

Aktivitas Antibakteri Kitosan dari Tulang Rawan Cumi-Cumi (*Loligo* sp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Antibacterial Activity Chitosan from Squid Cartilage (Loligo sp.) Against Bacteria Staphylococcus aureus and Escherichia coli

Laode Muhamad Hazairin Nadia^{*1}, La Ode Huli¹, Waode Nilda Arifiana Effendy¹, Frets Jonas Rieuwpassa³, Imra², Nurhikma², Eko Cahyono³

¹Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Jurusan Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Halu Oleo, Jln. H.E.A. Mokodompit Kampus Baru Anduonohu, Kendari, Sulawesi Tenggara.

²Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Borneo Tarakan, Tarakan, Jalan Amal Lama No. 1 Kelurahan Pantai Amal Kota Tarakan, Kalimantan Utara, Indonesia

³Program Studi Teknologi Pengolahan Hasil Laut, Jurusan Perikanan dan Kebahariaan, Politeknik Negeri Nusa Utara, Jalan Kesehatan No 01 Tahuna, Kabupaten Kepulauan Sangihe Sulawesi Utara, Indonesia

*¹ Penulis untuk korespondensi: hazairinnadia@uho.ac.id

ABSTRACT

Squid (*Loligo* sp.) is one of fisheries commodities export in Indonesia. Squid has cartilage that can be utilized in the food and non-food sectors. The inner skin of the squid cartilage contains chemical compounds are chitin and chitosan. The objectives of this research are to produce chitosan from squid cartilage and tested the antibacterial effectiveness of chitosan in bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The research method was carried out in twophase; the manufacturing phase of chitosan from squid cartilage and the testing phase for the antibacterial activity of chitosan. The results of the first phase of this study indicate that the chitosan produced meets the quality standards of chitosan with water content 7.82% (bk), ash content 0.57% (bk), nitrogen content 3.18% (bk) and degree of deacetylation 87.43%. Further more the results obtained in the second phase showed that the higher of chitosan concentration, the greater of inhibition zone in the tested bacteria. The best antibacterial activity was found at 0.8% chitosan concentration, with an inhibition zone of 12.8 ± 0.06 mm in *E. coli* and 11.1 ± 0.12 mm in *S. aureus*. At a concentration of 0.8% showed a greater inhibitory value when compared to 70% alcohol.

Keywords : Squid cartilage, chitosan, antibacterial activity

ABSTRAK

Cumi-cumi (*Loligo* sp.) merupakan salah satu komoditi ekspor perikanan Indonesia. Cumi-cumi mempunyai tulang rawan yang dapat dimanfaatkan pada bidang pangan dan non pangan. Tulang rawan cumi-cumi yang berupa bagian dalam kulit mengandung senyawa kimia kitin dan kitosan. Tujuan penelitian ini adalah untuk menghasilkan kitosan dari tulang rawan cumi-cumi dan mengetahui efektivitas antibakteri kitosan pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Metode penelitian dilakukan dengan dua tahapan yaitu tahap pembuatan kitosan dari tulang rawan cumi-cumi dan tahap pengujian aktivitas antibakteri kitosan. Hasil penelitian tahap pertama menunjukkan bahwa kitosan yang dihasilkan dari tulang rawan cumi-cumi memenuhi standar mutu kitosan dengan kadar air 7,82% (bk), kadar abu 0,57% (bk), kadar nitrogen 3,18% (bk) dan derajat deasetilasi 87,43%. Aktivitas antibakteri terbaik terdapat pada konsentrasi kitosan 0,8% yaitu dengan zona hambat sebesar $12,8 \pm 0,06$ mm pada *E. coli* dan $11,1 \pm 0,12$ mm

pada *S. aureus*. Pada konsentrasi 0,8% menunjukkan nilai penghambatan yang lebih besar jika dibandingkan dengan alkohol 70%.

Kata kunci: Tulang rawan, cumi-cumi, kitosan, aktivitas antibakteri

PENDAHULUAN

Cumi-cumi (*Loligo* sp.) merupakan salah satu komoditi ekspor perikanan Indonesia selain ikan, sotong dan gurita. Produksi cumi-cumi pada tahun 2019 mencapai 143.847.343,07 kg, kemudian menunjukkan peningkatan produksi pada tahun 2020 yaitu 193.790.380,17 kg (KKP 2020). Menurut Meirina (2008) hasil produksi yang Cumi-cumi adalah kelompok hewan cephalopoda besar atau jenis moluska yang dikenal dalam dunia perdagangan disamping ikan, udang, sotong dan gurita. Namun masih belum banyak masyarakat yang mengetahui bahwa hewan ini memiliki tulang rawan cumi-cumi yang biasanya dibuang pada saat pengolahan daging cumi-cumi dapat dimanfaatkan pada bidang pangan dan non pangan. Yulianis et al. (2020) mengemukakan bahwa tulang rawan cumi-cumi yang berupa bagian dalam kulit mengandung senyawa kimia kitin dan kitosan.

Kitosan merupakan polisakarida alami yang nontoxic, biodegradable dan biocompatible yang dihasilkan dari proses deasetilasi kitin serta memiliki gugus amina (NH_2) bebas yang membuat polimer ini bersifat polikationik (Nadia et al. 2018). Kitosan memiliki kegunaan yang sangat luas dalam berbagai bidang yaitu bioteknologi (Mao et al. 2001), pangan (Chien et al. 2007), pengolahan air limbah (Ramnani dan Sabharwal, 2006), anti tumor (Chaiyakosha et al. 2007), antioksidan (Rajalakshmi et al. 2013), antiinflamasi (Oliveira et al. 2012), kosmetik (Kumar et al. 2004), antikanker (Kuppusamy dan Karuppaiah 2012) dan antibakteri (Liu et al. 2006; Mahea et al. 2011). Aktivitas antibakteri kitosan dipengaruhi beberapa faktor meliputi spesies bakteri (No et al. 2002.), pH, berat molekul (Liu et al. 2006) dan konsentrasi (Zheng dan Zhu 2003).

Saat ini, beberapa studi tentang kitosan difokuskan pada aktivitas antibakteri dan penggunaannya sebagai pengawet makanan. Beberapa penelitian menunjukkan adanya aktivitas antibakteri kitosan dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram-positif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis*) dan Gram-negatif (*Escherichia coli*, *Salmonella choleraesuis*, *S. typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroides fragilis* dan *Vibrio cholerae*). Rahman (2012) menyimpulkan bahwa konsentrasi kitosan yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* adalah sebesar 0,7% dan 0,5% dengan luas zona hambat yang dihasilkan sebesar 13 mm dan 11 mm.

Menurut Nadia (2014) bahwa kitosan memiliki sifat antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen termasuk bakteri Gram-positif dan Gram-negatif. Liu et al. (2006) adanya polikation yang bermuatan positif kitosan dapat menekan pertumbuhan bakteri. No et al. (2002) mengemukakan bahwa mekanisme antibakteri kitosan yaitu kitosan merupakan polikationik yang dapat berikatan dengan muatan negatif dari membran sel bakteri melalui interaksi elektrostatik, sehingga mempengaruhi permeabilitas membran intraseluler seperti protein. Kitosan berikatan dengan DNA, menghambat RNA dan sintesis protein.

Berdasarkan uraian diatas sifat yang dimiliki oleh kitosan memiliki sifat sebagai antibakteri dan bersifat bakterisidal sehingga perlu dilakukan penelitian uji aktivitas antibakteri kitosan dari tulang rawan cumi-cumi terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk menghasilkan kitosan dari tulang rawan cumi-cumi dan menguji efektivitas antibakteri kitosan pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah tulang rawan cumi-cumi (*Loligo* sp.). Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan kitosan terdiri dari NaOH, CH₃COOH, akuades dan HCl. Bakteri uji yang digunakan yaitu *Staphylococcus aureus* (Gram-positif) dan *Escherichia coli* (Gram-negatif). Media yang digunakan nutrient agar (NA), nutrient broth (NB) dan muller hilton agar (MHA). Bahan-bahan lain meliputi bahan untuk analisis karakteristik kitosan dan proksimat terdiri dari gliserol, methanol, asam borat, K₂SO₄, HgO, H₂SO₄ dan HNO₃.

Alat yang digunakan untuk pembuatan kitosan yaitu timbangan digital (Fujitsu FSR-B, Jepang), kompor listrik (Maspion S-300, Indonesia), oven listrik (Memmert UN260, Jerman), saringan, alat pengaduk, beaker glass dan pipet. Alat yang digunakan untuk analisis yaitu spray draying (Labconco), viscometer (Brookfield LV), *fourier transform infrared spectrophotometer* (FTIR) (Bruker Tensor Tipe MBQ00, ABB Group). Alat yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri yaitu inkubator (Memmert IN30), autoklaf (HVE-50 Hirayama), spektrofotometri (UV-VIS AMV11), vortex (DLAB MX-E), kompor listrik, erlenmeyer, mikropipet, jarum ose, kantong stomacher, pipet, tabung reaksi, sudip, aluminium foil, bunsen api, cawan petri, tips steril, dan gelas ukur.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan dua tahap. Tahap pertama merupakan tahap pembuatan kitosan. Karakterisasi kitosan meliputi analisis proksimat (kadar air, kadar abu, dan kadar nitrogen) dan derajat deasetilasi. Sedangkan tahap kedua merupakan tahap pengujian aktivitas antibakteri kitosan, alkohol 70% (kontrol positif) dan asam asetat 0,1% (kontrol negatif) dengan metode difusi agar.

Pembuatan kitosan

Pembuatan kitosan dari tulang rawan cumi-cumi mengacu pada prosedur

pembuatan kitosan oleh Nadia *et al.* (2018) yang mencakup tiga proses yaitu deproteinasi, demineralisasi dan deasetilasi. Deproteinasi dilakukan untuk menghilangkan protein pada tulang rawan cumi-cumi. Tulang rawan cumi-cumi ditimbang dengan berat 100 gr ditambahkan larutan NaOH 3 N dengan perbandingan 1:10 dan dipanaskan pada suhu 90 °C selama 1 jam sambil diaduk, kemudian disaring dan dicuci sampai pH netral dengan menggunakan akuades.

Demineralisasi dilakukan untuk menghilangkan mineral dengan cara hasil deproteinasi ditambahkan larutan HCl 1 N dengan perbandingan 1:7 dan dipanaskan pada suhu 90 °C selama 1 jam sambil diaduk. kemudian disaring dan dicuci sampai pH netral. Pencucian dilakukan dengan menggunakan akuades sampai pH netral, kemudian dikeringkan dan diperoleh kitin. Deasetilasi Kitin yang telah dihasilkan dimasukkan dalam larutan NaOH 50% dengan perbandingan 1:20. Dipanaskan pada suhu 140 °C sambil diaduk selama 2 jam. Pencucian dilakukan dengan akuades sampai pH netral. Selanjutnya dikeringkan dan diperoleh kitosan larut asam.

Persiapan media pertumbuhan bakteri uji

Media nutrient agar (NA) yang sudah disiapkan dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 mL dan media ini untuk menumbuhkan bakteri uji. Media nutrient broth (NB) dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 9 mL dan media ini untuk menumbuhkan bakteri uji dalam media cair. Media muller hilton agar (MHA) yang telah disiapkan dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 20 mL dan media ini digunakan untuk menumbuhkan bakteri pada saat uji aktivitas antibakteri. Media NA NB, dan MHA, selanjutnya disterilisasi ke dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C (Nadia 2014).

Persiapan bakteri uji

Persiapan kultur dilakukan dengan mengambil satu mata ose kultur murni *S. aureus* dan *E. coli*. Bakteri tersebut diinokulasi dengan cara digores pada

medium nutrient agar (NA) dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama ± 24 jam. Satu mata ose bakteri uji dari media agar miring NA ke media cair nutrient broth (NB), selanjutnya divortex agar homogen dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama ± 24 jam. Kultur uji siap digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri (Nadia, 2014).

Pengujian aktivitas antibakteri (Nurainy et al. 2008)

Uji aktivitas antibakteri kitosan dengan metode difusi. Sebanyak 20 μ l bakteri uji dimasukkan ke dalam muller hilton agar (MHA), divortex perlahan agar homogen dan campuran tersebut dituang ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan membeku. Setelah agar membeku, dibuat sumur agar berdiameter 5 mm dan dimasukkan 20 μ l konsentrasi kitosan yaitu 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7% dan 0,8%, alkohol 70% (kontrol positif) dan asam asetat 0,1% sebagai pelarut (kontrol negatif). Kemudian cawan petri diinkubasi pada suhu 37 °C selama ± 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengukur zona bening di sekitar sumur agar. Diameter zona hambat yang terbentuk karena adanya daya antibakteri dari kitosan, alkohol 70%, dan asam asetat 0,1% yang diukur dari sisi sebelah kiri sampai sisi sebelah kanan dengan menggunakan jangka sorong. Hasil pengukuran daya hambat ditabulasi.

Analisa Data

Penentuan aktivitas antibakteri dianalisis secara deskriptif bertujuan untuk memperoleh pemaparan yang objektif mengenai parameter uji pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Mutu Kitosan

Kitosan yang dipakai dalam penelitian ini mempunyai karakteristik yang telah memenuhi standar mutu kitosan (SNI, 2013) (Tabel 1). Kemurnian kitosan dapat dilihat dari nilai derajat deasetilasinya. Semakin tinggi derajat deasetilasi, semakin banyak gugus amina (NH_2) pada rantai molekul kitosan sehingga kitosan semakin reaktif.

Hasil karakteristik kitosan uji dan standar mutu kitosan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisis proksimat dan derajat deasetilasi kitosan.

Spesifikasi	Kitosan uji	Standard mutu kitosan*
Kadar air (bk)	7,82%	$\leq 12\%$
Kadar abu (bk)	0,57%	$\leq 5\%$
Kadar nitrogen (bk)	3,18%	$\leq 5\%$
Derajat deasetilasi	87,43%	≥ 75

Keterangan: berat kering (bk), *SNI 7949:2013

Hasil analisis proksimat kitosan menunjukkan bahwa nilai kadar air kitosan yang digunakan dalam penelitian memenuhi standar mutu kitosan (Tabel 1). Nilai kadar air kitosan sebesar 7,82% (bk). Nadia et al. (2018) menyatakan bahwa persentase kadar air kitosan dipengaruhi oleh luas permukaan tempat kitosan dikeringkan, lama pengeringan, jumlah kitosan yang dikeringkan dan proses pengeringan.

Kadar abu yang diperoleh pada penelitian ini sebesar 0,57% (bk). Nadia et al. (2014) menjelaskan bahwa kadar abu merupakan parameter untuk mengetahui mineral yang terkandung pada kitosan dan faktor mempengaruhi kandungan mineral kitosan adalah kualitas air yang digunakan ketika proses penetralan kitosan serta efektivitas proses demineralisasi yang dilakukan.

Kadar nitrogen kitosan yang dihasilkan sebesar 3,18% (bk) dan memenuhi standar mutu kitosan (Tabel 1). Suptijah et al. (2011) menyatakan bahwa kadar nitrogen kitosan dipengaruhi tingginya konsentrasi NaOH dan lama waktu deproteinasi yang mengakibatkan reaksi antara protein dengan larutan pembentuk ester (Na-proteinat) menjadi sempurna, sehingga protein yang dihilangkan akan semakin banyak. Kim dan Cho (2005) menjelaskan bahwa kadar nitrogen menentukan sifat kitosan yang berinteraksi dengan gugus amina (NH_2). Keberadaan NH_2 menyebabkan kitosan memiliki reaktivitas yang tinggi, sehingga kitosan

mampu mengikat air dan larut dalam asam asetat.

Derajat deasetilasi yang dihasilkan pada penelitian ini sebesar 87,43%. Kumar *et al.* (2004) derajat deasetilasi merupakan parameter yang sangat penting untuk menentukan mutu kitosan. Derajat deasetilasi menunjukkan persentase perubahan gugus asetil yang dihilangkan dari kitin menjadi kitosan. Semakin tinggi nilai derajat deasetilasi, maka semakin sedikit gugus asetil yang terdapat pada kitosan.

Aktivitas Antibakteri Kitosan

Pengujian awal dari difusi agar dengan menggunakan sumur agar yaitu pengujian kitosan dengan konsentrasi 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, alkohol 70% (kontrol positif) dan asam asetat 0,1% sebagai pelarut (kontrol negatif). Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 2. Zona hambat kitosan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Antibakteri	Rataan Zona hambat (mm) <i>S. aureus</i>	Kategori aktivitas penghambatan*
Kitosan 0,4%	6,0±0,00	Sedang
Kitosan 0,5%	7,3±0,12	Sedang
Kitosan 0,6%	8,2±0,10	Sedang
Kitosan 0,7%	9,0±0,00	Sedang
Kitosan 0,8%	11,1±0,12	Kuat
Alkohol 70% (+)	10,2±0,06	Kuat
Asam asetat 0,1% (-)	0,0±0,00	Lemah

Keterangan: Mili meter (mm), kontrol positif (+), kontrol negatif (-), * Benhabiles *et al.* (2012)

Hasil difusi agar menunjukkan bahwa pelarut asam asetat 0,1% tidak bersifat menghambat pertumbuhan bakteri uji, sehingga tidak mempengaruhi aktivitas antibakteri kitosan. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Andriani (2003) bahwa konsentrasi asam asetat 0,3% tidak bersifat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa pada media yang berisi biakan *E. coli* dengan kitosan 0,8% memiliki zona hambat yang paling besar yakni 12,8±0,06 mm,

bahkan lebih besar dari zona hambat yang dihasilkan oleh alkohol 70% (kontrol positif) yakni 12,2±0,15 mm. Hasil berbeda ditunjukkan pada kitosan 0,4 % yang memiliki zona hambat paling kecil pada media yang berisi biakan *S. aureus* yakni 6,0±0,00 mm.

Tabel 3. Zona hambat kitosan terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Antibakteri	Rataan Zona hambat (mm) <i>E. coli</i>	Kategori aktivitas penghambatan*
Kitosan 0,4%	7,4±0,12	Sedang
Kitosan 0,5%	9,1±0,06	Sedang
Kitosan 0,6%	9,6±0,10	Sedang
Kitosan 0,7%	11,4±0,12	Kuat
Kitosan 0,8%	12,8±0,06	Kuat
Alkohol 70% (+)	12,2±0,15	Kuat
Asam asetat 0,1% (-)	0,0±0,00	Lemah

Keterangan: Mili meter (mm), kontrol positif (+), kontrol negatif (-), * Benhabiles *et al.* (2012)

Hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa pada konsentrasi kitosan 0,8% memiliki zona hambat paling besar dibanding kitosan 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7% dan alkohol 70%. Hal ini menunjukkan aktivitas antibakteri kitosan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Abdou *et al.* (2012) mengemukakan bahwa peningkatan konsentrasi dapat mengakumulasi gugus reaktif kitosan yaitu gugus amina (NH₂), sehingga mempunyai efektivitas lebih besar untuk merusak dinding sel bakteri.

Kitosan lebih efektif terhadap bakteri Gram-negatif, hal ini disebabkan permukaan bakteri Gram-negatif memiliki muatan negatif lebih besar dibanding bakteri Gram-positif yang akan berinteraksi dengan gugus amina (NH₂) bermuatan positif. Menurut Meidina (2006) kitosan dapat menyerap lebih baik pada bakteri Gram-negatif dibandingkan dengan Gram-positif karena muatan negatif pada permukaan sel bakteri Gram-negatif lebih banyak dari Gram-positif. Muatan positif dari kitosan yang didistribusikan menuju permukaan dinding sel bakteri Gram-negatif yang selanjutnya

akan menghambat aktivitas bakteri yang diujikan.

Aktivitas antibakteri kitosan 0,8% dan alkohol 70% terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dikategorikan kuat. Benhabiles et al. (2012) menyatakan bahwa apabila zona hambat yang terbentuk pada uji difusi agar berukuran kurang dari 5 mm, maka aktivitas penghambatannya dikategorikan lemah. Apabila zona hambat berukuran 5-10 mm dikategorikan sedang, 10-19 mm dikategorikan kuat dan 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian ini adalah

1. Kitosan yang dihasilkan dalam penelitian ini telah memenuhi standar mutu kitosan yaitu kadar air 7,82%, kadar abu 0,57%, kadar nitrogen 3,8% dan derajat deasetilasi 87,43%.
2. Aktivitas antibakteri kitosan pada konsentrasi kitosan 0,8% memiliki penghambatan lebih besar dari alkohol 70% (kontrol positif) dengan zona hambat sebesar $11,1 \pm 0,12$ pada bakteri *S. aureus* dan sebesar $12,8 \pm 0,06$ pada bakteri *E. coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdou ES, Osheba AS, dan Sorour MA. 2012. Effect of chitosan and chitosan nanoparticles as active coating on microbiological characteristics of fish fingers. *Journal of Applied Science and Technology*. 2(7): 158-163.
- Andriani. 2003. *Dekontaminasi Karkas Ayam Menggunakan Asam Laktat dan Asam Asetat pada Penyimpanan dalam Subu Kamar*. Tesis S2 (tidak dipublikasikan). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Badan Standardisasi Nasional. 2013. Standar Nasional Indonesi. SNI 7949: 2013. *Kitosan: Syarat Mutu dan Pengolahan*. Badan Standardisasi Nasional, Jakarta.
- Benhabiles MS, Salah R, Lounici H, Drouiche N, Goosen MFA, dan Mameri N. 2012. Antibacterial activity of chitin, chitosan and its oligomers prepared from shrimp shell waste. *Food Hydrocolloids*. 29(1): 48-56. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.02.013>.
- Chaiyakosha S, Charernjirtragul W, Umsakul K, dan Vuddhakul V. 2007. Comparing chemically modified water on different types of foodborne pathogens. *Journal of Food Microbiology*. 61: 199-207.
- Chien PJ, Seu F, dan Yang FH. 2007. Effect of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. *Journal of Food Engineering*. 78(1): 225-229. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.09.022>.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2020. Laporan Tahunan Direktorat Produksi. Jakarta (ID): Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Kim TY, dan Cho SY. 2005. Adsorpsi equilibria of reactifiedye onto highly polyaminatid porous chitosan bead. *Journal Chemistry English*. 22 (5): 691-696.
- Kumar MNV, Muzzarelli RRA, Sahiwa H, dan Domb AJ. 2004. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. *Chemical Reviews*. 104(12): 6017-6084. DOI: <https://doi.org/10.1021/cr030441b>.
- Kuppusamy S, dan Karuppaiah J. 2012. Antioxidant and cytotoxic efficacy of chitosan on bladder cancer. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 6(2): 126-144.
- Liu N, Chen XG, Park HJ, Liu CG, Liu CS, dan Meng X. 2006. Effect of MW and concentration of chitosan on antibacterial activity of *Escherichia coli*. *Carbohydrate Polymer*. 64(1): 60-65. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.10.028>.
- Mahea N, Chalot C, dan Muhamud P. 2011. Antioxidant and antimicrobial properties of chitosan-sugar complex. *International Food Research Journal*. 18(4): 15-31.

- Mao HQ, Roy K, Troung VL, Janes KA, Lin KY, dan Wang Y. 2001. Chitosan-DNA nanoparticles as gene carriers: synthesis, characterization and transfection efficiency. *Journal of Control Release*. 70(3): 399-421. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0168-3659\(00\)00361-8](https://doi.org/10.1016/s0168-3659(00)00361-8).
- Meidina. 2006. *Aktivitas Antibakteri Oligomer Kitosan yang Diproduksi Menggunakan Kitonase dari Isolat B. licheniformis MB-2*. Thesis (Tidak dipublikasikan). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Nadia LMH, Huli LO, dan Nadia LOR. 2018. Pembuatan dan karakterisasi kitosan dari cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*) asal Sulawesi Tenggara. *Jurnal Fish Protech*. 1(2): 77-84.
- Nadia LMH, Suptijah P, dan Ibrahim B. 2014. Production and characterization chitosan nano from black tiger shrimp with ionic gelation methods. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 17(2): 119-126. DOI: <https://doi.org/10.17844/jphpi.v17i2.8700>
- Nadia LMH. 2014. *Aplikasi Nano Kitosan Sebagai Pengganti Klorin pada Fillet Nila Merah (Oreochromis sp.)*. Tesis (Tidak dipublikasikan). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- No HK, Pak NY, Lee SH, dan Meyers SP. 2002. Antibacterial activity of chitosan and chitosan oligomers with different molecular weights. *International Journal of Food Microbiology*. 74(1): 65-72. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(01\)00717-6](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(01)00717-6).
- Oliveira MI, Santos SG, Oliveira MJ, Torres AL, dan Barbosa MA. 2012. Chitosan drives antiinflammatory macrophage polarisation and proinflammatory dendritic cell stimulation. *Journal of European Cells and Materials*. 24(1): 136-153. DOI: <https://doi.org/10.22203/ecm.v024a10>.
- Rahman MA. 2011. *Kitosan sebagai Bahan Antibakteri Alternatif dalam Formulasi Gel Pembersih Tangan (Hand sanitizer)*. (Skripsi (Tidak dipublikasikan). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rajalakshmi A, Krithiga N, dan Jayachitra A. 2013. Antioxidant activity of the chitosan extracted from shrimp exoskeleton. *Middle-East Journal of Scientific Research*. 16(10): 1446-1451.
- Ramnani SP, dan Sabharwal S. 2006. Adsorption behavior of Cr (VI) on to radiation crosslinked chitosan and its possible application for the treatment of wastewater containing Cr (VI). *Reactive and Functional Polymers*. 66(9): 902-909. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.reactfuncpolym.2005.11.017>.
- Suptijah P, Jacob MA, dan Rachmania D. 2011. Karakterisasi nano kitosan cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) dengan metode gelasi ionik. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 17(2): 78-84. DOI: <https://doi.org/10.17844/jphpi.v14i2.5315>.
- Yulianis, Mukhlis S, dan Nur A. 2020. Pembuatan kitosan dari kitin limbah tulang dalam cumi-cumi. *Journal of Healthcare Technology and Medicine*. 6(1): 62-69.
- Zheng LY, dan Zhu JF. 2003. Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. *Carbohydrate Polymers*. 54: 527-530. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2003.07.009>.