farmasi, biokimia, kosmetika, industri pangan, dan industri tekstil mendorong untuk terus dikembangkannya berbagai penelitian yang menggunakan kitosan, termasuk melakukan modifikasi kitosan secara kimia atau fisik. Modifikasi fisik pada kitosan

mencakup perubahan ukuran partikel atau butiran kitosan menjadi lebih kecil untuk pemanfaatan yang lebih luas, perkembangan modifikasi fisik dan kimiawi mengarah ke bentuk nanopartikel (Saleh *et al.* 1994).

Penelitian nanopartikel kitosan sampai saat ini terus dikembangkan, baik dalam penentuan komposisi maupun pencarian metode yang sesuai. Pembuatan nano kitosan yang berstabilitas dan berkualitas tinggi biasanya memerlukan metode yang cukup sulit, maka dilakukan teknik atau metode yang prosesnya lebih efisien dan sederhana untuk memudahkan dalam pembuatan nano kitosan. Pengujian karakteristik nano kitosan dilakukan dengan proses gelasi ionik, serta perlakuan pengecilan ukuran (*sizing*) dilakukan dengan metode *magnetic stirer*, metode *homogenizer* dan metode ultrasonik. Penelitian ini bertujuan menentukan nano kitosan yang terbaik diantara ketiga metode tersebut agar nano kitosan yang dihasilkan memiliki stabilitas konstan, berukuran partikel terkecil, berkualitas baik, serta menentukan metode yang paling sederhana dalam pembuatannya, sehingga dapat meningkatkan skala produksi.

MATERIAL DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) yang di dapatkan dari PT Adijaya Guna Satwatama, Cirebon, Jawa Barat. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *beaker glass*, timbangan digital, gelas ukur, kertas pH, kompor listrik, saringan, alat pengaduk, termometer, *magnetic stirer*, *homogenizer* ultrasonik, Ultrasonics Processor (Cole-Parmer 20 kHz 130 watt), pipet, *spray dryer*, *Scanning Electron Microscopy* (SEM) merek JSM-35C, dan alat uji FTIR.

Lingkup Penelitian

Komposisi kimia cangkang udang vannamei diketahui dengan analisis proksimat (AOAC 1995). Penelitian utama meliputi tahapan pembentukan gel kitosan, berbentuk rantai panjang lurus melalui pelarutan dalam asam asetat.

Pembuatan nanopartikel kitosan dengan gelasi ionik yang diawali dengan perlakuan pengecilan ukuran (*sizing*) dengan metode *magnetic stirer*, *homogenizer* dan ultrasonik dengan penambahan emulsifier (Tween 80) dan tripolifosfat. Tahap terakhir dilakukan pengeringan semprot (*spray dryer*), kemudian dilakukan analisis karakteristik nanopartikel yang dihasilkan dengan SEM dan FTIR.

Prosedur Penelitian

Pembuatan gel kitosan dilakukan dengan melarutkan kitosan sebanyak 0,2 g dalam 100 mL asam asetat 0,3%, disiapkan dalam gelas beker masing masing 50 mL. Pengecilan ukuran (*sizing*) dilakukan melalui metode magnetik stirer, homogenizer dan ultra sonikator. Masing masing 50 mL larutan kitosan dilakukan metode pengecilan ukuran selama 30 menit, sampai terlihat larutan jernih.

Pembentukan nano partikel dilakukan melalui tahap emulsifikasi dengan penambahan 50 mikroliter twin 0,1%, dengan *sprayer* sambil *disizing* terus-menerus sampai 1 jam, selanjutnya dilakukan stabilisasi dengan 7 mL larutan sodium tri poli posfat 0,1%, sambil *dimix* terus selama 1 jam. Pengeringan dilakukan dengan cara *spray drying*, diperoleh kitosan nano partikel dan diuji karakteristiknya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi Kimia Cangkang Udang Vannamei

Komposisi kimia cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) meliputi kadar air, abu, lemak, protein, dan karbohidrat pada cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) (Tabel 1). Komposisi kimia cangkang udang vannamei ditentukan dengan analisis proksimat.

Kadar air cangkang udang vannamei yang dihasilkan dari penelitian ini yaitu sebesar

Tabel 1 Komposisi kimia cangkang udang vannamei

Parameter	Nilai (%bb)
Kadar air	15,04
Kadar abu	18,02
Kadar protein	34,69
Kadar Lemak	0,57
Kadar Karbohidrat	31,75

15,04%. Kadar air cangkang udang *Penaeus notabilis* berdasarkan penelitian Emmanuel *et al.* (2008) adalah sebesar 13,3%. Perbedaan kadar air tersebut dipengaruhi oleh perbedaan jenis udang dan tingkat kekeringan sampel yang digunakan pada penelitian.

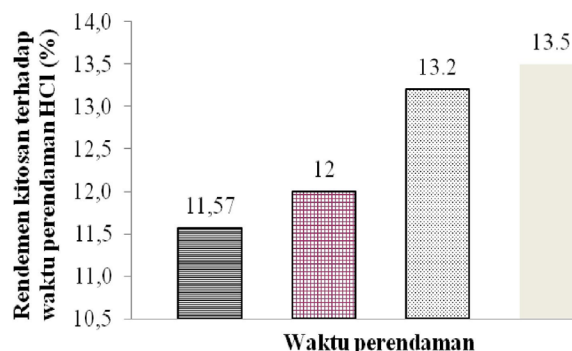
Kulit udang vanamei memiliki kadar lemak sebesar 0,57% (bb), hal ini menunjukkan bahwa kadar lemak pada kulit udang tergolong rendah. Kadar lemak pada kulit udang yakni 9,8% (bk) (Ravichandran *et al.* 2009). Perbedaan kadar lemak dipengaruhi oleh jenis udang dan fase hidup udang saat panen. Udang pada fase molting mengandung kadar lemak yang lebih tinggi (Kim *et al.* 2011).

Kadar protein kulit udang vanamei sebesar 34,69% (bb). Kim *et al.* (2011) menunjukkan kadar protein cangkang udang *Litopenaeus vannamei* sebesar 40,35% (bb). Kadar abu pada kulit udang vanamei sebesar 18,02% (bk). Kadar abu ini lebih rendah dibandingkan kadar abu yang diteliti oleh Ravichandran *et al.* (2009) sebesar 21,5% (bk). Perbedaan nilai kadar abu diduga dapat disebabkan oleh perbedaan habitat dan lingkungan hidup.

Hasil perhitungan kadar karbohidrat dengan metode *by difference* menunjukkan bahwa cangkang udang vanamei mengandung karbohidrat sebesar 31,75%. Hasil perhitungan karbohidrat dengan metode *by difference* ini merupakan metode penentuan kadar karbohidrat dalam bahan pangan secara kasar, serat kasar terhitung sebagai karbohidrat (Salamah *et al.* 2008), dan karbohidrat dalam kulit udang adalah kitin.

Rendemen Kitosan

Rendemen kitosan hasil perendaman cangkang udang dengan HCl selama 0 jam, 24 jam, 48 jam dan 72 jam memiliki nilai berturut-turut sebagai berikut 11,57%, 12,00%, 13,20% dan 13,50% (Gambar 1). Perlakuan dengan perendaman HCl 1 N (72 jam) menghasilkan rendemen tertinggi yakni sebesar 13,50%. Perlakuan waktu perendaman HCl 1 N (0 jam) menghasilkan rendemen terendah yakni sebesar 11,57%.



Gambar 1 Pengaruh waktu perendaman HCl terhadap rendemen kitosan (■ 0 jam ■ 24 jam ■ 48 jam ■ 72 jam)

Perlakuan perendaman dengan HCl 1 N yang berbeda memberikan pengaruh terhadap rendemen kitosan. Mineral memiliki sifat larut asam, oleh karena itu perendaman cangkang udang dengan HCl 1 N menyebabkan mengembangnya matrik cangkang udang sehingga memudahkan pelarut masuk ke dalam matriks. Waktu perendaman (*retention time*) kulit udang di dalam larutan HCl 1 N mempengaruhi penurunan kadar mineral pada proses pembuatan kitin. Semakin lama waktu perendaman, maka akan menghasilkan semakin banyak rendemen dari kitin (Mahmoud *et al.* 2005).

Mutu Kitosan

Pembuatan kitosan dengan pengaruh waktu perendaman HCl, dihasilkan rendemen kitosan terbanyak dan mutu yang memenuhi persyaratan Protan Biopolimer (Suptijah *et al.* 1992). Ukuran partikel pada kitosan dari kulit udang berupa serpihan, sesuai dengan penelitian Suptijah *et al.* (1992) yaitu ukuran partikel pada kitosan berupa serpihan. Proses pembuatan kitosan dengan ekstraksi bahan baku terlihat hancur. Warna larutan kitosan tersebut jernih, yang berarti tidak ada zat pengotor yang menempel pada permukaan kitosan.

Kadar abu kitosan hasil penelitian ini yaitu 0,11%, menunjukkan bahwa kitosan yang dihasilkan telah memenuhi standar mutu yakni sebesar $\leq 2\%$ (Suptijah *et al.* 1992). Kadar abu ini dipengaruhi proses pengadukan yang dilakukan selama proses pembuatan kitosan. Proses pengadukan dilakukan cukup konsisten sehingga kadar abu dari kedua kitosan tersebut cukup rendah.

Kadar abu yang rendah menunjukkan kandungan mineral yang rendah. Semakin rendah kadar abu yang dihasilkan maka mutu dan tingkat kemurnian kitosan akan semakin tinggi. Proses pencucian yang baik dan diperolehnya pH netral, juga berpengaruh terhadap kadar abu. Mineral yang telah terlepas dari bahan dan berikatan dengan pelarut dapat terbuang dan larut bersama air (Benjakula dan Sophanodora 1993).

Kadar air merupakan salah satu parameter yang sangat penting untuk menentukan mutu kitosan. Kadar air kitosan yang dihasilkan sebesar 15%. Protan Biopolimer menetapkan standar mutu kadar air kitosan adalah $\leq 10\%$ (Suptijah *et al.* 1992). Kadar air yang terkandung pada kitosan dipengaruhi oleh proses pengeringan, lama pengeringan yang dilakukan, jumlah kitosan yang dikeringkan dan luas tempat permukaan tempat kitosan yang dikeringkan (Saleh *et al.* 1994).

Kadar nitrogen merupakan salah satu parameter yang juga diukur untuk menentukan mutu kitosan. Kadar nitrogen kitosan yang dihasilkan yakni sebesar 4,73%. Standar mutu kadar nitrogen kitosan yang telah ditetapkan adalah $\leq 5\%$ (Suptijah *et al.* 1992). Kadar nitrogen menentukan sifat kitosan yang berinteraksi dengan gugus lainnya. Keberadaan senyawa lain dalam kitosan yaitu bentuk gugus amin (NH_2) menyebabkan kitosan memiliki reaktivitas kimia yang cukup tinggi dan mampu mengikat air dan larut dalam asam asetat (Kim dan Cho 2005).

Konsentrasi NaOH dan suhu deasetilasi yang semakin tinggi, menyebabkan kadar nitrogen cenderung semakin kecil (Saleh *et al.* 1994). Semakin tinggi konsentrasi NaOH yang digunakan dan semakin lama waktu deproteinasi yang digunakan maka reaksi antara protein dengan larutan pembentuk ester (Na-proteinat) akan semakin sempurna, sehingga protein yang dihilangkan akan semakin banyak (Silvia 2005).

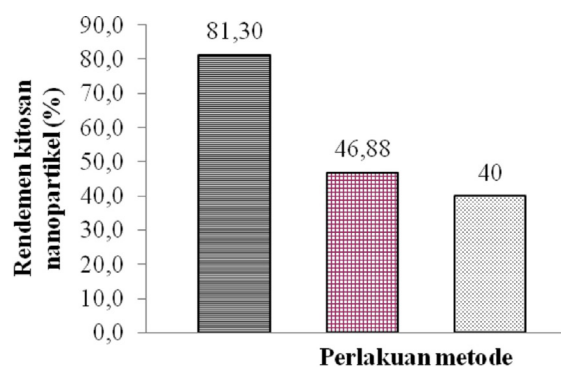
Rendemen Kitosan Nanopartikel

Rendemen kitosan nanopartikel ditentukan berdasarkan persentase berat kitosan nanopartikel yang dihasilkan terhadap berat serbuk kitosan yang digunakan. Menunjukkan rendemen kitosan nanopartikel tertinggi terdapat pada perlakuan

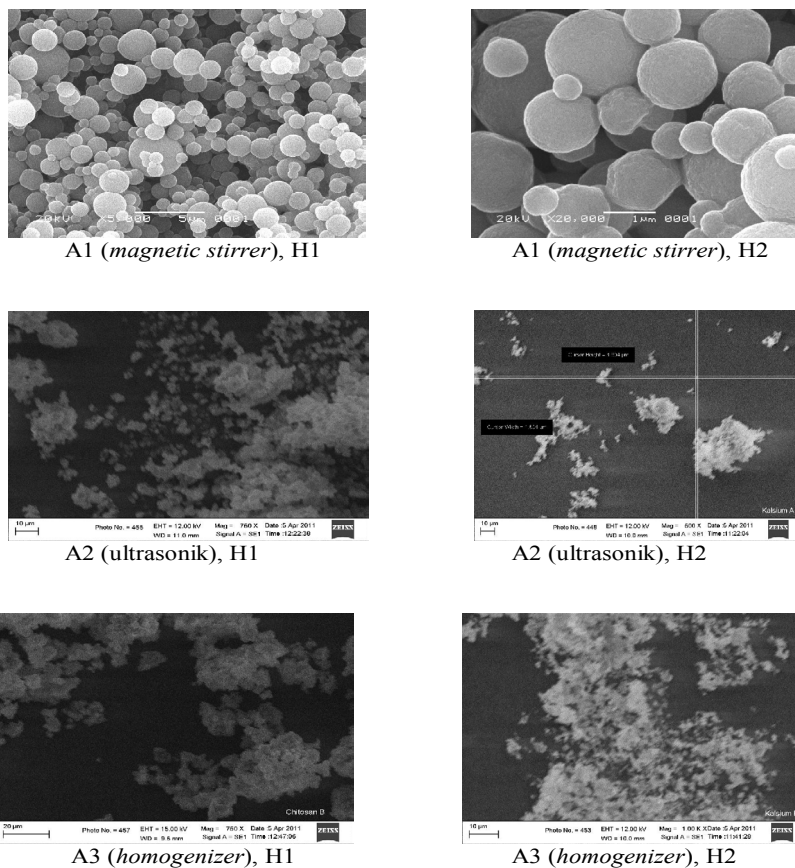
metode pengecilan ukuran dengan alat *magnetic stirrer* yaitu sebesar 81,30%. Rendemen terendah ditunjukkan oleh kitosan nanopartikel dengan perlakuan menggunakan alat homogenizer yaitu sebesar 40,00% (Gambar 2). Rendemen yang rendah ini dapat disebabkan oleh proses yang digunakan. Rendemen nano kitosan yang tertinggi diperoleh menggunakan *magnetic stirrer*, karena *magnetic stirrer* memiliki kelebihan yaitu proses homogenisasi antara larutan kitosan dengan bahan gelas ionik, dapat dikendalikan secara merata dengan kecepatan yang tinggi menghasilkan partikel-partikel yang homogen dan stabil tidak terjadi aglomerasi, sedangkan dengan alat lain pembentukan partikel bisa lebih kecil tetapi masih terjadi aglomerasi partikel bahkan mungkin polimerisasi, sehingga dalam proses pengeringan yang terbentuk partikel nano hanya partikel yang tadinya sudah stabil bukan yang aglomerasi. Metode yang lebih efektif menghasilkan nano partikel adalah metode *sizing* dengan *magnetic stirrer*. Proses pengeringan semprot (*spray drying*) juga mempengaruhi rendemen hasil nano kitosan yang dihasilkan, partikel yang mengalami aglomerasi lebih banyak menempel pada alat *spray*.

Analisis SEM (*Scanning Electron Microscopy*)

Perlakuan dengan *magnetic stirrer* dihasilkan ukuran partikel terkecil dan lebih stabil yaitu sebesar 400 nm (H1) dan 450 nm (H2). Perlakuan ultrasonik dan *homogenizer* dihasilkan ukuran partikel yang lebih besar dan tidak stabil, yaitu dengan perlakuan ultrasonik didapatkan ukuran partikel sebesar 1222 nm (H1) dan 1600 nm (H2). Perlakuan homogenizer menghasilkan ukuran



Gambar 2 Rendemen kitosan nanopartikel dengan perbedaan perlakuan metode pengecilan ukuran (■ magnetic stirrer ■ ultrasonik □ homogenizer)



Gambar 3 Morfologi partikel kitosan menggunakan SEM; A1 (*magnetic stirrer*) H1 dan H2, A2 (*ultrasonik*) H1 dan H2, dan A3 (*homogenizer*) H1 dan H2.

partikel sebesar 1375 nm (H1) dan 2000 nm (H2). Penelitian BPPT (2010) menunjukkan partikel terkecil dan stabil didapatkan dengan perlakuan *magnetic stirrer* sebesar 25,9 nm (H1) dan 28 nm (H2). Partikel yang lebih besar serta tidak stabil diperoleh dengan perlakuan ultrasonik dan homogenizer sebesar 1,2 nm (H1) dan 25 nm (H2) (Gambar 3)

Hasil karakterisasi SEM kitosan nanopartikel yang dibuat dengan berbagai metode yaitu *magnetic stirrer*, ultrasonik, dan *homogenizer* menunjukkan partikel yang berupa bulatan menyerupai bola dan berkerut. Nano partikel yang dihasilkan melalui perlakuan *magnetic stirrer* rata-rata berukuran sekitar 400-450 nm. Nanopartikel adalah butiran atau partikel padat dengan kisaran ukuran 10-1000 nm (Mohanraj dan Chen 2006). Teori kinetik molekul gas menyatakan bahwa molekul gas sering bertumbukan satu dengan lainnya dan molekul-molekul yang bereaksi. Laju reaksi akan berbanding lurus dengan banyaknya tumbukan

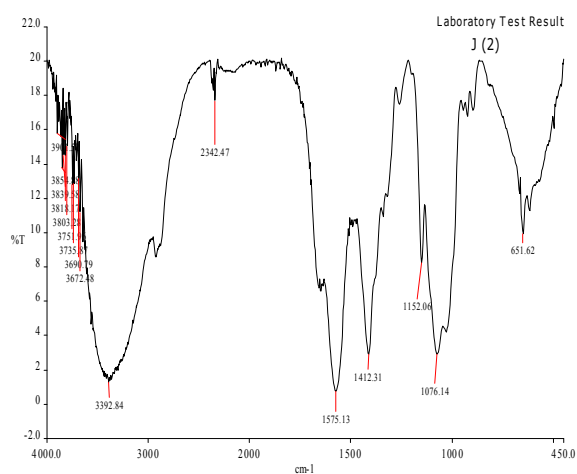
molekul per detik, atau berbanding lurus dengan frekuensi tumbukan molekul. Semakin cepat putaran, memperbesar intensitas molekul pelarut untuk bersentuhan dengan kitosan, sehingga semakin besarnya intensitas kecepatan putaran pada *magnetic stirrer* partikel yang dihasilkan semakin kecil (Chang 2005).

Penambahan jumlah tripolifosfat akan menurunkan jumlah nanopartikel kitosan (Shu dan Zhu 2002). Penambahan surfaktan berfungsi untuk menstabilkan emulsi partikel dalam larutan dengan cara mencegah timbulnya penggumpalan (aglomerasi) antarpartikel (Keuteur 1996). Partikel-partikel kitosan di dalam larutan terselimuti dan terstabilkan satu dengan yang lain dengan adanya surfaktan, sehingga proses pemecahan partikel akan semakin efektif. Partikel yang telah terpecah akan kembali terstabilkan dalam emulsi larutannya, sehingga mencegah terjadinya aglomerasi (Xu dan Du 2003).

Hasil Analisis FTIR

Penentuan derajat deasetilasi dilakukan dengan analisis FTIR, dalam analisisnya FTIR akan mendeteksi gugus fungsi yang terdapat dalam kitosan yaitu gugus fungsi NH, OH, C-C, CH dan C=O untuk kitin. Hasil deteksi FTIR tergambar dalam bentuk puncak-puncak gugus fungsi tersebut pada bilangan gelombang masing-masing.

Gugus fungsi NH, OH, C-C, CH masing-masing pada bilangan gelombang 3392,84 nm, 1575,15 nm, 2342,7 nm dan 1412,31 nm disajikan pada Gambar 4. Puncak lainnya adalah *finger print* dari pendukung gugus fungsi.



Gambar 4 Kromatogram FTIR dari kitosan nano partikel hasil metode *sizing magnetic stirrer*.

Hasil analisis FTIR pada kitosan menunjukkan derajat deasetilasi sebesar 99%, sesuai dengan standar mutu yaitu $\geq 70\%$ (Suptijah *et al.* 1992). Derajat deasetilasi menggambarkan/indikator penghilangan gugus asetil (COCH_3) yang terdapat pada kitin. Kitin yang mengalami proses deasetilasi disebut kitosan. Derajat deasetilasi yang tinggi menunjukkan kemurnian dari kitosan yang dihasilkan (Suptijah *et al.* 1992)

KESIMPULAN

Rendemen kitosan dari kulit udang yang tertinggi diperoleh dengan perlakuan waktu perendaman HCl 1 N selama 72 jam, yang terendah diperoleh dengan perlakuan waktu perendaman HCl 1 N selama 0 jam. Rendemen kitosan nanopartikel tertinggi terdapat pada kitosan nanopartikel dengan perlakuan pengecilan ukuran

menggunakan alat *magnetic stirrer*. Rendemen terendah ditunjukkan oleh kitosan nanopartikel dengan menggunakan alat *homogenizer*. Gelasi ionik, surfaktan dan TPP, menghasilkan partikel sangat kecil dan tidak berpolimerisasi dan tidak menyebabkan partikel membesar (mikro). Ukuran partikel yang diperoleh dengan menggunakan *magnetic stirrer* sebesar 400-450 nm. Nilai derajat deasetilasi dari kitosan nanopartikel terkecil yang dihasilkan yaitu sebesar 99% dan menunjukkan bahwa nano kitosan yang dihasilkan merupakan kitosan murni.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemyst. 1995. *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical Chemyst*. Arlington, Virginia, USA: Association of Official Analytical Chemyst, Inc
- Benjakula S, Sophanodora P. 1993. Chitosan production from carapace and shell of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Asean Food Jurnal* 8(4): 145-148
- [BPPT]. 2010. *Pembuatan Partikel Nano Kitosan dengan Metode Gelasi Ionik Menggunakan Magnetic Stirrer*. Tangerang: Balai Pengkaji dan Penerapan Teknologi.
- Chang R. 2005. *Kimia Dasar: Konsep-Konsep Inti Jilid 2*. Jakarta: Erlangga.
- Emmanuel, Adeyeye I, Habibat O, Adubiario, Awodola OJ. 2008. Comparability of chemical composition and functional properties of shell and flesh of *Penaeus notabali*. *Journal of Nutrition* 7(6):741-747
- Keuteur J. 1996. Nanoparticles and microparticles for drug and vaccine delivery. *Europe Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 189: 19-34.
- Kim TY, Cho SY. 2005. Adsorpsi equilibria of reactive dye onto highly polyaminatid porous chitosan bead. *Korean Journal Chemistry English* 22 (5):691- 696
- Kim JD, Nhut TM, Hai TN, Ra CS. 2011. Effect of dietary essential oils on growth, feed utilization and meat yields of white leg shrimp *L. Vannamee*. *Journal Animal Science* 24(8):1136-1141
- Mahmoud MS, Ghaly AE, Arab F. 2005. Unconventional approach for demineralization of deproteinized crustacean shells for chitin production. *Journal of Biotechnology* 3(1):1-9
- Mohanraj UJ, Chen Y. 2006. Nanoparticles - A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 5(1): 561-573
- 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

- Salamah E, Ayuningrat E, Purwaningsih S. 2008. Penapisan awal komponen bioaktif dari kijing taiwan (*Anadonta woodiana* Lea.) sebagai senyawa antioksidan. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan* 11(2):119-133
- 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
- Shu XZ, Zhu KJ. 2002. Controlled drug release properties of ionically cross-linked chitosan beads: The Influence of Anion Structure. *International Journal of Pharmaceutics* 233:217-225
- Silvia SS. 2005. Physical properties and biocompatibility of chitosan/sury blendet membran. *Jurnal of Material Science* 16:575- 579
- Suptijah P, Salamah E, Sumaryanto H, Purwaningsih S, Santoso J. 1992. Pengaruh berbagai isolasi khitin kulit udang terhadap mutunya. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia* 3(1):1-9
- 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